

Atividades antinociceptiva e antiinflamatória do óleo essencial de cascas de *Duguetia lanceolata* St. Hil., Annonaceae

Sousa, O.V.^{1,*}; Soares Júnior, D.T.¹; Del-Vechio, G.¹; Mattosinhos, R.G.¹; Gattass, C.R.²; Kaplan, M. A. C.³

¹Departamento Farmacêutico, FFB, Universidade Federal de Juiz de Fora

²Instituto de Biofísica Carlos Chaga Filho, CCS, Universidade Federal do Rio de Janeiro

³Núcleo de Pesquisa de Produtos Naturais, CCS, Universidade Federal do Rio de Janeiro

of *Duguetia lanceolata*. For this purpose, acetic acid writhing, formalin and carrageenan tests were performed. The number of writhings ($ED_{50} = 21,79$ mg/kg) and the lick of the paw 1st phase ($ED_{50} = 5,27$ mg/kg) e 2nd phase ($ED_{50} = 1,43$ mg/kg) reduced significantly in a dose-dependent form. The doses 50, 100 and 200 mg/kg reduced the paw edema significantly in 20,83; 36,46 and 48,96%, respectively. These results suggest that the essential oil from barks of *D. lanceolata* has antinociceptive and anti-inflammatory effects and probably the mechanisms(s) involve central and peripheric actions.

Muitas espécies de Annonaceae são fragrantas devido à presença de óleos essenciais que, normalmente, são constituídos de monoterpenóides, sesquiterpenóides e/ou substâncias aromáticas⁸. Algumas têm importância comercial como o óleo de Cananga (*Cananga odorata* Hook var. *macrophylla*) e o óleo de Ylang-Ylang (*Cananga odorata* Hook var. *genuina*) que são usados em perfumaria¹.

Poucos estudos foram realizados com a espécie *Duguetia lanceolata*. Contudo, constituintes de óleos essenciais de plantas do gênero *Duguetia* são citados na literatura. Cariofileno e dois outros sesquiterpenóides foram identificados nas folhas do mangue (*Duguetia* sp)¹, enquanto limoneno, *p*-cimeno e α -pineno foram os principais componentes do óleo essencial em flores de *D. asterostricha*⁶. Do óleo volátil das folhas de *D. glabriuscula*, foram isolados o allo-aromadendreno, ácido allo-aromadendreno-14-óico, viridiflorol, (-)-ledol, espatulenol e (+)-10,14 β -allo-aromadendreno-diol¹¹. Dos galhos de *D. flagellaris* foram identificados espatulenol e α -muurolol e das cascas germacreno D, ciperona e α -muurolol³. Os principais constituintes do óleo essencial de cascas de *D. lanceolata* são β -elemeno, óxido de cariofileno e β -selineno¹².

No presente trabalho, os métodos de contorções abdominais, tempo de lambida da pata e edema de pata foram utilizados para avaliar as atividades antinociceptiva e antiinflamatória do óleo essencial de cascas de *D. lanceolata*.

A Figura 1 mostra que o efeito desse óleo essencial sobre as contorções abdominais foi dependente da dose. O efeito antinociceptivo foi significativo a partir da dose de 10 mg/kg em relação ao controle ($p < 0,05$) e na dose 100 mg/kg foi equivalente à indometacina (5 mg/kg), além de ser verificado 100% de inibição das contorções na dose de 200 mg/kg. Isso levou a uma dose efetiva (DE_{50}) de 21,79 mg/kg (Tabela 1).

A Tabela 2 mostra que o tempo da lambida da pata foi reduzido em ambas as fases de forma dependente da dose. Todas as doses administradas tiveram efeitos significativos ($p < 0,05$). A dose de 200 mg/kg inibiu 100% o tempo de lambida na 1ª fase, enquanto na 2ª fase essa inibição foi observada a partir de 100 mg/kg. A partir de 50 mg/kg, o efeito foi igual ou superior ao da morfina. Esses resultados confirmam o efeito antinociceptivo demonstrado

Resumo

O presente trabalho avaliou as atividades antinociceptiva e antiinflamatória do óleo essencial de cascas de *Duguetia lanceolata*. Para isto, foram realizados os testes de contorções abdominais induzidas por ácido acético; tempo da lambida da pata induzida por formalina; e edema de pata induzido por carragenina. O número de contorções abdominais ($DE_{50} = 21,79$ mg/kg) e o tempo da lambida da pata 1ª fase ($DE_{50} = 5,27$ mg/kg) e 2ª fase ($DE_{50} = 1,43$ mg/kg) foram reduzidos significativamente de forma dependente da dose. O material vegetal nas doses de 50, 100 e 200 mg/kg diminuíram de maneira expressiva o edema de pata em 20,83; 36,46 e 48,96%, respectivamente. O óleo essencial de cascas de *D. lanceolata* possui efeitos antinociceptivo e antiinflamatório por prováveis ações central e periférica.

