

# INVESTIGAÇÃO DO EFEITO DO $\alpha$ -TERPINEOL, CONSTITUINTE MAJORITÁRIO DO ÓLEO ESSENCIAL DA RESINA DE *Protium heptaphyllum* MARCH. NA DOR INFLAMATÓRIA.

Lívia Queiroz de Sousa (Bolsista PIBIC/UFPI), MSc. Rosemarie Brandim Marques (Colaborador, UFPI), Alexandre Xavier de Lira da Silva (Colaborador UFPI), Prof<sup>a</sup>. Dra. Mariana Helena Chaves (Colaboradora, Departamento de Química/CCN/UFPI), Prof<sup>a</sup>. Dra. Fernanda Regina de Castro Almeida (Orientador, Departamento de Bioquímica e Farmacologia/NPPM/CCS/UFPI)

## 1. INTRODUÇÃO

Plantas medicinais são tradicionalmente usadas pela população com a finalidade de prevenir, aliviar ou curar enfermidades. Há séculos são utilizadas com sucesso na cura e tratamento das mais variadas doenças. O *Protium heptaphyllum* March. é uma planta que ocorre em todo o Brasil (principalmente região Amazônica), conhecida popularmente como almecegueira, produtora de uma resina oleosa conhecida como breu branco, muito utilizada na medicina popular como anti-inflamatório, analgésico, expectorante e cicatrizante. Estudos prévios no Núcleo de Pesquisas em Plantas Mediciniais (NPPM)/UFPI demonstraram que o óleo essencial da resina desta espécie (OEP), cujo monoterpeneo  $\alpha$ -terpineol é componente majoritário, apresenta efeito antinociceptivo nos modelos de capsaicina, glutamato e contorções abdominais e efeito gastroprotetor nos modelos de úlceras induzidas por etanol absoluto, etanol acidificado e Ibuprofeno. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito do  $\alpha$ -Terpineol em modelos animais de dor inflamatória induzida pela carragenina.

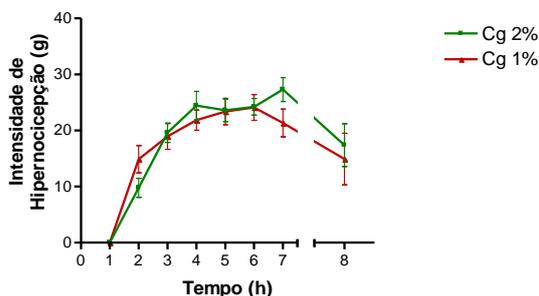
## 2. MÉTODOS

O OEP (1 g) da resina de almécega foi submetido a fracionamento em coluna cromatográfica de gel de sílica (20 g) em uma bureta de 50 mL, eluída com hexano, hexano-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Obteve-se desta coluna 70 frações que foram reagrupadas em 9 subgrupos, e depois analisadas por cromatografia em camada delgada. Das frações analisadas o  $\alpha$ -terpineol (71,94%) se apresentou como constituinte majoritário. O  $\alpha$ -terpineol utilizado foi P.A. adquirido da Sigma.

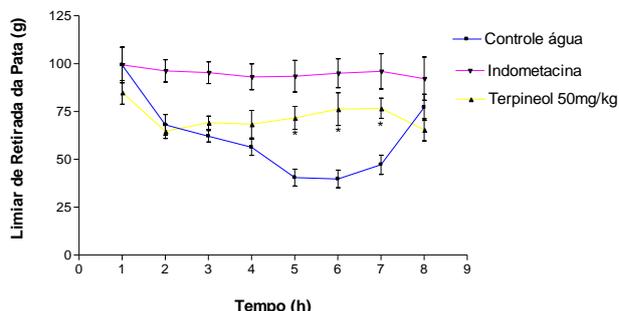
Os animais utilizados foram fornecidos pelo biotério do NPPM/CCS/UFPI. Utilizaram-se ratos Wistar (180-220 g), machos (n = 6 – 10). Os protocolos deste projeto foram aprovados junto ao Comitê de Ética animal sob o número 010/2008. Os procedimentos de sacrifício seguiram o estabelecido pela Resolução Nº 714 de 20 de junho de 2002, do CFMV, tendo como responsável técnico o Médico Veterinário, Prof. Dr. Rozeverter Moreno Fernandes, CRMV Nº. 0290.

