

Biologia Geral e Experimental

Universidade Federal de Sergipe

São Cristóvão, SE 1 (1): 36 – 41

27.x.2000

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIEDEMATOGÊNICA E ANTINOCICEPTIVA DO EXTRATO AQUOSO DE *BUMELIA SARTORUM* MART.

Maise Dantas Bispo¹
Jeane Carvalho Vilar¹
Rosa Helena Veras Mourão¹
Angelo Roberto Antonioli¹
Ricardo Euler Dória de Souza²

RESUMO

Os efeitos antinociceptivo e antiedematogênico do extrato aquoso da entrecasca da *Bumelia sartorum* foram testados através dos modelos experimentais de nocicepção em camundongos e edema de pata induzido por carragenina em ratos. O extrato aquoso (0,2 e 0,4g/kg) reduziu em 37% e 68,8% a nocicepção produzida pelo ácido acético (0,6%); o efeito redutor da formalina (1%) foi de 26,6% e 30%, na 1ª fase e de 75,9% e 18,9%, na 2ª fase. No teste da formalina o efeito nociceptivo do extrato aquoso da entrecasca de *B. sartorum*, assim como a morfina, foi revertido pela naloxona (5mg/kg). No teste de edema de pata induzido pela carragenina (1%) o extrato aquoso de *B. sartorum* (0,1; 0,2 e 0,4 g/kg) inibiu o edema em 19,4%, 16,5% e 17,8%. A toxicidade aguda (DL₅₀) até a dose de 5g/kg foi baixa em camundongos. O extrato aquoso da entrecasca de *B. sartorum* mostrou atividades antiedematogênica e antinociceptiva nos modelos testados, com o efeito antinociceptivo associado ao sistema opióide.

Palavras-chave: *Bumelia sartorum*, atividades antinociceptiva e antiedematogênica.

ABSTRACT

Anti-nociceptive and anti-oedematogenic effects of *Bumelia sartorum* bark were tested by experimental models of nociception in mouse and paw oedema induced by carrageenin in rats. The aqueous extract (0,2 and 0,4 g/kg) reduced 37% and 68,8% the nociception produced by acetic acid; the formalin (1%) reductive effect was 26,6% and 30% in the first phase and 75,9% and 18,9% in the second phase. In the formalin test the nociceptive effect of the *B. sartorum* bark aqueous extract, as well as the morphine, was reversed by nalaxone (5 mg/kg). In the paw oedema test induced by carrageenin (1%) the *B. sartorum* aqueous extract (0,1; 0,2 and 0,4 g/kg) inhibited 19,4%, 16,5% and 17,8% the oedema. The acute toxicity (DL₅₀) up to the dosis of 5 g/kg was low in mouse. The aqueous extract of the *B. sartorum* bark showed anti-oedematogenic and anti-nociceptive effects in the tested models, with the anti-nociceptive one associated to the opioid system.

Key words: *Bumelia sartorum*, anti-nociceptive and anti-oedematogenic effects.

INTRODUÇÃO

Bumelia sartorum (Sapotaceae), popularmente conhecida como quixabeira, é uma arvoreta que ocorre nas áreas úmidas e secas da caatinga. Na fitoterapia popular suas folhas são utilizadas como antiinflamatórias e analgésicas. Saponinas

triterpênicas podem ser responsáveis pelos efeitos fitoterápicos desta planta, como ocorre em algumas espécies da família Sapotaceae (Schenkel *et al.*, 1999). Estudos realizados com o extrato etanólico de *B. sartorum* também mostraram que esta planta tem atividade hipoglicemiante (Naik *et al.*, 1991; Almeida *et al.*, 1982; Modesto Filho, 1989).

¹ Departamento de Fisiologia/CCBS, Laboratório de Farmacologia. Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão-SE, Brasil, CEP 49100-000, aroberto@ufs.br

² Departamento de Química/CCET, Laboratório de Produtos Naturais. Universidade Federal de Sergipe.

Neste trabalho investigamos as atividades anti-edematogênica e antinociceptiva do extrato aquoso da quixabeira.

