

ESTUDO DA AÇÃO ANTINOCICEPTIVA DE *COMBRETUM LEPROSUM* MART & EICH EM MODELOS ANIMAIS DE DOR INFLAMATÓRIA.

Heliana de Barros Fernandes (bolsista do PIBIC/UFPI), Luciano da Silva Lopes (colaborador), Mariana Helena Chaves (colaboradora, Depto de Química – UFPI), Fernanda Regina de Castro Almeida (Orientadora, Depto de Bioquímica e Farmacologia – UFPI)

1.0. Introdução

O *Combretum leprosum* Mart & Eicher, conhecido como mufumbo ou mofumbo, é uma planta encontrada em estados do Nordeste brasileiro, principalmente Piauí e Ceará, e possui atividade antiinflamatória comprovada (SILVA, 2009). Popularmente é utilizado no tratamento de diarreias, dores de dente, como antiofídica e na cicatrização de feridas. Alguns estudos com essa espécie demonstraram ação antinociceptiva em modelos de dor aguda, e outras espécies do gênero também mostraram ação antiinflamatória (PIETROVSKI et al., 2006). Estudos previamente realizados no Núcleo de Pesquisas em Plantas Mediciniais (NPPM) da UFPI mostraram que o *Combretum leprosum* é muito eficaz como antinociceptivo em modelos de dor, e especificamente no teste da formalina, o qual demonstrou além de sua ação analgésica, atividade antiinflamatória. Considerando-se este resultado inicial e o fato de que não existem na literatura outros trabalhos que mostrem as ações do *Combretum leprosum* em modelos de dor inflamatória, justifica-se a presente proposta para avaliação de tal ação farmacológica. O presente trabalho teve por escopo avaliar o efeito antinociceptivo de *Combretum leprosum* em modelos animais de dor inflamatória induzida pela carragenina e serotonina.

2.0. Metodologia

As cascas da planta foram coletadas na Universidade Federal do Piauí, no centro de ciências agrárias durante o mês de setembro. A exsicata da espécie *Combretum leprosum* encontra-se identificada e armazenada no Herbário Graziela Barroso da UFPI (exsicata No. 10.374). O extrato etanólico e suas frações de partição foram preparados no Departamento de Química do CCN da UFPI, segundo metodologia específica. Para a obtenção do extrato etanólico (EEtOHCl), as cascas foram secas ao ar, moídas e extraídas 3 vezes com etanol a frio pelo Laboratório de produtos naturais do Departamento de Química/UFPI. Após obtenção, o EEtOHCl foi submetido a partição com solventes, obtendo-se a fração hidroalcoólica (FHA) e a fração aquosa (FAQ), e, a epicatequina, substância isolada da primeira.

Os animais utilizados foram fornecidos pelo biotério do NPPM/UFPI. Utilizaram-se ratos Wistar (180-220 g), machos, com grupos de tratamento n = 6 - 10. As diretrizes éticas para o tratamento de animais experimentais foram seguidas neste estudo. Os procedimentos de sacrifício seguiram o estabelecido pela Resolução Nº 714 de 20 de junho de 2002, do Conselho Federal de Medicina Veterinária – CFMV, tendo como responsável técnico o Médico Veterinário, Prof. Dr. Rozeverter Moreno Fernandes, CRMV Nº. 0290.

Para avaliação da ação antinociceptiva das preparações de *Combretum leprosum* na dor inflamatória, foi utilizado o método de compressão mecânica de pata - Randall-Sellito. O tratamento foi uma hora antes da administração do agente inflamatório: carragenina, 100µg/pata; serotonina, 3µg/pata, na pata traseira direita do animal (100µL /pata).