Para a realização do protocolo, os animais (n= 6-9) foram tratados com o  $\alpha$ -terpineol (50; 100; 200 mg/kg v.o.), veículo (água + Tween 80 a 3%, 0,5mL/100 g) ou Indometacina (Indo- 5; 10 mg/kg, v.o.). Após 1 h receberam carragenina (Cg, 1- 2%; 100  $\mu$ L/pata) na pata traseira direita. A resposta foi avaliada em diferentes tempos (0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 24 horas). Foram comparadas as médias dos valores dos vários grupos tratados com  $\alpha$ -terpineol, veículos ou Indo frente ao estímulo. Foram utilizados o analgesímetro de Randall-Sellito e o von Frey digital, que consiste em um transdutor de pressão conectado a um contador digital de força expressa em gramas (g). Os resultados foram analisados por ANOVA seguida do teste de Bonferroni. A significância considerada foi p < 0,05.

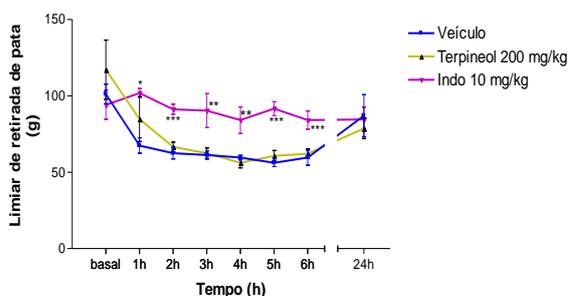
## 2. RESULTADOS E DISCUSSÃO



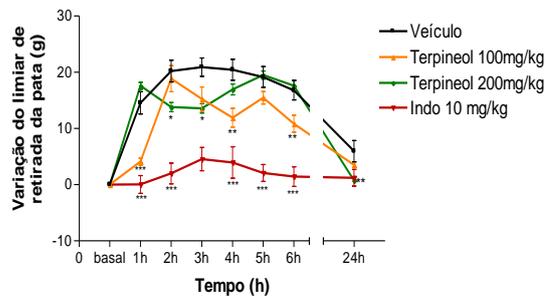
**Figura 1.** Variação de resposta dos animais na inflamação causada pela Cg a 2% e carragenina a 1% no teste de Von Frey digital em ratos Wistar machos. (ANOVA  $p > 0,05$ )



**Figura 2.** Efeito do  $\alpha$ -terpineol (50 mg/kg, v.o.) sobre a hiperalgesia inflamatória induzida por Cg a 2% (100  $\mu$ L/pata) no teste de Randall-Selitto em ratos. Os dados representam média  $\pm$  E.P.M. da resposta dos animais (6 a 9) tratados com  $\alpha$ -terpineol (50 mg/kg p.o.), (Indo – 5 mg/kg, p.o.) e veículo, 60 min antes da cg e leitura após 1h do estímulo (\*  $p < 0,05$ , comparado ao controle) (ANOVA uma via, Teste de Bonferroni).



**Figura 3.** Efeito do  $\alpha$ -terpineol (200 mg/kg, v.o.) sobre a hiperalgesia induzida por Cg 1% (100  $\mu$ L/pata) no teste de Randall-Selitto em ratos Wistar machos. (Indo – 10mg/kg, p.o.) e veículo (C), 60 min antes da carragenina e leitura após 1h do estímulo (\*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ , comparado ao veículo) (ANOVA/ teste de Bonferroni).



**Figura 4.** Efeito do  $\alpha$ -terpineol sobre a hiperalgesia inflamatória induzida por Cg (1%, 100  $\mu$ L/pata) no teste do Von Frey digital em ratos. Os dados representam a média  $\pm$  E.P.M. da resposta de 6 a 9 animais tratados com o  $\alpha$ -terpineol (100 e 200 mg/kg p.o.), (Indo – 10mg/kg, p.o.) e veículo (C), 60 min antes da carragenina e leitura após 1h do estímulo (\*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ , comparado ao veículo).

O processo inflamatório ocorre como uma resposta do tecido à injúria celular, que se manifesta a partir de qualquer agente lesivo (físico, biológico ou químico), resultando em um fenômeno complexo, dinâmico e multimediado. Esse processo envolve uma complexa cascata de eventos bioquímicos e celulares, caracterizados por extravasamento de fluidos, ativação enzimática, migração celular, liberação de mediadores, sensibilização e ativação de receptores, lise tecidual e reparo. A resposta inflamatória a uma injeção de carragenina é caracterizada por uma fase inicial (1-2h) onde ocorre liberação de histamina (H), serotonina (5-HT) e bradicinina (BK), seguido por uma fase tardia (3-5h) sustentada majoritariamente pela liberação de PGs.

Inicialmente realizou-se um teste comparativo com a resposta na inflamação induzida por carragenina (1 e 2 %), não havendo diferença significativa entre a intensidade de hipernociceção causada por ambas, optando-se nos testes posteriores por Cg 1% (Figura 1).

