

ESTUDO DOS EFEITOS NEUROLÉPTICOS DE DOIS COMPOSTOS DERIVADOS DA *Stevia rebaudiana*

Juida de Deus Palma Contar¹

Zelio Fedatto Jr.¹

Angeio Palma Contar²

¹ Universidade Estadual de Maringá - Centro de Ciências Biológicas e da Saúde,
Caixa Postal 331 - 87100 - Maringá, PR

² Setor de Ciências da Saúde - Universidade Federal do Paraná - Curitiba, PR

RESUMO

Dois compostos de *Stevia rebaudiana* foram analisados, com o objetivo de avaliar os seus efeitos neurolépticos. Os compostos Steviolbioside (120 e 240 mg/kg) e Isosteviol (120, 160, 200 e 240 mg/kg) foram administrados, via i.p., em ratos Wistar adultos. Os dois compostos foram diluídos em água destilada com pH 9 e o Haloperidol (2 mg/kg), administrado também via i.p., foi utilizado como droga padrão para catatonia e ptose palpebral. Somente os animais tratados com Isosteviol exibiram ptose palpebral e catatonia de forma significativa. Concluiu-se que a toxicidade do Isosteviol deve ser alvo de maiores investigações.

Unitermos: *Stevia rebaudiana*, catatonia, ptose palpebral, Steviolbioside e Isosteviol.

ABSTRACT

In this study, the neuroleptic effects of two compounds of *Stevia rebaudiana* were evaluated. Thus, Wistar adult male rats were submitted to Steviolbioside (120 and 240 mg/kg) and Isosteviol compounds (120, 160, 200 and 240mg/kg) by i.p. injections, These substances were diluted in destilated water 9 pH and the Haloperidol (2mg/kg), also injected i.p., used as a standarddrug for evaluate catatonic and palpebral ptosis responses. Animals submitted to Isosteviol exhibited significant catatonic and palpebral ptosis responses. It has been concluded that Isosteviol toxicity should be more investigated.

Keywords: *Stevia rebaudiana*, catatonic state, palpebral ptosis, Steviolbioside and Isosteviol

INTRODUÇÃO

Através da determinação da composição química dos princípios ativos de *Stevia rebaudiana* (Compositae) (Bridel e Lavieille, 1931) e dos seus respectivos processos de extração, descobriram-se novos princípios ativos. Foram também obtidos melhoramentos das técnicas de extração e de produção de outros derivados (Monsetting *et al.*, 1955 e 1961; Khoda *et al.*, 1976; Sakamoto *et al.*, 1977). O primeiro com posto identificado como glicosídeo foi denominado de Steviosidade (SS). Novos trabalhos sobre o mesmo foram feitos, originando outro produto, o Steviolbioside (SB), com duas moléculas de glicose. E isolaram também um outro que não apresentou sabor doce, Isosteviol (IS) (Fig. I). Conseqüentemente, hoje se conhece uma série destes compostos provenientes de diversos estudos.

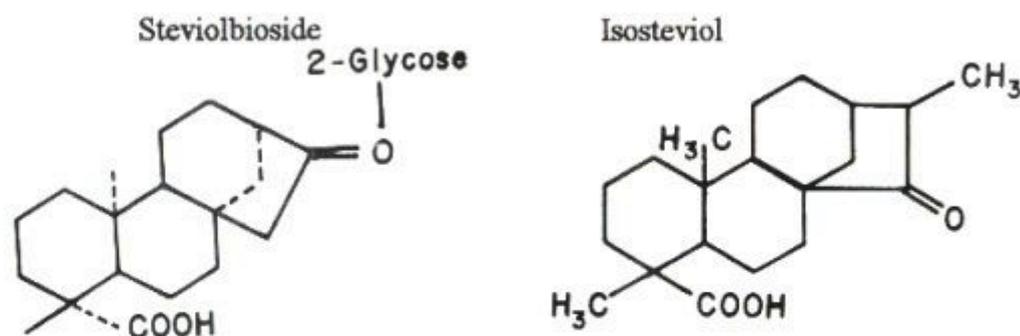


Fig. I - Steviolbioside (SB) e Isosteviol (IS), compostos derivados da *Stevia rebaudiana*

