

YARA EMILIA ARLINDO DA SILVA

**ANÁLISE FITOQUÍMICA DE *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil.
E EFEITO DO TRATAMENTO CRÔNICO SOBRE O PESO
CORPORAL E SOBRE O COMPORTAMENTO DE RATAS
OVARIECTOMIZADAS**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências e Letras de Assis – UNESP – Universidade Estadual Paulista para a obtenção do título de Mestra em Biociências (Área de Conhecimento: Caracterização e Aplicação da Diversidade Biológica)

Orientadora: Profa. Dra. Telma Gonçalves Carneiro Spera de Andrade

Co-Orientador: Dr. Regildo Márcio Gonçalves da Silva

ASSIS

2014

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca da F.C.L. – Assis – UNESP

S586a Silva, Yara Emilia Arlindo da
Análise fitoquímica de *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. e efeito do tratamento crônico sobre o peso corporal e sobre o comportamento de ratas ovariectomizadas / Yara Emilia Arlindo da Silva. - Assis, 2014
76 f. : il.

Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências e Letras de Assis - Universidade Estadual Paulista.

Orientadora: Prof. Dr^a Telma Gonçalves C. Spera de Andrade

Co-orientador: Dr. Regildo Márcio Gonçalves da Silva.

1. Etnofarmacologia. 2. Climatério. 3. Hormônios esteroidianos. 4. Ansiedade nas mulheres. 5. Psicopatologia. 6. Ovariectomia. I. Título.

CDD 615.32

“Se por acaso pareço
E agora já não padeço
Um mal pedaço na vida

Saiba que minha alegria
Não é normal todavia
Com a dor é dividida

Eu sofro igual todo mundo
Eu apenas não me afundo
Em sofrimento infundo

Eu posso até ir ao fundo
De um poço de dor profundo
Mas volto depois sorrindo

Em tempos de tempestades
Diversas adversidades
Eu me equilibro e requebro

É que eu sou tal qual a vara
Bamba de bambu-taquara
Eu envergo, mas não quebro
Eu envergo, mas não quebro

Não é só felicidade
Que tem fim na realidade
A tristeza também tem

Tudo acaba, se inicia
Temporal e calmaria
Noite e dia, vai e vem

Quando é má a maré
E quando já não dá pé
Não me revolto ou me queixo

E tal qual um barco solto
Salto alto mar revolto
Volto firme pro meu eixo

Em noite assim como esta
Eu cantando numa festa
Ergo o meu copo e celebro

Os bons momentos da vida
E nos maus tempos da lida
Eu envergo, mas não quebro”

Lenine- Envergo, mas não
quebro

DEDICATÓRIA

A Deus, por sua grandiosidade, direcionamento e fidelidade. Por me fortalecer a cada manhã e me fazer vitoriosa na minha caminhada.

À Vó Emília, por sua sabedoria, simplicidade, caráter e fortaleza. Minha maior referência por toda minha vida. Meu Porto Seguro, Rio de Águas Claras. Minha eterna calmaria.

À minha mãe Maria José, por sua coragem e fortaleza nos encontros e desencontros da vida. Por não medir esforços para concretizar meus sonhos.

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo amor incondicional a cada um de seus filhos, pelas infinitas bênçãos concedidas a cada amanhecer. Por nos dar asas para voar, quando não sentimos nossos pés no chão. Tu és incomparável, maravilhoso.

À Profa. Dra. Telma Gonçalves Carneiro Spera de Andrade, que me orientou com carinho e atenção, por sua forma peculiar de encarar a vida, sempre com um sorriso no rosto e palavras de otimismo. Por ser uma grande referência como mulher, mãe e profissional.

A minha família, por ser meu alicerce eterno.

A toda turma do mestrado, principalmente ao Jonathan, Flávia, Vanessa, Graciele e Priscila. Amigos para a vida toda, pessoas doces, autênticas e de um caráter admirável. Pelos momentos de descontração, pelas risadas intensas, por colorirem ainda mais o meu mundo, pelo apoio e conforto nos momentos de desencontros da vida, pelas centenas de caronas, histórias e prosas. “Há amigos mais chegados que um irmão” Provérbios 18. 24.

A todos os amigos que torceram, me incentivaram e me proporcionaram leveza e alegria durante essa fase acadêmica.

A toda a equipe do Laboratório de Fisiologia: Beatriz, Vinícius, Sérgio, Flaviane, João Vitor, Rafa, Matheus, Amarylis, Rafael, Jean, Claudemir, Pedrinho, Diego, Isabela, Larissa, Camila. Pela parceria, amizade e crescimento pessoal que me proporcionaram.

Ao Dr. Regildo Márcio Gonçalves da Silva e à Dra. Ivanise Guilherme Branco pela atenção e colaboração no Projeto de Mestrado.

Ao Dr. Fernando Frei e Dr. Roger Luís Henschel Pobbe pelas contribuições prestadas.

A toda equipe do Laboratório de Farmacologia de Fitoterápicos da UNESP-Assis.

Ao Evaldo Quirino, por me auxiliar na coleta dos frutos da lobeira.

A todos os professores e funcionários do Programa de Mestrado em Biociências, que com perfis diferentes, me proporcionaram crescimento, amadurecimento e estímulo para continuar minha caminhada acadêmica.

A todos os funcionários da UNESP, principalmente ao Giba, Alan, Inaura, Sivaldo, Alessandro, Jorge e Seu Arnaldo, pela amizade e por contribuírem direta ou indiretamente com o desenvolvimento dessa fase acadêmica.

Ao Kiko, que gentilmente reformou o aparato utilizado para avaliação do perfil de ansiedade dos animais.

Aos motoristas da circular: Olavo, Anísio e Seu Osvaldo, pelo bom humor, simplicidade e dinamismo.

Ao apoio financeiro concedido pela CAPES.

Silva, Yara Emilia Arlindo da. **Análise fitoquímica de *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. e efeito do tratamento crônico sobre o peso corporal e sobre o comportamento de ratas ovariectomizadas.** 2014. 76f. Dissertação (Mestrado em Biociências). – Faculdade de Ciências e Letras, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Assis, 2014.

RESUMO

Dentre os vários sintomas indesejáveis presentes no climatério, o aumento do peso corporal, principalmente concentrado no abdômen, como também o aumento da ansiedade e da depressão incomodam e prejudicam o bem estar e a saúde da mulher nesta fase. Considerando que a terapia de reposição hormonal encontra muita resistência devido a seus potenciais efeitos adversos, principalmente relacionados à manifestação do câncer de mama, torna-se premente a busca por novas alternativas terapêuticas de reposição hormonal que minimizem os sinais e sintomas presentes no climatério, especialmente controlando o perfil lipídico, como também, se possível, regulando e mitigando a manifestação da ansiedade e da depressão, sem o comprometimento/prejuízo de outras funções orgânicas. Dentre os componentes já descritos do *Solanum lycocarpum*, o alcaloide esteroidal solasodina é precursor de esteroides farmacologicamente ativos, e assim, poderia se constituir em um potencial fitoterápico a ser utilizado por mulheres em períodos de baixa concentração hormonal (esteroides sexuais). Existem relatos que o *Solanum lycocarpum* apresenta ação hipoglicemiante, calmante e sedativa, mas ainda não se identificou estudos que envolvam uma abordagem dessa planta nesta fase de vida da mulher. Considerando a disponibilidade acessível e abundante dessa planta no cerrado regional, foi delineado um estudo experimental com o objetivo de identificar os biocompostos presentes nos frutos de *Solanum lycocarpum* e avaliar o efeito do uso do extrato hidroalcoólico deste, sobre o peso corporal e também sobre respostas comportamentais relacionadas à ansiedade e depressão de ratas, utilizando-se modelos animais de ansiedade e depressão: Labirinto em Cruz Elevado (LCE) e o Teste do Nado Forçado (TNF). As doses foram administradas cronicamente através de gavagem (sondagem orogástrica). Além da análise do comportamento e do peso corporal, outras variáveis foram verificadas: peso do conjunto reprodutor, fígado, baço, timo e adrenais, como também o controle

de ingestas e de dejetos. Os resultados mostraram a presença de compostos fenólicos e de ácido ascórbico no extrato hidroalcoólico de *Solanum Lycocarpum* A. St.-Hil., mas não de alcaloides esteroidais como se esperava. O tratamento crônico com a maior concentração do extrato hidroalcoólico de *Solanum Lycocarpum* A. St.-Hil. preveniu o ganho de peso em ratas ovariectomizadas, sem afetar a morfologia macroscópica do fígado, adrenais e timo, o que indiretamente sugere que pode não ter ocorrido disfunções nesses órgãos que indicariam toxicidade da planta. Esse mesmo tratamento não afetou o comportamento de ratas ovariectomizadas no Labirinto em Cruz Elevado e não reverteu a imobilidade constatada no Teste do Nado Forçado em decorrência da supressão da atividade ovariana. Considerando que não se constatou diferenças entre os grupos em relação à ingesta de ração e água e aos dejetos, pode-se inferir que o efeito do extrato hidroalcoólico de *Solanum Lycocarpum* A. St.-Hil. prevenindo o ganho de peso corporal em ratas em menopausa cirúrgica tenha sido sobre funções relacionadas ao metabolismo da glicose e/ou de lipídeos, ou até mesmo sobre processos absortivos. Outros estudos devem ser conduzidos nessa direção, com o objetivo de verificar se de fato o extrato hidroalcoólico de *Solanum Lycocarpum* A. St.-Hil. poderia ser uma alternativa profilática em relação ao ganho de peso corporal, após perda das funções gonadais.

Palavras-chave – *Solanum lycocarpum*, lobeira, análise fitoquímica, ovariectomia, peso corporal, ansiedade, depressão.

Silva, Yara Emilia Arlindo da. **Phytochemical analysis of *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. and effect of chronic treatment on body weight and behavior of ovariectomized rats.** 2014. 76p. Dissertation (Master's degree in Bioscience). - Faculdade de Ciências e Letras, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Assis, 2014.

ABSTRACT

Among the many undesirable symptoms during the climacterium, body weight gain, mainly concentrated in the abdominal area, as well as increased anxiety and depression, annoy and harm the well-being and health of women at this stage. Whereas hormone replacement therapy deals with much resistance because of its potential adverse effects, mainly related to the manifestation of breast cancer, it is urgent the search for new therapeutic alternatives for hormone replacement in order to minimize the signs and symptoms during menopause, especially controlling the lipid profile, but also, if possible, regulating and mitigating the manifestation of anxiety and depression, without compromising / losing any other bodily functions. Among the components already described of *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil., the alcaloide esteroidal solasodina is precursor of pharmacologically active steroids and thus it could constitute a potential herbal medicine to be used by women during periods of low hormone concentrations (sex steroids). There are reports in which *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. shows hypoglycemic, soothing and sedative action, but there is a lack of studies investigating the potencial use of this plant at this stage of woman's life. Considering the affordable and abundant availability of this plant in the regional cerrado, an experimental study was designed aiming to identify biocompounds in the fruits of *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. and evaluate the effect of using its hydroalcoholic extract. In addition, this study assessed the effects of administering this extract on body weight and behavioral responses related to anxiety and depression in rats, using animal models of anxiety and depression: the elevated plus maze (EPM) and the forced swimming test (FST). Doses were administered chronically by gavage (orogastric probe). Besides the analysis of behavior and body weight other variables were observed: the weight of reproductive system, liver, spleen, thymus and adrenal glands, as well as the control of intake and waste. The results showed the presence of phenolic compounds and ascorbic acid in hydroalcoholic extract of *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil., but not steroidal alkaloids

as expected. Chronic treatment with the highest concentration of the aqueous extract of *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. prevented weight gain in ovariectomized rats without affecting the macroscopic morphology of the liver, adrenal glands and thymus, which indirectly suggests that dysfunctions in these organs may not have occurred, which would indicate toxicity of the plant. This same treatment did not affect the behavior of ovariectomized rats in the elevated plus maze and did not reverse the immobility observed in the forced swimming test as a result of suppression of ovarian activity. Considering that no differences were found between the groups in relation to the ingestion of food and water and waste, it can be inferred that the effect of hydroalcoholic extract of *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. preventing weight gain in rats in surgical menopause have been on the functions related to the metabolism of glucose and / or lipids, or even to absorptive processes. Other studies should be conducted in this direction, aiming to verify if indeed the hydroalcoholic extract of *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. could be a prophylactic alternative to body weight gain, after loss of gonadal function.

Keywords: *Solanum lycocarpum*, lobeira, phytochemical analysis, ovariectomy, body weight, anxiety, depression.

SUMÁRIO

I.INTRODUÇÃO GERAL	13
II.REFERÊNCIAS GERAIS	24
III.ARTIGO: Análise fitoquímica de <i>Solanum Lycocarpum</i> A. St.-Hil. e efeito do tratamento crônico sobre variáveis anatomofisiológicas e comportamento de ratas ovariectomizadas	30
ABSTRACT	32
1. INTRODUÇÃO	34
2. MATERIAIS E MÉTODOS	37
2.1. Animais	37
2.2. Coleta dos frutos e preparo dos extratos	38
2.3. Grupos experimentais	39
2.4. Ovariectomia	39
2.5. Tratamento	40
2.6. Análises fitoquímicas	40
2.6.1. Ácido ascórbico	40
2.6.2. Avaliação do perfil cromatográfico do extrato	41
2.7. Avaliações comportamentais	42
2.7.1. Modelo animal de ansiedade: Labirinto em Cruz Elevado (LCE)	42
2.7.2. Modelo animal de depressão: Teste do Nado Forçado (TNF)	43
2.8. Avaliação de parâmetros morfológicos e fisiológicos	44
2.9. Análise estatística	44
3. RESULTADOS	45
3.1. Análises fitoquímicas	45
3.1.1. Ácido ascórbico	45
3.1.2. Perfil cromatográfico	45
3.1.2.1. Compostos flavonoídicos	45
3.1.2.2. Alcaloides	46
3.2. Análise do comportamento no LCE e Arena	47
3.2.1. Porcentagem de entradas nos braços abertos sobre o total de entradas	47

3.2.2. Porcentagem de tempo nos braços abertos sobre o total	48
3.2.3. Entradas nos braços fechados	49
3.2.4. Tempo de permanência do animal no centro	49
3.2.5. Número de quadrados percorridos na arena	50
3.3. Análise do comportamento no TNF	51
3.3.1. Duração do comportamento de escalar	51
3.3.2. Duração do comportamento de nado no centro	52
3.3.3. Duração do comportamento de imobilidade	52
3.4. Variação do peso corporal diferencial	54
3.5. Análise dos pesos dos órgãos	55
3.5.1. Peso relativo do conjunto reprodutor	56
3.5.2. Peso das adrenais	57
3.5.3. Peso do baço	58
3.5.4. Peso do fígado	58
3.5.5. Peso do timo	59
3.6. Avaliação de ingestão, consumo de água e dejetos	60
4. DISCUSSÃO	61
5. CONCLUSÃO	68
6. REFERÊNCIAS	69
7. ANEXOS	76l.

INTRODUÇÃO GERAL

As mulheres tem ocupado um lugar de destaque na sociedade atual. Além de suas atribuições naturais como esposa, mãe, dona de casa, vem assumindo papéis profissionais relevantes em diferentes setores da economia, exercendo grande influência na sociedade como um todo (BESSA, 2007). Dentre as diferentes fases do desenvolvimento, é no climatério, início do processo do envelhecimento, que ocorrem mudanças impactantes sobre a saúde da mulher (BRASIL, 2008), inspirando a necessidade de se desenvolver estratégias profiláticas e terapêuticas que possibilitem maior qualidade de vida, caracterizada especialmente pela promoção da saúde e bem-estar.

O climatério, fase em que ocorre transição da fase reprodutiva para a não reprodutiva (COPELAND, 1996), é caracterizado por flutuações hormonais que podem levar a irregularidades menstruais até a apresentação completa de amenorreia, denominada menopausa (BRASIL, 2008). O ovário perde a capacidade de responder ao estímulo rítmico hipofisário devido ao esgotamento da reserva folicular ovariana (FEBRASGO, 2004). Desta forma, com a secreção irregular e diminuída, posteriormente cessada, dos esteroides sexuais ovarianos, ocorrerão alterações metabólicas e hormonais, implicando na carência de efeitos tróficos de desenvolvimento e de algumas funções (DOUGLAS, 2006), como também modificações nas relações psicossociais (SILVA, ARAÚJO e SILVA, 2003).

Os esteroides influenciam a transcrição de genes que sintetizam enzimas responsáveis por regular a síntese e metabolismo de neurotransmissores e seus receptores, transporte de neurotransmissores, dentre outros (JOFFE e COHEN, 1998; GENAZZANI et al., 1999; KUGAYA et al., 2003 apud MORAES, VANDENBERGHE e SILVEIRA, 2007). De particular interesse em nossa linha de

estudo, o hipoestrogenismo causaria alterações neuroendócrinas, gerando, assim, quadros de desequilíbrios psicológicos, dentre eles, irritabilidade, desinteresse, depressão e ansiedade. Outras manifestações, tais como ondas de calor, transpiração, dormências, dores musculares e articulares, osteoporose (ossos porosos e frágeis), aumento de peso, principalmente devido ao acúmulo de gordura abdominal, sensação de cansaço, de esgotamento, palpitações, tonteados, vertigens, enxaquecas, podem ser observados no climatério (GENDRON, 1974, p. 21).

As transpirações e ondas de calor, que se espalham do tronco para a face (fogachos) são os sintomas mais frequentes relatados por mulheres nessa fase. A causa dos fogachos é desconhecida, porém essa sintomatologia pode sugerir um distúrbio do sistema de termorregulação iniciado pela diminuição das concentrações séricas de estrogênio no hipotálamo, o que leva a uma redução das concentrações de endorfina e a um aumento na liberação de noradrenalina e serotonina (TATARYN et al., 1979 apud FÉLIX, LIMA e CAMPANER, 2009). Assim é possível amenizar essas ondas de calor mediante tratamento com estrogênio (PARDINI, 2007). As defesas imunes naturais do organismo também são relativamente reduzidas, devido a fragilidade da pele e a redução na síntese de anticorpos nas mucosas (MEDEIROS, MAITELLI e NINCE, 2007).

A condição do hipoestrogenismo pode influenciar também a elevação dos níveis de colesterol e triglicérides, ocorrendo um aumento nas taxas das lipoproteínas de baixa densidade (LDL), que promove o depósito da gordura nas paredes das artérias e corresponde a 75% do total do colesterol em circulação, e diminuição das lipoproteínas de alta densidade (HDL), as quais são responsáveis pela remoção do excesso de colesterol livre da periferia, a condução ao fígado e a promoção da metabolização e secreção na bile. Essa situação pode ser favorável à

instalação de dislipidemia, aterosclerose, doença coronariana, infarto do miocárdio e acidente vascular cerebral (BRASIL, 2008; INEU et al., 2006).