MATERIAL E MÉTODOS

Material Botânico: Foi utilizada a entrecasca de *B. sartorum*. A quixabeira foi coletada no povoado de Curitiba, Município de Canindé do São Francisco, Sergipe e identificada no Departamento de Biologia da Universidade Federal de Sergipe (Identificada por Gilvane Viana Souza; exsicata nº 04084 – UFS).

Preparação do Extrato Aquoso: O preparo da entrecasca foi feito através de secagem em estufa a 40^o C por dois dias e trituração em moinho até a obtenção do polvilho. A extração foi feita por decocção de 3754,75g do pó fino em água destilada durante 10 minutos. O extrato, após filtrado, foi colocado em chapa-quente até evaporação total, obtendo 270,27g do extrato aquoso total. O extrato aquoso total foi submetido a novas etapas de extração por decocção em solventes de diferentes polaridades: acetona, etanol, solução hidroalcoólica (1:1) e água destilada. Em todas essas etapas houve filtração (comum e a vácuo) e evaporação dos solventes, resultando 31,14g do extrato aquoso utilizado nos testes farmacológicos.

Animais: Foram utilizados ratos “Wistar” (120-220g) e camundongos “Swiss” (20-35g) de ambos os sexos. Os animais foram mantidos em caixas plásticas, sob temperatura ambiente, com livre acesso a ração e água.

Atividade Antiedematogênica: A ação anti-edematogênica foi verificada através do teste de edema de pata de rato induzido por carragenina 1% (Winter *et al.*, 1962).

Os ratos foram divididos em 3 grupos (n= 8 ratos por grupo). Os ratos dos 3 grupos receberam injeção subplantar de carragenina 1%, diluída em solução

salina 0,9% e aplicada na pata posterior direita de cada rato para indução do edema. Uma hora antes da injeção de carragenina, o primeiro grupo recebeu indometacina na dosagem de 10mg/kg (v.o.), droga anti-inflamatória não esteroide, utilizada como padrão do teste. O grupo experimental, também uma hora antes da injeção de carragenina, recebeu o extrato aquoso de *B. sartorum* na dosagem de 100, 200 e 400mg/kg (v.o.). O grupo controle recebeu apenas injeção de carragenina.

O volume da pata foi tomado imediatamente após a administração da carragenina (tempo zero), com intervalos de 1, 2, 3 e 4 horas, através do deslocamento de água registrado em pletismômetro (modelo 7150, Ugo Basile Co., Varese, Italy).

A ação supressiva (anti-edematogênica) do extrato de *B. sartorum* e da indometacina foi expressa em percentagem de inibição do edema, de acordo com a fórmula: Percentagem de Inibição = $(1 - V_t/V_c) \times 100$, em que V_t e V_c representam a média dos volumes das patas nos grupos tratados e controle, respectivamente.

Atividade Antinociceptiva: A ação antinociceptiva foi verificada através do teste de contorção abdominal induzida pelo ácido acético (Koster *et al.*, 1959) e do teste da formalina (Dubuisson & Dennis, 1977) modificado por Hunskaar & Hole (1987).

No teste de contorção os animais foram arranjados aleatoriamente em 5 grupos (n= 8 ratos por grupo). Todos os animais do experimento receberam injeção intraperitoneal de ácido acético 0,6% (0,1ml/10g), droga que induz contrações da musculatura abdominal e/ou alongamento dos membros posteriores. O grupo controle recebeu apenas o ácido acético. Uma hora antes da injeção do ácido acético dois grupos experimentais receberam por via oral, através de cânula, o extrato aquoso da quixabeira nas concentrações de 200 e 400mg/kg. Dois outros grupos receberam morfina (2,5mg/kg, i.p.) e ácido acetilsalicílico - AAS (200mg/kg, v.o.), trinta e sessenta minutos antes da injeção do ácido acético. A morfina, droga

analgésica opióide, e o AAS, droga antiinflamatória não esteroide, foram utilizadas como padrões do teste. Após 10 minutos da injeção do ácido, pares de camundongos foram divididos em caixas transparentes, registrando-se o número de contorções abdominais durante 20 minutos.

