

Avaliação psicofarmacológica dos caules de *Croton sertanejus* (uma espécie recém-descrita segregada de *C. echioides*, a muirapuama nordestina) em roedores

Psychopharmacological evaluation of Croton sertanejus stems (a newly described segregated species of C. echioides, the northwestern muirapuama) in rodents

Cristine Rose Miyazaki¹; Fúlvio Rieli Mendes²; Cláudio Roberto Novello³; Daniela Souza Carneiro-Torres⁴; João Carlos Palazzo de Mello⁵; Luis Carlos Marques⁶*

¹Universidade Bandeirante de São Paulo, Mestrado Profissional em Farmácia, São Paulo – SP, Brasil

²Universidade Federal do ABC, Centro de Ciências Naturais e Humanas, São Bernardo do Campo – SP, Brasil.

³Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Departamento Acadêmico de Química e Biologia, Francisco Beltrão – PR, Brasil

⁴Universidade Estadual de Feira de Santana, Programa de Pós-graduação em Botânica, Feira de Santana - BA, Brasil

⁵Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Farmácia, Maringá – PR, Brasil

⁶Fitoscience Ensino MEI, São Paulo – SP, Brasil

***Autor correspondente:** Luis Carlos Marques (<https://orcid.org/0000-0001-5853-0723>). E-mail: luis.marques1957@gmail.com

Data de Submissão: 14/08/2024; Data do Aceite: 18/07/2025

Citar: MIYAZAKI, C.R.; MENDES, F.R.; NOVELLO, C.R.; CARNEIRO-TORRES, D.S.; MELLO, J.C.P.D.; MARQUES, L.C. Avaliação psicofarmacológica dos caules de *Croton sertanejus* (uma espécie recém-descrita segregada de *C. echioides*, a muirapuama nordestina) em roedores. **Brazilian Journal of Health and Pharmacy**, v. 7, n. 4, p. 5 - 18, 2025.

RESUMO

Caules de *Croton sertanejus* Sodré & M.J.Silva - Euphorbiaceae, uma espécie segregada de *C. echioides* Baill. (muirapuama nordestina), têm sido comercializados no Brasil em substitui o às raízes da muirapuama amazônica *Ptychopetalum olacoides* Benth. - Olacaceae, recomendados em patologias do sistema nervoso central. Este estudo objetivou verificar similaridade de efeitos farmacológicos centrais que possam justificar a intercambialidade entre essas espécies. Para isso, foram avaliados possíveis efeitos ansiolíticos, antidepressivos, antinociceptivos e sobre a memória de extrato liofilizado dos caules de *C. sertanejus*, em roedores submetidos a diversos modelos experimentais, bem como avalia o da atividade anticolinesterásica. Encontrou-se redu o da movimentaa o espontânea e significância em três parâmetros dos testes do labirinto em cruz elevado e caixa claro-escuro, evidenciando uma atividade ansiolítica que deve ser explorada em estudos futuros; o teste da formalina não evidenciou efeito antinociceptivo, mas indicou um potencial efeito hiperalg sico com a dose de 100 mg/kg. A atividade anticolinesterásica do extrato foi positiva em testes *in vitro* e a avalia o espectrofotométrica dessa atividade indicou concentra o inibitória média (IC₅₀) de 2,87 mg/mL. Nenhum outro efeito significativo foi observado, indicando-se ausência de efeitos antidepressivos, antinociceptivos ou de reversão dos efeitos amnésicos da escopolamina. Como *P. olacoides* apresenta efeito ansiogênico, atividade antidepressiva, atividade anticolinesterásica e de melhora na memória de animais conclui-se que os caules de *C. sertanejus*, além de diferenças botânicas e fitoquímicas, mostraram perfil farmacológico distinto da muirapuama amazônica com semelhança apenas na positividade da atividade anticolinesterásica. Isso confirma não ser uma droga sucedânea, mas de fato um adulterante.

Palavras-chave: Psicofarmacologia; *Croton*; *Ptychopetalum*; Adultera o de medicamentos

ABSTRACT

Stems of *Croton sertanejus* Sodré & M.J.Silva - Euphorbiaceae, a species segregated from *C. echioides* Baill (northeastern muirapuama), have been marketed in Brazil as a substitute for the Amazonian muirapuama *Ptychopetalum olacoides* Benth. - Olacaceae, recommended for central nervous system disorders. This study aimed to verify the similarity of central pharmacological effects that could justify the interchangeability between them. To this end, potential anxiolytic, antidepressant, antinociceptive effects, and effects on memory were evaluated using a lyophilized extract of *C. sertanejus* stems in rodents subjected to various experimental models, as well as an assessment of cholinesterase activity. A reduction in spontaneous movement and significance in three parameters from the elevated plus-maze and light-dark box tests were observed, indicating an interesting anxiolytic activity that should be explored in future studies. The formalin test did not show antinociceptive effects but suggested a potential hyperalgesia at a dose of 100 mg/Kg. The cholinesterase activity of the extract was positive in *in vitro* test, and spectrophotometric evaluation of this activity indicated an inhibitory concentration (IC_{50}) of 2.87 mg/mL. No other significant effects were observed, indicating an absence of antidepressant, antinociceptive, or memory-reversing effects of scopolamine-induced amnesia. Since *P. olacoides* shows anxiogenic effects, antidepressant activity, anticholinesterase activity, and improvement in the memory of animals, it can be concluded that the stems of *C. sertanejus*, besides botanical and phytochemical differences, exhibit a pharmacological profile distinct from that of the Amazonian muirapuama, with similarity only in the positive anticholinesterase activity. This confirms that it is not a substitute drug, but indeed an adulterant.

Keywords: Psychopharmacology; *Croton*; *Ptychopetalum*; Drug adulterations.

INTRODUÇÃO

A utilização de plantas é uma das mais antigas formas de terapêutica de grande parte da população mundial, tendo havido esforços para que tais produtos apresentem informações adequadas sobre sua segurança, eficácia e qualidade, com comprovação dos efeitos e ausência de toxicidade (WANG et al., 2023).

Uma das áreas de maior potencial terapêutico refere-se às patologias do sistema nervoso central (SNC), com efeitos no comportamento, humor, pensamento e sensações (CARLINI, 2003). Segmento relacionado é a dos chamados adaptógenos, produtos capazes de promover estado de adaptação a agentes estressores, melhorando o desempenho dos organismos em diversas condições (PANOSSIAN, BLENDER, 2020).