O acúmulo de peso no climatério, principalmente na região abdominal, está relacionado com o aumento de doenças cardiovasculares, diabetes melito tipo 2, câncer e osteoartrose do joelho (MILEWICZ e JEDRZEJUK, 2006; POPOV et al., 2007). Além disso, indivíduos obesos são mais propensos a desenvolver doenças como litíase biliar, osteoartrite, alguns tipos de câncer, apneia do sono, refluxo gastroesofágico, hérnia de disco, e hipertensão arterial (BRASIL, 2008).

Muitos profissionais da área da saúde são adeptos da terapia de reposição hormonal (TRH), afirmando que esta pode proporcionar alívio dos sintomas presentes no climatério e prevenção de algumas doenças, porém já são conhecidas as complicações que a TRH apresenta. A TRH é contra-indicada em pacientes com risco para câncer de mama e de endométrio, doença tromboembólica pregressa, miomas uterinos, endometriose e colelitíase (LIMA e BARACAT, 1995 apud BONDUKI et al., 2001). Doses ideais e combinações de hormônios devem ser determinadas levando em conta com rigor as especificidades de cada caso, considerando os benefícios, riscos e interações de terapias hormonais diferentes (FREEDMAN, 2002). Os fitoestrogênios são alternativas naturais à terapia de reposição hormonal. Por apresentarem anéis fenólicos heterocíclicos similares aos estrogênios naturais e sintéticos, vários estudos analisam o potencial terapêutico desses fitoterápicos nos sintomas da menopausa (CLAPAUCH et al., 2002; CHANDEYING e LAMLERTKITTIKUL, 2007; RACHEV, STAMENOV e DAVIDKOYA, 2000).

A propriedade estrogênica dos fitoestrogênios depende da concentração destes, da concentração dos esteroides sexuais endógenos e do órgão alvo

específico envolvido na interação com os receptores de estrogênios (CLAPAUCH et al., 2002).

Tais aspectos reforçam muito a busca por novas alternativas terapêuticas de reposição hormonal que minimizem os sinais e sintomas presentes no climatério, especialmente controlando o perfil lipídico, como também, se possível, regulando e mitigando a manifestação da ansiedade e da depressão.

Com esse objetivo, e procurando atender as expectativas do Programa de Mestrado em Biociências, no que tange à caracterização e aplicação da diversidade biológica, principalmente voltada para o estudo e aproveitamento de riquezas regionais, foi conduzido o presente estudo, através da análise fitoquímica e avaliação do efeito da administração crônica profilática e terapêutica de diferentes diluições do extrato hidroalcoólico de *Solanum Lycocarpum* A. St.-Hil., sobre as respostas comportamentais e fisiológicas de ratas ovariectomizadas.

Solanum lycocarpum A. St.-Hil. é uma planta pertencente à família Solanaceae e popularmente conhecida como lobeira, fruta-de-lobo, ou jurubebão. Esta espécie é capaz de se desenvolver em condições ambientais não favoráveis, tais como solos ácidos e consideravelmente deficientes em questões nutricionais (ALMEIDA, 1998; OLIVEIRA JÚNIOR et al., 2003). É um arbusto que apresenta caule e ramos recobertos por pilosidade amarelo esbranquiçada, com presença de espinhos consideravelmente grandes em seus ramos. Já as folhas são de coloração verde-acinzentada, e as flores roxas com miolos amarelos. Os frutos são grandes e carnosos, e de cor verde mesmo quando maduros (MARONI, DI STASI e MACHADO, 2006). A lobeira é encontrada no cerrado, cerradão e campo sujo. É também considerada uma planta ornamental. Os frutos, quando bem maduros, são usados na preparação de doces. Do fruto verde se extrai um pó de cor branca que é

utilizado no tratamento de diabetes. As raízes são utilizadas no tratamento de hepatite e o xarope dos frutos no tratamento de asma (ALMEIDA, 1998).

Entre os dispersores das sementes da lobeira, destaca-se o lobo-guará - *Chrysocyon brachyurus* (Illiger) (LOMBARDI e MOTTA JÚNIOR, 1993). O lobo guará é considerado um animal oportunista, pois se alimenta de acordo com a disponibilidade de alimentos no seu habitat (MOTTA-JUNIOR et al., 1996; MOTTA-JUNIOR 2000; BUENO et al., 2002). Observa-se um alto consumo desse vegetal pelo lobo-guará, já que ao longo do ano sua disponibilidade é consideravelmente alta (RODRIGUES et al., 2007).

Um estudo sobre hábitos alimentares do lobo-guará, realizado no Parque Nacional da Serra da Canastra, analisou a dieta desses animais através das fezes, sendo que os itens alimentares encontrados foram agrupados em 10 categorias: *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil., *Parinari obtusifolia*, *Allagoptera campestris*, miscelânea de frutos, artrópodes, répteis, aves, tatus, pequenos mamíferos e outros vertebrados. Verificou-se que este canídeo consome uma grande variedade de itens animais e vegetais. Dentre todas as categorias alimentares, a mais frequente foi a dos pequenos mamíferos, seguidos pela miscelânea de frutos e pela lobeira. Entretanto, o item mais relevante, quando analisado em termos de biomassa, foi a espécie *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil., seguido pelos pequenos mamíferos e tatus. O consumo da lobeira pelo lobo-guará apresentou sazonalidade, sendo maior na época seca (AMBONI, 2007).

Sabe-se que a lobeira tem uma grande distribuição em áreas alteradas, e que agentes comuns a ambientes abertos são responsáveis pela dispersão das sementes dessa espécie. Esses fatos podem indicar que a espécie *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. é importante no processo de recolonização natural de

clareiras e áreas perturbadas (OLIVEIRA, FERREIRA e BORGHETTI, 2004). Assim, torna-se vantajoso o estudo dessa espécie, em relação às outras espécies do cerrado, que apenas frutificam em determinadas épocas do ano (SILVA et al., 1994).

De acordo com análises químicas já realizadas, os frutos apresentam 36% de celulose, 25% de substâncias não nitrogenadas, 19% de proteínas, 11% de água, 4% de cinza e 3% de matéria graxa. Foram isolados ainda os alcaloides solanina, solasodina e solamargina (ALMEIDA, 1998).

O interesse em encontrar plantas que apresentem o alcaloide esteroideal solasodina em altas concentrações fundamenta-se em estudos que demonstraram que este alcaloide, análogo nitrogenado da diosgenina, pode igualmente a esta, ser convertido no acetato de 16-deshidropregnenolona (SATO, IKEKAWA e MOSETTIG, 1959; SCHREIBER, 1968; MANN, 1978; RIPPERGER e SCHREIBER, 1981 apud MOLA, ARAUJO e MAGALHÃES, 1997).

Já se conhece que o rendimento de solasodina na espécie *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. é inferior a 1%. Mesmo assim, é possível destacar seu potencial, pois este vegetal apresenta frutos de tamanho grande e é planta nativa do cerrado (MOLA, ARAUJO e MAGALHÃES, 1997).

O gênero *Solanum* apresenta propriedades hipotensivas, anti-hepatotóxicas e anti-inflamatórias, além de inibir reações alérgicas e liberação de histamina (LIN et al., 1995; GRACE e SALEH, 1996; KIM e LEE, 1998; IBARROLA et al., 2000). Mais especificamente, *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. apresenta também propriedades medicinais, sendo utilizada como substância diurética, calmante, sedativa, antiepiléptica, antiofídica, anti-helmíntica, hipoglicemiante e no tratamento de hepatites e asma (PRIPE, 1995; LORENZI, 1991 apud VIDAL, STACCIARINI-SERAPHIN e CÂMARA, 1999). O fruto tem sido empregado, provavelmente pela

população em geral, em quadros de obesidade e na redução dos níveis de colesterol (DALL-AGNOL e VON-POSER, 2000). Entretanto, um estudo apontou que a administração da solução aquosa de *Solanum Lycocarpum* A. St.-Hil. em ratas no final da gestação, causou redução do peso da placenta, e dos pulmões e rins dos fetos, sugerindo um efeito fetotóxico desta planta (CHANGE et al., 2002).

Considerando que a espécie *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. é relevante do ponto de vista ecológico e terapêutico, já que apresenta múltiplas propriedades medicinais, são necessárias mais pesquisas que possibilitem elucidar o potencial desse vegetal, pois os dados encontrados na literatura ainda são escassos (CHAVES FILHO e STACCIARINI-SERAPHIN, 2001). Ainda não foram identificados estudos em fêmeas, principalmente em determinados períodos da vida, tais como o climatério (peri e pós menopausa).

Sabe-se que as mulheres são mais susceptíveis do que os homens no desencadeamento da ansiedade e da depressão, principalmente em períodos de baixa concentração hormonal (esteroides sexuais), como a peri e pós menopausa (MAKI, 2008; SEEMAN, 1997). A descoberta de alternativas profiláticas e terapêuticas, sem prejuízos ao organismo (toxicidade elevada, ocasionando efeitos colaterais, dependência, dentre outros) constitui um grande desafio para a ciência. Tanto a ansiedade como também a depressão são consideradas normais quando não interferem na vida do indivíduo, prejudicando suas interações sociais, seu desempenho profissional e seu equilíbrio. São inerentes à sobrevivência no meio, permitindo o enfrentamento de situações ou a preservação de energia (SILVA, 2010). Porém, de acordo com características ligadas à herança genética, principalmente na depressão, ambiente e história da pessoa, as respostas aos estímulos podem não ser eficazes ocasionando a manifestação da ansiedade e

depressão como distúrbios, separadamente, ou como comorbidade. Nesse caso, na ansiedade, os sintomas são intensos e persistentes e desproporcionais à situação desencadeadora, causando desgaste e sofrimento, como também prejuízo nos relacionamentos. Já em relação à depressão, as flutuações de humor se tornarão excessivas em intensidade e duração, interferindo de forma significativa nas atividades cotidianas (GRAEFF e GUIMARÃES, 2012; HETEM e GRAEFF, 2012). Enquanto a ansiedade se caracteriza por sentimento de impotência diante de até mesmo situações corriqueiras, gerando angústia, inquietação, apreensão, sem a presença de um estímulo real, a depressão apresenta-se como um quadro de tristeza intensa e sentimento de desvalia, que se associa a outros sinais e sintomas, tais como, perda de apetite e do impulso sexual, apresentação de insônia grave. Na ansiedade, não existe uma causa definida, ou seja, algo que defina exatamente um fator desencadeador. A depressão, por outro lado, está associada a situações estressantes, principalmente atreladas a perdas, circunstâncias sociais e econômicas desfavoráveis, dentre vários outros fatores (ANDRADE, VIANA e SILVEIRA, 2006; DEL PORTO, 1999; GRAEFF e GUIMARÃES, 2012; HETEM e GRAEFF, 2012). Há várias explicações neurobiológicas sobre a gênese da ansiedade e da depressão. Destaca-se, nesta abordagem teórica, o papel da serotonina. Este neurotransmissor (5-HT) tem sido implicado na etiologia de desordens de ansiedade e depressão (DEAKIN e GRAEFF, 1991; GRAEFF, 1993; GRAEFF et al., 1996; MONGEAU, BLIER e MONTIGNY, 1997). Vias serotoninérgicas que se originam nos núcleos mediano e dorsal da rafe e que se projetam para estruturas prosencefálicas (AZMITIA e SEGAL, 1978) são envolvidas na modulação da ansiedade e da depressão (DEAKIN e GRAEFF, 1991). Projeções a receptores 5-HT_{1A} hipocámpais originadas no Núcleo Mediano da Rafe (NMR) teriam um

importante papel na resistência ao estresse crônico, pois modulariam respostas desencadeadas por eventos aversivos continuados, com um papel sobre as consequências comportamentais dos animais, facilitando seu processo de adaptação a essas circunstâncias. Um defeito nesse sistema poderia implicar no desencadeamento de sintomas de depressão (DEAKIN e GRAEFF, 1991). Esta via também tem sido apontada como envolvida na inibição comportamental, e, portanto, na ansiedade (ANDRADE et al., 2003; GRAY e MCNAUGHTON, 2000). Além disso, projeções serotoninérgicas distintas a partir do Núcleo Mediano da Rafe (NDR) são consideradas fundamentais na compreensão da ansiedade (DEAKIN e GRAEFF, 1991).

Como foram identificados receptores de estrogênio (α e β) nesses dois núcleos (ALVES et al., 1998, 2000; LERANTH, SHANABROUGH e HORVATH, 1999), além de outras estruturas relacionadas com a gênese da ansiedade e depressão, é possível supor que exista uma forte integração entre a ação estrogênica e atividade serotoninérgica. É conhecido que existe uma interação entre receptores estrogênicos (ERs) com a enzima triptofano hidroxilase (TPH) responsável pela catalisação da síntese de serotonina. Isto sugere que o estrogênio atua, não apenas sobre os receptores serotoninérgicos, mas também na regulação da transcrição gênica desta enzima (NOMURA et al., 2005). Outra possibilidade é a ação direta do estrogênio sobre a serotonina ou indiretamente sobre receptores 5-HT_{1A} somatodendríticos, como o que já foi demonstrado por Andrade et al. (2005, 2009) em relação ao NMR.

Krezel e colaboradores (2001) demonstraram que camundongos *Knockout* para ER β apresentam maior inibição comportamental durante a avaliação no Labirinto em Cruz Elevado, ou seja, aumento de ansiedade quando comparados

com o tipo selvagem e com fêmeas *Knockout* ER α . Tal resultado confirma que os ER β seriam os sítios de ação do estrógeno relacionados com a modulação da ansiedade e que os ER α estariam mais relacionados com estruturas ou sistemas funcionalmente atrelados à reprodução e ao metabolismo geral (SOLOMON e HERMAN, 2009).

Nessa mesma direção, estudos experimentais em roedores utilizando modelos animais de ansiedade mostraram que nas fases do ciclo hormonal nas quais ocorreu maior liberação de estrógeno, ou em decorrência da reposição estrogênica propriamente dita, constatou-se ansiólise (NOMIKOS e SPIRAKI, 1988; MORA, DUSSAUBAT e DIAZ-VELIZ, 1996; DÍAZ-VÉLIZ et al., 1997). O estradiol também atenuou sintomas depressivos em ratos, cuja avaliação foi realizada no Teste do Nado Forçado (GALEA, WIDE e BARR, 2001). Desse modo, parece que os efeitos ansiolítico e antidepressivo do estrógeno são mediados por mecanismos serotoninérgicos.

Ou seja, existe uma clara integração entre o sistema serotoninérgico, ação estrogênica e manifestação da ansiedade e depressão. Como são as mulheres que mais apresentam tais transtornos, especialmente na peri e pós menopausa, fases nas quais as concentrações estrogênicas apresentam uma variabilidade em direção à diminuição (MAKI, 2008; SEEMAN, 1997) esse período torna-se foco de novas pesquisa que busquem minimizar o sofrimento das mesmas.

Desse modo, considerando os riscos da reposição hormonal, a busca por novos compostos terapêuticos eficazes e menos nocivos é primordial.

Assim, neste ponto de análise pergunta-se: será que o extrato hidroalcoólico de *Solanum Lycocarpum* A. St.-Hil. teria um papel de reposição hormonal em fêmeas ovariectomizadas? Será que o tratamento crônico com a lobeira ocasionaria

efeitos ansiolíticos e antidepressivos nas fêmeas? Será que esta planta teria de fato ação sobre o metabolismo ou sobre o comportamento alimentar, ocasionando a diminuição do peso corporal em condições de baixa concentração estrogênica nas fêmeas?

Desse modo, foram propostos alguns experimentos descritos no artigo sequencialmente apresentado, visando elucidar algumas dessas questões, com o objetivo de investigar o perfil fitoquímico de *Solanum Lycocarpum* A. St.-Hil., e verificar se a administração de diferentes concentrações de extrato hidroalcoólico do *Solanum Lycocarpum* A. St.-Hil., previamente e posteriormente à ovariectomia ocasionaria alterações no peso corporal e em outros parâmetros fisiológicos, e no perfil de ansiedade e depressão de fêmeas, constituindo assim, um delineamento farmacológico para a determinação de um possível produto profilático e terapêutico futuro, resultante da aplicação da diversidade biológica.

II. REFERÊNCIAS GERAIS

- ALMEIDA, S. P.; PROENÇA, C. E. B.; SANO, S. M.; RIBEIRO, J. F. **Cerrado: espécies vegetais úteis**. 1 ed. Planaltina, DF: Embrapa-CPAC, 1998. p. 333-334.
- ALVES, S. E.; MCEWEN B. S.; HAYASHI, S.; KORACH K. S.; PFAFF, D. W.; OGAWA, S. Estrogen-regulated progestin receptors are found in the midbrain raphe but not hippocampus of estrogen receptor alpha (ER α) Gene-disrupted mice. **The Journal of Comparative Neurology**, v. 427, p. 185-195, 2000.
- ALVES, S. E.; WEILAND, N. G.; HAYASHI, S.; MCEWEN, B. S. Immunocytochemical localization of nuclear estrogen receptors and progestin receptors within the rat dorsal raphe nucleus. **The Journal of Comparative Neurology**, v. 391, n. 1, p. 322-334, 1998.
- AMBONI, M.P.M. **Dieta, disponibilidade alimentar e padrão de movimentação do lobo-guará, Chrysocyon brachyurus, no Parque Nacional da Serra da Canastra, MG**. 2007. 108f. Dissertação (Mestrado em Ecologia, Manejo e Conservação da Vida Silvestre) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007.
- ANDRADE, L. H. S. G.; VIANA, M. C.; SILVEIRA, C. M. Epidemiologia dos transtornos psiquiátricos na mulher. **Revista de Psiquiatria Clínica**, v. 33, n. 2, p. 43-54, 2006.
- ANDRADE, M. M. M.; TOMÉ, M. F.; SANTIAGO, E. S.; LÚCIA-SANTOS, A.; ANDRADE, T. G. C. S. Longitudinal study of daily variation of rats ' behavior in the elevated plus-maze. **Physiology & Behavior**, v. 78, n.1, p. 125-133 2003.
- ANDRADE, T. G. C. S.; AVANZI, V.; GRAEFF, F. G. Effect of estradiol benzoate microinjection into median raphe nucleus on contextual conditioning. **Behavioural Brain Research**, v. 204, p. 112-116, 2009.
- ANDRADE, T. G. C. S.; NAKAMUTA, J. S.; AVANZI, V.; GRAEFF, F. G. Anxiolytic effect of estradiol in the median raphe nucleus mediated by 5-HT_{1A} receptors. **Behavioural Brain Research**, v. 163, p. 18-25, 2005.
- AZMITIA, E. C.; SEGAL, M. An autoradiographic analysis of the differential ascending projections of the dorsal and median raphe nuclei in the rat. **Journal of Comparative Neurology**, v. 179, p. 641-668, 1978.
- BESSA, K. A. M. Papel da Mulher na Sociedade ao longo da história. Disponível em: <<http://pt.shvoong.com/social-sciences/sociology/1653449-papel-da-mulher-na-sociedade/>>. Acessado em: 26 de fevereiro de 2013.

