



## Avaliação Preliminar da Atividade Biológica e Toxicidade Aguda de *Vitex gardneriana* Schauer (Verbenaceae)

Lívia C.L. SÁ-BARRETO <sup>1\*</sup>, M.S.S. CUNHA-FILHO <sup>2</sup>, Ivone A. SOUZA <sup>3</sup>,  
Maria C. FRAGA <sup>4</sup> & Haroudo S. XAVIER <sup>3</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad de Santiago de Compostela (USC), 15782, España.

<sup>2</sup> Escola de Farmácia, Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP), Rua Costa Sena, N° 171, Centro, 35400-000, Ouro Preto/MG, Brasil.

<sup>3</sup> Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Av. Prof. Arthur de Sá, S/N, Cidade Universitária, 50740-521, Recife/PE, Brasil.

<sup>4</sup> Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Av. Prof. Moraes Rego, S/N, Cidade Universitária, 50670-901, Recife/PE, Brasil.

**RESUMO.** O presente trabalho investigou pela primeira vez a atividade biológica e a toxicidade aguda de *Vitex gardneriana* Schauer, planta de utilização popular encontrada no sertão nordestino do Brasil. A toxicidade aguda, determinada por via oral e intraperitoneal, e diferentes atividades farmacológicas (antimicrobiana, anti-inflamatória, analgésica e hipnótica) foram pesquisadas utilizando soluções aquosas dos extratos brutos das cascas do caule e das folhas. Não se detectou sinais de toxicidade em nenhuma das doses testadas (250-2000 mg/kg). Foram encontrados relevantes efeitos farmacológicos nos extratos das folhas, que apresentaram ações anti-edematogênicas, antinociceptivas e sedantes. Os resultados encontrados corroboram a utilização popular de *V. gardneriana* e sugerem um excelente potencial terapêutico.

**SUMMARY.** "Preliminary Assay of Biological Activity and Acute Toxicity of *Vitex gardneriana* Schauer (Verbenaceae)". The biological activity and the acute toxicity of *Vitex gardneriana* Schauer, a medicinal plant with popular use, were investigated. Acute toxicity after oral and intraperitoneal administration, antimicrobial, anti-inflammatory, analgesic and hypnotic tests were carried out using leaves and stem bark aqueous extracts. No signs of toxicity were found in the dosage range tested (250-2000 mg/kg). Important pharmacological effects were found for leaves extract, which presented anti-edematogenic, anti-nociceptive and sedative actions. These results corroborate the popular use of *V. gardneriana* and point out a promising therapeutic potential.

### INTRODUÇÃO

*Vitex gardneriana* Schauer (Verbenaceae) é uma árvoreta encontrada no sertão nordestino do Brasil, freqüentemente às margens ou ao leito dos rios não perenes. Conhecida por "Jaramataia" é utilizada popularmente como anti-inflamatório e analgésico. A literatura descreve escassos estudos sobre esta espécie e seu potencial farmacológico está praticamente inexplorado <sup>1,2</sup>.

Em contrapartida, existem numerosos estudos científicos com outras espécies de *Vitex*, como se pode observar na Tabela 1 (base de dados Scifinder Scholar, American Chemical Society). Várias destas espécies aparecem incorpora-

das a fitoterápicos comercializados em que se descrevem inúmeras atividades terapêuticas (Fig. 1). Com destaque para *V. Negundo* L., utilizada para artrite reumatóide, como anti-helmíntico e expectorante <sup>3</sup>, *Vitex agnus-castus* L., utilizada no combate a síndrome pré-menstrual com eficácia clínica comprovada e *Vitex trifolia* Vahl <sup>4</sup>, destacando-se por sua ação anti-tripanosômica e anti-cancerígena <sup>5,6</sup>.