No teste da formalina, os camundongos (n= 9 por grupo) foram pré-tratados com a morfina (7,5mg/kg, i.p.) e o extrato da quixabeira (200 e 400mg/kg, v.o.), 30 e 60 minutos antes da injeção subplantar de formalina 1% (20µl/animal). O grupo controle recebeu apenas injeção de formalina. Logo após a injeção de formalina iniciamos as observações de reações à dor, cronometrando o tempo em que os animais permaneceram lambendo ou mordendo a pata durante a primeira fase (0-5min) e a segunda fase (20-25min) do teste.

Para verificar uma possível interação do extrato aquoso de *B. sartorum* com o sistema opióide, outros grupos de animais (n= 8 por grupo) receberam injeção intraperitoneal de naloxona (5mg/kg), um antagonista específico dos narcóticos. A naloxona foi injetada 15 minutos antes da administração oral do extrato (200mg/kg) e da morfina (10mg/kg, i.p.). O grupo controle recebeu apenas formalina 1%.

A ação antinociceptiva da quixabeira, morfina e AAS, foi expressa em percentagem de inibição das contorções e do tempo de lambida da pata.

Toxicidade Aguda (LD₅₀): O teste de toxicidade aguda (DL₅₀) foi realizado de acordo com o método de Lorke (1983). Os camundongos foram divididos em 5 grupos (n= 5 por grupo). O grupo controle recebeu somente o veículo (água destilada). Os demais grupos receberam oralmente doses crescentes do extrato aquoso da quixabeira (1-5g/kg). Os animais foram observados por 48 horas. A avaliação dos resultados imediatamente após este período possibilitou conhecer o índice de letalidade, as alterações comportamentais e os sinais que precedem a morte.

Análise Estatística: Para verificar as possíveis atividades antiedematogênica e antinociceptiva do extrato aquoso de *B. sartorum*, aplicamos análise de variância (ANOVA) com nível de significância de 5%, para detectar variações dentro e entre as amostras, seguido do teste de Tukey para comparações múltiplas. No teste de contorção e da formalina fizemos o análogo não-paramétrico, teste de Kruskal-Wallis, seguido do teste de Nemenyi para comparações múltiplas (Zar, 1996).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O edema de pata no modelo de inflamação não variou proporcionalmente nos grupos controle, padrão e experimental (Anova: $F_{0,05;16;175}=1,89$; $p<0,05$). As inibições do edema foram significativamente diferentes entre todas as drogas (Anova: $F_{0,05;4;175}=43,79$; $p<0,0005$) e tempos testados (Anova: $F_{0,05;4;175}=52,11$; $p<0,0005$). O extrato aquoso de *B. sartorum* nas concentrações de 100, 200 e 400mg/kg inibiu o efeito da carragenina (Tukey: $q_{0,05;175;5}=9,32$, $p<0,05$; $q_{0,05;175;5}=7,93$, $p<0,05$ e $q_{0,05;175;5}=8,65$, $p<0,05$, respectivamente). As aparentes inibições do edema de pata foram ligeiramente maiores na primeira e segunda hora da inflamação (Tabela 1).

O edema de pata induzido por carragenina é um modelo de inflamação aguda que consiste de duas fases: a primeira, detectada em torno de uma hora, é chamada de fase rápida, com liberação de histamina e serotonina; a segunda fase é chamada de tardia, com os mediadores (cininas e prostaglandinas) liberados após duas e três horas respectivamente (Vinegar *et al.*, 1969; Di Rosa *et al.*, 1971). Qualquer substância que iniba a ação da carragenina é considerada como tendo ação antiinflamatória.

No modelo de contorções abdominais, os resultados mostraram diferenças significativas nas frequências de contorções entre os ratos dos grupos

Tabela 1. Efeito da Indometacina e do extrato aquoso de *B. sartorum* no teste de edema de pata induzido por carragenina 1% (Cg).