Abstract

The present work evaluated the antinociceptive and anti-inflammatory activities of the essential oil from barks

pelo método de contorções abdominais, sendo indicativo de uma ação sobre o sistema nervoso central e sobre processos antiinflamatórios. As doses efetivas 50% (DE₅₀) foram 5,27 e 1,43 mg/kg para a 1ª e 2ª fase, respectivamente (Tabela 1)

A Tabela 3 mostra que após 4 horas de tratamento, o óleo essencial de *D. lanceolata* nas doses 50, 100 e 200 mg/kg diminuíram significativamente o edema em 20,83; 36,46 e 48,96%, respectivamente. Esses resultados mostram que esse óleo possui propriedades antiinflamatórias, reduzindo significativamente o edema de pata induzido por carragenina, confirmando os achados nos métodos de atividades antinociceptivas.

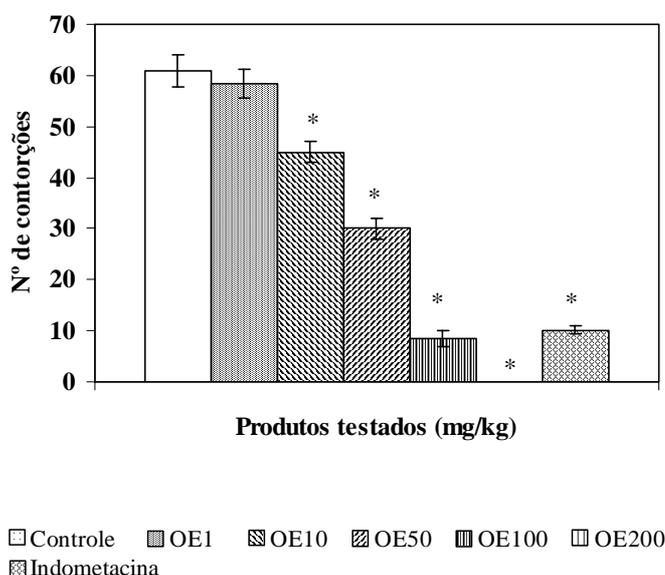


Figura 1. Efeitos do óleo essencial de cascas de *D. lanceolata*, após administração intraperitoneal de 1, 10, 50, 100 e 200 mg/kg, sobre as contorções abdominais induzidas por ácido acético 0,6% (n=8). Indometacina (5 mg/kg) foi o fármaco de referência. OE: Óleo Essencial. *Significativo em relação ao controle após análise de variância (ANOVA) seguida do teste de Tukey (p < 0,05).

Tabela 1. Doses efetivas 50% (DE₅₀) do óleo essencial das cascas de *D. lanceolata*.

Métodos		DE ₅₀ (mg/kg)	Intervalo de confiança (95%)
Contorções Abdominais		21,79	16,98 - 27,97
Lambida da Pata	1ª Fase	5,27	3,61 - 7,68
	2ª Fase	1,43	0,88 - 2,31

Tabela 2. Efeitos do óleo essencial das cascas de *D. lanceolata*, após administração intraperitoneal de 1, 10, 50, 100 e 200 mg/kg, sobre o tempo da lambida da pata induzida por formalina 2,5% (n=8). Morfina (10 mg/kg) foi o fármaco de referência. OE: Óleo Essencial.

Produtos testados	Doses	1ª Fase		2ª Fase	
		Média±EP	Inibição (%)	Média±EP	Inibição (%)
Controle	NaCl 0,9%	88,75±2,54	-	90,75±2,65	-
OE1	1 mg/kg	63,62±3,71*	28,31	45,50±3,77*	49,86
OE10	10 mg/kg	40,62±3,40*	54,23	20,62±2,56*	77,27
OE50	50 mg/kg	14,00±1,90*	84,22	2,12±0,69*	97,66
OE100	100 mg/kg	5,37±0,65*	93,94	0,00±0,00*	100,00
OE200	200 mg/kg	0,00±0,00*	100,00	0,00±0,00*	100,00
Morfina	10 mg/kg	18,37±1,96*	79,30	5,12±1,07*	94,35

*Significativo em relação ao controle após análise de variância (ANOVA) seguida do teste de Tukey (p < 0,05).