Foi objetivo desse estudo avaliar o potencial farmacológico de *Vitex gardneriana* Schauer sugerido pelo uso popular desta espécie, assim como de outras ações farmacológicas comumente descritas em representantes do gênero *Vitex* (Fig. 1). Foram realizados ensaios de atividade

**PALAVRAS CHAVE:** Atividade biológica, Toxicidade aguda, *Vitex gardneriana*.

**KEY WORDS:** Acute toxicity, Biological activity, *Vitex gardneriana*.

\* Autor a quem correspondência deve ser enviada. E-mail: liviabarretofarm@hotmail.com

| Espécies       | <i>V. agnus-castus</i> | <i>V. canescens</i> | <i>V. cannabifolia</i> | <i>V. glabrata</i> | <i>V. leptobotrys</i> | <i>V. limoniifolia</i> | <i>V. lucens</i> | <i>V. megapota mica</i> | <i>V. negundo</i> | <i>V. peduncularis</i> | <i>V. pinnata</i> | <i>V. polygama</i> | <i>V. rotundifolia</i> | <i>V. trifolia</i> |
|----------------|------------------------|---------------------|------------------------|--------------------|-----------------------|------------------------|------------------|-------------------------|-------------------|------------------------|-------------------|--------------------|------------------------|--------------------|
| Nº publicações | 179                    | 6                   | 21                     | 6                  | 4                     | 4                      | 16               | 5                       | 224               | 17                     | 12                | 7                  | 75                     | 116                |

Tabela 1. Principais espécies pesquisadas no gênero *Vitex* sp.

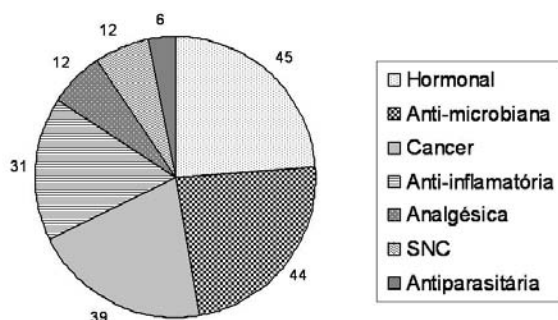


Figura 1. Ações farmacológicas mais frequentes encontradas no gênero *Vitex* sp.

antimicrobiana, anti-inflamatória, analgésica e hipnótica. A toxicidade aguda também foi pesquisada.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Material Vegetal

Extratos metanólicos das cascas do caule (EMC) e das folhas (EMF) de *Vitex gardneriana* Schauer foram obtidos a partir de material vegetal coletado no município de São José das Espinharas, Paraíba/Brasil e catalogado no herbário Dárdano de Andrade Lima da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA), com número de identificação 60308. Os extratos metanólicos foram evaporados à secura, sob pressão reduzida a 30 °C e em seguida solubilizados em água para realização dos ensaios aqui descritos.

### Animais

Os animais utilizados neste estudo, ratos adultos Wistar (*Rattus norvegicus*), com peso compreendido entre 200 e 300 g, e camundongos Swiss (*Mus musculus* var. *albinus*), foram obtidos no biotério do Departamento de antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco/Brasil (UFPE) e aclimatados em condições controladas de iluminação (ciclos de 12 h claro/escuro) a 25 ± 2 °C. Durante o período de experimentação receberam água *ad libitum* e fi-

caram privados de alimento por 12 h antes do ensaio. A Manutenção, alimentação, tratamento e eutanásia dos animais experimentais obedeceram a práticas éticas recomendadas pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (Cobea) segundo as boas práticas de laboratório e o projeto de lei 1153/1995 da República Federativa do Brasil.

### Ensaios biológicos

#### Toxicidade aguda

Este estudo foi realizado por via oral (v.o.) e intraperitoneal (i.p.) em grupos contendo 7 camundongos cada, de ambos os sexos e com 3 meses de idade, segundo protocolo usualmente descrito <sup>7</sup>. Os animais foram tratados com solução aquosa do EMF e do EMC, nas doses de 250, 500, 1000 e 2000 mg/kg e observados por 4 h. O grupo controle recebeu solução salina 0,9 % (p/v). Efeitos tais como: alterações na postura, motilidade, depressão, frequência respiratória foram acompanhados <sup>8</sup>. Decorrido este período, os animais receberam ração e água à vontade, sendo observados depois de 24 e 72 h.