Tratamento	Dose(g/kg)	Média ± EP e % de inibição							
		1		2		3		4	
Controle	-	1.336±0.065	-	1.605±1.41	-	1.692±0,122	-	1.703±0,119	-
Indometacina	0.01	0.82±0.025 ^a	38.6	0.883±0.025 ^a	44.9	0.972±0.062 ^a	42.5	1.0±0.074 ^a	41.3
Extrato 100	0,1	1.07±0.024 ^a	19.9	1.199±0.025 ^a	25.3	1.346±0.035 ^a	20.4	1.361±0.036 ^a	20,1
Extrato 200	0.2	1.077±0.05 ^a	19.3	1.237±0.086 ^a	22.9	1.375±0.345 ^a	18.7	1.4±0.082 ^a	17.8
Extrato 400	0.4	1.079±0.035 ^a	19.2	1.252±0.052 ^a	22.0	1.336±0.051 ^a	21.0	1.395±0.057 ^a	18.1

A ação antiinflamatória de *B. sartorum* e da indometacina está expressa como média do volume da pata (ml)±EP e percentagem de inibição do edema. ^a p<0,05, comparado com o controle. EP=erro padrão.

controle, experimental e padrão (Kruskal-Wallis: $F_{0,05;4;34}=8,74$; $p<0,0005$). O extrato aquoso da quixabeira nas concentrações de 200 e 400mg/kg inibiu o número de contorções abdominais (Nemenyi: $q_{0,05;\infty;5}=4,05$; $p<0,05$, $q_{0,05;\infty;5}=5,71$; $p<0,05$, respectivamente), com a mesma intensidade das drogas padrões morfina (Nemenyi: $q_{0,05;\infty;5}=0,82$; $p>0,05$ e $q_{0,05;\infty;5}=0,85$; $p>0,05$, respectivamente) e AAS (Nemenyi: $q_{0,05;\infty;5}=0,17$; $p>0,05$ e $q_{0,05;\infty;5}=1,83$; $p>0,05$, respectivamente). A tabela 2 mostra o percentual de inibição do extrato de *B. sartorum* (200 e 400mg/kg) e das drogas padrões utilizadas no teste.

Tabela 2. Efeito do AAS, morfina e extrato de *B. sartorum* no teste de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético 0,6%.

Tratamento	Dose (g/kg)	Md	Inibição (%)
Controle	-	22.5	-
Ácido acetilsalicílico	0.2	11.5 ^a	44.8
Morfina	0.025	8.5 ^a	56.2
Extrato 200	0,1	11 ^a	46.8
Extrato 400	0.2	8 ^a	66

A ação antinociceptiva de *B. sartorum*, da morfina e do ácido acetilsalicílico está expressa como mediana (Md) do número de contorções e percentagem de inibição das contorções.

^a p<0,05, comparado com o controle.

O teste de contorções abdominais, induzidas pelo ácido acético 0,6%, é um modelo utilizado na avaliação da atividade antinociceptiva de diversas drogas, devido à ação indireta do ácido acético que induz a liberação de mediadores endógenos, os quais vão estimular os neurônios nociceptivos. Estes neurônios, representados principalmente por fibras-C não mielinizadas, são sensíveis aos

antiinflamatórios não esteroidais, narcóticos e outras drogas de ação central (Collier *et al.*, 1968). Os principais estímulos químicos que agem sobre as fibras-C para produzir dor incluem a bradicinina, a 5-HT e a capsaicina. As fibras-C também são sensibilizadas pelas prostaglandinas, o que explica o efeito analgésico do AAS, particularmente na presença de inflamação.

O teste da formalina 1% é muito utilizado para elucidação dos mecanismos da dor e analgesia (Tjolsen *et al.*, 1992). Este teste é constituído por duas fases: a primeira, neurogênica, resulta da atividade química irritante da formalina sobre os neurônios nociceptivos; a segunda fase, tônica, é consequência das mudanças provocadas pelo estímulo nociceptivo sobre os neurônios do corno posterior.

Os resultados dos nossos experimentos mostraram diferenças significativas no tempo de reação à dor entre os ratos dos quatro grupos testados na 1^a e 2^a fases, respectivamente (Kruskal-Wallis: $F_{0,05;3;31}=40,83$; $p<0,0005$ e $F_{0,05;3;31}=36,92$; $p<0,0005$).