Entretanto, existe pouca informação das pesquisas feitas em animais intactos, quando se utiliza compostos derivados da *Stevia rebaudiana*. Os objetivos deste trabalho foi recuperar investigar a ação dos compostos SB e IS, através de administrações

em animais de laboratório, partindo-se da hipótese de que o composto pode ter efeito no sistema biológico, e "per se", vir a degradar-se. Foi escolhido, então, um composto que possui duas moléculas de glicose (SB) e um outro que a aglicônico (IS). A presença ou não da glicose na estrutura molecular demonstrou, através de sinais, diferenças comportamentais em camundongos, anteriormente verificadas. Face estes resultados usou-se a metodologia proposta neste trabalho, que é o estudo dos efeitos neurolépticos, que possam ter estes dois compostos derivados da *Stevia rebaudiana*.

MATERIAL E MÉTODOS

As soluções dos compostos, SB e IS, foram preparados em água destilada alcalinizada, pH nove, a fim de conseguir uma solução homogênea. E foram administrados pela via i. p., em diferentes doses, sempre com o objetivo de serem usadas doses altas uma vez que desejou maximizar as chances de identificar a toxicidade destas substâncias.

A droga como padrão foi o Haloperidol (Haldol®) da Johnson & Johnson, na dose de 2 mg/kg. O composto IS foi administrado nas doses de 120, 160, 200 e 240 mg/kg, e SB em 120 e 240 mg/kg. E o volume administrado em todas as substâncias foi de 0,1 ml/100g de peso corporal. Todos os grupos foram comparados com um grupo controle que só recebeu a água.

Os animais utilizados foram ratos Wistar, machos e fêmeas com três meses de idade, pesando $240 \pm 6g$ e $225 \pm 8g$, respectivamente, criados no Biotério Central do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Estadual de Maringá.

Após a ambientação de sete dias no laboratório de experimentação, os animais, no dia do experimento, foram mantidos em jejum de alimento sólido, por um tempo de 6h, recebendo água "ad libitum", e privados de ambos durante administrações.

A catatonía e a ptose palpebral são efeitos farmacológicos que podem indicar ação neuroléptica de um composto. O modelo animal de catatonía é caracterizado pelo estado de imobilidade tónica em roedores, e o animal não foge à postura imposta pelo experimentador, como, por exemplo, manter as patas dianteiras numa barra horizontal (Latim *et al.*, 1986). A ptose palpebral é caracterizada por um fechamento de pálpebras.

A catatonía foi avaliada em segundos, pelo tempo total que os ratos ficaram na postura "de pé". Cada medida consistiu em três tentativas no máximo, uma logo em seguida à outra, em que o experimentador apoiou o animal na barra. Estas medidas foram feitas durante duas horas, após a administração das drogas, em intervalos de 20 minutos cada.

A ptose palpebral foi avaliada antes de cada medida de catatonía, nos intervalos de tempo estabelecidos através de uma escala de 5 pontos: 0 - pálpebras totalmente abertas; 1 - pálpebras 1/3 cerradas; 2 - pálpebras 1/2 cerradas; 3 - pálpebras 2/3 cerradas e 4 - pálpebras totalmente cerradas.

Todos os animais foram testados no tempo zero, isto é, antes da primeira administração.

RESULTADOS

De acordo com a Tabela 1 SB, nas doses de 120 e 240 mg/kg, administradas via i.p., não provocam efeitos de catatonía e ptose palpebral.

Os outros dados registrados na mesma Tabela mostram que doses crescentes do composto IS induziram aumento da ptose palpebral, até duas horas a administração nos animais. Foi nítida também, a diferença na potência desta resposta, quando os animais receberam IS pela administração i.p. de 160, 200 e 240 mg/kg, e que se apresentaram com valores do que àquela ptose palpebral induzida pelo Haloperidol, administrado pela mesma via, e na dose de 2mg/kg.