#### Atividade antimicrobiana

A atividade antimicrobiana dos EMF e EMC foi avaliada pelo método de difusão em meio sólido ágar, em discos de papel de filtro de 6 mm de diâmetro e peso de 30 mg, impregnado com 20 µL dos extratos a 200 mg/mL <sup>9</sup>.

Para este ensaio foram utilizadas cepas bacterianas gran-positivas e gran-negativas de *Micrococcus flavus* (DAUFPE 323), *Staphylococcus aureus* (IC 133 e IC 138) e *Pseudomonas mirabilis* (IC 03), cultivadas em meio ágar Mueller-Hinton (Merk). As leveduras *Candida albicans* (DAUFPE 1007) e *Candida krusei* (DAUFPE 1002) foram cultivadas em ágar Saboraud (DIFCO).

As culturas foram inoculadas em 106 UFC/mL e incubadas a 37 °C por 24 h. Após este período foram realizadas as medições de diâmetro dos halos de inibição em torno aos dis-

cos. Sendo considerado como padrão de sensibilidade os halos de inibição iguais ou superiores a 10 mm<sup>10</sup>. Foi utilizado, como controle positivo, solução de tetraciclina na concentração de 1 mg/mL obtendo sempre halos de inibição superiores a 15 mm.

#### *Atividade anti-edematogênica*

A atividade anti-inflamatória de *Vitex gardneriana* foi testada através do ensaio do edema de pata induzido por carragenina, em grupos contendo 5 ratos machos cada. O edema na pata foi provocado através de uma injeção de 0,1 mL de carragenina a 1% (p/v) na região subplantar da pata direita traseira<sup>11</sup>. Em seguida, procedeu-se a administração (v.o.) dos grupos controle negativo, controle positivo e teste, com água destilada, indometacina (10 mg/kg) e solução aquosa de EMF e EMC (1000 mg/kg), respectivamente. As medições do incremento de volume da pata foram feitas em intervalos constantes de 60 min durante 6 h, utilizando um hidropletismômetro (UGO Basile/Itália, modelo 7150).

#### *Atividade antinociceptiva*

A avaliação da atividade analgésica foi realizada através do teste de contorções abdominais, descrito por Koster *et al.*<sup>12</sup>. Grupos contendo seis camundongos cada, de ambos os sexos, foram tratados (v.o.) com água destilada (controle negativo), indometacina (10 mg/kg) (controle positivo) e solução aquosa de EMF (1000 mg/kg). Após 30 min, administrou-se por via i.p. solução de ácido acético 0,8 % (p/v) em água destilada (10 mL/kg). Os animais foram colocados em campo aberto e o número de contorções da parede abdominal seguida de torções do tronco e extensão dos membros posteriores foram contados durante 30min.

#### *Atividade hipnótica*

Grupos de dez camundongos cada, de ambos os sexos, foram tratados (v.o.) com solução aquosa de EMC e EMF nas concentrações de 1000 e 2000 mg/mL. O grupo controle recebeu (v.o.) solução salina a 0,9% (p/v). Após 1h, foi administrada uma solução de pentobarbital sódico por via intraperitoneal na concentração de 50 mg/mL. A partir da administração do barbitúrico começou a contagem do tempo decorrido até a sedação dos animais (tempo de latência). O período de recuperação foi considerado a partir do início do sono até o retorno ao estado de vigília<sup>13</sup>.

#### **Análise estatística**

A análise estatística dos dados foi realizada por análise de variância (ANOVA) de uma via, seguida pelo teste da diferença mínima significativa realizado pelo programa Statgraphics® versão plus, com um nível de significância estabelecida em 5%.