Mendes e Carlini (2007) listam diversas espécies

brasileiras com potenciais efeitos adaptógenos, como o guaraná (*Paullinia cupana* Kunth), a muirapuama ou marapuama (*Ptychopetalum olacoides* Benth.), dentre outras. A mais tradicional delas é a muirapuama ou marapuama, nomes que remetem às raízes de *P. olacoides* (Olacaceae), espécie amazônica inscrita na primeira edição da Farmacopeia Brasileira (SILVA, 1926), explorada há décadas no Brasil e também exportada a outros países (ELIZABETSKY, SIQUEIRA, 1998) e empregada em reumatismo, nevralgias, paralisias, na ataxia locomotora e impotência sexual masculina (MATTA, 1912; REIS, MENDES, 2018).

Pesquisas pré-clínicas com as raízes da muirapuama amazônica mostraram efeitos ansiogênico, neuroprotetor, facilitador da recuperação da memória, antioxidante, anticolinesterásico, antidepressivo e antiestresse (PIATO et al., 2010; SIQUEIRA et al., 2003; FIGUEIRÓ et al., 2010). O extrativismo praticado sobre

as raízes de *P. olacoides* e a falta de atividades de cultivo levaram inicialmente à sua adulteração por raízes da goiabeira (SILVA, 1935) e, mais recentemente, verificou-se a troca comercial por caules de origem desconhecida (ZAUPA et al., 2000; TOBIAS et al., 2007).

Na busca pelo esclarecimento dessa substituição comercial, Novello e colaboradores (2012) realizaram expedição de coleta à região sudoeste da Bahia e submeteram amostras floridas à taxonomista especialista no grupo botânico. Assim, identificou-se a espécie como *Croton echioides* Baill. (Euphorbiaceae), denominada pelos autores como 'muirapuama nordestina' como tentativa de diferenciação com a muirapuama amazônica. Dez anos depois, Sodré e Silva (2022) publicaram a espécie *Croton sertanejus* cujos espécimes foram segregados de *C. echioides*, incluindo o material HUEFS 139049 (Parátipo). Então a espécie relacionada à muirapuama nordestina é de fato *C. sertanejus*.

Essa espécie se apresenta como arbustos (Figura 1) a árvores de geralmente 1,5-5 m de altura, com ramificação pseudomonopodial, caules acinzentados, indumento tomentoso ferrugíneo, folhas alternas estipuladas, limbo de base obtusa a arredondada com 4-6 glândulas subsésseis, inflorescências terminais com flores de coloração creme. Essa espécie não ocorre no bioma Amazônico, estando restrita ao bioma Caatinga (SODRÉ, SILVA, 2022).



Figura 1 – Exemplos de *Croton sertanejus* - autoria Cláudio Roberto Novello

Na fitoquímica de *Croton* já foram encontrados óleos essenciais com monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanoides, diterpenos clerodanos (típicos do gênero), esteroides, triterpenos, proantocianidinas no látex avermelhado, alcaloides e alguns flavonoides (SALATINO et al., 2007; MATOS, 2011). Na farmacologia do gênero *Croton* já foram verificadas ações biológicas como antibiótica, antitumoral, anti-inflamatória, hipoglicêmica, antiúlcera, dentre outras (SALATINO et al., 2007).

Os dados farmacológicos disponíveis de *C. sertanejus* (citados como *C. echioides*) são escassos, citando-se apenas atividade antioxidante, antileishmania e citotóxica/antiproliferativa (NOVELLO et al., 2010, NOVELLO et al., 2022; VENDRUSCOLO et al., 2022). Novello e colaboradores (2012) realizaram também uma abordagem farmacológica preliminar, verificando efeito estimulante dependente da dose e DL_{50} de 500 mg/Kg (via i.p.) ou maior (via oral), indicando baixa toxicidade aguda em camundongos. Sobre efeitos no sistema nervoso central, há pouca evidência no gênero *Croton* (BERNARDI et al., 1991).

Desse modo, identificada adequadamente a muirapuama do nordeste brasileiro, objetivou-se avaliar as possíveis atividades farmacológicas dos seus caules em modelos voltados a ações no sistema nervoso central e, assim, verificar se há sentido em que possa ser um sucedâneo às raízes da muirapuama amazônica.

MÉTODOS

Material vegetal e preparação do extrato de *C. sertanejus*

Os caules foram adquiridos do distribuidor paulista Nutri Ervas Ervanaria e Especiarias, em embalagem rotulada como "marapuama - *Ptychopetalum* sp". O material foi comparado, por avaliação macroscópica, microscópica e por cromatografia em camada delgada (CCD), ao material coletado e identificado

pela prof^a Dr^a Daniela Santos Carneiro Torres como *Croton sertanejus* Sodr e & M.J.Silva, cuja exsicata está depositada no herbário da Universidade Estadual de Feira de Santana (coletor C.R. Novello CR 01 - HUEFES 1390149).

O material adquirido foi mo do em moinho de martelos e, após uma macera o prévia por um período de 48 h, submetido   extra o em Ultra-turrax com solvente hidroalcoólico 70% (v/v) por um período de 2 h, sendo 5 min de agita o seguidos por 5 min de repouso. O extrato foi filtrado, concentrado, liofilizado, armazenado em congelador e utilizado como lote único para todas as avalia es.

A documenta o legal de acesso   biodiversidade foi obtida pelo prof. Dr. J.C.P. Mello (autoriza o de coleta n  11995-3 de 02/11/2010, registro no IBAMA sob n  1844493 / SISGEN # A114550).

Fitoquímica do extrato

Novello (2011) detectou, nos caules de *C. sertanejus*, diterpenos clerodanos, esteroides, alcaloides indol icos e flavonoides. Como essa pesquisa fitoquímica ocorreu paralelamente   pesquisa farmacológica citada neste manuscrito e o extrato foi preparado e fornecido por Novello   época, os dados fitoquímicos descritos por ele são os mesmos para o extrato avaliado farmacologicamente nesta pesquisa.