BONDUKI, C. E.; HAIDAR, M. A.; LIMA, G. R.; BARACAT, E. C. Terapia de reposição hormonal em mulheres na pós-menopausa. **Psiquiatria na Prática Médica**, v. 34, n. 1, p. 25-29, 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. *Manual de Atenção à Mulher no Climatério/ Menopausa*. 1. ed. Brasília: M.S., 2008. 192p.

BUENO, A. A.; BELENTANI, S. C. S.; MOTTA-JUNIOR, J. C. Feeding ecology of the maned wolf, *Chrysocyon brachyurus* (Illiger, 1815)(Mammalia: Canidae), in the Ecological Station of Itirapina, São Paulo State, Brazil. **Revista Biota Neotropica**, v. 2, n. 2, p. 1-9, 2002.

CHANG, C. V.; FELÍCIO, A. C.; REIS, J. E. P.; GUERRA, M. O.; PETERS, V. M. Fetal toxicity of *Solanum lycocarpum* (Solanaceae) in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 81, n. 2, p. 265-269, 2002.

CHANDEYING, V.; LAMLERTKITTIKUL, S. Challenges in the conduct of Thai herbal scientific study: efficacy and safety of phytoestrogen, pueraria mirifica (Kwao Keur Kao), phase I, in the alleviation of climacteric symptoms in perimenopausal women. **Journal of the Medical Association of Thailand**, v. 90, n. 7, p. 1274-1280, 2007.

CLAPAUCH, R.; MEIRELLES, R. M. R.; JULIÃO, M. A. S. G.; LOUREIRO, C. K. C.; GIARODOLI, P. B.; PINHEIRO, S. A.; HARRINGAN, A. R.; SPRITZER, P. M.; PARDINI, D. P.; WEISS, R. V.; ATHAYDE, A.; RUSSO, L. A.; PÓVOA, L. C.

Fitoestrogênios: Posicionamento do Departamento de Endocrinologia Feminina da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (SBEM). **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 46, n. 6, p. 679-695, 2002.

CHAVES FILHO, J. T.; STACCIARINI-SERAPHIN, E. Alteração no potencial osmótico e teor de carboidratos solúveis em plantas jovens de lobeira (*Solanum lycocarpum* St.-Hil.) em resposta ao estresse hídrico. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 24, n. 2, p. 199-204, 2001.

COPELAND, J. F. *Tratado de Ginecologia*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. 1151p.

DALL-AGNOL, R.; VON-POSER, G. L. The use of complex polysaccharides in the management of metabolic diseases: the case of *Solanum lycocarpum* fruits. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 71, p. 337-341, 2000.

DEAKIN, J. F. W.; GRAEFF, F. G. 5-HT and mechanisms of defence. **Journal of Psychopharmacology**, v. 5, p. 305-315, 1991.

DEL PORTO, J. A. Conceito e Diagnóstico. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 21, n. 1, p. 06-11, 1999.

DIÁZ-VÉLIZ, G.; ALARCÓN, T.; SPINOSA, C.; DUSSAUBAT, N.; MORA, S. Ketanserin and anxiety levels: influence of gender, estrous cycle, ovariectomy and ovarian hormones in female rats. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 58, n. 3, p. 637-642, 1997.

DOUGLAS, C. R. *Tratado de Fisiologia – Aplicada às Ciências Médicas*. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. 1142p.

FEDERAÇÃO BRASILEIRA DAS ASSOCIAÇÕES DE GINECOLOGIA E OBSTETRÍCIA (São Paulo). *Climatério: Manual de orientação*. São Paulo: FEBRASGO, 2004. 362p.

FÉLIX, L. M. C.; LIMA, S. M. R. R.; CAMPANER, A. B. Terapêutica não hormonal no tratamento de distúrbios do climatério. **Femina**, v. 37, n. 10, p. 543-546, 2009.

FREEDMAN, M. A. Quality of life and menopause: The role of estrogen. **Journal of Women's Health**, v. 11, n. 8, p. 703-718, 2002.

GALEA, L. A. M.; WIDE, J. K.; BARR, A. M. Estradiol alleviates depressive-like symptoms in a novel animal model of post-partum depression. **Behavioural Brain Research**, v. 122, n. 1, p. 1-9, 2001.

GENDRON, L. *A Menopausa: seus problemas físicos e psicológicos*. Tradução Norma Schipper. Rio de Janeiro: Americana, 1974. 21p.

GRACE, M. H.; SALEH, M. M. Hepato-protective effect of daturaolone isolated from *Solanum arundo*. **Pharmazie**, v. 51, n. 8, p. 593-595, 1996.

GRAEFF, F. G. Role of 5-HT in defensive behavior and anxiety. **Reviews in the Neurosciences**, v. 4, n. 2, p. 181-211, 1993.

GRAEFF, F. G. G.; GUIMARÃES, F. S. Fundamentos de psicofarmacologia. 2ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2012. GRAEFF, F. G.; GUIMARÃES, F. S.; ANDRADE, T. G. C. S.; DEAKIN, J. F. W. Role of 5-HT in stress, anxiety and depression. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 54, n. 1, p. 129-141, 1996.

GRAY, J. A., McNAUGHTON, N. The neuropsychology of anxiety: an enquiry into the functions of the septo-hippocampal system 2thed. Oxford University Press: London; 2000.

HETEM, L. B. A.; GRAEFF, F. G. Transtornos de ansiedade. 2ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2012.

IBARROLA, D. A.; HELLIÓN-IBARROLA, M. C.; MONTALBETTI, Y.; HEINICHEN, O.; ALVARENGA, N.; FIGUEREDO, A.; FERRO, E. A. Isolation of hypotensive compounds from *Solanum sisymbriifolium* Lam. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 70, n. 3, p. 301-307, 2000.

INEU, M. L.; MANENTI, E.; COSTA, J. L. V.; MORIGUCHI, E. Manejo da HDL: avanços recentes e perspectivas além da redução de LDL. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 87, n. 6, p. 788-794, 2006.

KIM, H. M.; LEE, E. J. *Solanum lyratum* inhibits anaphylactic reaction and supresses the expression of L-histidine decarboxylase mRNA. **Immunopharmacology and Immunotoxicology**, v. 20, n. 1, p. 135-146, 1998.

KREZEL, W.; DUPONT, S.; KRUST, A.; CHAMBON, P.; CHAPMAN, P. F. Increased anxiety and synaptic plasticity in estrogen receptor beta -deficient mice. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 98, n. 21, p. 12278-12282, 2001.

LERANTH, C.; SHANABROUGH, M.; HORVATH, T. L. Estrogen receptor- α in the serotonergic and supramammillary area calretinin-containing neurons of the female rat. **Experimental Brain Research**, v. 128, n. 3, p. 417-420, 1999.

LIN, C. C.; LIN, W. C.; YANG, S. R.; SHIEH, D. E. Anti-inflammatory and hepatoprotective effects of *Solanum alatum*. **The American Journal of Chinese Medicine**, v. 23, n. 1, p. 65-69, 1995.

LOMBARDI, J. A.; MOTTA JUNIOR, J. C. Seed dispersal of *Solanum lycocarpum* St. Hil. (Solanaceae) by the maned wolf, *Chrysocyon brachyurus* Illiger (Mammalia, Canidae). **Ciência e Cultura**, v. 45, p. 126-127, 1993.

MAKI, P. M. Menopause and anxiety: immediate and long-term effects. **Menopause**, v. 15, p. 1-3, 2008.

MARONI, B. C.; DI STATI, L. C.; MACHADO, S. R. **Plantas medicinais do cerrado de Botucatu - guia ilustrado**, São Paulo: Editora UNESP, 2006. p. 142.

MEDEIROS, S. F.; MAITELLI, A.; NINCE, A. P. B. Efeitos da terapia hormonal na menopausa sobre o sistema imune. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 29, n. 11, p. 593-601, 2007.

MILEWICZ, A.; JEDRZEJUK, D. Climacteric obesity: from genesis to clinic.

Gynecological Endocrinology, v. 22, n. 1, p. 18-24, 2006.

- MOLA, J. L.; ARAUJO, E. R.; MAGALHÃES, G. C. Solasodina em espécies de *Solanum* do cerrado do Distrito Federal. **Química Nova**, v. 20, n. 50, p. 460-462, 1997.
- MONGEAU, R.; BLIER, P.; MONTIGNY, C. The serotonergic and noradrenergic systems of the hippocampus: their interactions and the effects of antidepressant treatments. **Brain Research Reviews**, v. 23, n. 3, p. 145-195, 1997.
- MORA, S.; DUSSAUBAT, N.; DIAZ-VELIZ, G. Effects of the estrous cycle and ovarian hormones on behavioral indices of anxiety in female rats. **Psychoneuroendocrinology**, v. 21, p. 609-620, 1996.
- MORAES, V. M.; VANDENBERGHE, L.; SILVEIRA, N. A. Humor, atenção concentrada e qualidade de vida no climatério: Um estudo no Brasil Central. **Psicologia, Saúde & Doenças**, v. 8, n. 2, p. 221-237, 2007.
- MOTTA-JUNIOR, J. C.; TALAMONI, S. A.; LOMBARDI, J. A.; SIMOKOMAKI, K. 1996. Diet of the maned wolf, *Chrysocyon brachyurus*, in Central Brazil, **Journal of Zoology**, v. 240, n. 2, p. 277-284, 1996.
- MOTTA-JUNIOR, J. C. 2000. Variação temporal e seleção de presas na dieta do lobo guará, *Chrysocyon brachyurus* (Mammalia: Canidae), na Estação Ecológica de Jataí, Luiz Antonio, SP. In Estudos integrados em ecossistemas. **Estação Ecológica de Jataí**. (J. E. Santos & J. S. R. Pires, eds.). Rima Editora, São Carlos, p. 331-346.
- NOMIKOS, G. G.; SPIRAKI, C. Influence of estrogen on spontaneous and diazepam-induced exploration of rats in elevated plus-maze. **Neuropharmacology**, v. 27, p. 691-696, 1988.
- NOMURA, M.; AKAMA, K. T.; ALVES, S. E.; KORACH, K. S.; GUSTAFSSON, J. A.; PFAFF, D. W.; OGAWA, S. Differential distribution of estrogen receptor (ER)- α and ER- β in the midbrain raphe nuclei and periaqueductal gray in male mouse: Predominant role of ER- β in midbrain serotonergic systems. **Neuroscience**, v. 130, n. 2, p. 445-456, 2005.
- OLIVEIRA JÚNIOR, E. N.; SANTOS, C. D.; ABREU, C. M. P.; CORRÊA, A. D.; SANTOS, J. Z. L. Análise nutricional da fruta de lobo (*Solanum lycocarpum* St.Hill) durante o amadurecimento. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 27, n. 4, p. 846-851, 2003.
- OLIVEIRA, S. C. C.; FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. Efeito alelopático de folhas de *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. (Solanaceae) na germinação e crescimento de

- Sesamum indicum* L. (Pedaliaceae) sob diferentes temperaturas. **Acta Botanica Brasilica**, v. 18, n. 3, p. 401-406, 2004.
- PARDINI, D. Terapia hormonal da menopausa. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 51, n. 6, p. 938-942, 2007.
- POPOV, A. A.; IZMOZHEROV, N. V.; TAGIL'TSEVA, N. V.; ANDREEV, A. N.; STRIUKOVA, OLU.; FOMINYKH, M. I.; AKIMOVA, A. V. Osteoarthritis of the knee joints in climacteric women with excessive body weight or obesity. **Klinicheskaya Meditsina (Moskva)**, v. 85, n. 9, p. 64-67, 2007.
- RACHEV, E.; STAMENOV, G.; DAVIDKOVA, N. Influence of the phytoestrogen drug, SoyaVital, on climacteric symptoms. **Akusherstvo i Ginekologiya (Sofia)**, v. 40, n. 4, p. 51-52, 2000.
- RODRIGUES, F. H. G.; HASS, A.; LACERDA, A. C. R.; GRANDO, R. L. S. C.; BAGNO, M. A.; BEZERRA, A. M. R.; SILVA, W. R. Feeding habits of the maned wolf (*Chrysocyon brachyurus*) in the Brazilian Cerrado. **Mastozoología Neotropical**, v. 14, n. 1, p. 37-51, 2007.
- SEEMAN, M. V. Psychopathology in women and men: focus on female hormones. **The American Journal of Psychiatry**, v. 154, n. 200, p. 1641-1647, 1997.
- SILVA, A. L. P. O tratamento da ansiedade por intermédio da acupuntura: um estudo de caso. **Revista Psicologia: Ciência e Profissão**, v. 30, n. 1, p. 200-211, 2010.
- SILVA, R. M.; ARAÚJO, C. B.; SILVA, A. R. V. Alterações biopsicossociais da mulher no climatério. **Revista Brasileira em Promoção da Saúde**, v. 16, n. 1-2, p. 28-33, 2003.
- SILVA, J. A.; SILVA, D. B.; JUNQUEIRA, N. T. V.; ANDRADE, L. R. M. **Frutas nativas dos cerrados**. Brasília: EMBRAPA, 1994. p. 166.
- SOLOMON, M. B.; HERMAN, J. P. Sex differences in psychopathology: Of gonads, adrenals and mental illness. **Physiology & Behavior**, v. 97, p. 250-258, 2009.
- VIDAL, M. C.; STACCIARINI-SERAPHIN, E.; CÂMARA, H. H. L. L. Crescimento de plântulas de *Solanum lycocarpum* St. Hil. (lobeira) em casa de vegetação. **Acta Botanica Brasilica**, v. 13, n. 3, p. 271-274, 1999.

III. ARTIGO: ANÁLISE FITOQUÍMICA DE *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. E EFEITO DO TRATAMENTO CRÔNICO SOBRE O PESO CORPORAL E SOBRE O COMPORTAMENTO DE RATAS OVARIECTOMIZADAS

O artigo sequencialmente apresentado foi preparado de acordo com o *Journal of Ethnopharmacology*, exceto a inserção das figuras, legendas e tabelas no texto.

RESEARCH REPORT

ANÁLISE FITOQUÍMICA DE *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. E EFEITO DO TRATAMENTO CRÔNICO SOBRE O PESO CORPORAL E SOBRE O COMPORTAMENTO DE RATAS OVARIECTOMIZADAS

Yara Emilia Arlindo da Silva¹, Regildo Márcio Gonçalves da Silva², Ivanise Guilherme Branco³, Beatriz Krokovec Cruz¹, Sérgio Mosquim Júnior¹, Vinícius Dias Kümpel¹, Telma Gonçalves Carneiro Spera de Andrade^{1*}

¹UNESP – Univ Estadual Paulista, FCL, Department of Biological Science, Laboratory of Physiology, Assis, Brazil. Avenida Dom Antônio 2100, 19806-900, Assis, SP, Brazil.

²UNESP – Univ Estadual Paulista, FCL, Department of Biological Science, Laboratory of Pharmacology of Herbal Medicines, Assis, Brazil. Avenida Dom Antônio 2100, 19806-900, Assis, SP, Brazil.

³UNESP – Univ Estadual Paulista, FCL, Department of Biological Science, Laboratory of Bioprocess Engineering, Assis, Brazil. Avenida Dom Antônio 2100, 19806-900, Assis, SP, Brazil.

*Endereço de correspondência: mesmo endereço acima.

Número de fax: (55) 18 3302-5849

Endereço de e-mail: yara_arlindo@hotmail.com
raica@assis.unesp.br

ABSTRACT

Among the many undesirable symptoms during the climacterium, body weight gain, mainly concentrated in the abdominal area, as well as increased anxiety and depression, annoy and harm the well-being and health of women at this stage. Whereas hormone replacement therapy deals with much resistance because of its potential adverse effects, mainly related to the manifestation of breast cancer, it is urgent the search for new therapeutic alternatives for hormone replacement in order to minimize the signs and symptoms during menopause, especially controlling the lipid profile, but also, if possible, regulating and mitigating the manifestation of anxiety and depression, without compromising / losing any other bodily functions. Among the components already described of *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil., the alcaloide esteroidal solasodina is precursor of pharmacologically active steroids and thus it could constitute a potential herbal medicine to be used by women during periods of low hormone concentrations (sex steroids). There are reports in which *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. shows hypoglycemic, soothing and sedative action, but there is a lack of studies investigating the potencial use of this plant at this stage of woman's life. Considering the affordable and abundant availability of this plant in the regional cerrado, an experimental study was designed aiming to identify biocompounds in the fruits of *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. and evaluate the effect of using its hydroalcoholic extract. In addition, this study assessed the effects of administering this extract on body weight and behavioral responses related to anxiety and depression in rats, using animal models of anxiety and depression: the elevated plus maze (EPM) and the forced swimming test (FST). Doses were administered chronically by gavage (orogastric probe). Besides the analysis of behavior and body weight other variables were observed: the weight of reproductive system, liver, spleen, thymus and adrenal glands, as well as the control of intake and waste. The results showed the presence of phenolic compounds and ascorbic acid in hydroalcoholic extract of *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil., but not steroidal alkaloids as expected. Chronic treatment with the highest concentration of the aqueous extract of *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. prevented weight gain in ovariectomized rats without affecting the macroscopic morphology of the liver, adrenal glands and thymus, which indirectly suggests that dysfunctions in these organs may not have

occurred, which would indicate toxicity of the plant. This same treatment did not affect the behavior of ovariectomized rats in the elevated plus maze and did not reverse the immobility observed in the forced swimming test as a result of suppression of ovarian activity. Considering that no differences were found between the groups in relation to the ingestion of food and water and waste, it can be inferred that the effect of hydroalcoholic extract of *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. preventing weight gain in rats in surgical menopause have been on the functions related to the metabolism of glucose and / or lipids, or even to absorptive processes. Other studies should be conducted in this direction, aiming to verify if indeed the hydroalcoholic extract of *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. could be a prophylactic alternative to body weight gain, after loss of gonadal function.

Keywords: *Solanum lycocarpum*, lobeira, phytochemical analysis, ovariectomy, body weight, anxiety, depression.

1. Introdução

Dentre os grandes desafios ao longo da vida da mulher estão aqueles relacionados com o período peri e pós menopausa. Esta fase é marcada pela ocorrência de um grande contingente de modificações orgânicas, e pela manifestação de sinais e sintomas relacionados com vários sistemas orgânicos (Copeland, 1996; Douglas, 2006; Gendron, 1974). Esse quadro é consequente à perda de ritmicidade dos hormônios sexuais devido a falência funcional ovariana que ocorre próximo aos cinquenta anos de vida (Douglas, 2006). Além de vários problemas, as modificações metabólicas são impactantes e apresentam uma repercussão não somente no aumento da probabilidade do desenvolvimento de doenças cardiovasculares (Rosano et al., 2007), como também afetam a autoestima da mulher devido ao ganho de peso corporal e perda das características corporais pré- menopausa, principalmente pelo acúmulo de gordura abdominal (Brasil, 2008; Milewicz e Jedrzejuk, 2006). As mulheres, então, levadas pela necessidade de cuidado com a aparência, passam a buscar tratamentos radicais para emagrecimento, os quais, na maioria das vezes ocasionam distúrbios de humor e ansiedade (Vasques, Martins e Azevedo, 2004). Esses inibidores de apetite ainda podem gerar dependência química (Silva, 2002). Na tentativa de minimizar os efeitos colaterais provocados pelos inibidores de apetite, alguns profissionais da saúde prescrevem fármacos ansiolíticos e antidepressivos, porém trata-se de uma prática ilegal (Lopes, 2007).