#### **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Baseando-se no estudo fitoquímico descrito por Sá Barreto *et al.*<sup>2</sup>, que reporta uma maior concentração de metabólitos secundários para os extratos metanólicos das cascas do caule (EMC) e das folhas (EMF) de *Vitex gardneriana* Schauer, estes extratos foram selecionados para realização dos estudos biológicos.

#### **Toxicidade aguda**

Durante o período de observação, os animais que receberam as maiores dosagens (1000 e 2000 mg/kg) de EMF e EMC apresentaram após 10 min, piloereção e movimentos estereotipados, como lambe as patas. Após 30 min, todos os grupos tratados apresentaram diminuição da motilidade e sedação. Este comportamento pode estar relacionado com a atividade neurológica desta planta, como se comprova na seção de atividade antinociceptiva.

Decorrido o tempo de 72 h após a administração, não houve mortes nem sinais de toxicidade em nenhum dos grupos tratados, revelando uma DL<sub>50</sub> superior a 2000 mg/kg. A inocuidade dos extratos de *V. gardneriana* corrobora sua utilização popular, fazendo-o adequado, do ponto de vista toxicológico, para uma possível utilização terapêutica.

#### *Atividade antimicrobiana*

Nenhum dos extratos avaliados apresentou halos de inibição considerados relevantes frente aos microrganismos testados (Tabela 2). No entanto, se pode apreciar, para os EMF, uma fraca atividade inibitória antifúngica contra *C. Krusei* e também contra bactérias gram-positivas de *S. aureus*.

#### **Atividade anti-edematogênica**

A ação anti-inflamatória é um dos efeitos farmacológicos mais descritos em espécies de *Vitex* (Fig. 1) e foi explorada neste estudo nos extratos do caule e folhas de *V. gardneriana*. Os resultados obtidos (Fig. 2) expressam o volume do edema (mL) em função do seu tempo de indução (h). O EMC não apresentou efeito redutor do edema, com um perfil de inflamação similar

| Cepas microbianas                | Diâmetro dos halos de inibição (mm) |     |
|----------------------------------|-------------------------------------|-----|
|                                  | EMC                                 | EMF |
| <i>M. flavus</i> – DAUFPE 323    | (-)                                 | (-) |
| <i>S. aureus</i> – IC 133        | (-)                                 | 8   |
| <i>S. aureus</i> – IC 138        | (-)                                 | 7   |
| <i>P. mirabilis</i> – IC 03      | (-)                                 | (-) |
| <i>C. albicans</i> – DAUFPE 1007 | (-)                                 | (-) |
| <i>C. krusei</i> – DAUFPE 1002   | (-)                                 | 8   |

**Tabela 2.** Avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos metanólicos de *Vitex gardneriana* Schauer através da técnica de difusão em agar. Expressão dos resultados: (-) = ausência de inibição.

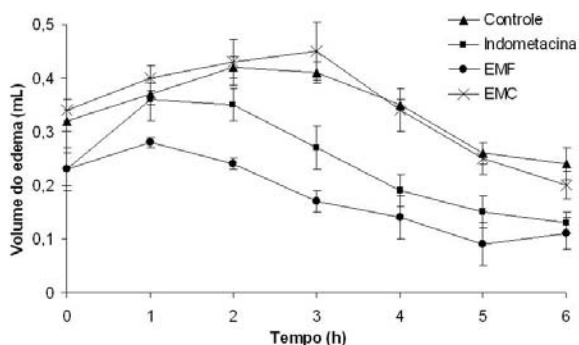
ao grupo controle negativo. Para o EMF, se detectou uma importante ação anti-edematogênica, em todas as fases do processo inflamatório, sugerindo um efeito inespecífico<sup>14</sup>. A atividade conseguida para EMF foi bastante expressiva mesmo quando comparada com o grupo controle positivo de indometacina. No tempo de 3 horas, pico inflamatório, a redução do edema foi 60% superior ao grupo não tratado e 20% superior ao conseguido pela indometacina. O edema induzido por carragenina é provocado pela síntese e liberação de prostaglandinas e tem sido aceito como modelo experimental na pesquisa de novos fármacos anti-inflamatórios, sendo frequentemente utilizado na avaliação de produtos naturais<sup>14-16</sup>. É provável que a potente ação anti-edematogênica observada no EMF esteja relacionada com a presença de flavonóides e esteróides, encontrados em grande quantidade nos EMF desta espécie<sup>2</sup>.