Animais

Foram utilizados camundongos Swiss machos jovens (origem Universidade Federal de São Paulo) na maioria dos testes, e ratos Wistar machos jovens (origem Universidade de Campinas) apenas no modelo da esquivapassiva em fun o do equipamento disponível. Os animais foram mantidos no Laboratório Experimental de Farmacologia da Universidade Bandeirante de São Paulo (Uniban) por, no mínimo, uma semana em grupos de 5 ou 10 animais por caixa, em sala com temperatura de 24 ± 2  C, com ciclo claro/escuro (12h), com água fresca e comida *ad*

libitum até 60 min antes do início dos experimentos. Os procedimentos seguiram os Princípios Éticos na Experimentação Animal, cujo projeto foi aprovado sob nº 20090161.

Reagentes e solventes

Foram utilizados monooleato de sorbitan etoxilado (Tween 80), hexabarbital, escopolamina, formalina, imipramina e apomorfina (Sigma Chemical Company), diclofenaco sódico (Novartis, lote S1443), guaraná pó (Purifarma, lote 104), tampão A (Tris 50 mM, pH 8,0), tampão B (Tris 50 mM, pH 8,0 contendo 0,1% de soro albumina bovina), acetilcolinesterase de peixe elétrico (Tipo VI-S, lote 087K7002), iodeto de acetiltiocolina, reagente de Ellmann (ácido 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzóico - DTNB) (Sigma-Aldrich) e placas de alumínio para cromatografia de sílica gel 60 F254 de 0,200 mm de espessura (Merck).

O extrato liofilizado de *C. sertanejus* foi dissolvido em água com gotas de Tween 80 e as demais substâncias (imipramina, escopolamina, apomorfina e formalina) foram diluídas somente com água. O hexabarbital foi solubilizado em solução de bicarbonato a pH 9,0 em banho maria.

Testes, doses, vias de administração e tempos de tratamento

Foram selecionados modelos experimentais para avaliação preliminar de potenciais efeitos centrais (estimulante, depressor ou de alteração da coordenação motora), testes de avaliação das atividades ansiolítica (labirinto em cruz elevado e esquiwa inibitória), antidepressiva (natação forçada e hipotermia induzida por apomorfina), antinociceptiva (teste da formalina), de reversão de amnésia induzida quimicamente (teste da esquiwa passiva) e teste *in vitro* sobre a enzima acetilcolinesterase como rastreio de possível efeito em déficits de memória.

As doses do extrato de *C. sertanejus* foram definidas entre 1 e 100 mg/Kg do peso corpóreo dos animais a

partir dos resultados obtidos na triagem farmacológica inicial (NOVELLO et al., 2012). Quanto às vias de administração, empregaram-se as vias intraperitoneal (i.p.) e oral; quanto ao tempo, na maioria dos testes houve tratamento agudo e, em dois modelos, a administração foi feita por sete dias objetivando explorar possíveis efeitos após tratamento repetido. Desse modo buscou-se abranger melhor o espectro de possibilidades de efeitos farmacológicos do extrato.

Teste de atividade locomotora

Foram utilizadas caixas de acrílico (40x20x25 cm) para camundongos onde o registro da movimentação é feito por células fotoelétricas. Os camundongos (N=10 por grupo) foram tratados agudamente, por via i.p., com 10 ou 50 mg/Kg do extrato (grupo teste) ou salina (grupo controle), sendo colocados nas caixas imediatamente após a administração e procedendo-se a contagem de movimentos por 120 min (BEZERRA et al., 2011).

Teste de coordenação motora

O aparelho utilizado consiste de uma barra giratória de superfície áspera, com um diâmetro de 3 cm e comprimento de 60 cm, elevada a 40 cm da bancada, girando numa velocidade de 12 rpm. Realizou-se uma prévia seleção de camundongos nesse aparelho 24 h antes do teste e os camundongos aptos a permanecer no aparelho por, pelo menos, 60 segundos na fase de treinamento (N=8 ou 10 por grupo) foram tratados agudamente, por via i.p., com 10 ou 50 mg/Kg do extrato (grupo teste) ou salina (grupo controle). A avaliação foi feita durante 3 minutos, anotando-se o tempo de permanência na barra bem como o número de quedas, e realizada nos tempos de 30, 60 e 120 min após a administração (BEZERRA et al., 2011).

Teste de potenciação do sono barbitúrico

Foram utilizados camundongos (N=10 por grupo) tratados agudamente, via i.p., com extrato nas doses de 10 ou 50 mg/Kg (grupo teste) ou salina (grupo controle); após 60 min, os animais receberam

hexabarbital 80 mg/Kg também por via i.p., avaliando-se o tempo entre a perda e a recuperação do reflexo de endireitamento do animal (BEZERRA et al., 2011).

Teste do labirinto em cruz elevado (LCE)

Foi utilizado um aparato de madeira composto por dois braços abertos opostos (30x5x25 cm) e dois braços fechados (30x5x25 cm), também opostos, conectados por uma plataforma central (5x5 cm) elevada a uma altura de 45 cm. Os camundongos (N=10 por grupo) foram tratados oralmente por sete dias com 10 ou 50 mg/Kg do extrato (grupo teste) ou salina (grupo controle). Uma hora após a última administração os animais foram colocados individualmente no centro do aparelho com a cabeça voltada para um dos braços fechados e os seus comportamentos registrados por 5 min, anotando-se medidas comportamentais clássicas como frequências de entradas e o tempo despendido nos braços abertos e fechados (PELLOW et al., 1985).

Teste de esquiava inibitória (caixa claro-escuro)

Empregou-se uma caixa de acrílico branco e preto (60x30x30 cm), com a parte branca iluminada com uma lâmpada de 100 W. Os camundongos (N=10 por grupo) foram tratados por sete dias por via oral com 1 ou 10 mg/Kg do extrato (grupo teste) ou salina (grupo controle); após cerca de 1 h da última administração foram colocados na parte clara da caixa e registrados por 5 min a latência de passagem do lado claro ao escuro, o tempo despendido em cada seção, o número de transições entre as áreas e o número de bolos fecais (BEZERRA et al., 2011).

Teste de natação forçada

O procedimento experimental consistiu em colocar camundongos, individualmente, em um cilindro de acrílico com 25 cm de diâmetro, 30 cm de altura e com 15 cm de água mantida a 24°C. Os camundongos (N=10 por grupo) foram tratados agudamente, por via oral, com salina (controle negativo), imipramina 30 mg/Kg (controle positivo) ou com 10 ou 50 mg/Kg

do extrato (grupo teste). Após uma hora, cada animal foi colocado no cilindro e o tempo de imobilidade foi registrado por 15 min (ESTANISLAU et al., 2011).