Assim, identificar estratégias que previnam ou tratem essas manifestações, sem desencadear no organismo complicações cognitivas, emocionais e de outras funções orgânicas, tornou-se premente nos dias atuais. Nesse contexto, o conhecimento popular indicando o potencial profilático e terapêutico de algumas

plantas pode se constituir em bons indícios para o desenvolvimento de novos produtos, principalmente em um país com uma rica diversidade biológica.

O gênero *Solanum* apresenta várias propriedades terapêuticas: propriedades hipotensivas, anti-hepatotóxicas e anti-inflamatórias, além de inibir reações alérgicas e liberação de histamina (Lin et al., 1995; Grace e Saleh, 1996; Kim e Lee, 1998; Ibarrola et al., 2000). Mais especificamente, sabe-se que o *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. vem sendo utilizado como substância diurética, calmante, sedativa, antiepiléptica, antiofídica, anti-helmíntica, hipoglicemiante e no tratamento de asma e de hepatites, com ação anti-hepatotóxica (Pripe, 1995; Lorenzi, 1991 apud Vidal, Stacciarini-Seraphin e Câmara, 1999). Considerando que a espécie *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. é relevante do ponto de vista ecológico e terapêutico, já que apresenta propriedades medicinais, são necessárias mais pesquisas que possibilitem elucidar o potencial desse vegetal, pois os dados encontrados na literatura ainda são escassos (Chaves Filho e Stacciarini-Seraphin, 2001).

Solanum lycocarpum A. St.-Hil. é uma planta pertencente à família Solanaceae e popularmente conhecida como lobeira, fruta-de-lobo, ou jurubebão. Esta espécie é capaz de se desenvolver em condições ambientais não favoráveis, tais como solos ácidos e consideravelmente deficientes em questões nutricionais (Almeida, 1998; Oliveira Júnior et al., 2003). A lobeira é encontrada no cerrado, cerradão e campo sujo. É também considerada uma planta ornamental. Os frutos, quando bem maduros, são usados na preparação de doces. Do fruto verde se extrai um pó de cor branca que é utilizado no tratamento da diabetes melito. As raízes são utilizadas contra hepatite e o xarope dos frutos contra asma (Almeida, 1998).

Entre os dispersores das sementes da lobeira destaca-se o lobo-guará - *Chrysocyon brachyurus* (Illiger) (Lombardi e Motta Júnior, 1993 apud Oliveira,

Ferreira e Borghetti, 2004). O lobo guará é considerado um animal oportunista, pois se alimenta de acordo com a disponibilidade de alimentos no seu habitat (Motta-Junior et al. 1996; Motta-Junior 2000; Bueno et al. 2002). Observa-se um alto consumo principalmente em períodos de seca (Amboni, 2007). No entanto, sua disponibilidade ao longo do ano é consideravelmente alta (Rodrigues et al., 2007).

Sabe-se que a lobeira tem uma grande distribuição em áreas alteradas, e que agentes comuns a ambientes abertos são responsáveis pela dispersão das sementes dessa espécie. Esses fatos podem indicar que a espécie *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. é importante no processo de recolonização natural de clareiras e de áreas perturbadas (Oliveira, Ferreira e Borghetti, 2004). Consequentemente, torna-se vantajoso o estudo dessa espécie em relação às outras espécies do cerrado, que apenas frutificam em determinadas épocas do ano (Silva et al., 1994).

De acordo com análises químicas já realizadas, os frutos apresentam 36% de celulose, 25% de substâncias não nitrogenadas, 19% de proteínas, 11% de água, 4% de cinza e 3% de matéria graxa. Foram isolados ainda os alcaloides solanina, solasodina e solamargina (Almeida, 1998).

O interesse em encontrar plantas que apresentem o alcaloide esteroidal solasodina em altas concentrações fundamenta-se em estudos que demonstraram que este alcaloide, análogo nitrogenado da diosgenina, pode igualmente a esta, ser convertido no acetato de 16-deshidropregnenolona (Sato, Ikekawa e Mosettig, 1959; Schreiber, 1968; Mann, 1978; Ripperger e Schreiber, 1981 apud Mola, Araujo e Magalhães, 1997). É conhecido que o rendimento de solasodina na espécie *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. é inferior a 1%. Mesmo assim, é possível destacar

seu potencial, pois este vegetal apresenta frutos de tamanho grande, e é planta nativa do cerrado (Mola, Araujo e Magalhães, 1997).

Assim, apesar de ser apontada como hipoglicemiante, anti-hepatotóxica, calmante e sedativa, e de possuir alcaloides esteroidais, ainda não foram identificados estudos que envolvam uma abordagem neuroendócrina dessa planta, com efeito sobre o organismo de fêmeas, em fases nas quais existe um declínio fisiológico ou cirúrgico dos esteroides sexuais. Visando compreender tais aspectos, a presente investigação teve por objetivo verificar se o tratamento crônico com o extrato hidroalcoólico de *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. previamente e posteriormente à ovariectomia ocasionaria alterações no peso corporal e no perfil de ansiedade e de depressão de fêmeas, constituindo assim, um estudo farmacológico para determinação de um possível produto profilático e terapêutico futuro, resultante da aplicação da diversidade biológica.

2. Materiais e métodos

2.1. Animais

Foram utilizadas ratas *Wistar*, com peso médio inicial de 250g no início das sessões experimentais, obtidas do Biotério Central da UNESP - Botucatu. Os animais foram alojados (cinco animais por caixa) em caixas de polipropileno (32 x 38 x 18 cm) forradas com serragem, recebendo comida (ração Agrocere (Multimix) RC Focus 1815 Biot. Btu) e água *ad libitum*. O biotério foi mantido com temperatura controlada ($23^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) e com programa de iluminação artificial correspondente a 50 lux (no centro da sala a 1 m do piso) luzes acesas às 7h00 e apagadas às 19h00. O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA-FCL/Assis-Protocolo: 013/2012). Os animais foram manipulados para as trocas das caixas, e

também pesados para adequação da dosagem do extrato, três vezes por semana. Foi feito o controle da ingestão alimentar e de água, e o controle de dejetos através do peso de serragem (débito).

2.2. Coleta dos frutos e preparo dos extratos

Os frutos de *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. utilizados no estudo foram coletados de espécies cultivadas no Câmpus da Faculdade de Ciências e Letras da UNESP- Assis. Após a coleta dos mesmos no mês de abril de 2013, estes foram despolidos e as sementes retiradas. A polpa obtida foi congelada a - 18° C, e posteriormente liofilizada. O material seco resultante foi triturado em processador elétrico e o pó resultante foi armazenado em vidro âmbar, protegido da luz e posteriormente utilizado para a produção dos extratos hidroalcoólicos.

O extrato hidroalcoólico de *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. foi preparado na proporção de 10 g de material seco por 100 ml de solução de etanol à 70% em água destilada, em maceração dinâmica por 24 horas à temperatura ambiente. Após esse período, o resíduo vegetal foi retirado por filtração a vácuo e reextraído por duas vezes. Os extratos obtidos foram reunidos e levados ao rotaevaporador para eliminação completa do álcool, e o extrato aquoso resultante foi congelado e posteriormente liofilizado para a obtenção do extrato seco, que foi diluído em diferentes concentrações para a utilização nos bioensaios (Padronizado em Laboratório de Farmacologia de Fitoterápicos da UNESP-Assis).

2.3. Grupos experimentais

O extrato hidroalcoólico de *Solanum Lycocarpum* A. St.-Hil. (EHSL) foi administrado diariamente, no período da manhã, dose única diária de 2 ml por animal, através de uma sonda orogástrica, em doses de 50mg/kg, 100mg/kg ou 200mg/kg. Os animais controles receberam o mesmo volume (2 ml) de Água destilada, nos mesmos horários e com a mesma técnica.

Na primeira etapa, para a avaliação do efeito do extrato hidroalcoólico de *Solanum lycocarpum* (EHSL) e posterior avaliação no LCE (Labirinto em Cruz Elevado) foram constituídos cinco grupos: **Grupo 1** – Controle - Ratas Falso-operadas (n=9); **Grupo 2** – Controle - Ratas Ovariectomizadas (n=8); **Grupo 3** – Ratas ovariectomizadas, tratadas com 50mg/kg de EHSL (n=9); **Grupo 4** – Ratas ovariectomizadas, tratadas com 100mg/kg de EHSL (n=9); **Grupo 5** – Ratas ovariectomizadas, tratadas com 200mg/kg de EHSL (n=7). Na segunda etapa, para avaliação do efeito do extrato hidroalcoólico de *Solanum lycocarpum* (EHSL), e posterior avaliação no TNF (Teste do Nado Forçado) também foram constituídos cinco grupos: **Grupo 1** – Controle - Ratas Falso-operadas (n=9); **Grupo 2** – Controle - Ratas Ovariectomizadas (n=14); **Grupo 3** - Ratas ovariectomizadas, tratadas com 50mg/kg de EHSL (n=8); **Grupo 4**– Ratas ovariectomizadas, tratadas com 100mg/kg de EHSL (n=10); **Grupo 5** - Ratas ovariectomizadas, tratadas com 200mg/kg de EHSL (n=9). Todos os grupos receberam as doses em uma única aplicação (durante o período da manhã) durante 60 dias.

2.4. Ovariectomia

Sob anestesia geral, utilizando Thiopental sódico (Thiopentax – Cristália, 50mg/Kg), as ratas foram ovariectomizadas. A ovariectomia se deu por castração

bilateral dos ovários. Este procedimento foi realizado visando interromper o ciclo hormonal dos animais experimentais. Os animais falso-operados foram submetidos ao procedimento cirúrgico, exceto à retirada dos ovários.

2.5. Tratamento

Após chegarem do Biotério Central de Botucatu, as ratas foram agrupadas (cinco animais por caixa), e permaneceram por uma semana sem nenhuma manipulação experimental, exceto às trocas das caixas 3 vezes por semana. Quando completaram três meses de vida, iniciou-se o tratamento por 30 dias. Quando as ratas completaram quatro meses, estas foram submetidas à cirurgia para retirada dos ovários. O tratamento foi continuado por mais 30 dias, quando foram realizadas as avaliações comportamentais (no 60º dia após o início das aplicações do extrato ou da solução controle). A escolha pelo modelo de tratamento crônico acima especificado não foi baseada em nenhum estudo prévio, mas na análise da espécie que se alimenta desse fruto, o lobo-guará - *Chrysocyon brachyurus* (Illiger), que se caracteriza pelo consumo contínuo ao longo do desenvolvimento e não apenas em um determinado período da vida.

2.6. Análises fitoquímicas

Foi realizada a caracterização dos biocompostos dos frutos de *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. Os testes realizados são descritos a seguir:

2.6.1. Ácido ascórbico

O teor de ácido ascórbico (vitamina C) foi determinando conforme metodologia da AOAC (1996) modificada por Benassi e Antunes (1998). A polpa de *Solanum*

lyocarpum foi diluída em ácido oxálico 2% e mantida sob agitação em ambiente protegido da luz. Após extração e filtração, as soluções foram tituladas com solução de 2-6-diclorofenoindofenol (DCFI) até o aparecimento de uma cor rosa persistente por 15 segundos. Foi utilizado como padrão a solução de ácido L-ascórbico (marca Sigma - Aldrich), na concentração de 2,5 mg/mL). Os extratos foram feitos em duplicata. Os resultados foram expressos em mg/100g de polpa fresca e realizados em triplicata.

2.6.2. Avaliação do perfil cromatográfico do extrato

Foram realizadas cromatografias em camada delgada (CCD) para separação e identificação dos compostos presentes no extrato de *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil.. Para análise por CCD, foi realizada uma otimização de metodologias descritas por Wagner e Bladt (1996), sendo preparadas amostras de 100mg/mL dos extratos brutos diluídos em metanol, a partir dos quais foram aplicadas com capilares 20µl das amostras em cromatoplasmas de sílica gel em alumínio F250 (10cm x 10cm - MERCK).

Como fase móvel para detecção dos compostos flavonoídicos foi utilizado o sistema eluente clorofórmio-metanol-água (75:23:2) e como padrões quercetina, ácido gálico e rutina. A revelação das placas foi realizada por nebulização com o revelador (NP/PEG).

Já para a identificação de alcaloides, utilizou-se um sistema eluente acetato de etila-metanol-água (100:13,5:10) e como padrões, a solasodina, pilocarpina, cafeína, e emeína. A revelação das placas foi realizada por meio de nebulização com o reagente Dragendorff em sistema fechado. As diferentes cromatografias foram analisadas na luz ultravioleta (254 e 366nm), e após a definição das zonas

cromatográficas, foram calculados seus respectivos fatores de retenção (R_f) utilizando a seguinte fórmula: $R_f = Z_{cm}/FRONT\text{ cm}$.

2.7. Avaliações comportamentais

2.7.1. Modelo animal de ansiedade: Labirinto em Cruz Elevado (LCE)

Os animais foram avaliados no Labirinto em Cruz Elevado (LCE) por um período de cinco minutos. Este aparato foi validado como um teste de ansiedade (Pellow et al., 1985), feito de madeira, constituído por dois braços abertos (50 x 10 cm) e dois braços fechados (50 x 10 x 40 cm), arranjados de forma que os fechados eram perpendiculares aos abertos. O conjunto era elevado 50 cm do piso. Para evitar a queda dos animais, os braços abertos eram delimitados por uma proteção de madeira medindo 3 mm de altura e 2 mm de espessura. Cada rata foi levada individualmente em uma caixa de polipropileno forrada com serragem à sala experimental, sendo colocada no LCE com a face voltada para o braço fechado. Os resultados foram expressos em porcentagem de entradas e tempo nos braços abertos em relação ao total de entradas e tempo nos braços abertos e fechados, respectivamente. Foram medidos, ainda, o número de entradas nos braços fechados e o tempo de permanência no centro. Considerou-se entrada em um braço ou no centro quando ocorreu a passagem completa das quatro patas.

Imediatamente após exposição ao LCE, visando verificar se a atividade motora interferiu no teste de ansiedade, os animais foram colocados em uma Arena constituída de madeira e medindo 60 x 60 cm, com quadrados demarcados (20 x 20 cm). Para a análise foram computados os números de quadrados percorridos no período de cinco minutos.

2.7.2. Modelo animal de depressão: Teste do Nado Forçado (TNF)

Utilizou-se um aparato de plástico (40 x 20 cm), contendo 10 litros de água à 25° C, 20 cm abaixo da borda superior do recipiente, evitando a fuga dos animais. Este modelo foi adaptado do descrito por Porsolt (Porsolt *et al.*, 1978; Porsolt, Le Pichon & Jalfre, 1977).

Os animais foram conduzidos individualmente à sala experimental, em uma caixa de polipropileno forrada com serragem. Durante as sessões experimentais, foi trocada a água do balde, a fim de se contar o número de bolos fecais e de propiciar para o animal seguinte, água na temperatura adequada e limpa.

Cada rata foi introduzida individualmente no aparelho já descrito, e deixada por 15 minutos para habituação numa sessão de pré-teste. Após esta sessão, foi enxugada cuidadosamente com uma flanela seca e em seguida colocada em caixas individualizadas, em ambiente com temperatura controlada correspondente a 23°C, por um período mínimo de 1 hora. Em seguida foi reintroduzida em sua caixa, com os animais já submetidos à sessão pré-teste.

Vinte e quatro horas depois, cada rata foi submetida ao aparelho por um período de 5 minutos e, logo em seguida, por meio de uma flanela seca, foi retirado o excesso de umidade. Avaliou-se o tempo total de imobilidade durante o teste (em segundos), bem como o tempo de mobilidade e os dois principais tipos de natação (escalando a margem lateral do recipiente ou o nado sem escalada), conforme descrição apresentada por Borsini & Meli (1988), discriminando a ativação comportamental pelos sistemas serotoninérgico e noradrenérgico), e o número de bolos fecais eliminados.

Os testes foram realizados sob baixa iluminação (Díaz-Véliz *et al.*, 1997), semelhante à iluminação do biotério (50 lux). As demais condições ambientais foram

exatamente as mesmas do biotério. Todas as avaliações comportamentais foram conduzidas entre 13:00 e 16:00 horas. Entre as avaliações, os aparelhos foram submetidos à limpeza com álcool a 20% e em todas elas o experimentador permaneceu fora da sala. Os testes foram registrados através de um sistema de vídeo e analisados por intermédio do programa Etholog 2.25 (Ottoni, 2000).

2.8. Avaliações de parâmetros morfológicos e fisiológicos

Foram registrados o peso corporal inicial (no dia do início do tratamento) e final (imediatamente após as avaliações comportamentais). A diferença entre o peso final e inicial foi denominada de peso diferencial.

Após as avaliações comportamentais, as ratas foram imediatamente sacrificadas por meio da decapitação para dissecação do conjunto reprodutor (tubas uterinas e útero), adrenais, baço, fígado e timo, que foram pesados em balança analítica para a determinação do peso relativo, levando-se em consideração o peso corporal final da rata.

2.9. Análise estatística

Os dados obtidos no LCE, arena, TNF, o peso corporal diferencial, bem como o peso relativo dos órgãos citados foram submetidos separadamente à análise de variância (ANOVA de uma via), após terem sido analisados pelo teste de Levene para verificação da homogeneidade das amostras. Quando não houve homogeneidade, os dados foram submetidos à análise não-paramétrica, Teste Kruskal-Wallis. Foram considerados resultados significativos quando houve diferença entre os grupos controles e experimentais, tendo como base um valor de p menor que 0,05.

3. Resultados

3.1. Análises fitoquímicas

3.1.1. Ácido ascórbico

Utilizando o procedimento descrito no item 2.6.2., foi encontrado um valor de 100,75mg/100g de polpa do *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. (Tabela 1).

Tabela 1- Teor de Ácido Ascórbico em *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil..

Análise	<i>Solanum lycocarpum</i> A. St.-Hil.
Ácido Ascórbico (mg/100g de polpa fresca)	100,75 ± 4,24

3.1.2. Perfil cromatográfico

3.1.2.1. Compostos flavonoídicos

O cromatograma em CCD foi revelado com o reagente NP/PEG submetido à luz ultravioleta, no qual foi aplicada e eluída a amostra do extrato de *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil., juntamente com os padrões, quercetina, ácido gálico e rutina. Pela eluição cromatográfica e os cálculos dos referidos valores de R_f das diferentes amostras, verificou-se a presença de composto polifenólico no extrato de *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil (Figura 1).