Em relação a catatonía nota-se que apenas duas doses de IS, 160 e 200 mg/Kg, mostraram efeitos estatisticamente significantes, quando comparados com o grupo água. No entanto os valores foram menores do que àqueles encontrados após a administração do Haloperidol, no mesmo intervalo de tempo.

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Face aos dados já conhecidos sobre os compostos derivados da *Stevia rebaudiana*, vem tornando-se indispensável a continuidade do estudo se seus compostos, aplicando-se desta forma os conhecimentos sobre o papel que podem exercer estes compostos provenientes deste vegetal, quando utilizado aleatoriamente pela população. Em alguns casos mostram vantagens nos ensaios experimentais, por exemplo, ao possuírem propriedades hipoglicemiantes em animais de laboratório (Schmeling, 1967) e ausência de toxicidade de alguns destes compostos (Akashi e Yokoyama, 1975; Bracht *et al.*, 1985). Outros resultados também tem se mostrado satisfatórios, por exemplo quanto a não detecção de ação mutagênica (Kerr *et al.*, 1983).

Então os estudos quanto aos efeitos de cada um dos compostos isolados da *Stevia rebaudiana*, procurou assegurar a possível utilização deles como agentes adoçantes ou mesmo farmacológicos.

A análise dos efeitos neurolépticos dos compostos provenientes de *Stevia rebaudiana* permitiu concluir que IS, em dose baixa (160 mg/kg), provada ptose palpebral e catatonía. Verifica-se que, de acordo com a tabela 1, que os animais apresentaram os mesmos efeitos também com a dose de 200 mg/kg do mesmo composto, entretanto com a amior dose, 240 mg/kg, não foi registrada a mesma resposta; à medida que as doses foram sendo aumentadas, os animais se apresentam mais suscetíveis ao manuseio.

Os valores numéricos do grupo de animais administrados com IS, que identificaram a mediana da ptose palpebral, em graus, foram diferentes estatisticamente quando comparados com o grupo água (Tabela 1). Mas o valor obtido por esta resposta, ficou aquém daquele registrado pelo grupo de animais tratados pelo haloperidol.

No Brasil, o uso popular da *Stevia rebaudiana*, por meio de chás, produziu sensíveis melhoras e bem estar em diabéticos, levando a sugeris que seja consequência da presença

de outros compostos, que podem fazer parte da composição química da planta. O IS ao induzir um estado catatonico e ptose palpebral, deve ser alvo de pesquisa mais específicas.

Então os compostos substituintes do açúcar e possíveis modificações químicas que venham a sofrer, devem ser exaustivamente estudados. Os aspectos biológicos aqui registrados, acrescidos de outros como por exemplo, cariogenicidade podem fazer parte dos estudos posteriores com estes compostos. Não descartando as características físico-químicas de cada um deles, que se revestem também de importância.

		MEDIDAS				
TRATAMENTO	DOSE (mg/kg)	Tempos:	CATATONIA (seg) (média ± e.f.)		PTOSE (graus) (mediana)	
			1h	2h	1h	2h
Água (8)	-		0	0	0,0	0,0
IS (8)	120		181 ± 173	223 ± 118	0,0	0,0
	160		53 ± 19	111 ± 32	1,0	1,0*
	200		84 ± 31	205 ± 68	1,0	1,0
	240		162 ± 106	547 ± 395	1,5	1,5*
SB (8)	120		0	0	0	0
	240		0	0	0	0
Haloperidol (5)	2		577 ± 387	2128 ± 588	1,0	3,0*

TABELA 1 - Efeitos do Isosteviol (IS) e Steviolbiosídeo (SB), administrados via i.p., sobre a catatonía e ptose palpebral em ratos

(*) Difere estatisticamente do grupo água. Teste "t" Student para Catatonía $p \leq 0,05$; Mann Whitney para ptose palpebral $p \leq 0,008$. Número entre parêntese significa o número de animais utilizados para cada dose.