Teste de hipotermia induzida por apomorfina

A temperatura retal de camundongos (N=10 por grupo) tratados agudamente, por via oral, com 10 mg/Kg do extrato (grupo teste) ou salina (grupo controle) foi avaliada utilizando-se termômetros digitais, antes e 1 h após a injeção intraperitoneal de cloridrato de apomorfina 3 16 mg/Kg. Substâncias com ação antidepressiva bloqueiam a hipotermia induzida pela dose alta de apomorfina, mas não a induzida pela menor dose desse agonista dopaminérgico (BUENO et al., 2006).

Teste da formalina

Foram administrados aos camundongos (N=10 por grupo), agudamente por via oral, salina (controle negativo), diclofenaco sódico 25 mg/Kg (controle positivo) e extrato 100 mg/Kg (grupo teste); uma hora após, os animais recebem 20 µL da solução de formalina (1%) por aplicação subcutânea na pata esquerda anterior. Logo após a injeção, os animais foram colocados sob campânulas de vidro com observação individual do tempo em que passaram lambendo, mordendo ou agitando vigorosamente a pata, cronometrados nos primeiros 15 min seguintes à injeção (primeira fase) e até 30 min após (segunda fase) (SAWYNOK, LIU, 2003).

Teste de esquiava passiva

Foram utilizados ratos Wistar (N=10 por grupo), os quais foram tratados agudamente com salina via oral (controle negativo), salina via oral seguido de escopolamina 1 mg/Kg i.p. (controle positivo) ou com 100 mg/Kg do extrato seguido de escopolamina 1 mg/Kg i.p. (grupo teste).

O procedimento experimental consistiu em colocar os animais em equipamento que consiste de duas caixas acrílicas, clara e escura (30x21x30 cm cada),

interligadas por uma pequena porta retangular; o assoalho metálico da caixa escura permite a aplicação de choques como estímulo aversivo. A execução envolveu uma fase de treino (ou aquisição) e outra de teste (ou retenção). No treino, colocou-se o animal na parte clara e, após 10 s para alguma adaptação, a passagem entre as câmaras foi aberta e anotou-se o tempo que o animal demorou a entrar na parte escura (latência de aquisição); a passagem entre as câmaras foi fechada e aplicaram-se dois choques nas patas do animal (0,8 mA por 1 s). O animal foi retirado, deixado na gaiola por 24 h e então novamente colocado no equipamento, anotando-se o novo tempo em que demorou em passar da câmara clara à escura (latência de retenção), com tempo máximo de espera de 300 s (GALVÃO et al., 2002).

Teste de avaliação da atividade anticolinesterásica

Empregando-se cromatofolhas de alumínio e sílica gel 60 F₂₅₄ Merck, foi utilizado um sistema cromatográfico (hexano: diclometano: metanol 6:3:1 v/v) eficiente para o extrato bruto da planta (NOVELLO, 2011). Após eliminação do solvente, as cromatoplasmas foram borrifadas com solução aquosa de iodeto de acetiltocolina 1 mM (substrato), em seguida com o reagente de Ellman 1 mM (DTNB) e finalmente com a enzima acetilcolinesterase de peixe elétrico 3 U/mL. A enzima acetilcolinesterase hidrolisa o substrato de acetiltocolina gerando como produto a tiocolina, que reage com o reagente de Ellmann (DTNB) produzindo o 2-nitrobenzoato-5-mercaptotocolina e o 5-tio-2-nitrobenzoato; este último é evidenciado pela coloração amarela que recobre as placas. A inibição da atividade enzimática é verificada pelo surgimento de manchas esbranquiçadas sob um fundo amarelado (ELLMANN et al., 1961; RHEE et al., 2001).

Para a avaliação espectrofotométrica (ELLMANN et al., 1961), em tubos de ensaio foram acrescentados o extrato de *C. sertanejus* em diferentes concentrações (5 a 0,05 mg/mL), o reagente de Ellmann (DTNB 0,13 mM)

e a enzima acetilcolinesterase (3,19 mM). Utilizou-se, como padrão, extrato de guaraná na concentração de 10 mg/mL (TREVISAN et al., 2003) e um controle com apenas o solvente utilizado para solubilizar a amostra. Os ensaios foram feitos em duplicata e a leitura realizada em espectrofotômetro a 405 nm, com oito leituras a cada 13 s, inicialmente sem adição da enzima para medição da hidrólise espontânea, e em seguida com a adição da enzima. Dos resultados após a adição da enzima foram subtraídos os valores da hidrólise não-enzimática que ocorreram antes da adição. A velocidade máxima da reação enzimática foi obtida por regressão linear da medição da diferença da densidade ótica/minuto, usando 8 pontos. O cálculo de inibição enzimática foi obtido pela expressão (SEIDL, 2010):

% inibição = $100 - (\text{taxa da reação amostra} / \text{taxa da reação controle} \times 100)$. Cada concentração foi analisada em triplicata e os resultados expressos em média \pm desvio padrão.

Avaliação estatística

Utilizou-se o GraphPad Software InStat 3.05 aplicando-se ANOVA de uma via seguida pelo teste de comparações múltiplas de Tukey, nos casos significantes. Adotou-se $p \leq 0,05$ como nível mínimo de significância e os resultados estão expressos em média e desvio padrão da média.

RESULTADOS

Testes preliminares

Os dados de avaliação preliminar de potenciais efeitos centrais estão expressos na Tabela 1 e mostraram que o extrato de *C. sertanejus* promoveu diminuição da movimentação motora dos camundongos tratados com a dose de 50 mg/Kg (i.p.) em 120 min de avaliação, mas não aumentou o tempo de sono induzido por hexobarbital nem alterou a coordenação motora dos animais.

Tabela 1. Avaliação preliminar de potenciais efeitos centrais em camundongos tratados agudamente com extrato de *C. sertanejus*.