Os experimentos foram realizados em duas fases. Na primeira, os animais foram tratados com o EEtOHCl, FAQ e FHA na dose de 250 mg/kg p.o., e a substância isolada (epicatequina) na dose de 5 mg/kg p.o. Na fase subsequente utilizou-se apenas o extrato e a FHA. A resposta à pressão mecânica exercida pelo equipamento foi verificada em diferentes tempos, antes (leitura basal) e 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 24 horas após o estímulo da carragenina; basal, 30 minutos e 1h, após a serotonina. O limiar de dor foi medido pela determinação do peso (g) que é capaz de induzir a resposta nociceptiva (reação de retirada da pata ou “luta/vocalização”). Foram comparadas as médias dos valores dos grupos tratados com as preparações, veículos ou controle positivo (Indometacina – 5 mg/kg p.o.) frente ao estímulo alérgico utilizado. Os resultados obtidos foram analisados por two way ANOVA, seguida pelo teste de Tukey. A análise de significância foi considerada quando $p < 0,05$.

3.0. Resultados e Discussão

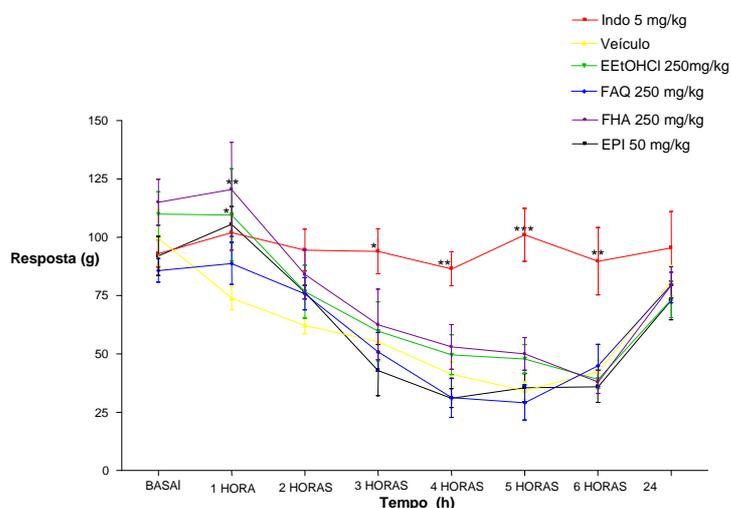


Fig. 1. Variação de resposta dos animais tratados (p.o) com indometacina (indo 5 mg/kg), extrato etanólico (EEtOHCl), fração aquosa (FAQ), fração hidroalcoólica (FHA), na dose de 250 mg/kg, e epicatequina (EPI 50 mg/kg), obtidos da casca de *Combretum leprosum*, antes da indução do processo inflamatório por carragenina (2%, 100µL/pata). (*) $p < 0,05$.

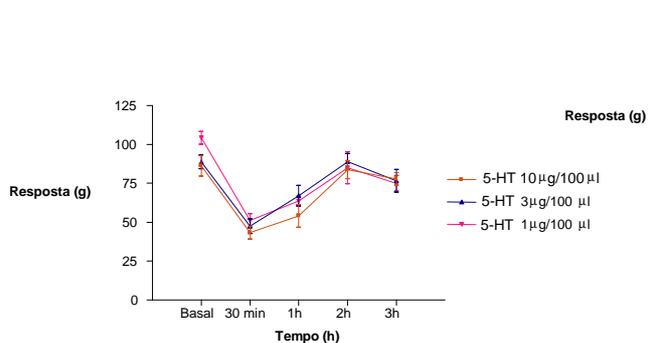


Fig. 3. Variação de resposta nociceptiva dos animais previamente tratados (p.o) com indometacina (indo 5 mg/kg), extrato etanólico (EEtOHCl) e fração hidroalcoólica (FHA), na dose de 250 mg/kg, obtidos da casca de *Combretum leprosum*, antes da indução do processo inflamatório por serotonina (3µg/100µL/pata). (*)

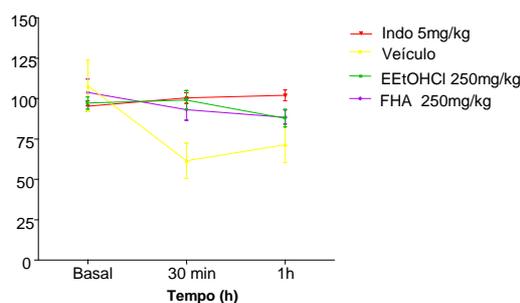


Fig. 2. Variação do limiar nociceptivo dos animais induzidos à inflamação por serotonina nas doses testadas: 1µg, 3µg e 10µg; 100µL/pata.