#### Atividade antinociceptiva

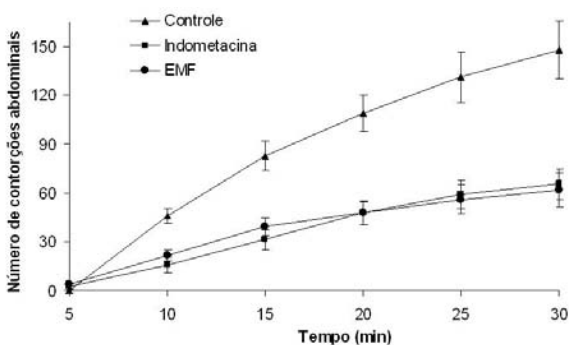
A maioria das ações anti-inflamatórias são acompanhadas de efeito analgésico acarretado pela liberação de serotonina, histamina, bradiquinina e prostaglandinas<sup>16</sup>. Para avaliação da atividade analgésica de *V. gardneriana* foi selecionado o EMF por apresentar propriedades anti-inflamatórias (ver ensaio de atividade anti-edematogênica). O extrato da folha, na concentração de 1000 mg/kg apresentou importante atividade antinociceptiva (Fig. 3), proporcionando uma inibição das contorções abdominais em 60%, estatisticamente superior ao conseguido pelo controle positivo de indometacina (55%), corroborando o uso popular desta planta como analgésico<sup>17</sup>.

#### Atividade hipnótica

Existe atualmente um grande interesse pelas



**Figura 2.** Efeito de EMF e EMC de *V. gardneriana* e da indometacina sobre o edema da pata de rato induzida por carragenina.



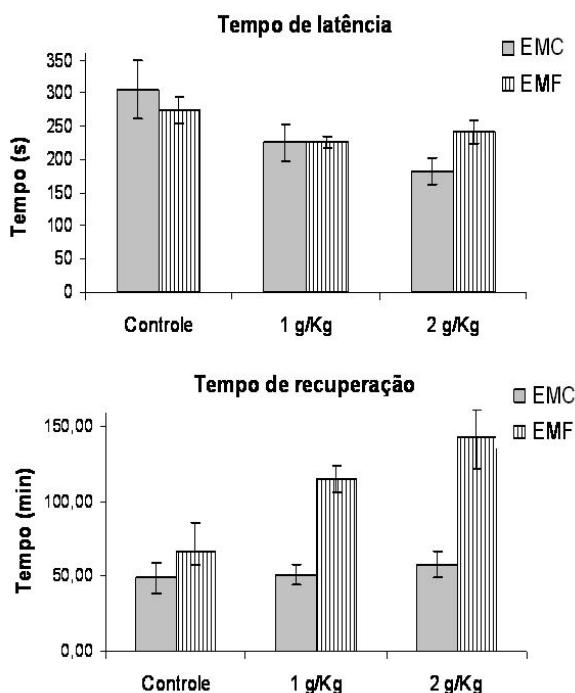
**Figura 3.** Efeito do EMF de *V. gardneriana* e da indometacina sobre o número de contorções abdominais.

substâncias naturais que apresentem insignificante toxicidade e que sejam capazes de atuar ao nível do SNC, particularmente as que possuam efeitos hipnóticos. Uma substância possui propriedades hipnóticas quando reduz a latência do sono (tempo de latência) ou aumenta sua duração total (tempo de recuperação)<sup>18</sup>.