O extrato de *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil apresentou R_f (0,10 cm), valor semelhante ao encontrado no padrão rutina (R_f= 0,10 cm).

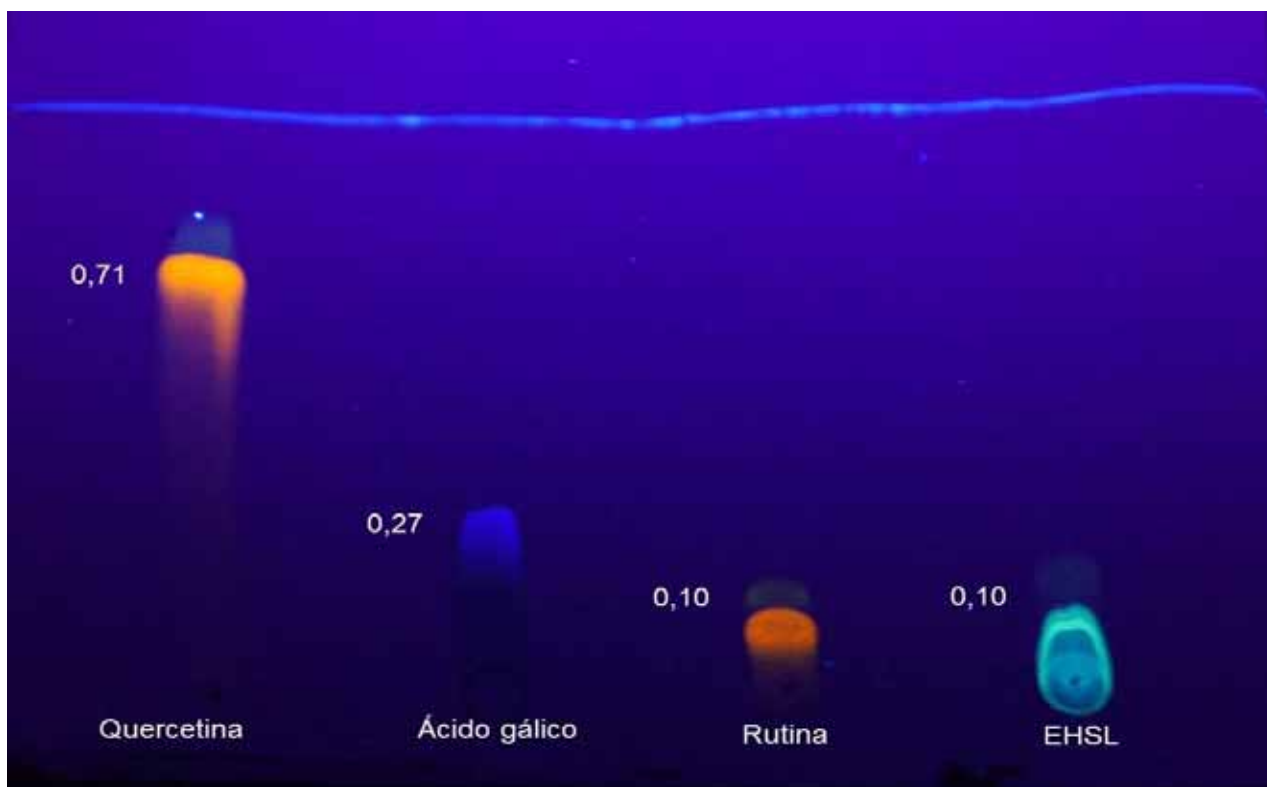


Figura 1. Cromatograma do extrato de *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. e padrões Quercetina, Ácido Gálico e Rutina, para identificação de compostos flavonoídicos. Identificação das zonas cromatográficas com seus respectivos valores de Rf (cm).

3.1.2.2. Alcaloides

O cromatograma em CCD revelado com o reagente Dragendorff submetido à luz ultravioleta, no qual foi aplicada e eluída a amostra do extrato *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. juntamente com os padrões solasodina, pilocarpina, cafeína e emeína. Pela eluição cromatográfica e os cálculos dos referidos valores de Rf das diferentes amostras, não se verificou a presença de alcaloides no extrato (Figura 2).

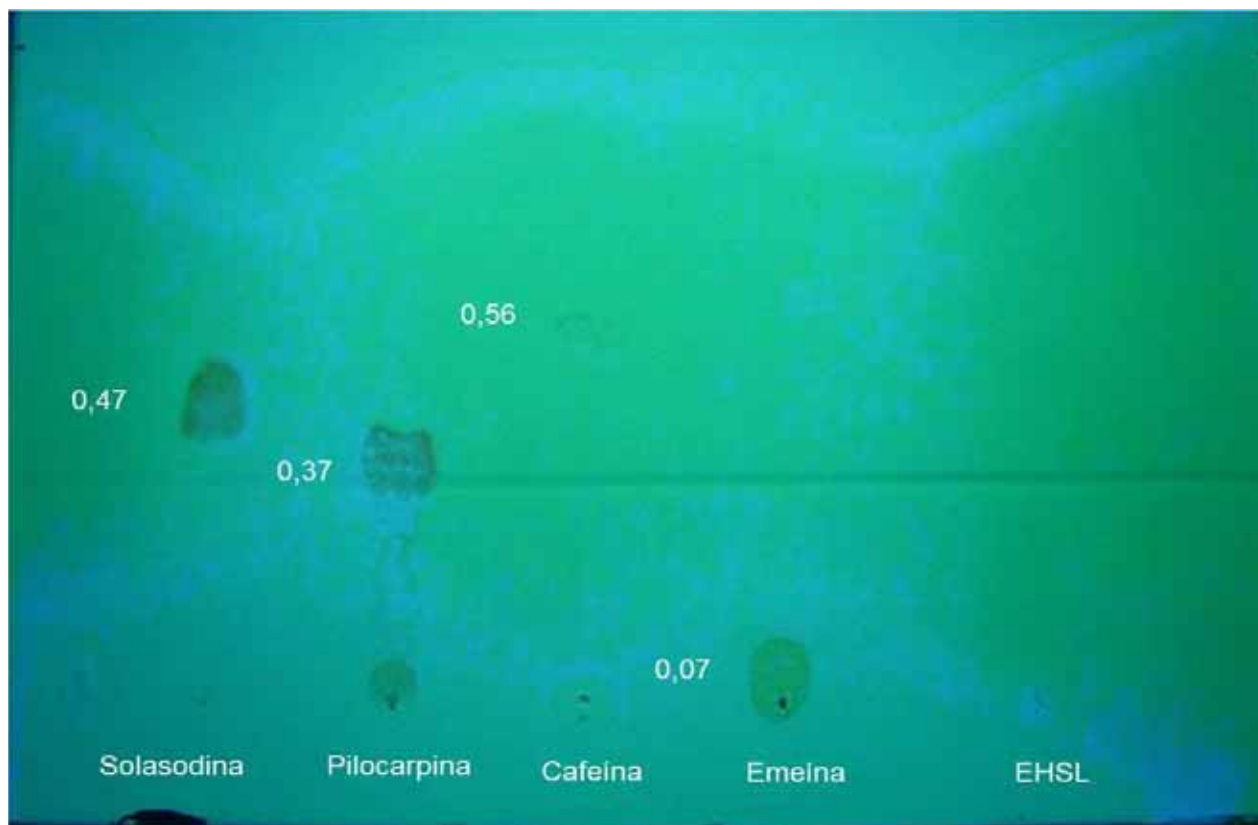


Figura 2. Cromatograma do extrato de *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. e padrões Solasodina, Pilocarpina, Cafeína, e Rutina, para identificação de alcaloides. Identificação das zonas cromatográficas com seus respectivos valores de Rf (cm).

3.2. Análise do comportamento no LCE e Arena

3.2.1. Porcentagem de entradas nos braços abertos sobre o total de entradas

Analisando a porcentagem de entradas nos braços abertos sobre o total de entradas, a ANOVA mostrou que não houve diferenças entre os grupos, ou seja, nem a ovariectomia e nem o tratamento com as diferentes doses do extrato hidroalcoólico de *Solanum Lycocarpum* A. St.-Hil. ocasionaram modificações no comportamento das ratas no LCE [$F(4,37)=0,14$; $p=0,967$] (Figura 3) (Levene: $F=0,89$; $p=0,477$).

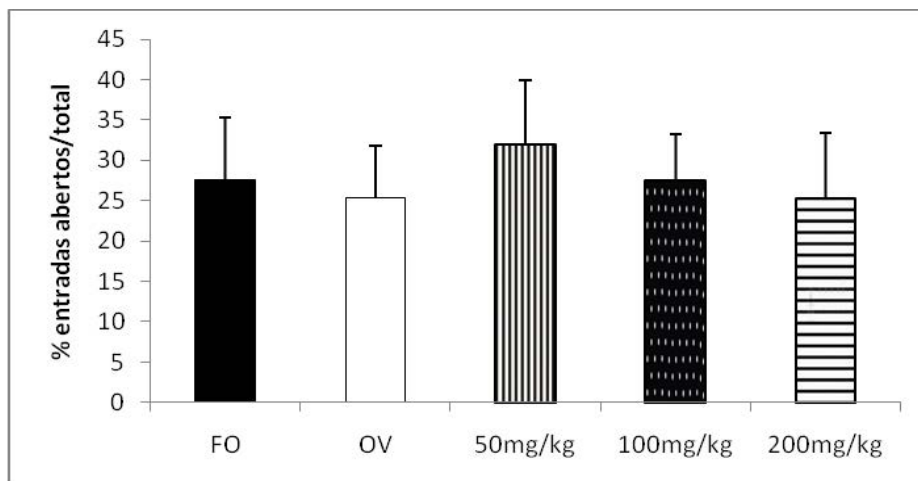


Figura 3 – Média + EPM da porcentagem de entradas nos braços abertos/total de entradas no LCE por ratas falso-operadas (FO), ovariectomizadas (OV) e ovariectomizadas tratadas cronicamente com as diferentes doses do extrato hidroalcoólico de *Solanum lycocarpum* (ANOVA).

3.2.2. Porcentagem de tempo nos braços abertos sobre o total

Quanto à porcentagem de tempo nos braços abertos sobre o total de tempo nos braços abertos e fechados, não se constatou diferenças entre os grupos [$F(4,37)=0,45$; $p=0,774$] (Figura 4) (Levene: $F=2,37$; $p=0,070$).

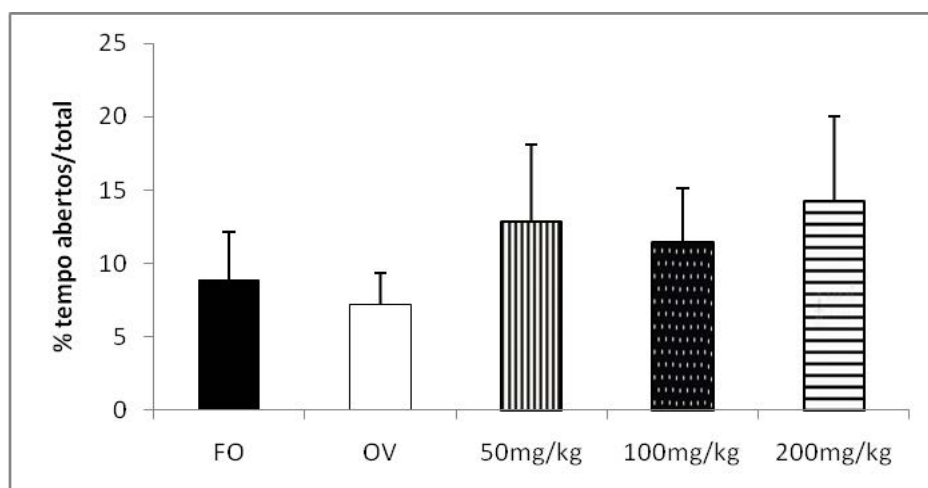


Figura 4 - Média + EPM da porcentagem de tempo nos braços abertos sobre o total de tempo nos braços abertos e fechados do LCE apresentado por ratas falso-operadas (FO), ovariectomizadas (OV) e ovariectomizadas tratadas cronicamente com extrato hidroalcoólico de *Solanum Lycocarpum* A. St.-Hil. (ANOVA).

3.2.3. Entradas nos braços fechados

Em relação às entradas nos braços fechados, a ANOVA mostrou que não houve efeito diferenças entre os grupos [$F(4,37)=0,75$; $p=0,565$], como pode ser observado na Figura 5 (Levene: $F=2,14$; $p=0,096$).

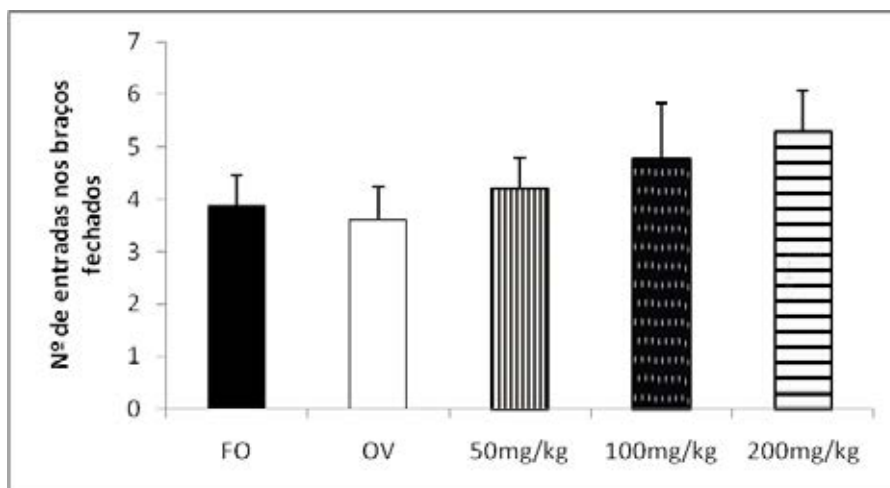


Figura 5 – Média + EPM das entradas nos braços fechados do LCE apresentadas por ratas falso-operadas (FO), ovariectomizadas (OV) e ovariectomizadas tratadas cronicamente com extrato hidroalcoólico de *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. (ANOVA).

3.2.4. Tempo de permanência do animal no centro

Quanto ao tempo de permanência do animal no centro do LCE, também não se constatou diferenças entre os grupos [$F(4,37)=0,53$; $p=0,715$] (Figura 6) (Levene: $F=0,33$; $p=0,854$).

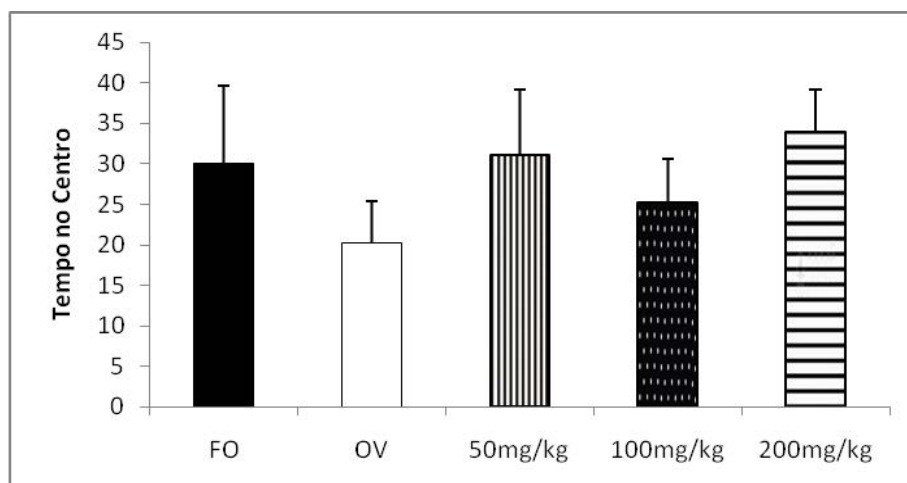


Figura 6 – Média + EPM do tempo de exploração no centro do LCE em segundos por ratas falso-operadas (FO), ovariectomizadas (OV) e ovariectomizadas tratadas cronicamente com extrato hidroalcoólico de *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. (ANOVA).

3.2.5. Número de quadrados percorridos na arena

Quanto ao número de quadrados percorridos na arena, a ANOVA mostrou que não houve diferença entre os grupos [$F(4,37)=2,62$; $p=0,050$], no entanto, observou-se um resultado fronteiroço. O teste de Duncan apontou que o grupo tratado cronicamente com o extrato hidroalcoólico de *Solanum Lycocarpum* A. St.-Hil., na dose de 100mg/kg apresentou aumento de atividade motora quando comparado com ratas ovariectomizadas não tratadas ($p<0,05$) (Figura 7a). Considerando que não houve homogeneidade no teste (Levene: $F=2,79$; $p=0,040$) os dados foram submetidos à uma análise não-paramétrica de Kruskal-Wallis, conforme mencionado anteriormente, e os resultados foram ilustrados através da Figura 7b: $\chi^2=2,11$; $p=0,715$, não evidenciando-se diferenças entre os grupos.

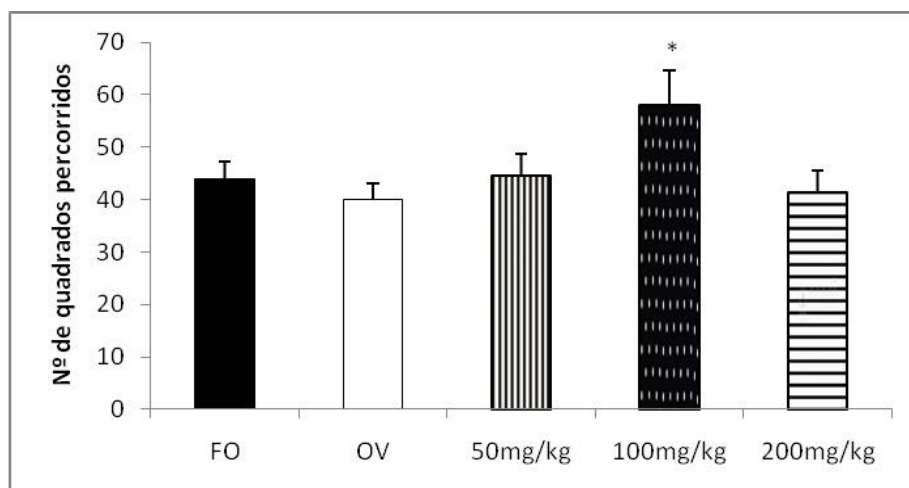


Figura 7a – Média + EPM do número de quadrados percorridos na Arena por ratas falso-operadas (FO), ovariectomizadas (OV) e ovariectomizadas tratadas com extrato hidroalcoólico de *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. (ANOVA). * $p < 0,05$ representa a diferença para com os demais grupos (ANOVA seguida pelo teste *post hoc* de Duncan).