O edema de pata de rato induzido por carragenina é caracterizado por uma fase inicial (1-2h) onde ocorre liberação de histamina, 5-hidroxitriptamina (serotonina, 5-HT) e bradicinina, seguido por uma fase tardia (3-4h) sustentada pela liberação de prostaglandinas (PGs) (DI ROSA et al., 1971).

O EEtOHCl e a FHA mantiveram o limiar de resposta dolorosa na 1ª hora, com significância de $p < 0,05$ e $p < 0,01$, respectivamente, sugerindo uma atuação inicial no desenvolvimento da inflamação. Diante deste resultado pode-se inferir também uma ação antinociceptiva. Os demais tratamentos (FAQ 250 mg/kg e EPI 50 mg/kg) não apresentaram atividade em todos os tempos estudados.

Tendo em vista que os resultados obtidos com a indução da inflamação pela carragenina inferiram o envolvimento da serotonina no processo, fez-se necessário a realização de outros testes mais específicos. Para isso realizou-se uma padronização com o escopo de determinar a curva de dose e o tempo no qual a atuação da serotonina seria mais intensa (Figura 2), e com isso mostrar quais seriam os mais eficientes na indução da hiperalgesia. De acordo com o teste pôde-se determinar que a ação nociceptiva de 5-HT ocorreu mais intensamente no tempo de 30 minutos. Como em todas as doses as respostas apresentaram padrões semelhantes, a dose escolhida foi a de 3µg, por ser a intermediária.

Na segunda etapa do experimento foi investigado a possível atividade antinociceptiva do EEtOHCl e da FHA na dor inflamatória induzida por 5-HT. A FAQ e a EPI, por não apresentarem nenhuma comprovada atividade no primeiro teste, não foram aplicados neste. Os resultados estão expressos na Figura 3.

A análise estatística destes resultados demonstrou que não houve significância entre os tratamentos durante todas as horas do experimento. Isto indica que a via de atuação dos componentes do EEtOHCl e da FHA não fazem parte da via serotoninérgica.

4.0. Conclusão

O presente estudo demonstrou que o extrato etanólico e a fração hidroalcoólica obtidos das cascas do *Combretum leprosum* apresentam atividade antinociceptiva na fase inicial (1-2h) da inflamação induzida por carragenina em ratos. A fração aquosa e epicatequina não demonstraram tal propriedade no método utilizado. Esta atividade não foi corroborada na inflamação induzida por serotonina, sugerindo que estas preparações devem agir por vias diretamente relacionadas aos mediadores bradicinina e histamina.

6.0. Apoio: NPPM/UFPI

7.0 Referências Bibliográficas

DI ROSA, M.; GIROUD, J.P.; WILLOUGHBY, D.A. Studies on the mediators of the acute inflammatory response induced in rats in different sites by carrageenan and turpentine. **Journal of Pathology** **104**: 15–29, 1971.

ELOFF, J.N.; JÄGER, A.K.; VAN STADEN, J. The stability and relationship between anti-inflammatory activity and antibacterial properties of southern African *Combretum* species. **South African Journal of Science** **97**: 291–293, 2001.

PIETROVSKI, E.F.; ROSA, K. A.; FACUNDO, V.A.; RIOS, K.; MARQUES, C. M. A.; SANTOS, A. R. S. Antinociceptive properties of the ethanolic extract and of the triterpene 3h,6h,16h-trihidroxilup-20(29)-ene obtained from the flowers of *Combretum leprosum* in mice. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior** **83**: 90-99, 2006.

SILVA, C. D. ***Combretum leprosum* Mart. (Combretaceae) – Avaliação da atividade antiinflamatória tópica em modelos de inflamação de pele agudo e crônico em camundongos.** Dissertação de Mestrado, Curso de Pós-Graduação em Farmacologia – UFPR. Curitiba, 2009.

Palavras-chaves: Antinocicepção. *Combretum leprosum*, Dor inflamatória.