Na Figura 2, observam-se as curvas das variações do limiar de resposta dos animais tratados com o  $\alpha$ -terpineol (50 mg/kg), bem como os controles negativo (veículo) e positivo (indo). A redução da

dor inflamatória com o  $\alpha$ -terpineol foi significativa na 4<sup>a</sup>, 5<sup>a</sup> e 6<sup>a</sup> hora após o estímulo. Possivelmente, este monoterpene atue na inibição da produção de prostaglandinas. Diante dos resultados obtidos, decidiu-se avaliar o efeito anti-hipernociceptivo da maior dose do monoterpene usada em experimentos anteriores (200 mg/kg) nesse mesmo teste. A Figura 3 mostra que o grupo do  $\alpha$ -terpineol (200 mg/kg) não apresentou diferença significativa quando comparado ao veículo, talvez por ser supra máxima, enquanto a Indometacina foi efetiva como esperado (115 – 75 g).

O  $\alpha$ -Terpineol (100 e 200 mg/kg v.o.) foi ainda avaliado em outro método que detecta o limiar mecânico de resposta dos animais (von Frey digital)(Figura 4). A dose de 100 mg/kg reduziu significativamente o índice de hipernocicepção na 1<sup>a</sup>, 4<sup>a</sup> e 6<sup>a</sup> hora após o estímulo, e a dose de 200 mg/kg promoveu redução na 2<sup>a</sup> e 3<sup>a</sup> hora em comparação ao controle. Assim, o  $\alpha$ -terpineol reduz a hipernocicepção de maneira dose-independente, atuando tanto na fase inicial (H, 5-HT e BK), quanto na fase tardia (3-5h), inibindo a produção de prostaglandinas.

No modelo de Randall-Selitto a compressão da pata é feita em uma região de maior sensibilidade (dorso da pata), enquanto que no von Frey é utilizada uma região de menor sensibilidade (planta da pata), o que justificaria as diferentes respostas com a dose de 200 mg/kg.

A publicação de trabalhos desenvolvidos por outros pesquisadores, abordando as ações do  $\alpha$ -terpineol em modelos de dor inflamatória, durante a conclusão deste projeto de pesquisa limitou a continuidade do estudo.

## 5. CONCLUSÃO

O presente estudo demonstrou a atividade anti-hipernociceptiva do  $\alpha$ -terpineol, variável nos dois métodos de compressão de pata testados, sendo necessário outros testes para determinar em qual fase da inflamação induzida por carragenina se dá a ação do monoterpene.

## 6. APOIO FINANCEIRO

PIBIC/ UFPI

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CARVALHO, W.A.; LEMÔNICA, L. Mecanismos celulares e Moleculares da Dor Inflamatória. Modulação Periférica e Avanços Terapêuticos. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, 48: 2: 137 – 158, 1998.
- CARVALHO, A. C. B.; NUNES, D. S. G.; BARATELLI, T. G.; SHUQAIR, N.S.S.A.Q.; NETTO, E. M. Aspectos da legislação no controle dos medicamentos fitoterápicos. **T&C Amzônia** 11, 26-32, 2007.
- MARQUES, R. B.; BRAGA, F. A. V.; FIGUEIREDO, K. A.; CARVALHO, A. A.; LOPES, L. S.; SILVA, L. L.; PEREIRA, S. S.; PASSOS, F. F. B.; CHAVES, M. H.; OLIVEIRA, F. DE A.; ALMEIDA, F. R. C. Avaliação dos Efeitos Anti-edematogênico e Antinociceptivo do Óleo Essencial de *Protium heptaphyllum* March. em Roedores. In: **39º Congresso Brasileiro de Farmacologia e Terapêutica Experimental**, 2007, Ribeirão Preto-SP. SBFTE – 2007.
- MARQUES, R. B.; SILVA, F.V.; OLIVEIRA, I.S.; CARVALHO, K.I.M.; FERNANDES, H.B.; CARVALHO, A. A.; CHAVES, M. H.; OLIVEIRA, F. de A.; ALMEIDA, F. R. C. Avaliação do efeito gastroprotetor do óleo essencial de *Protium heptaphyllum* March em roedores. In: XX Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil/X International Congress of Ethnopharmacology, 2008, São Paulo. **Anais do XX Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil e X International Congress of Ethnopharmacology**, 2008.
- SUSUNAGA, G.S., SIANI, A.C., PIZZOLATI, M.G., YUNES, R.A., DELLE MONACHE, F. Triterpenes from the resin of *Protium heptaphyllum*. **Fitoterapia** 72: 709–711, 2001.