Drogas que têm ação central, como os narcóticos, inibem igualmente as duas fases (Shibata *et al.*, 1989), mas as drogas que apresentam ação periférica, como a indometacina, a oxifenobutasona, a hidro cortisona e a dexametasona, somente inibem a segunda fase. Entretanto, o ácido acetilsalicílico (AAS) e o paracetamol parecem ter ações independentes de suas inibições da síntese de prostaglandinas, ambos tendo também efeitos na dor não inflamatória. (Hunnskaar & Hole, 1987; Rosland *et al.*, 1990). O extrato da quixabeira nas doses de

200 e 400mg/kg inibiu o edema na 1ª fase (Nemenyi: $q_{0,05;∞;4}=4,08$; $p<0,05$ e $q_{0,05;∞;4}=3,86$; $p<0,05$, respectivamente) e na 2ª fase (Nemenyi: $q_{0,05;∞;4}=4,36$; $p<0,05$ e $q_{0,05;∞;4}=3,89$; $p<0,05$, respectivamente). Nas duas fases o extrato inibiu o edema com a mesma intensidade que a da morfina (1ª fase, EA200mg/kg; Nemenyi: $q_{0,05;∞;4}=3,35$; $p>0,05$; EA400mg/kg; Nemenyi: $q_{0,05;∞;4}=3,57$; $p>0,05$; 2ª fase, EA200mg/kg; Nemenyi: $q_{0,05;∞;4}=2,75$; $p>0,05$; EA400mg/kg; Nemenyi: $q_{0,05;∞;4}=3,22$; $p>0,05$). A tabela 3 mostra a inibição do efeito da formalina 1% pela morfina e pelo extrato aquoso de *B. sartorum* (200 e 400mg/kg).

Tabela 3. Efeito da morfina e do extrato aquoso de *B. sartorum* no teste da formalina 1%.

Tratamento	Dose (g/kg)	1ª fase		2ª fase	
		Md	Inibição (%)	Md	Inibição (%)
Controle	-	61	-	35	-
Morfina	0,075	11 ^a	81.6	0 ^a	78.1
Extrato 200	0,1	26 ^a	44.8	2 ^a	47.9
Extrato 400	0,2	31 ^a	42.3	1 ^a	42.7

A ação analgésica de *B. sartorum* e da morfina está expressa como mediana (Md) do tempo (s) de lambida e/ou mordida da pata e % de inibição do tempo de reação a dor. ^a $p<0,05$, comparado com o controle.

Para verificar o possível mecanismo de ação do extrato sobre o sistema opioide, utilizamos a naloxona, um antagonista não seletivo dos receptores opióides (μ , δ e κ), que em alguns modelos age antagonizando a ação de opióides endógenos liberados pela dor ou pelo estresse (Faden, 1988). A naloxona reverteu a antinocicepção induzida pelo extrato (200mg/kg) e pela morfina (7.5mg/kg) nas duas fases (Anova: $F_{0,05,2,21}=2,56$; $p>0,05$ e $F_{0,05,2,21}=2,74$; $p>0,05$, respectivamente) (Tabela 4).

A morfina, típica entre os muitos analgésicos opióides, é considerada como um composto de referência. Os seus principais efeitos farmacológicos, observados no sistema nervoso central, incluem desde analgesia a efeitos indesejáveis incômodos, como constipação e depressão

respiratória (Rang *et al.*, 1995). Possivelmente o extrato aquoso da entrecasca da quixabeira nas doses administradas atue como analgésico opioide, podendo estar relacionado estruturalmente à morfina.

A administração oral do extrato de *B. sartorum* nas doses de até 5000mg/kg não mostrou sinais de toxicidade nos camundongos e nem alterações comportamentais, não sendo possível determinar a DL₅₀ da planta. O fato da quixabeira não ter sido letal nas doses de até 5g/kg, é um forte indicativo de baixa toxicidade desta planta (Lorke, 1983).

Nossos resultados mostraram que o extrato aquoso da entrecasca da quixabeira apresentou atividade antiedematogênica no modelo testado, bem como efeito antinociceptivo nos sistemas central e periférico, com a participação de receptores opióides. Na prática, os experimentos que realizamos corroboraram o uso desta planta no tratamento da dor na medicina popular do Nordeste do Brasil.

Tabela 4. Efeito da naloxona sobre a morfina e o extrato aquoso de *B. sartorum* no teste da formalina 1%.