Tabela 3. Efeitos do óleo essencial de *Duguetia lanceolata*, após administração intraperitoneal de 10, 50, 100 e 200 mg/kg, sobre o edema de pata induzido por carragenina (n=6). Indometacina (10 mg/kg) foi o fármaco de referência. OE: óleo essencial.

Produtos testados	Volume do edema (ml) após injeção de carragenina	
	Média±EP	Inibição do edema (%)
Controle	0,96±0,017	-
Indometacina 10 mg/kg	0,40±0,021*	58,33
OE 10 mg/kg	0,95±0,022	1,04
OE 50 mg/kg	0,76±0,018*	20,83
OE 100 mg/kg	0,61±0,016*	36,46
OE 200 mg/kg	0,49±0,07*	48,96

* Significativo em relação ao controle após análise de variância (ANOVA) seguida do teste de Tukey (p < 0,05).

A atividade observada na 1ª fase do tempo da lambida da pata é típica de uma ação no sistema nervoso central sobre os receptores opióides, diminuindo a dor. A morfina, por ser um fármaco opióide, também age na 2ª fase¹⁰. A 2ª fase é caracterizada pelo surgimento de um processo inflamatório local, onde são produzidos mediadores tais como prostaglandinas. Esses mediadores são inibidos por fármacos antiinflamatórios como, por exemplo, ácido acetilsalicílico, indometacina e dexametasona. Dessa forma, a provável ação dos constituintes do óleo essencial de *D.*

lanceolata é devida à inibição da ciclooxigenase com redução das prostaglandinas². Isso está de acordo com os resultados de contorções abdominais, sendo confirmado pelo teste de edema de pata induzido por carragenina.

O óleo essencial das cascas de *D. lanceolata* demonstrou atividade antinociceptiva nos modelos de contorções abdominais, tempo de lambida da pata e tempo de latência por estímulo térmico, bem como atividade antiinflamatória pelo método do edema de pata. Essas atividades são decorrentes da ação dos constituintes sobre o sistema nervoso central e de ações periféricas.

Material e Métodos

Material Vegetal: *Duguetia lanceolata* St. -Hil. foi coletada na Reserva Biológica Santa Cândida em Juiz de Fora - MG. Uma excisada foi depositada no Herbário Leopold Krieger do Departamento de Botânica da Universidade Federal de Juiz de Fora sob nº 29750. As coletas constaram de galhos, de onde as cascas foram removidas e submetidas à dessecação em temperatura ambiente. O material botânico foi triturado em moinho mecânico, com peneiras de granulação definida para extração do óleo essencial.

Extração do Óleo Essencial: O óleo essencial foi obtido de 100 g das cascas do caule de *D. lanceolata*, com 5% de umidade e 7% de cinzas totais, por hidrodestilação usando o aparelho de Clevenger durante 2 horas. O rendimento foi, em média, 0,5% (v/p).

Contorções Abdominais Induzidas por Ácido Acético: Camundongos machos, pesando 25-30 g, foram tratados com doses 1 a 200 mg/kg de óleo essencial (solubilizado em 0,01 ml de DMSO:Tween 80 [1:1]/ml de NaCl 0,9 %) por via intraperitoneal (i.p.) (n=8). Após 1 hora de tratamento, 10 ml/kg de ácido acético 0,6% foram administrados i.p. e o nº de contorções abdominais contado entre 10 e 30 minutos. No grupo controle, foi administrado 10 ml/kg da solução de 0,01 ml de DMSO:Tween 80 (1:1)/ml de salina por via i.p.. A indometacina, administrada por via oral, foi utilizada como fármaco de referência (5 mg/kg)⁷.

Tempo da Lambida da Pata Induzida por Formalina: Camundongos machos, pesando de 25-30 g, foram tratados com doses de 1 a 200 mg/kg de óleo essencial (solubilizado em 0,01 ml de DMSO:Tween 80 [1:1]/ml de NaCl 0,9 %) por via i.p. (n=8). Após 1 hora de tratamento, 20ml de formalina 2,5% (em NaCl 0,9%) foram injetados no espaço subplantar da pata direita e o intervalo de tempo para lambida determinada de 0 a 5 minutos (1ª fase) e 15 a 30 minutos (2ª fase). Os animais controle receberam, por via i.p., 10 ml/kg da solução de 0,01 ml de DMSO:Tween 80 (1:1)/ml de NaCl 0,9 % por via i.p.. Morfina (10 mg/kg, subcutânea) foi usada como fármaco de referência⁵.