Teste	Tempo de avaliação (min)	Controle	<i>C. sertanejus</i>	<i>C. sertanejus</i>
			10 mg/Kg	50 mg/Kg
Movimentação espontânea (nº de interrupções do feixe fotoelétrico)	120	1438 ± 800	927 ± 857	605 ± 243*
Tempo de coordenação motora (min)	30	2,60 ± 0,6	2,41 ± 1,0	2,68 ± 0,8
	60	2,94 ± 0,2	2,76 ± 0,8	2,52 ± 0,9
(tempo de permanência na barra em min)	120	2,91 ± 0,3	2,82 ± 0,6	2,52 ± 0,8
Tempo de sono (min)	Latência	2,04 ± 1,1	2,08 ± 1,3	2,11 ± 1,0
	Tempo total	42,3 ± 20,1	47,0 ± 18,7	54,0 ± 22,0

N= 8 ou 10 animais por grupo; dados expressos em média ± desvio padrão. Estatisticamente diferente do controle – ANOVA (*p<0,05 – teste de Tukey)

Testes para avaliação da atividade ansiolítica

Os resultados dos testes do LCE estão apresentados Figura 2 (A e B). É possível verificar diferenças significativas no tempo de permanência na área central (doses de 10 e 50 mg/Kg) e no número de ameaças de entrada nos lados abertos (10 mg/Kg); outros aspectos interessantes, mas sem significância estatística, são o maior tempo nos braços abertos (dose de 10 mg/Kg) e o menor número de bolos fecais nos animais tratados com ambas as doses do extrato. No teste da caixa claro escuro, foram encontrados valores significantes no maior tempo na área clara para os animais tratados com a dose de 10 mg/Kg, com respectivo menor tempo na área escura (Figura 3). Considerados em conjunto, esses dados sugerem possível atividade ansiolítica do extrato de *C. sertanejus*, principalmente na dose de 10 mg/Kg.

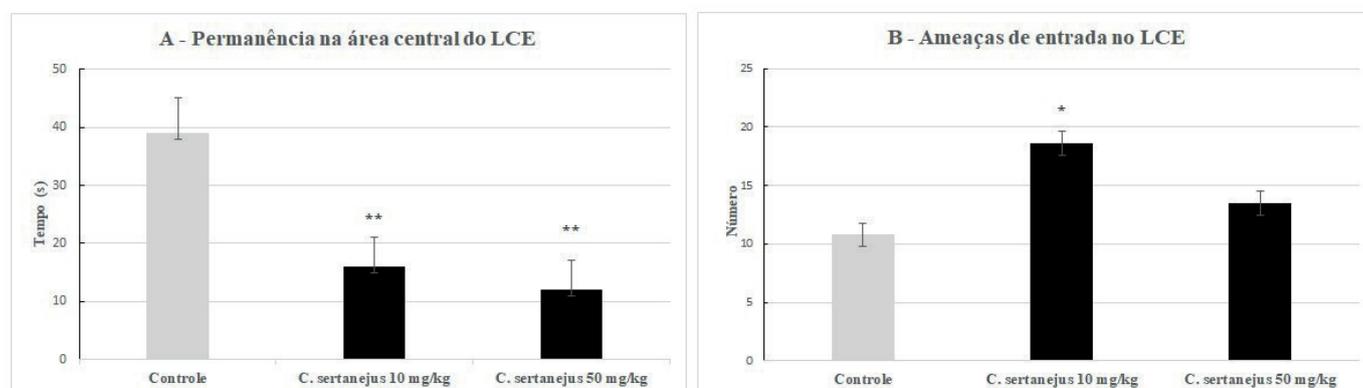


Figura 2. Permanência na área central (A) e Ameaças de entrada (B) no LCE de animais tratados oralmente por 7 dias com extrato de *C. sertanejus*. Dados expressos em tempo (s) e número (média ± desvio padrão); N= 9 e 10 animais por grupo. Estatisticamente diferentes dos controles (ANOVA; *p≤0,05 e **p≤0,01; teste de Tukey).

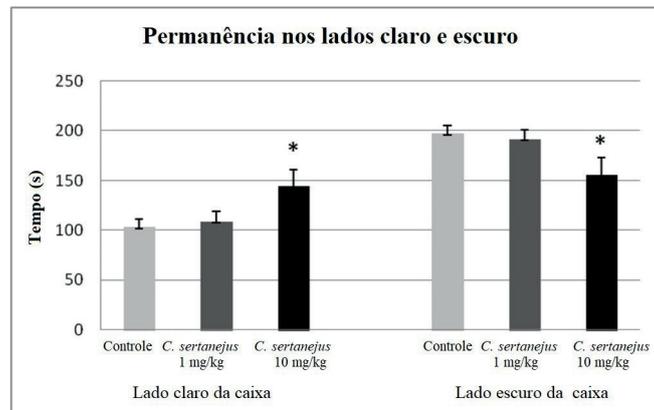


Figura 3. Tempo de permanência nos lados claro e escuro da caixa de animais tratados oralmente por 7 dias com liofilizado de *C. sertanejus*. Dados expressos em tempo (média \pm desvio padrão); N= 10 animais por grupo. Estatisticamente diferente do controle (ANOVA; * $p \leq 0,05$ – teste de Tukey).

Testes para avaliação da atividade antidepressiva

Foram realizados os testes natação forçada com camundongos tratados agudamente via oral com doses de 10 ou 50 mg/Kg (N= 10 por grupo) e de hipotermia induzida por apomorfina com camundongos tratados agudamente via oral com dose de 10 mg/Kg (N= 9 ou 10 por grupo). Em ambos, os resultados obtidos nos grupos tratados não se diferenciam do desempenho dos animais dos grupos controles, evidenciando ausência dessas atividades para o extrato de *C. sertanejus* em tratamento agudo e nas doses utilizadas (dados não mostrados).

Teste da formalina

Os resultados obtidos (Tabela 2) mostram ausência de efeito antinociceptivo do extrato liofilizado na primeira fase (0-15 min) mas aumento significativo no tempo de lambertura das patas na segunda fase (15-30 min) para o grupo *C. sertanejus* 100 mg/Kg no intervalo de 20-25 min. O fármaco do grupo controle positivo, por algum motivo não previsto, também não promoveu os efeitos esperados de redução do tempo de lambertura. Esse resultado indica ausência de efeito antinociceptivo, mas sugere um efeito pró-inflamatório ou de hiperalgesia induzida pelo extrato.

Tabela 2. Tempo de lambedura (em segundos) das patas de animais registrados em diferentes intervalos (min) após tratamento oral agudo com salina (controle), diclofenaco sódico e extrato de *Croton sertanejus*.