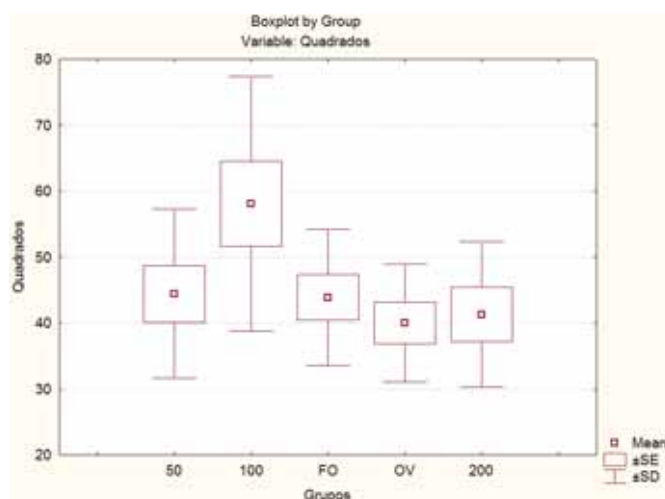


Figura 7b – Análise não-paramétrica do número de quadrados percorridos na arena por ratas falso-operadas (FO), ovariectomizadas (OV) e ovariectomizadas tratadas com extrato hidroalcoólico de *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. (Teste Kruskal-Wallis).

3.3. Análise do comportamento no TNF

3.3.1. Duração do comportamento de escalar

Quando se analisou a mobilidade das ratas caracterizada pelas tentativas de escalar as paredes do aparato foi possível verificar que houve diferenças entre os grupos [$F(4,45)=5,88$; $p=0,001$]. O teste de Duncan mostrou que a ovariectomia

prejudicou a manifestação desse comportamento em relação ao grupo falso-operado ($p < 0,01$) (Figura 8a) (Levene: $F=0,43$; $p=0,784$).

3.3.2. *Duração do comportamento de nado no centro*

Em relação à mobilidade das ratas de forma afastada das paredes do aparelho, ou seja, a natação de fato (Figura 8a), a ANOVA mostrou que não houve diferença entre os grupos [$F(4,45)=0,61$; $p=0,655$]. No entanto, como não se constatou homogeneidade (Levene: $F=3,40$; $p=0,016$) os resultados foram submetidos ao Teste Kruskal-Wallis, que confirmou a inexistência de diferenças entre os grupos em relação a esta variável ($\chi^2= 2,30$; $p= 0,681$ - Figura 8b).

3.3.3. *Duração do comportamento de imobilidade*

Inversamente, a análise do tempo em segundos que as ratas ficaram imóveis no teste, somente boiando, sem movimentação das patas, a ANOVA mostrou que houve diferenças entre os grupos [$F(4,45)=6,51$; $p < 0,001$]. Ratas ovariectomizadas, tratadas ou não, permaneceram mais imóveis no teste quando comparadas com ratas falso-operadas (teste de Duncan, $p < 0,01$) (Levene: $F=0,49$; $p=0,739$).

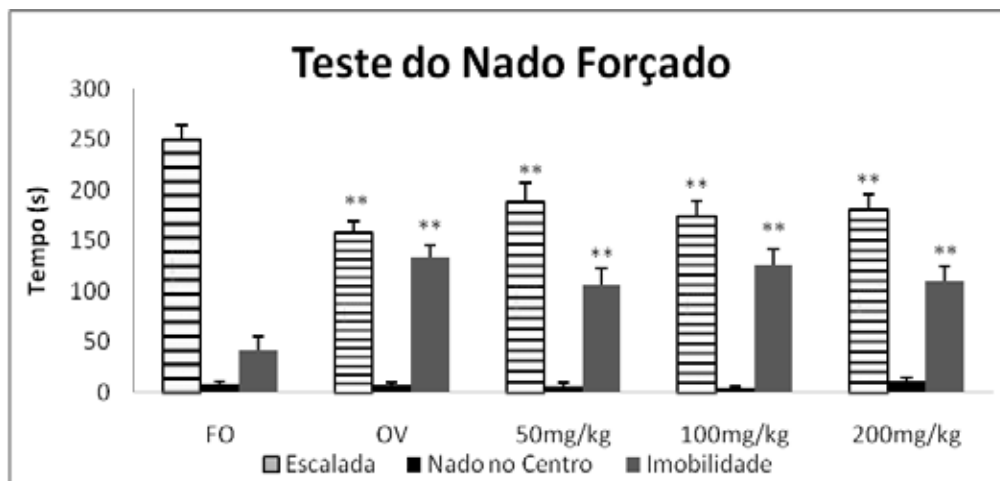


Figura 8a – Média + EPM do tempo em segundos que as ratas falso-operadas (FO), ovariectomizadas (OV) e ovariectomizadas e tratadas cronicamente com extrato hidroalcoólico de *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. permaneceram nadando (escalando as paredes do aparato ou movimentando-se afastadas das bordas do recipiente) ou imóveis ** $p < 0,01$ aponta que o comportamento das ratas ovariectomizadas foi diferente das ratas falso-operadas, independentemente do tratamento recebido, analisando cada variável separadamente (ANOVA seguida pelo teste *post hoc* de Duncan).

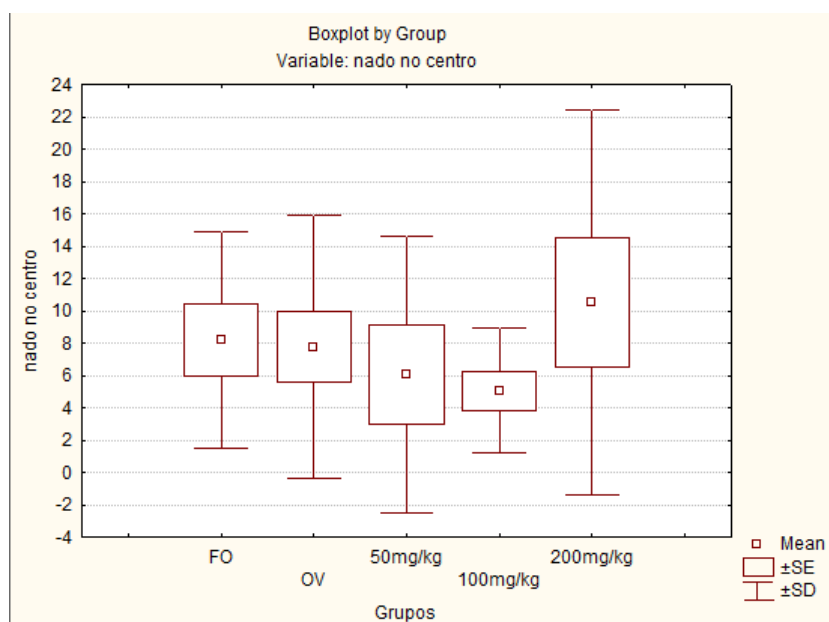


Figura 8b – Análise não-paramétrica do tempo de natação distante das bordas apresentado por ratas falso-operadas (FO), ovariectomizadas (OV) e ovariectomizadas tratadas com extrato hidroalcoólico de *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. (Teste Kruskal-Wallis).

3.4. Variação do peso corporal diferencial

Além das análises apresentadas acima, foi realizada a pesagem dos animais durante todo experimento, a fim de verificar possíveis diferenças na variação de peso corporal entre os grupos. Para isso, utilizou-se o peso diferencial dos animais, ou seja, a diferença entre o peso final (observado no dia da avaliação comportamental) e o peso inicial (observado no início do tratamento) de cada animal. A Figura 9a representa a média do peso diferencial de cada grupo.

Observando a variação do peso diferencial, a ANOVA mostrou que houve diferença entre os grupos [$F(4,37)=6,21$; $p=0,001$]. O teste de Duncan mostrou que a ovariectomia causou aumento no peso corporal das ratas ($p<0,001$) e o tratamento crônico com extrato hidroalcoólico de *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. impediu o mesmo ganho de peso, fazendo com que as ratas apresentassem um ganho de peso similar ao que se observou nas falso-operadas (extrato hidroalcoólico de *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. 50mg/kg $p<0,05$, 100mg/kg - $p<0,01$ e 200mg/kg - $p<0,001$). Como não houve homogeneidade (Levene: $F=3,47$; $p=0,017$) os dados foram submetidos à análise não-paramétrica (Teste Kruskal-Wallis), confirmando o efeito da ovariectomia aumentando o peso corporal, como também o efeito preventivo ao ganho de peso ocasionado pela maior dose do extrato hidroalcoólico de *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. ($\chi^2=13,81$; $p=0,008$) (Figura 9b).

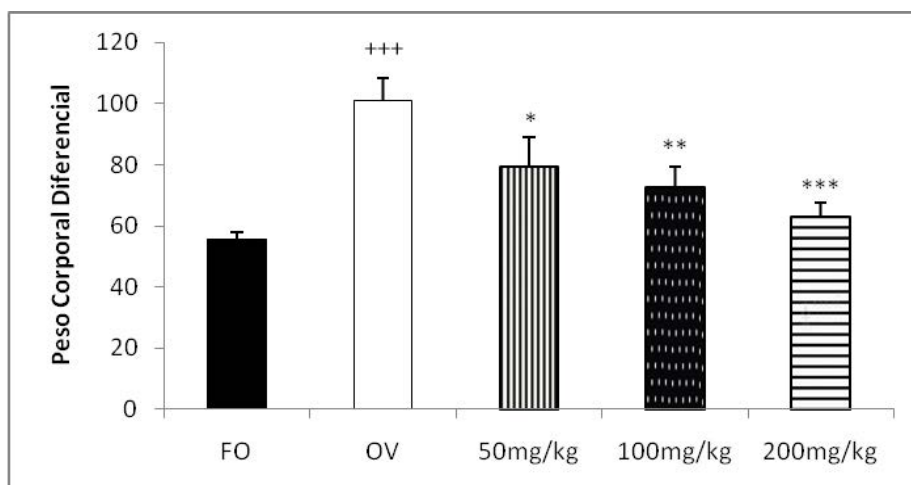


Figura 9a – Média + EPM do peso diferencial de ratas falso-operadas (FO), ovariectomizadas (OV) e ovariectomizadas tratadas com extrato hidroalcoólico de *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil.. ANOVA seguida pelo teste *post hoc* de Duncan. +++ $p < 0,001$, representa a diferença para com o grupo falso-operado; * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ e *** $p < 0,001$, representam as diferenças para com o grupo controle ovariectomizado.

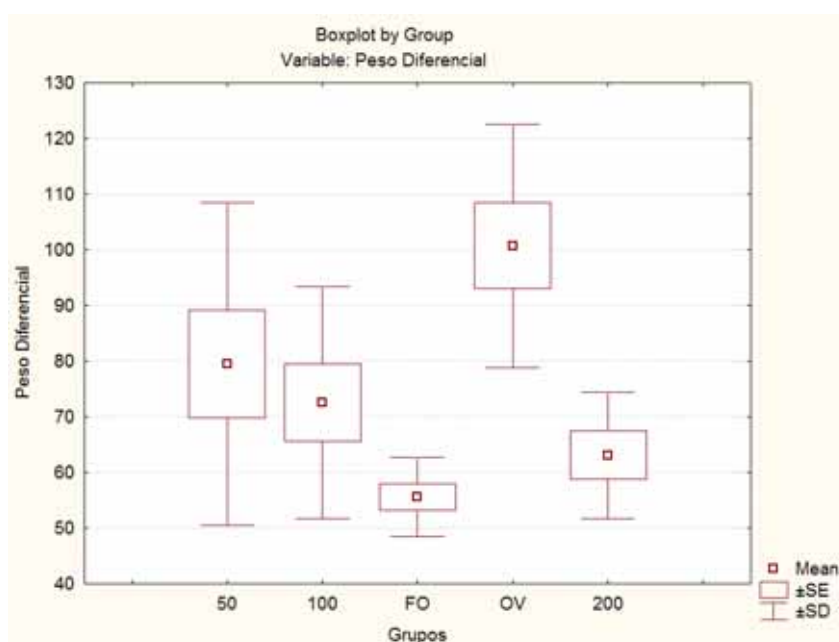


Figura 9b –Análise não-paramétrica do tempo de natção distante das bordas apresentado por ratas falso-operadas (FO), ovariectomizadas (OV) e ovariectomizadas tratadas com extrato hidroalcoólico de *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. (Teste Kruskal-Wallis).

3.5. Análise dos pesos dos órgãos

Além das análises apresentadas anteriormente, foi realizada a pesagem dos órgãos citados no item 2.8, a fim de verificar o efeito da ovariectomia e detectar possíveis efeitos tóxicos do extrato aplicado. Os resultados são descritos a seguir:

3.5.1. Peso relativo do conjunto reprodutor

Em relação ao peso do conjunto reprodutor (*útero e tubas uterinas*), a ANOVA mostrou que houve diferenças entre os grupos [$F(4,37)=7,01$; $p=0,000$] (Figura 10a). O teste de Duncan mostrou que a ovariectomia causou atresia das estruturas relacionadas com a função reprodutiva, conforme o esperado ($p<0,001$). Como não houve homogeneidade (Levene $F=3,36$; $p=0,019$), os dados foram submetidos ao Teste Kruskal-Wallis ($\chi^2=15,11$; $p=0,005$), confirmando tal constatação (Figura 10b).

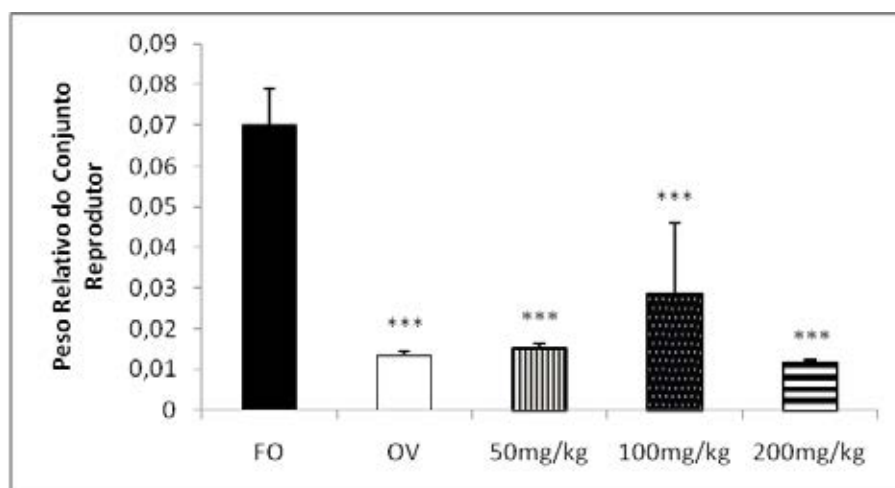


Figura 10a – Média + EPM do peso relativo do conjunto reprodutor de ratas falso-operadas (FO), ovariectomizadas (OV) e ovariectomizadas tratadas com extrato hidroalcoólico de *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil.. ANOVA seguida pelo teste *post hoc* de Duncan: *** $p<0,001$, representa a diferença para com o grupo falso operado.

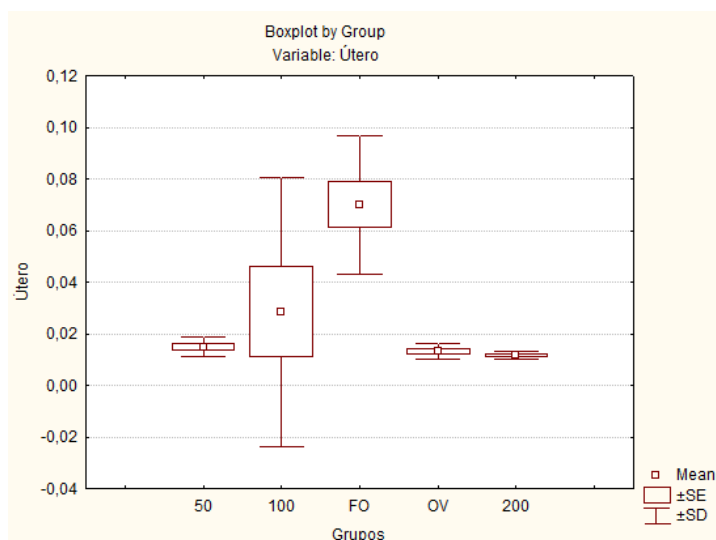


Figura 10b – Análise não-paramétrica do peso relativo do conjunto reprodutor apresentado por ratas falso-operadas (FO), ovariectomizadas (OV) e ovariectomizadas tratadas com extrato hidroalcoólico de *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. (Teste Kruskal-Wallis).

3.5.2. Peso das adrenais

Em relação ao peso das adrenais, a ANOVA mostrou que houve diferença entre os grupos [$F(4,37)=8,30$; $p=0,000$], como observado na Figura 11. A ovariectomia causou diminuição no peso das adrenais, conforme apontado pelo teste de Duncan em relação às ratas falso-operadas ($p<0,001$) (Levene $F=1,13$; $p=0,355$).

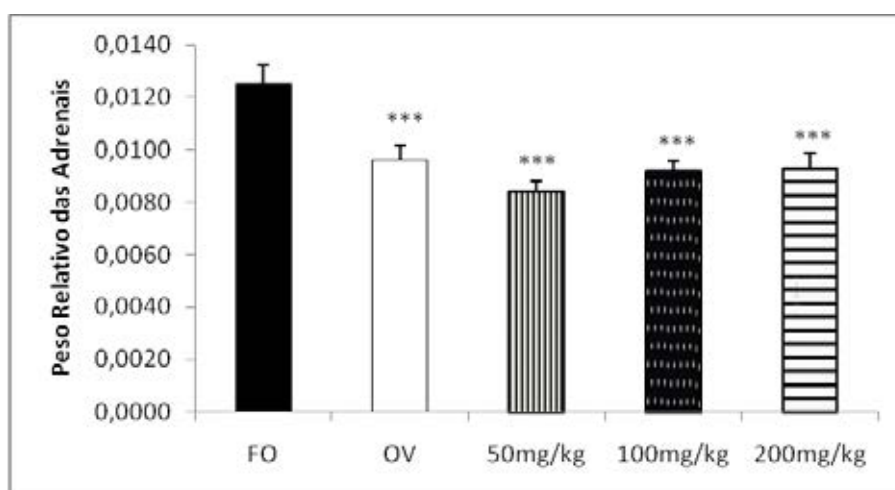


Figura 11 – Média + EPM do peso relativo das adrenais de ratas falso-operadas (FO), ovariectomizadas (OV) e ovariectomizadas tratadas com extrato hidroalcoólico de *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil.. ANOVA seguida pelo teste *post hoc* de Duncan: *** $p<0,001$, representa a diferença para com o grupo controle falso-operado.

3.5.3. Peso do baço

A ANOVA mostrou que não houve diferenças entre os grupos na análise do peso do baço [$F(4,37)=1,15$; $p=0,350$], como pode-se visualizar através da Figura 12 (Levene $F=1,61$; $p=0,191$).