No estudo realizado, durante o período de latência não se conseguiu um efeito apreciável no tempo de início do sono (Fig. 4). No entanto, na avaliação da capacidade de prolongar o sono barbitúrico (tempo de recuperação) representada na Figura 4, o extrato das folhas (EMF) proporcionou um incremento no tempo de recuperação, cerca de três vezes superior ao obtido pelo grupo controle. O potente efeito hipnótico do EMF parece ser dose-independente, visto que não houve diferença estatística entre as dosagens utilizadas de 1000 mg/kg e 2000 mg/kg.

#### CONCLUSÕES

Os estudos farmacológicos e toxicológicos realizados propiciaram um maior conhecimento



**Figura 4.** Efeito do EMF e EMC de *V. gardneriana* no tempo de latência e recuperação do sono barbitúrico.

da espécie *Vitex gardneriana* Schauer, ainda pouco estudada. A ausência de toxicidade aguda, unido a efeitos anti-edematogênico, antinociceptivo e hipnótico, especialmente potente nos extratos das folhas, evidenciam promissor potencial terapêutico para esta espécie.

**Agradecimentos.** Os autores agradecem a Dra. Rita de Cássia Araújo Pereira, da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária – IPA/Brasil, pela identificação botânica e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq/Brasil.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Sá Barreto, L.C.L., H.S. Xavier, J.M. Barbosa-Filho & R. Braz-Filho (2005) *Rev. Bras. Farmacogn.* **15**: 51-4.
- Sá Barreto L.C.L., E.F.N. Carvalho, M.S.S. Cunha-Filho, C.P. Ferreira & H.S. Xaxier (2007) *Lat. Am. J. Pharm.* **26**: 339-43.
- Srinivas K. & M.B.V. Raju (2002) *Asian J. Chem.* **14**: 565-9.
- Wuttke W., H. Jarry, V. Christoffel, B. Spengler & D. Seidlova-Wuttke (2003) *Phytomedicine* **10**: 348-57.
- Kiuchi F., K. Matsuo, M. Ito, T.K. Qui & G. Honda (2004) *Chem. Pharm. Bull.* **52**: 1492-4.
- Li W., C. Cui, B. Cai, H. Wang & X. Yao (2005) *J. Asian Nat. Prod. Res.* **7**: 615-26.
- Caparroz-Assef, S.M., R. Grespan, R.C.F. Batista, F.A. Bersani-Amado, S. Baroni, J.A. Dantas, R.K.N. Cuman & C.A. Bersani-Amado (2005) *Acta Sci. Health. Sci.* **27**: 41-4.
- Malone, R.A (1977) "New Natural products and Plant Drugs with Pharmacological, Biological or Therapeutical Activity", Springer-Verlag, Berlin, p.1- 54.
- Bawer, A.W., W.M. Kirby, S.C. Sherris & M. Turck (1996) *Am. J. Clin. Patbol.* **45**: 493-496.
- Nunes X.P., G.L.A. Maia, J.R.G.S. Almeida, F.O. Pereira & M. Lima (2006) *Rev. Bras. Farmacogn.* **16**: 642-4.
- Winter C.A., E.A. Risley & G.W. Nuss (1962) *Proc. Soc. Exp. Biol.* **111**: 544-7.
- Koster R., M. Anderson & E.J. De Beer (1959) *Fed. Proc.* **18**: 412-6.
- Carlini E.A (1973), "Farmacologia Prática sem aparelhagem" Sarvier, São Paulo.
- Sousa P.J.C., J.C.S. Rocha, A.M. Pessoa, L.A.D. Alves, J.C.T. Carvalho (2005) *Rev. Bras. Farmacogn.* **15**: 60-4.
- Dutra R.C., C.Z. Tavares, S.O. Ferraz, O.V. Sousa & D.S. Pimenta (2006) *Rev. Bras. Farmacogn.* **16**: 469-74.
- Yonathan M., K. Asres, A. Assefa & F. Bucar (2006) *J. Ethnopharm.* **108**: 462-70.
- Braga, R (1976) "Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará" Mossoroense, Fortaleza.
- De-Souza M.M., M. Garbeloto, K. Denez & E. Mangrich (2006) *Rev. Bras. Farmacogn.* **16**: 365-71.