Tempos (min)	Salina	Diclofenaco 10 mg/Kg	<i>C. sertanejus</i> 100 mg/Kg
0 – 5	29,4±11,4	47,0±20,4	27,5±12,1
5 – 10	24,4±11,8	33,5±22,3	38,2±17,9
10 – 15	12,4±11,1	18,2±14,0	22,7±24,1
15 – 20	34,6±18,8	37,8±15,7	32,5±24,3
20 – 25	38,8±25,8	37,7±24,0	73,3±40,0*
25 – 30	26,6±38,6	42,5±26,4	56,2±32,2

N= 10 por grupo; dados expressos em média ± desvio padrão. Estatisticamente diferente do controle e diclofenaco (ANOVA; *p<0,01 - teste de Tukey).

Teste de esQUIVA passiva

Os resultados deste teste, um modelo clássico para avaliação de aprendizagem e memória de roedores, não demonstraram diferenças significativas entre os grupos (N= 10), não havendo reversão dos efeitos amnésicos induzidos pela escopolamina nos animais tratados agudamente via oral com 100 mg/Kg do extrato (dados não mostrados).

Teste de avaliação da atividade anticolinesterásica

Essa atividade foi inicialmente avaliada em modelo de CCD na qual a formação de halos brancos nas placas onde anteriormente realizou-se o desenvolvimento do extrato indica inativação da enzima acetilcolinesterase pelas substâncias do extrato de *C. sertanejus*, as quais impedem a geração do produto de degradação citado (íon amarelo) (Figura 4 – à esquerda). Na avaliação espectrofotométrica, os dados obtidos foram

montados em gráfico com densidade ótica versus tempo de leitura obtendo-se a Figura 4 (à direita), com destaque aos valores e resultados mais expressivos.

Considerando-se a linha do controle como 100% de atividade enzimática (tubo sem inibidor da ação da enzima) e comparando-se com os valores dos extratos num mesmo ponto de leitura (p.ex.: tempo 7), verifica-se que o extrato de guaraná inibe 35,5% da ação da acetilcolinesterase; já o extrato de *C. sertanejus* nas concentrações de 1 e 5 mg/mL inibem, respectivamente, 3,2% e 76,8% da ação da enzima, demonstrando em termos quantitativos uma faixa de ação potencial para essa atividade farmacológica, de acordo com a dose utilizada. A partir desses dados estimou-se a IC₅₀ do extrato como sendo de 2,87 mg/mL.

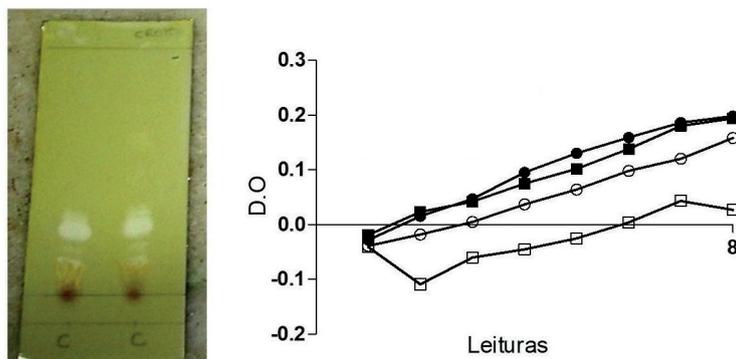


Figura 4. Avaliação da atividade anticolinesterásica do extrato de *C. sertanejus* por CCD (à esquerda) e por espectrofotometria (à direita). Extratos de *C. sertanejus* 1 mg/mL (■) e 5 mg/mL (□), de guaraná 10 mg/mL (○) em relação ao controle (●).

DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou o efeito de *C. sertanejus* em modelos de sistema nervoso central para caracterizar farmacologicamente essa espécie, bem como buscou avaliar se os caules da marapuama nordestina podem ser sucedâneos comerciais às raízes da marapuama amazônica.

Os resultados mostraram que o extrato liofilizado de *C. sertanejus* promove um efeito depressor no teste da atividade locomotora na dose de 50 mg/Kg, apresenta um efeito tipo ansiolítico expresso em três parâmetros dos dois modelos animais utilizados, bem como inibe a enzima acetilcolinesterase *in vitro*; adicionalmente, mostra também um efeito de hiperalgia na dose de 100 mg/Kg no modelo da formalina. O efeito tipo ansiolítico de *C. sertanejus* é interessante e deve ser melhor explorado em pesquisas futuras pelo interesse clínico nesse efeito farmacológico.

Na comparação entre as espécies, os efeitos de *C. sertanejus* mostram similaridade com *P. olacoides* na redução da atividade locomotora (PAIVA et al., 1998) e na positividade no teste anticolinesterásico (FIGUEIRÓ et al., 2010). Cabe salientar que, apesar do extrato de *C. sertanejus* apresentar atividade inibitória *in vitro* sobre a enzima acetilcolinesterase, relacionada a sistemas centrais ligados à memória, o tratamento não reverteu os efeitos amnésicos da escopolamina em tratamento

agudo, enquanto os efeitos benéficos sobre a melhora de roedores jovens e adultos foi amplamente avaliada para o *P. olacoides* (SILVA et al., 2004). No entanto, novas avaliações após tratamentos crônicos e em outros modelos seriam oportunas para confirmação do potencial indicado no efeito *in vitro*.

Quanto às diferenças, o efeito tipo ansiolítico de *C. sertanejus* é oposto ao obtido para *P. olacoides*, que mostrou perfil ansiogênico (SILVA et al., 2002); os testes de atividade antidepressiva foram negativos para *C. sertanejus*, em contraposição aos efeitos de *P. olacoides* (neste caso, com as cascas dos caules), que reduziram o tempo de imobilidade no modelo da natação forçada evidenciando potencial antidepressivo (PAIVA et al., 1998; PIATO et al., 2009). Quanto aos outros modelos farmacológicos (coordenação motora, tempo de sono e teste da formalina), não foram encontrados estudos com *P. olacoides* que permitissem comparações.

Em relação ao efeito de aumento do tempo de lambadura no teste da formalina, encontrado nesta pesquisa, deve ser destacado como um aspecto negativo e provavelmente indicativo de uma reação adversa com indução de hiperalgesia. Vale citar que há dados de outras espécies de *Croton* com efeitos anti-inflamatórios bem como das sementes de *C. tiglium* L. do qual se extrai o óleo de *Croton*, um clássico agente inflamatório (SALATINO et al., 2007). Novas pesquisas

são necessárias para adequado entendimento desse efeito em relação ao uso clínico.