Edema de Pata Induzido por Carragenina: O edema de pata foi induzido pela injeção de 0,1 ml de carragenina (1%

p/v em NaCl 0,9%) administrada na região subplantar da pata direita de ratos Wistar machos, pesando de 180 a 260 g, uma hora após a administração do óleo essencial por via i.p. nas doses 10, 50, 100 e 200 mg/kg¹³. Na pata esquerda, usada como um controle, foi injetada 0,1 ml de NaCl 0,9%. Após quatro horas da injeção de carragenina, a medida do edema foi feita pela diferença entre o volume deslocado de líquido pela pata direita e o volume deslocado pela pata esquerda.

Análises Estatísticas: Os resultados foram analisados através da média e erro padrão (E. P.). Análise de variância (ANOVA) seguida do teste de Tukey foi utilizada para medir o grau de significância para $p < 0,05$. As doses efetivas 50 % (ED₅₀) foram determinadas através do teste de probitos usando o percentual da resposta farmacológica versus log da dose⁹.

Referências

- Craveiro, A. A.; Fernandes, A. G.; Andrade, C. H. S.; Matos, F. J. A.; Alencar, J. W.; Machado, M. I. L. Óleos essenciais de plantas do nordeste. 1 ed., Fortaleza: Edições UFC, 1981.
- Farsam, H.; Amanlou, M.; Dehpour, A.R.; Jahaniani, F. Anti-inflammatory and analgesic activity of *Biebersteinia multifida* DC. root extract. J. Ethnopharm., v. 71, p. 443-447, 2000.
- Fechine, I. M.; Navarro, V. R.; da Cunha, E. V. L.; Silva, M. S.; Maia, J.G. S.; Barbosa-Filho, J. M. Alkaloids and volatile constituents from *Duguetia flagellaris*. Biochem. Syst. and Ecol., v. 30, p. 267-269, 2002.
- Franzotti, E. M.; Santos, C. V. F.; Rodrigues, H. M. S. L.; Mourão, R. H. V.; Andrade, M. R.; Antonioli, A. R. Anti-inflammatory, analgesic activity and acute toxicity of *Sida cordifolia* L. (Malva-branca). J. Ethnopharm., v. 72, p. 273-278, 2000.
- Hunskar, S.; Hole, K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. Pain, v. 30, p. 103-114, 1987.
- Jurgens, A.; Webber, A. C.; Gottsberger, G. Floral scent compounds of Amazonian Annonaceae species pollinated by small beetles and thrips. Phytochemistry, v. 22, p. 551-558, 2000.
- Koster, R.; Anderson, M.; Beer, E. J. Acetic acid for analgesic screening. Fed. Proced., v. 18, p. 412, 1959.
- Leboeuf, M.; Cavé, A.; Bhaumik, P. K.; Mukerjee, B.; Mukherjee, R. The phytochemistry of the Annonaceae. Phytochemistry, v. 21, n. 12, p. 2783-2813, 1982.
- Litchfield, J. T.; Wilcoxon, F. A simplified method of evaluating dose-effect experiments. J. Pharm. Exp. Therap., v. 96, n. 1, p. 99-113, 1949.
- Shibata, M.; Ohbubo, T.; Takahashi, H.; Inoki, R. Modified formalin test: characteristic biphasic pain response. Pain, v. 38, p. 347-352, 1989.
- Siqueira, J. M. Estudo fitoquímico de *Duguetia glabriuscula* e *Unonopsis lindmanii* - Annonaceae - Biomonitoramento pelo ensaio de toxicidade sobre a *Artemia salina*. Belo Horizonte, 1999. 251 f. Tese (Doutorado em

Química) - Setor de Ciências Exatas, Universidade Federal de Minas Gerais.

¹² Sousa, O. V. Atividades farmacológicas de produtos obtidos de *Duguetia lanceolata* e *Annona coriacea* - Annonaceae. Rio de Janeiro, 2003. 143 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia Vegetal) - Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

¹³ Winter, C. A.; Risley, E. A.; Nuss, G. W. Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for antiinflammatory drugs. Proc. of the Soc. for Exp. Biol. and Med., v. 111, n. 1, p. 544-547, 1962.

***Autor para correspondência**

Prof. Dr. Orlando Vieira de Sousa
Departamento Farmacêutico
Faculdade de Farmácia e Bioquímica
Universidade Federal de Juiz de Fora
Campus Universitário, Bairro Martelos
CEP 36036-330, Juiz de Fora, MG
e-mail: orlando@fbio.ufjf.br ou ovsousa@ig.com.br.