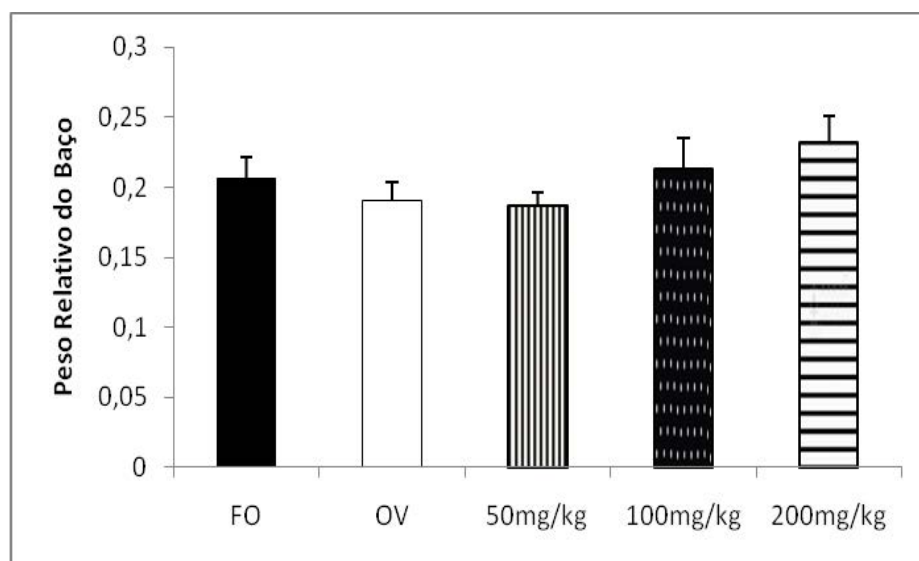


Figura 12 – Média + EPM do peso relativo do baço de ratas falso-operadas (FO), ovariectomizadas (OV) e ovariectomizadas tratadas com extrato hidroalcoólico de *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil.

3.5.4. Peso do fígado

Quanto ao peso do fígado, foi possível verificar que houve diferença entre os grupos [$F(4,37)=3,44$; $p=0,017$] (Figura 13). O teste de Duncan mostrou que o tratamento crônico com o extrato hidroalcoólico de *Solanum Lycocarpum* A. St.-Hil. nas doses de 50mg/kg e 100mg/kg causou diminuição no peso do fígado ($p<0,05$) (Levene $F=0,88$; $p=0,488$).

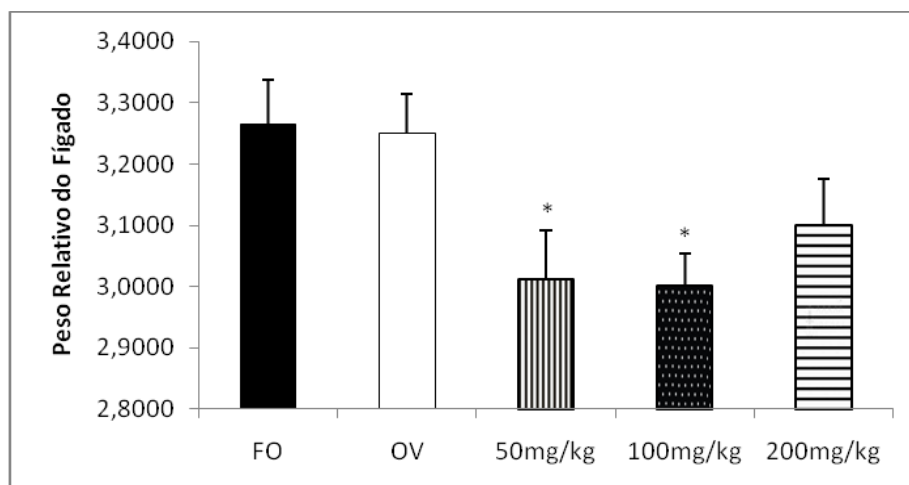


Figura 13 – Média + EPM do peso relativo do fígado de ratas falso-operadas (FO), ovariectomizadas (OV) e ovariectomizadas tratadas com extrato hidroalcoólico de *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil.. ANOVA seguida pelo teste *post hoc* de Duncan: * $p < 0,05$ representa as diferenças para com o grupo controle ovariectomizado.

3.5.5. Peso do timo

Quanto ao peso do timo, constatou-se diferença entre os grupos [$F(4,37)=4,98$; $p=0,003$], como observado na Figura 14. A ovariectomia aumentou o peso dessa estrutura relacionada com a resposta imunológica ($p < 0,01$) (Levene $F=1,85$; $p=0,140$).

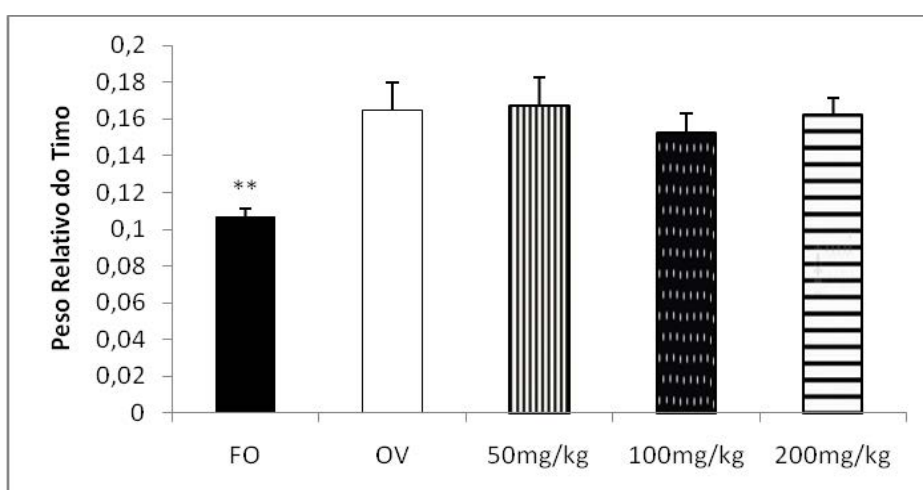


Figura 14 – Média + EPM do peso relativo do timo de ratas falso-operadas (FO), ovariectomizadas (OV) e ovariectomizadas tratadas com extrato hidroalcoólico de *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil.. ANOVA seguida pelo teste *post hoc* de Duncan: ** $p < 0,01$, representa a diferença para com o grupo controle ovariectomizado.

3.6. Avaliação de ingesta, consumo de água e dejetos

Os resultados da análise do consumo de ração e água e eliminação urinária e fecal estão apresentados na Tabela 2.

Não se observou diferenças entre os grupos em relação ao consumo de ração (Teste Kruskal-Wallis $\chi^2=4,00$; $p=0,406$), nem quanto à ingesta de água [ANOVA: $F(4,15)=0,21$; $p=0,927$; Levene $F=1,49$; $p=0,254$] e nem também em relação aos dejetos eliminados [ANOVA: $F(4,15)=0,64$; $p=0,641$; Levene $F=1,95$; $p=0,155$].

Tabela 2- Débito de ingesta de ração (g), consumo de água (ml) e eliminação de dejetos (g).

Grupos	Ingesta de Ração (g)	Consumo de Água(ml)	Eliminação de Dejetos (g)
FO	207,72±6,58	308,18±10,87	165,93±8,04
OV	230,13±14,50	319,55±9,62	182,41±16,32
50mg/kg	218,44±6,76	314,72±17,41	167,44±13,26
100mg/kg	216,78±5,44	306,14±9,45	158,33±7,30
200mg/kg	209,71±6,61	304,68±17,86	164,47±7,72

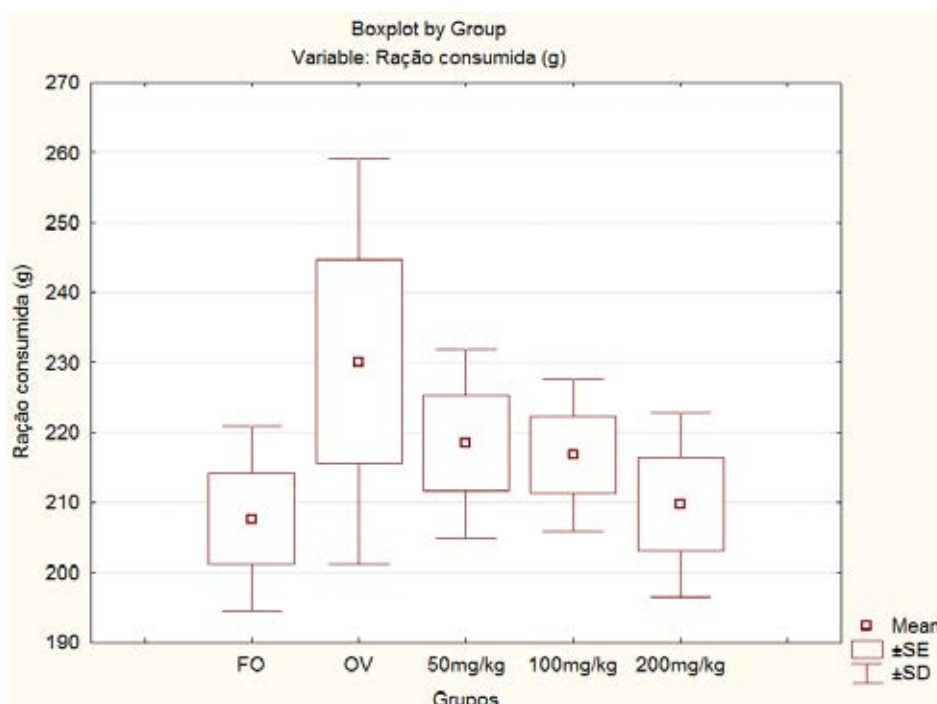


Figura 15 – Análise não-paramétrica da ração consumida por ratas falso-operadas, ovariectomizadas e ovariectomizadas tratadas com extrato hidroalcoólico de *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. (Teste Kruskal-Wallis).

4. Discussão

A análise fitoquímica do extrato hidroalcoólico do fruto de *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. não apontou a presença de alcaloides, mas foi identificada a presença de Ácido Ascórbico (Vitamina C) na polpa deste fruto, similar ao que foi observado por Oliveira Junior et al., (2003): 85,12 mg/100g de polpa fresca. Esse valor, quando comparado ao de outros frutos como abacaxi, banana, laranja, manga e outros, é equivalente ou superior ao dos frutos em questão (Oliveira Junior et al., 2003). Observa-se assim, que o fruto da lobeira representa mais uma alternativa como fonte de vitamina C.

A vitamina C (ácido ascórbico) corresponde ao grupo das vitaminas hidrossolúveis e a sua fórmula molecular é $C_6H_8O_6$. Os seres humanos e outros primatas não sintetizam esta vitamina. A dose diária recomendada é de 100mg. O ácido ascórbico participa dos processos celulares de oxirredução, e na biossíntese das catecolaminas. Desempenha importante papel na defesa do organismo contra infecções e é fundamental na integridade das paredes dos vasos sanguíneos. É essencial para a formação das fibras colágenas existentes em praticamente todos os tecidos do corpo humano (Manela-Azulay et al., 2003).

Por ter ação antioxidante, o ácido ascórbico é capaz de captar o oxigênio livre decorrente do metabolismo celular, impedindo sua ligação com radicais livres, fenômeno que causaria dano celular (Petroianu, 2001).

Em um estudo conduzido com ratos Wistar, estudou-se os efeitos neuroprotetores da vitamina C nas alterações histopatológicas observadas no corpo estriado de ratos convulsivos, por meio do modelo de convulsão induzida por pilocarpina. Neste estudo, demonstrou-se que a vitamina C reduz o número de animais que apresentam convulsões e estado epiléptico induzido por pilocarpina e

que essa droga antioxidante aumenta o índice de sobrevivência dos animais. O ácido ascórbico tem a capacidade de reparar a lesão neuronal, juntamente com outras enzimas antioxidantes, sugerindo, assim, um papel neuroprotetor para a vitamina C (Freitas e Tome, 2010).

Em um estudo que teve por objetivo analisar a ação de substâncias antioxidantes: vitamina C (na dose 340 mg/kg de 12/12 horas), vitamina E e *Gingko biloba*, por via intraperitoneal, na viabilidade de retalho cutâneo dorsal em ratos, mediante os seguintes parâmetros: macroscopia - área de viabilidade do retalho e, microscopia - neovascularização do retalho, concluiu-se que a viabilidade do retalho cutâneo dorsal em ratos é maior nos grupos que receberam substâncias antioxidantes, sendo que o grupo que recebeu vitamina C foi superior a todos eles, e a neovascularização do retalho, evidenciada pelo aumento do número de vasos, está aumentada em todos os grupos, porém é mais pronunciada nos grupos que receberam as substâncias antioxidantes (Pace, Campos e Graf, 2006).

Um estudo recente avaliou o efeito protetor da vitamina C contra a perda de massa óssea associada com a diminuição dos hormônios femininos que acontece durante a menopausa. Utilizou-se ratas com 6 meses de idade, ovariectomizadas ou falso-operadas, divididas em 2 grupos, nos quais o primeiro recebeu 5 mg de vitamina C por dia e o segundo apenas água. Foi avaliada a densidade óssea antes, durante e após o período de tratamento. Os osteoblastos exigem a presença de ácido ascórbico para diferenciar-se em células maduras mineralizantes. Os resultados apontaram que o tratamento com vitamina C impediu a redução da superfície mineralizante, a taxa de deposição mineral (taxa de adição de novas camadas de mineral) e a taxa de formação óssea. Mais pesquisas são necessárias

para elucidar o mecanismo envolvido e a dosagem necessária para a utilização em humanos (Zhu et al., 2012).

O extrato de *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil apresentou Rf (0,10 cm), valor semelhante ao encontrado no padrão rutina (Rf= 0,10 cm) (composto flavonoídico).

A rutina (3-o-rutinosídeo-quercetina), flavonóide da classe dos flavonóis é empregada como antioxidante, no tratamento de insuficiência venosa ou linfática e na fragilidade capilar, dentre outras aplicações. Um estudo que avaliou a atividade biológica de *Baccharis articulata* Musa x *paradisíaca* e rutina na homeostasia da glicose em modelos experimentais in vivo e in vitro apontou que estes podem regular a homeostasia da glicose. Os mecanismos envolvem a inibição da enzima que permite a absorção intestinal da glicose, a inibição da glicação, o estímulo da secreção de insulina e o aumento na utilização de glicose pelos tecidos periféricos, evidenciando que essas duas espécies e a rutina podem atuar por múltiplos mecanismos de ação para regular a homeostasia da glicose e colaborar na prevenção das complicações da diabete (Kappel, 2012).

Em outro estudo, a administração de rutina em ratos (tratados duas vezes por semana com solução aquosa de rutina (Sigma) (60 mg/kg, 0,9 ml/rato) durante 15 dias, apresentou importante efeito na diminuição dos fatores de risco para doenças cardiovasculares, pois induziu a proliferação significativa da lipoproteína do colesterol-HDL sérico (Rodrigues et al., 2003).

A ovariectomia só alterou o comportamento no Teste do Nado Forçado (TNF), aumentando a imobilidade, mas não alterou o perfil de ansiedade no Labirinto em Cruz Elevado (LCE). Causou aumento de peso corporal, atrofia uterina, diminuição no peso relativo das adrenais e aumento no peso relativo do timo.

Na análise específica do TNF, foi possível verificar que as diferenças observadas foram nas escaladas e não no nado das ratas, afastadas das paredes do aparelho. Em estudo farmacológico de validação do TNF, este tipo de mobilidade foi relacionado com a atividade do sistema noradrenérgico (Detke et al., 1995), ou seja, a ovariectomia diminuiu esse comportamento, induzindo a inferência de que este procedimento, menopausa cirúrgica, ocasionou um comprometimento do sistema noradrenérgico e não do sistema serotoninérgico conforme suposto, que acionaria mais o nado fora das paredes.

Dados prévios ainda não publicados do nosso laboratório mostraram que o aumento de ansiedade em ratas ovariectomizadas somente se manifesta, quando são previamente expostas a um evento aversivo (Almada, 2005). Outros estudos já demonstraram que a ovariectomia causa ansiogênese (Patki, 2013) e comportamentos depressivos (Jiangqiang et al., 2014). A atrofia uterina se dá pela ausência dos esteroides sexuais (Torrezan et al., 2008). A diminuição no peso relativo das adrenais e aumento no peso relativo do timo podem ser interpretados como diminuição da atividade dessa glândula endócrina e aumento da resposta imune, em decorrência da ausência da atividade de estrógeno e progesterona. Não se pode atribuir tais resultados à cirurgia para remoção dos ovários, pois estas análises foram conduzidas um mês após o procedimento anestésico-cirúrgico, quando os efeitos dessa manipulação já se diminuíram. De fato, observa-se que a menopausa causa alteração na atividade do eixo hipotálamo-hipófise-adrenais (Douglas, 2006; Febrasgo, 2004).

Não se constatou efeito do tratamento crônico com extratos hidroalcoólicos de *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. sobre a manifestação de ansiedade e depressão, ou seja, os comportamentos das fêmeas ovariectomizadas não foram afetados por

essas manipulações. Como a ovariectomia somente causou aumento de imobilidade no TNF, um comportamento interpretado como depressivo (Porsolt *et al.*, 1978; Porsolt, Le Pichon & Jalfre, 1977), pode-se afirmar que os extratos não modificaram o perfil de ansiedade, e não foram eficazes no tratamento da depressão.

No entanto, ratas tratadas com 200mg/kg do extrato hidroalcoólico de *Solanum Lycocarpum* A. St.-Hil., apresentaram redução de peso corporal, sem alteração no perfil de ansiedade no LCE e aumento do peso do fígado, de adrenais e das demais estruturas que poderiam indicar um comprometimento orgânico devido a uma possível toxicidade da planta.

No Brasil, a lobeira tem sido utilizada em indivíduos que apresentam diabetes melito, obesos e para diminuição do nível de colesterol (Dall-Agnol e Von-Poser, 2000). Com base nesses relatos e no conhecimento popular indicando a provável propriedade hipoglicemiante dessa planta, pergunta-se, nesse ponto de análise, se a perda do peso corporal observada seria devido à diminuição no metabolismo da glicose, ou seria em decorrência de outros efeitos dos extratos sobre o comportamento alimentar ou sobre a digestão, diminuindo a absorção dos nutrientes ou até mesmo um efeito diurético, diminuindo o edema corporal.