CONCLUSÕES

Pelos resultados obtidos, pode-se concluir que os caules de *C. sertanejus* apresentam perfil farmacológico distinto das raízes de *P. olacoides*, não se caracterizando como uma droga vegetal sucedânea da muirapuama amazônica, pois os perfis farmacológicos das duas espécies se mostraram distintos, não devendo ser consideradas sinônimas ou intercambiáveis.

É evidente também a diferença entre o volume e diversidade de estudos disponíveis, amplamente favoráveis à *P. olacoides* e realizados com material vegetal da região amazônica. No entanto, sem uma cadeia adequada de produção do material vegetal e abastecimento de mercado, esse volume de literatura apenas acaba estimulando a adulteração comercial, a produção de fitoterápicos e cosméticos com material incorreto e mesmo induzindo a erros de pesquisas químicas e farmacológicas, o que piora progressivamente o correto entendimento das espécies e seus efeitos.

Novas pesquisas com *C. sertanejus*, incluindo avaliações das suas raízes, são oportunas para aprofundar os dados preliminares aqui expostos e contribuir ao completo entendimento dos efeitos dessa espécie.

DECLARAÇÃO DE CONFLITO DE INTERESSE

Nada a declarar

REFERÊNCIAS

BERNARDI, M.M.; DE SOUZA-SPINOSA, H.; BATATINHA, M.J.; GIORGI, R. *Croton zehntneri*: possible central nervous system effects in rodents. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 33, n. 3, p. 285-287, 1991. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(91\)90090-z](https://doi.org/10.1016/0378-8741(91)90090-z).

BEZERRA, A.G.; MENDES, F.R.; TABACH, R.; CARLINI, E.A. Effects of a hydroalcoholic extract of *Turnera diffusa* in tests for adaptogenic activity. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 21, n. 1, p. 121-127, 2011. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2011005000019>.

BUENO, A.X.; MOREIRA, A.T.S.; SILVA, F.T.; ESTEVAM, C.S.; MARCHIORO, M. Effects of the aqueous extract from *Hyptis pectinata* leaves on rodent central nervous system. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 16, n. 3, p. 317-323, 2006. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2006000300007>.

CARLINI, E.A. Plants and the central nervous system. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 75, n. 3, p. 501-512, 2003. [https://doi.org/10.1016/s0091-3057\(03\)00112-6](https://doi.org/10.1016/s0091-3057(03)00112-6).

ELIZABETSKY, E.; SIQUEIRA, I. Marapuama. **Revista Racine**, v.8, n.43, p.16-19, 1998.

ELLMANN, G.L.; COURTNEY, K.D.; ANDRES, J.R.V.; FEATHERSTONE, R.M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical pharmacology**, v. 7, n. 2, p. 88-95, 1961. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(61\)90145-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(61)90145-9).

ESTANISLAU, C.; RAMOS, A.C.; FERRARESI, P.D.; COSTA, N.F.; CARVALHO, H.M.C.P.; BATISTELA, S. Individual differences in the elevated plus-maze and the forced swim test. **Behavioral Processes**, v. 86, n. 1, p. 46-51, 2011. [10.1016/j.beproc.2010.08.008](https://doi.org/10.1016/j.beproc.2010.08.008).

FIGUEIRÓ, M.; ILHA, J.; POCHMANN, D.; PORCIÚNCULA, L.O.; XAVIER, L.L.; ACHAVAL, M.; NUNES, D.S.; ELISABETSKY, E. Acetylcholinesterase inhibition in cognition-relevant brain areas of mice treated with a nootropic Amazonian herbal (Marapuama). **Phytomedicine**, v. 17, n. 12, p. 956-962, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2010.03.009>.

GALVÃO, S.M.; MARQUES, L.C.; OLIVEIRA, M.G.; CARLINI, E.A. *Heteropterys aphrodisiaca* (extract

BST0298): a Brazilian plant that improves memory in aged rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 79, n. 3, p. 305-311, 2002. [https://doi.org/10.1016/s0378-8741\(01\)00402-0](https://doi.org/10.1016/s0378-8741(01)00402-0).

MATOS, L.M.M. **Química de espécies nativas de Croton L. (Euphorbiaceae)**. 2011. Dissertação (Mestrado em Botânica). Instituto de Biociências/USP, São Paulo.

MATA, A.A. **Flora médica brasiliense**. Manaus: Valer Editora, 1912.

MENDES, F.R.; CARLINI, E.A. Brazilian plants as possible adaptogens: An ethnopharmacological survey of books edited in Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 109, n.3, p. 493-500, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.08.024>.

NOVELLO, C.R.; DÜSMAN, E.; BALBINOT, R.B.; PAULA, J.C.; NAKAMURA, C.V.; MELLO, J.C.P.; SARRAGIOTTO, M.H. Antileishmanial activity of neo-clerodane diterpenes from *Croton echioides*. **Natural Product Research**, v. 36, n. 4, p. 925-931, 2022. <https://doi.org/10.1080/14786419.2020.1851221>.

NOVELLO, C.R.; KUTSCHENKO, A.P.; PIRES, M.E.V.; MARQUES, L.C.; VIDOTTI, G.J.; SARRAGIOTTO, M.H.; MELLO, J.C.P. Antioxidant capacities of indole alkaloids from *Croton echioides*. In: **V Simpósio Iberoamericano de Plantas Mediciniais**, 2010, Itajai. V Simpósio Iberoamericano de Plantas Mediciniais, 2010. v. CD1.

NOVELLO, C.R. **Estudo fitoquímico e biológico do lenho de Croton echioides (Baill.) Euphorbiaceae**. 2011. Tese (Doutorado em Química). Departamento de Química - Universidade Estadual de Maringá. Maringá, PR.

NOVELLO, C.R.; MARQUES, L.C.; MIYAZAKI, C.R.; MILANEZE-GUTIERRE, M.A.; CARNEIRO-TORRES, D.S.; SARRAGIOTTO, M.H.; MELLO, J.C.P. Morphoanatomy and pharmacognostic study of the wood of *Croton echioides*, the Northeastern Marapuama. **Revista**

Brasileira de Farmacognosia, v. 22, p. 946-956, 2012. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2012005000062>.

PAIVA, L.A.F.; RAO, V.S.N.; SILVEIRA, E.R. Effects of *Ptychopetalum olacoides* extract on mouse behavior in forced swimming and open field tests. **Phytotherapy Research**, v. 12, n. 4, p. 294-296, 1998. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1573\(199806\)12:4<294::AID-PTR230>3.0.CO;2-3](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1573(199806)12:4<294::AID-PTR230>3.0.CO;2-3).