Tratamento	Média \pm EP	
	1ª fase ^a	2ª fase ^a
Controle	53.25 \pm 2.76	27.87 \pm 3.02
Morf+Nalo	55.12 \pm 3.44	18.5 \pm 4.33
Extrato200+Nalo	47 \pm 1.28	17.25 \pm 2.98

A ação antinociceptiva da naloxona (5mg/kg, i.p.) sobre a morfina (10mg/kg, i.p.) e sobre o extrato de *B. sartorum* (200mg/kg, v.o.) está expressa como média do tempo (s) de lambida e/ou mordida da pata. ^a $p>0,05$. EP=erro padrão.

Agradecimentos: Este projeto foi realizado com apoio do CNPq e Banco do Nordeste do Brasil (BNB).

REFERÊNCIAS

- Almeida, R.N.; J.M. Barbosa Filho & S.R. Naik. 1982. *Bumelia sartorum* (quixaba): seus componentes químicos e uso no tratamento do diabetes e processos inflamatórios. (Resumo) **Repórter Rondon**, Brasília. 6(6): 6.

- Collier, H.O.J.; L.C. Dinnes; C.A. Johnson & C. Schneider. 1968. The abdominal constriction response and its suppression by analgesic drugs in mouse. **Brit. J. Pharmacol.** 32(2): 295-310.
- Di Rosa, M.; J.P. Giound & D.A. Willoughby. 1971. Studies on the mediators of acute inflammatory response induced in rat in diferent sites by carrageenin and turpentine. **J. Pathol. Bact.** 104: 5-29.
- Dubuisson, D. & S.G. Dennis. 1977. The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. **Pain.** 4: 161-174.
- Faden, A.I. 1988. Role of thyrotropin-releasing hormone and opiate receptor antagonists in limiting central nervous system injury. **Adv. Neurol.** 47: 531-546.
- Hunnskaar, S. & K. Hole. 1987. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. **Pain.** 30: 103-114.
- Koster, R.; N. Anderson & E.J. Debber. 1959. Acetic acid for analgesic screening. **Fed. Proc.** 18(1): 418-420.
- Lorke, D. 1983. A new approach to practical acute toxicity testing. **Arch. Toxicol.** 54: 275-287.
- Modesto Filho, J. 1989. Estudos a curto e a médio prazo da atividade hipoglicemiante da *Bumelia sartorum* Mart. (Quixaba) em diabético não-insulinodependentes. **In: Relatório do Departamento de Medicina Interna, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba. Paraíba. Mimeogr.**
- Naik, S.R.; J.M.B. Filho; J.N. Dhuley & V. Deshmukh. 1991. Probable mechanism of hipoclycemic activity of basic acid: a natural product isolated from *Bumelia sartorum*. **J. Ethnopharmacol.** 33(1-2): 37-44.
- Rang, H.P.; Dale, M.M. & Ritter, J.M., 1995. **Pharmacology.** 3rd ed. Churchill Livingstone. p855.
- Rosland, J.H.; A. Tjolsen; B. Maehle & K. Hole. 1990. The formalin test in mice efect of formalin concentration. **Pain.** 42: 235-242.
- Schenkel, E.P.; G. Gosmann & M.L. Athayde. 1999. Saponinas, p 597-622. **In: Farmacognosia-das plantas ao medicamento** (Simões, C.M.O., E.P. Schenkel, G. Gosmann, J.C.P. Mello, L.A. Mentz & P.R. Petrovick Org.).Ed. da UFRGS/Ed. da UFSC, 821p.
- Shibata, M.; T. Ohkubo; H. Takahashi & R. Inoki. 1989. Modified formalin test-characteristic biphasic pain response. **Pain.** 38: 347-352.
- Tjolsen, A.; O.G. Berge; S. Hunnskaar; J.H. Rosland & K. Hole. 1992. The formalin test: an evaluation of the method. **Pain.** 51: 5-17.
- Vinegar, R.; W. Shreiber & R. Hogo. 1969. Biphasic development of carrageenin oedema in rats. **J. Pharm acol. Exp.** 166: 96-103.
- Winter, C.A.; E.A. Risley & G.W. Nuss. 1962. Carrageenin-induced oedema in hind paw of the rat as a assay for antiinflammatory drugs. **Proc. Soc. Exp. Bio. Med.** 111(1): 543-547.
- Zar, J.H., 1996. **Biostatistical Analysis.** 3rd ed. Prentice-Hall, New Jersey. 662p.+Tabs.