Agradecimentos:

Agradeço a Sra. Maria Celenei de Oliveira Guerra, secretária do DBC, da Universidade Estadual de Maringá, pelos serviços datilográficos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKASHI, H. e IOKOYANA, Y. (1975). Dried-leaf extracts of *Stevia Toxicological Shokuhin Kogyo*, **IS** (20): 34-43.
- BRACHT, A.M.K.; KERMMELMEIR, F.S.; ISHII, E.L.; ALVAREZ, M. e BRACHT, A. (1985). Effect of *Stevia rebaudiana*. Natural products on cellular metabolism. *Arq. Biol. Tecnol.* **28**(3): 431-455.
- BRIDEL, M. e LAVIEILLE, R. (1931). Le principe à saveur sucrée du Kaá-hê-é (*Stevia rebaudiana*, Bertoni). *Bull. Soc. Chem. Biol.* **13**: 636-655.
- BRIDEL. (1931). Le principe sucré du Kaá-hê-é (*Stevia rebaudiana*, Bertoni). II. L'hydrolyse diastasique du estevioside. Le steviol de l'hydrolyse diastasique et l'isotevioli de l'hydrolyse acide. *Bull. Soc. Chem. Biol.*, **13**: 781-796.
- BRIDEL. (1931). Sur le principe sucré des feuilles de Kaá-hê-é (*Stevia rebaudiana*, Bertoni). *Compt. Rend. Acad. Sci.*, **192**: 1123-1125.
- BRIDEL. (1931). Le rebaudine de Dietrich est du Stevioside impur. *J. Pharm. Chim.*, **14**: 161-163.
- CARLINI, E.A.; PALMA-CONTAR, J.D.; SILVA-FILHO, A.R.; SILVEIRA FILHO, N.G.; FROCHTENGARTEN, M.L. e BUENO, O.F.A. (1986). Pharmacology of Lemongrass (*Cymbopogon citratus*, Stapf). I. Effects of teas prepared from the leaves on laboratory animals. *J. Ethnoph.*, **17**: 37-64.
- KERR, W.; MELLO, M.L.S. e BONADIO, E. (1983). Mutagenicity tests on the stevioside from *S. rebaudiana* (Bert) Bertoni *Rev. Bras. Genet.*, **6**: 173-176.
- KOBAYASHI, M.; HORIKAWA, S.; DEGRANDI, I.H.; UENO, J. e MITSUHASHI, H. (1977). Dulcosides A and B, new diterpene glycosides from *Stevia rebaudiana*. *Phytochemistry*, **16**: 1405-1408.
- KOHDA, H.; KASAI, R.; YAMASAKI, K.; TANAKA, O. e MURAKAMI, K. (1976). New sweet diterpene glucosides from *Stevia rebaudiana*. *Phytochemistry*, **15**: 981-983.
- MONSETTIG, E. e NES, W.R. (1955). Stevioside. II. The structure of the aglucon. *J. Org. Chem.*, **20**: 884-899.
- MONSETTIG, E.; QUITT, P.; BEGLINGER, U. e WATERS, J.A. (1961). A direct correlation of the diterpene alkaloids and hydrocarbons of the phyllocladene group. Interconverts of garryfoline and steviol. *J. Amer. Chem. Soc.*; **83**: 3163-3164.
- SAKAMOTO, I.; YAMASAKI, K. e TANAKA, O. (1977). Application of ¹³C-NMR Spectroscopy to chemistry of plant glycosides: rebaudiosides D e E, new sweet diterpene - glycosides of *Stevia rebaudiana*, Bertoni. *Chem. Pharm. Bull.*, **25**(12): 2437-2439.
- SCHMELING, G. A. VON; F. V. e ESPINOSA, A.D. (1977). *Stevia rebaudiana*, Bertoni. Avaliação do efeito hipoglicemiante em coelhos aloxonizados. *Bol. San. S. Lucas. S. Paulo XCIV* (5): 67-78.