PANOSSIAN, A.; BRENDLER, T. The role of adaptogens in prophylaxis and treatment of viral respiratory infections. **Pharmaceuticals**, v. 13, n. 9, p.236, 2020. <https://doi.org/10.3390/ph13090236>

PELLOW, S.; CHOPIN, P.; FILE, S.E.; BRILEY, M. Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 14, n. 3, p. 149-167, 1985. [https://doi.org/10.1016/0165-0270\(85\)90031-7](https://doi.org/10.1016/0165-0270(85)90031-7).

PIATO, A.L.; DETANICO, B.C.; LINCK, V.M.; HERRMANN, A.P.; NUNES, D.S.; ELISABESTKY, E. Anti-stress effects of the "tonic" *Ptychopetalum olacoides* (Marapuama) in mice. **Phytomedicine**, v. 17, n. 3-4, p. 248-253, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2009.07.001>.

PIATO, A.L.; RIZON, L.P.; MARTINS, B.S.; NUNES, D.A.; ELISABESTKY, E. Antidepressant profile of *Ptychopetalum olacoides* Benth (Marapuama) in mice. **Phytotherapy Research**, v. 23, n. 4, p. 519-524, 2009. <https://doi.org/10.1002/ptr.2664>.

REIS, L.F.; MENDES, F.R. *Ptychopetalum olacoides* Benth. In: **Medicinal and Aromatic Plants of South America. Brazil**. 1.ed. Dordrecht: Springer Nature BV, 2018. v.5, p.401-411.

RHEE, I.K.; VAN DE MEENT, M.; INGGANINAN, K.; VERPOORTE, R. Screening for acetylcholinesterase inhibitors from Amaryllidaceae using silica gel thin-layer chromatography in combination with bioactivity staining. **Journal of Chromatography A**, v. 915, n. 1-2, p. 217-223, 2001. <https://doi.org/10.1016/s0021->

9673(01)00624-0.

SALATINO, A.; SALATINO, M.L.F.; NEGRI, G. Traditional uses, chemistry and pharmacology of *Croton* species (Euphorbiaceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 18, p. 11-33, 2007. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532007000100002>.

SAWYNOK, J.; LIU, X.J. The formalin test: characteristics and usefulness of the model. **Reviews in Analgesia**, v. 7, n. 2, p. 145-163, 2003. <https://doi.org/10.3727/000000003783992982>.

SEIDL, C. **Pesquisa de substâncias naturais inibidoras da acetilcolinesterase**. 2010. Dissertação (Mestrado em Farmácia). Departamento de Farmácia / Universidade Federal do Paraná. Curitiba, PR.

SILVA, A.L.; BARDINI, S.; NUNES, D.S.; ELISABETSKY, E. Anxiogenic properties of *Ptychopetalum olacoides* Benth. (marapuama). **Phytotherapy Research**, v. 16, n. 3, p. 223-226, 2002. <https://doi.org/10.1002/ptr.825>.

SILVA, A.L.; PIATO, A.L.S.; BARDINI, S.; NETTO, C.A.; NUNES, D.S.; ELISABETSKY, E. Memory retrieval improvement by *Ptychopetalum olacoides* in young and aging mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 95, n. 2-3, p. 199-203, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.07.019>.

SILVA, R.A.D. Muirapuama: plantas medicinaes do Brasil. **Revista da Flora Medicinal** v. 1, n. 8, p. 383-392, 1935.

SILVA, R.A.D. **Pharmacopéia dos Estados Unidos do Brasil**. 1ª ed. São Paulo: Nacional, 1926.

SIQUEIRA, I.R.; FOCESATTO, C.; SILVA, A.L.; NUNES, D.S.; BATTATINI, A.M.; NETTO, C.A.; ELISABETSKY, E. *Ptychopetalum olacoides*, a traditional Amazonian "nerve tonic", possesses anticholinesterase activity. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 75, n. 3, p. 645-650, 2003. [https://doi.org/10.1016/S0091-3057\(03\)00113-8](https://doi.org/10.1016/S0091-3057(03)00113-8).

SODRÉ, R.C.; SILVA, M.J. da. *Croton sertanejus*, a new species from seasonally dry tropical forest in Brazil, and redescription of *C. echioides* (Euphorbiaceae). **European Journal of Taxonomy**, v. 839, p. 14-38, 2022. <https://doi.org/10.5852/ejt.2022.839.1929>

TOBIAS, M.L.; OLIVEIRA, F.; OLIVEIRA, K.P.; MARQUES, L.C. Controle de qualidade de drogas vegetais de farmácias de manipulação de Maringá (Paraná-Brasil). **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 4, n. 1, p. 95-103, 2007. <https://doi.org/10.5216/ref.v4i1.2126>.

TREVISAN, M.T.S.; MACEDO, F.V.V.; VAN DE MEENT, M.; RHEE, I.K.; VERPOORTE, R. Seleção de plantas com atividade anticolinesterase para tratamento da doença de Alzheimer. **Química Nova**, v. 26, n. 3, p. 301-304, 2003. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422003000300002>.

VENDRUSCOLO, I.; VENTURELLA, S.R.T.; BRESSIANI, P.A.; MARCO, I.G.; NOVELLO, C.R.; ALMEIDA, I.V.; VICENTINI, V.E.P.; MELLO, J.C.P.; DÜSMAN, E. Cytotoxicity of extracts and compounds isolated from *Croton echioides* in animal tumor cell (HTC). **Brazilian Journal of Biology**, v. 82, p. e264356, 2022. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.264356>. eCollection 2022.

WANG, H.; CHEN, Y.; WANG, L.; LIU, Q.; YANG, S.; WANG, C. Advancing herbal medicine: enhancing product quality and safety through robust quality control practices. **Frontiers in pharmacology**, v.14, p.1265178, 2023. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1265178>

ZAUPA, C.; CARRASCHI, L.; SILVA, E.A.; CHANKE, A.L.S.; USHIROBIRA, T.M.A.; MARQUES, L.C. Controle de qualidade farmacobotânico e legal de fitoterápicos comercializados nas farmácias de Maringá (PR). **Revista Racine**, v. 10, n. 58, p. 32-38, 2000.