Diversos mecanismos fisiológicos, periféricos e centrais estão envolvidos na manutenção do peso corporal, através de sinais de retroalimentação que controlam a ingestão de alimentos. A insulina, o glucagon e o hormônio do crescimento exercem controle sobre o comportamento alimentar (controle hormonal da ingesta). A insulina, na fase absorptiva (período de aquisição de fontes de energia pela corrente sanguínea) facilita o armazenamento de nutrientes sob a forma de glicogênio no fígado, gordura no tecido adiposo e proteína no músculo. Na fase pós-absorptiva, o glucagon, a adrenalina, os glicocorticóides e o hormônio do crescimento

participam do processo de glicogenólise. Dessa forma, na fase absorptiva evidencia-se a sensação de saciedade, já que os níveis de glicose estão aumentados no plasma. Na fase pós-absorptiva, a sensação de fome é observada devido aos baixos níveis de glicose. Com base nessas fundamentações, admitiu-se a hipótese da existência, no organismo, de monitores sensíveis a variáveis ou indicadores fisiológicos (níveis plasmáticos de glicose) que sinalizam cada uma dessas fases. Experimentos sugerem que deve haver glicorreceptores no hipotálamo ventromedial que poderiam cumprir esse papel. Nesse caso, o comportamento alimentar resultaria em ativação desses glicorreceptores seguida de redução nos níveis de insulina (Brandão, 2012).

O hipotálamo apresenta papel crucial na regulação do apetite. De acordo com estudos experimentais, o hipotálamo ventromedial tem sido designado como o centro da saciedade, e o hipotálamo lateral como centro da fome (Brandão, 2012). Convém ressaltar que o hormônio leptina também exerce uma função preponderante, pois é responsável pela regulação da massa corporal, por atuar em neurônios hipotalâmicos que reduzem o apetite e aumentam o gasto energético (Kimura et al., 2002; Bear, Connors e Paradiso, 2008).

Na análise da ingestão de alimento e de água, não se identificou diferenças significativas, muito embora exista uma direção de aumento na ingesta por ratas ovariectomizadas e diminuição nas tratadas com 200mg/kg do extrato. Da mesma forma, não se constatou alteração na eliminação de dejetos, que foi medida indiretamente através da pesagem da serragem. Esses resultados em conjunto eliminam as possibilidades apontadas anteriormente. Por exclusão, restaria mesmo o aspecto metabólico. Como ainda não foram analisadas as amostras de sangue, pode-se apenas inferir, com base nos apontamentos anteriores, como também no

conhecimento popular (Pripe, 1995; Lorenzi, 1991 apud Vidal, Stacciarini-Seraphin e Câmara, 1999), que o extrato hidroalcoólico teria de fato um efeito hipoglicemiante. Além disso, seria fundamental avaliar a glicosúria, pois o efeito hipoglicemiante pode ser interpretado como depósito no fígado, tecido muscular e adiposo, ou por eliminação. Assim, esses resultados são indicativos, mas não conclusivos no sentido de explicar a perda do peso corporal.

Sabe-se que compostos fenólicos apresentam efeito sobre o metabolismo de gorduras (Lamarao e Fialho, 2009), o que poderia também ser uma via de interpretação para a perda de peso corporal apresentada por ratas ovariectomizadas e tratadas com 200mg/kg do extrato hidroalcoólico de *Solanum Lycocarpum* A. St.-Hil..

Como a ovariectomia acarreta o aumento do peso corporal, e considerando que o tratamento com estrogênio minimiza este aumento do ganho de peso após esta intervenção cirúrgica (Kimura et al., 2002), supõe-se uma co-participação do estrógeno no controle dos fatores relacionados ao peso corporal. Tais resultados são de elevada relevância para a clínica, já que um dos grandes problemas associados à perda da função ovariana, quer seja por cirurgia de remoção dos ovários ou pela perda funcional natural resultante da progressão na idade das mulheres (climatério), é o aumento de peso corporal, relacionado à redução do metabolismo basal, redução da atividade física regular e ao aumento na ingestão de alimentos calóricos e a depressão (Fernandes et al., 2008). Esta alteração, além de implicar em problemas de saúde, como aumento nas taxas de colesterol (LDL), o que pode gerar doenças cardiovasculares, afeta de maneira contundente a auto-estima das mulheres, potencializando, assim, o aumento de ansiedade e a manifestação da depressão nesta fase da vida (Brasil, 2008). Sabe-se que grande

parte dos anorexígenos utilizados aumenta a ansiedade e são sempre acompanhados pelo uso de ansiolíticos, na tentativa de ocasionar a perda de peso, minimizando o sofrimento emocional.

Assim, encontrar um composto que cause perda de peso sem aumento de ansiedade e sinais indicativos de toxicidade sobre o organismo seria uma grande descoberta, o que fortalece a importância do presente estudo.

5. Conclusão

Foram identificados compostos fenólicos e ácido ascórbico no extrato hidroalcoólico de *Solanum Lycocarpum* A. St.-Hil., mas não alcaloides esteroidais como se esperava. O tratamento crônico com a maior concentração do extrato hidroalcoólico de *Solanum Lycocarpum* A. St.-Hil. preveniu o ganho de peso em ratas ovariectomizadas, sem afetar a morfologia macroscópica do fígado, baço, adrenais e timo, o que indiretamente sugere que pode não ter ocorrido disfunções nesses órgãos que indicariam toxicidade da planta. Esse mesmo tratamento não afetou o comportamento de ratas ovariectomizadas no Labirinto em Cruz Elevado e não reverteu a imobilidade constatada no Teste do Nado Forçado em decorrência da supressão da atividade ovariana. Considerando que não se constatou diferenças entre os grupos em relação à ingestão de ração e água e aos dejetos, pode-se inferir que o efeito do extrato hidroalcoólico de *Solanum Lycocarpum* A. St.-Hil., prevenindo o ganho de peso corporal em ratas em menopausa cirúrgica, tenha sido sobre funções relacionadas ao metabolismo da glicose e/ou de lipídeos, ou até mesmo sobre processos absorptivos. Outros estudos devem ser conduzidos nessa direção, com o objetivo de verificar se de fato o extrato hidroalcoólico de *Solanum*

Lycocarpum A. St.-Hil. poderia ser uma alternativa profilática em relação ao ganho de peso corporal, após perda das funções gonadais.

6. Referências

- Almeida, S.P.; Proença, C.E.B.; Sano, S.M.; Ribeiro, J.F. Cerrado: espécies vegetais úteis. 1 ed. Planaltina, DF: Embrapa-CPAC, 1998. p. 333-334.
- Amboni, M.P.M. Dieta, disponibilidade alimentar e padrão de movimentação do lobo-guará, *Chrysocyon brachyurus*, no Parque Nacional da Serra da Canastra, MG. Belo Horizonte (Dissertação de mestrado apresentada à Universidade Federal de Minas Gerais, UFMG) 108p, 2007.
- Bear, M.F.; Connors, B.W.; Paradiso, M.A. Neurociências – Desvendando o Sistema Nervoso. Porto Alegre 3ª ed, Artmed Editora, 2008. 857p.
- Benassi, M.T.; Antunes, A.J., 1998. A comparison of meta-phosphoric and oxalic acids as extractant solutions for the determination of vitamin C in selected vegetables. *Arquivos de Biologia e Tecnologia* 31, 507-513.
- Borsini, F.; Meli, A., 1988. Is the forced swimming test a suitable model for revealing antidepressant activity? *Psychopharmacology* 94, 147-160.
- Brandão, M.L. Psicofisiologia. 3a. ed. Rio de Janeiro: Editora Atheneu, 2012. 245 p.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Manual de Atenção à Mulher no Climatério/ Menopausa. 1. ed. Brasília: M.S., 2008. 192p.
- Bueno, A.A.; Belentani, S.C.S.; Motta-Junior, J.C., 2002. Feeding ecology of the maned wolf, *Chrysocyon brachyurus* (Illiger, 1815)(Mammalia: Canidae), in the Ecological Station of Itirapina, São Paulo State, Brazil. *Revista Biota Neotropica* 2, 1-9.

Chaves Filho, J.T.; Stacciarini-Seraphin, E., 2001. Alteração no potencial osmótico e teor de carboidratos solúveis em plantas jovens de lobeira (*Solanum lycocarpum* St.-Hil.) em resposta ao estresse hídrico. *Revista Brasileira de Botânica* 24, 199-204.

Copeland, J.F. Tratado de Ginecologia. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. 1151p.

Dall-Agnol, R.; Von-Poser, G.L., 2000. The use of complex polysaccharides in the management of metabolic diseases: the case of *Solanum lycocarpum* fruits. *Journal of Ethnopharmacology* 71, 337-341.

Detke, M.J.; Rickels, M.; Lucki, I., 1995. Active behaviors in the rat forced swimming test differentially produced by serotonergic and noradrenergic antidepressants. *Psychopharmacology* 121, 66-72.

Díaz-Véliz, G.; Alarcón, T.; Spinoso, C.; Dussaubat, N.; Mora, S., 1997. Ketanserin and anxiety levels: influence of gender, estrous cycle, ovariectomy and ovarian hormones in female rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 58, 637-642.

Douglas, C.R. Tratado de Fisiologia – Aplicada às Ciências Médicas. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. 1142p.

Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia

(São Paulo). Climatério: Manual de orientação. São Paulo:

FEBRASGO, 2004. 362p.

Fernandes, C.E.; Pinho-Neto, J.S.L.; Gebara, O.C.E.; Santos Filho, R.D.; Pinto Neto, A.M.; Pereira Filho, A.S.; Athayde, A.V.L.; Sposito, A.C.; Ferrari, A.E.M.; Albergaria, B.H.; Silva, C.R.; Arruda, C.G.; Stephan, C.; Nahas, E.P.; Pellini, E.A.J.; Alexandre, E.R.G.; Coutinho, E.M.; Porto, E.; Lima, G.R.; Andrade, I.A.L.B., Ferreira, J.A.S.; Lima, J.C.; Aldrighi, J.M.; Machado, L.V.; Azevedo, L.H.; Pompei, L.M.; Bertolami, M.; Steiner, M.L.; Albernaz, M.A.; Sá, M.F.S.; Wender, C.O.M.; Melo, N.R.; Spritzer,

P.M.; Strufaldi, R.; Machado, R.B.; Bossemeyer, R.P.; Costa, R.R.; Peixoto, S.; Carvalho, V.B.; 2008. Diretriz Brasileira sobre Prevenção de Doenças Cardiovasculares em Mulheres Climatéricas e a influência da Terapia de Reposição Hormonal (TRH) da Sociedade Brasileira de Cardiologia (SBC) e da Associação Brasileira do Climatério (SOBRAC). Arquivos Brasileiros de Cardiologia 91, 1-23.

Freitas, R.M.; Tome, A.R., 2010. Ações neuroprotetoras da vitamina C no corpo estriado de ratos após convulsões induzidas pela pilocarpina. Revista de Psiquiatria Clínica 37, 105-108.

Gendron, L. A Menopausa: seus problemas físicos e psicológicos. Tradução Norma Schipper. Rio de Janeiro: Americana, 1974. 21p.

Grace, M.H.; Saleh, M.M., 1996. Hepato-protective effect of daturaolone isolated from *Solanum arundo*. Pharmazie 51, 593-595.

Ibarrola, D.A.; Helli6n-Ibarrola, M.C.; Montalbetti, Y.; Heinichen, O.; Alvarenga, N.; Figueredo, A.; Ferro, E.A., 2000. Isolation of hypotensive compounds from *Solanum sisymbriifolium* Lam. Journal of Ethnopharmacology 70, 301-307.

Jiangqiang, L.; Youngjum, X.; Hui, S.; Zhiping, T.; Xin, N., 2014. 17b Estradiol replacement to ovariectomized rats ameliorates depression-like behavior. The FASEB Journal 28, supplement 876.2.

Kappel, V.D. Estudo da atividade biol6gica de *Baccharis articulata*, *Musa x paradisíaca* e rutina na homeostasia da glicose em modelos experimentais in vivo e in vitro. Florianópolis (Tese de doutorado apresentada à Universidade Federal de Santa Catarina, UFSC) 207p, 2012.

Kim, H.M.; Lee, E.J., 1998. *Solanum lyratum* inhibits anaphylactic reaction and supresses the expression of L-histidine decarboxylase mRNA. Immunopharmacology and Immunotoxicology 20, 135-146.

Kimura, M.; Irahara, M.; Yasui, T.; Saito, S.; Tezuka, M.; Yamario, S.; Kamada, M.; Aono, T., 2002. The obesity in bilateral ovariectomized rats is related to a decrease in the expression of leptin receptors in the brain. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 290, 1349-1353.

Lamarao, R.C.; Fialho, E., 2009. Aspectos funcionais das catequinas do chá verde no metabolismo celular e sua relação com a redução da gordura corporal. *Revista de Nutrição* 22, 257-269.

Lin, C.C.; Lin, W.C.; Yang, S.R.; Shieh, D.E., 1995. Anti-inflammatory and hepatoprotective effects of *Solanum alatum*. *The American Journal of Chinese Medicine* 23, 65-69.

Lopes, L.M., 2007. Brasil é recordista em remédios para emagrecer. *Correio Braziliense*. X Capa/Mundo. Disponível em:

<<http://www.anvisa.gov.br/DIVULGA/imprensa/clipping/2007/fevereiro/280207.pdf>>

Acesso em: 06/04/2014.

Manela-Azulay, M.; Mandarim-de-Lacerda, C.A.; Perez, M.A.; Figueira, A.L.; Cuzzi, T., 2003. Vitamina C. *Anais Brasileiros de Dermatologia* 78, 265-272.

Milewicz, A.; Jedrzejuk, D., 2006. Climacteric obesity: from genesis to clinic. *Gynecological Endocrinology* 22, 18-24.

Mola, J.L.; Araujo, E.R.; Magalhães, G.C., 1997. Solasodina em espécies de *Solanum* do cerrado do Distrito Federal. *Química Nova* 20, 460-462.

Motta-Junior, J.C.; Talamoni, S.A.; Lombardi, J.A.; Simokomaki, K., 1996. Diet of the maned wolf, *Chrysocyon brachyurus*, in Central Brazil. *Journal of Zoology* 240, 277-284.

Motta-Junior, J.C. 2000. Variação temporal e seleção de presas na dieta do lobo guará, *Chrysocyon brachyurus* (Mammalia: Canidae), na Estação Ecológica de Jataí,

Luiz Antonio, SP. In Estudos integrados em ecossistemas. Estação Ecológica de Jataí. (J.E. Santos e J.S.R. Pires, eds.). Rima Editora, São Carlos, p. 331-346.

Oliveira, S.C.C.; Ferreira, A.G.; Borghetti, F., 2004. Efeito alelopático de folhas de *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil. (Solanaceae) na germinação e crescimento de *Sesamum indicum* L. (Pedaliaceae) sob diferentes temperaturas. Acta Botanica Brasilica 18, 401-406.

Oliveira Júnior, E.N.; Santos, C.D.; Abreu, C.M.P.; Corrêa, A.D; Santos, J.Z.L., 2003. Análise nutricional da fruta de lobo (*Solanum lycocarpum* St.Hill) durante o amadurecimento. Ciência e Agrotecnologia 27, 846-851.

Ottoni, E.B., 2000. Etholog 2.2: A tool for the transcription and timing of behavior observation sessions. Behavior Research Methods, Instruments, e Computers 32, 446-449.

Pace, D.; Campos, A.C.; Graf, R., 2006. Efeito de Substâncias Antioxidantes (Vitamina C, Vitamina E e Ginkgo Biloba) na Viabilidade de Retalho Cutâneo Dorsal em Rato. Revista Brasileira de Cirurgia Plástica 21, 77-81.

Patki, G.; Allan, F.H.; Atrooz, F.; Dao, A.T.; Solanki, N.; Chugh, G.; Asghar, M.; Jafri, F.; Bohat, R.; Alkadhi, K.A.; Salim, S., 2013. Grape powder intake prevents ovariectomy-induced anxiety like behavior, memory impairment and high blood pressure in female Wistar rats. PLoS ONE 8, 1-10.

Pellow, S.; Chopin, P.; File, S.E.; Briley, M., 1985. Validation of open-closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. Journal of Neuroscience Methods 14, 149-167.

Petroianu, A.; Souza, S.D.; Martins, S.G.; Alberti, L.R., 2001. Influência do ácido ascórbico em anastomoses e alças jejunais íntegras de rato. Arquivos de Gastroenterologia 38, 48-52.

- Porsolt, R.D.; Anton, G.; Blavet, N.; Jalfre, M., 1978. Behavioural despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments. *European Journal of Pharmacology* 47, 379-391.
- Porsolt, R.D.; Le Pichon, M.; Jalfre, M., 1977. Depression: a new animal model sensitive antidepressant treatments. *Nature* 266, 730-732.
- Rodrigues, H.G.; Diniz, Y.S.A.; Faine, L.A.; Almeida, J.A.; Fernandes, A.A.H.; Novelli, E.L.B., 2003. Suplementação nutricional com antioxidantes naturais: efeito da rutina na concentração de colesterol-HDL. *Revista de Nutrição* 16, 315-320.
- Rodrigues, F.H.G.; Hass, A.; Lacerda, A.C.R.; Grando, R.L.S.C.; Bagno, M.A.; Bezerra, A.M.R.; Silva, W.R., 2007. Feeding habits of the maned wolf (*Chrysocyon brachyurus*) in the Brazilian Cerrado. *Mastozoología Neotropical* 14, 37-51.
- Rosano, G.M.C.; Vitale, C.; Marazzi, G.; Marazzi, M., 2007. Menopause and cardiovascular disease: the evidence. *Climacteric* 10, 19-24.
- Silva, J.A.; Silva, D.B.; Junqueira, N.T.V.; Andrade, L.R.M. Frutas nativas dos cerrados. Brasília: EMBRAPA, 1994. p. 166.
- Silva, P. Farmacologia. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p. 1374.
- Torrezan, R.; Gomes, R.M.; Ferrarese, M.L.; Melo, F.B.-H.; Ramos, A.M.D.; Mathias, P.C.F.; Scoparim, D.X., 2008. O tratamento com isoflavona mimetiza a ação do estradiol no acúmulo de gordura em ratas ovariectomizadas. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia* 52, 1489-1496.
- Vasques, F.; Martins, F.C.; Azevedo, A.P., 2004. Aspectos psiquiátricos no tratamento da obesidade. *Revista de Psiquiatria Clínica* 31, 195-198.
- Vidal, M.C.; Stacciarini-Seraphin, E.; Câmara, H.H.L.L., 1999. Crescimento de plântulas de *Solanum lycocarpum* St. Hil. (lobeira) em casa de vegetação. *Acta Botanica Brasilica* 13, 271-274.

Wagner, H.; Bladt, S., 1996. Plant drug analysis: a thin layer chromatography Atlas. 2ed. Springer Verlag, Berlin, p.384, 1996.

Zhu, L.L.; Cao, J.; Sun, M.; Yuen, T.; Zhou, R.; Li, J.; Peng, Y.; Moonga, S.S.; Guo, L.; Mechanick, J.I.; Iqbal, J.; Peng, L.; Blair, H.C.; Bian, Z.; Zaidi, M., 2012. Vitamin C Prevents Hypogonadal Bone Loss. PLoS ONE 7, 1-6.

7. Anexo

Anexo 1- Normas para elaboração e submissão de artigos na Revista *Journal of Ethnopharmacology*