

# Revista Interdisciplinar

# Ciências e Saúde



II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS  
E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas



**SEÇÃO 1**

**Volume 4**

**Número 4**

**Edição 2017**



## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

### **APRESENTAÇÃO**

O II Simpósio Nordestino de Recursos Naturais e Potencialidades Terapêuticas – II RENAPTE. Na sua segunda edição, priorizamos nossa atenção as propriedades terapêuticas de produtos naturais da nossa região em especial aos do Piauí. Neste contexto, enfatizamos a necessidade de considerar os produtos naturais utilizados pela medicina popular como potencial alvo de estudo de sua eficácia farmacológica, e desta forma promover uma aproximação da ciência com o saber popular.

O II RENAPTE, se confirmou como uma excelente oportunidade de interação entre professores, pesquisadores, profissionais e estudantes das mais diversas áreas das ciências biológicas e saúde além de biotecnologia. Promoveu-se discussões de alto nível com pesquisadores renomados das regiões nordeste do país. Nosso objetivo foi alcançado uma vez que, tivemos 76 trabalhos apresentados nos 3 dias do evento e cerca de 250 participantes.

Profa. Dra. Aldeídia Pereira de Oliveira

**Presidente do Evento**



# II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

## **COMISSÃO ORGANIZADORA**

Profa. Dra. Aldeídia Pereira de Oliveira (Presidente do Evento)

Profa. Dra. Rita de Cássia M. Oliveira

Profa. Dra. Rosimeire Ferreira dos Santos

Profa. Dra. Fernanda Regina de Castro Almeida

## **COMISSÃO CIENTÍFICA**

Profa. Dra. Salete Maria Cipriano da Rocha

Prof. Dr. Francisco de Assis Oliveira

Prof. Dr. Moisés Tolentino Bento da Silva

Profa. Dra. Elisângela Cláudia Alves Oliveira

Profa. Dra. Maria José dos Santos Soares

Profa. MSc. Julianne Viana Freire Portela

Profa. MSc. Kalynca Kayla Viana Aragão

Profa. MSc. Alessandra Maria Braga Ribeiro

Profa. MSc. Any Carolina Cardoso Guimarães Vasconcelos

## **ORGANIZADORA DO ANAIS**

Profa. MSc. Julianne Viana Freire Portela

### **Núcleo de Pesquisas em Plantas Medicinais – NPPM**

#### **Programa de Pós-Graduação em Farmacologia**

Universidade Federal do Piauí, Campus Ministro Petrônio Portella, Engate SG15, Ininga.

CEP 64049-550. Teresina-PI.

Tel: (86) 3215-5872



# II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

## SUMÁRIO

<b>SEÇÃO 1</b>	
<b>FARMACOLOGIA BÁSICA</b>	
Análise da atividade lectínica de dez cultivares de feijão caupi	07
Bergenina isolada de <i>Peltophorum dubium</i> : potencial antioxidante <i>in vitro</i> e regulação da resposta inflamatória em macrófagos peritoneais de camundongos	13
<b>FARMACOLOGIA PRÉ-CLÍNICA</b>	
Atividade antiulcerogênica do extrato aquoso de <i>Psidium guineense</i> Swartz (Myrtaceae) em camundongos	19
Avaliação da atividade antinociceptiva da casca do fruto de <i>Platonia insignis</i> MART. (BACURI) em modelo de neuropatia induzida pela constrição do nervo ciático	22
Atividade antinociceptiva da quercetina em modelo experimental de neuropatia diabética	27
Avaliação dos efeitos de <i>Bauhinia pulchella</i> BENTH. em animais diabéticos	31
Efeito do extrato etanólico de <i>Bauhinia pulchella</i> BENTH e do carnaubadiol na glicação protéica <i>in vitro</i>	36
Atividade antinociceptiva <i>in silico</i> de compostos identificados em <i>Borreria verticillata</i>	41
Avaliação da atividade anti-edematogênica do <i>p</i> -cumarato de etila em modelos animais	46
Atividade anti-inflamatória de <i>Persea americana</i>	51
Avaliação da atividade relaxante da espécie <i>Combretum mellifluum</i> Eichler do cerrado nordestino em traquéia isolados de rato	56
Investigação do efeito vasorrelaxante do $\gamma$ -terpineno em anéis de artéria mesentérica superior isolada de rato	60
Estudo da ação farmacológica do mentofurano no sistema gastrointestinal de roedores	65
Atividade espasmolítica do extrato etanólico das folhas de <i>Combretum mellifluum</i> Eichler em anéis de aorta isolada de rato	69
Ação antinociceptiva do terpinoleno em modelos de neuropatia por injúria nervosa	74
Avaliação da atividade toxicológica e antinociceptiva do óxido de rosa em roedores	78
Avaliação oxidativa, antioxidante, de prevenção e reparo de danos oxidativos ao DNA em <i>Saccharomyces cerevisiae</i> tratadas com acetato de nerila	82
Investigação da atividade espasmolítica do nerol em corpo cavernoso isolado de rato	87



## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

Investigação do mecanismo tocolítico do extrato etanólico das cascas do caule de <i>Platonia insignis</i> Mart. em útero de rata	92
<b>SEÇÃO 2</b>	
<b>ETNOFARMACOLOGIA E FITOTERAPIA</b>	
Prospecção tecnológica das atividades cardiovasculares da <i>Mimosa caesalpiniiifolia</i>	97
Efeito do gojy berry sobre o perfil lipídico e glicemia de camundongos submetidos a um modelo de obesidade neuroendócrina	102
Avaliação do extrato hidroalcoólico padronizado de <i>Myracrodruon urundeuva</i> em modelo experimental de hipercolesterolemia induzida por triton em camundongos	106
Avaliação do uso de açúcar na terapia tópica de feridas	110
Avaliação da performance reprodutiva de ratos tratados com o extrato etanólico da <i>Richeria grandis</i> Vahl. ( <i>Phyllanthaceae</i> )	115
Atividade anti-helmíntica do Extrato Etanólico da <i>Ipomoea carnea</i> (canudo) em <i>Ascaridia galli</i>	119
Prospecção tecnológica das atividades biológicas do borneol com ênfase na cardioproteção	123
Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato da folha de amendoeira ( <i>Terminalia catappa</i> L.)	128
Screening do efeito vasorrelaxante de duas espécies vegetais do Cerrado brasileiro	133
Avaliação da genotoxicidade de <i>Combretum leprosum</i> : teste <i>allium cepa</i>	136
<b>FARMACOGNOSIA</b>	
Avaliação <i>in vitro</i> do potencial antimicrobiano e <i>screening</i> de toxicidade dos extratos alcoólicos das folhas de <i>Phyllanthus niruri</i> L.	142
<b>QUÍMICA DE PRODUTOS NATURAIS</b>	
Avaliação da estabilidade de pré-formulações contendo óleo de babaçu ( <i>Orbignya phalerata</i> Martius)	147
Caracterização de bixina extraída de sementes de urucum e avaliação da atividade antioxidante	152
Atividade antibacteriana dos óleos essenciais de <i>Syzygium aromaticum</i> , <i>Cymbopogon citratus</i> e <i>Rosmarinus officinalis</i> frente à cepa de <i>Staphylococcus aureus</i>	157
Síntese do O-acetil-anacardato de eugenila derivado do ácido anacárdico presente no líquido da casca da castanha de caju	162
Caracterização química e potencial antiacetilcolinesterase de ésteres metílicos de ácidos graxos de fração lipídica da semente da <i>Annona muricata</i>	166
Óleo essencial de manjeriço ( <i>Ocimum campechianum</i> ): química e potencial antioxidante como ingrediente funcional	171





## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

Prospecção fitoquímica e potencial biológico da folha e semente de algodão ( <i>Gossypium hirsutum</i> L.)	176
<b>SEÇÃO 3</b>	
<b>PRODUÇÃO E CONTROLE DE QUALIDADE DE BIOPRODUTOS</b>	
Elaboração de iogurtes a base de leite de búfala com diferentes frutas	181
Análise de rotulagem de cereais matinais: enfoque na informação nutricional	185
Avaliação da atividade antimicrobiana de extrato seco padronizado de <i>Lecythis pisonis</i> Camb (Lecythidaceae) e <i>Vitex agnus castus</i> L. (Verbenaceae)	190
Obtenção e caracterização do extrato seco por aspersão de <i>Lecythis pisonis</i> Camb.	194
Análise físico-química e microbiológica do pólen de abelhas nativas	198
Obtenção e caracterização de microemulsões transdérmicas de cetamina utilizando um óleo vegetal para alívio da dor pós-operatória	203
Aproveitamento da casca do maracujá-amarelo ( <i>Passiflora Edulis</i> F. <i>Flavicarpa</i> ) para produção de biscoitos	208
<b>BIOTECNOLOGIA DE RECURSOS NATURAIS</b>	
Ação de <i>Stryphnodendron coriaceum</i> Benth e antibióticos contra <i>Corynebacterium diphtheriae</i> e toxicidade <i>in vitro</i>	213
Atividades antioxidante e antibacteriana contra <i>Corynebacterium diphtheriae</i> de <i>Tithonia diversifolia</i> (Hemsley) Gray e bioensaio toxicológico em <i>Artemia salina</i>	217
Aplicações farmacológicas e tecnológicas da goma do cajueiro ( <i>Anacardium occidentale</i> L.) – um produto obtido da flora brasileira	221
Avaliação da atividade antimicrobiana da piocianina em linhagens do grupo coliforme	226
Prospecção tecnológica de peptídeos extraídos de rã com ênfase em análogos da bombesina	230
Investigação da atividade espasmolítica da goma do cajueiro pura e modificada em útero isolado de rata	235
Microemulsões transdérmicas para dor neuropática: uma prospecção tecnológica e científica	241
<b>POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS</b>	
Efeitos da bromelaína (derivada do <i>Ananas comosus</i> ) na pele após incisão cirúrgica experimental na pata de ratas	248
Avaliação da bromelaína (derivada do <i>Ananas comosus</i> ) sobre o fígado, rim e baço em ratas com periodontite crônica induzida	253
Efeitos da bromelaína (derivada do <i>Ananas comosus</i> ) no músculo estriado esquelético após injúria experimental na pata de ratas	256
Avaliação da bromelaína (derivada do <i>Ananas comosus</i> ) sobre a periodontite induzida em ratos	261



## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

<b>SEÇÃO 4</b>	
<b>TOXICOLOGIA DE PRODUTOS NATURAIS</b>	
Potencial citogenotóxico e mutagênico do extrato etanólico das folhas de <i>Poincianella bracteosa</i> (Tul.) L.P. Queiroz	266
Citogenotoxicidade e mutagenicidade das folhas de <i>Jatropha mollissima</i> (Pohl) Baill em <i>Allium cepa</i> L. e <i>Mus musculus</i> L.	271
Prospecção fitoquímica e potencial antimutagênico das cascas e folhas de <i>Poincianella bracteosa</i> (Tul.) L.P. Queiroz	276
Efeito modular de <i>Jatropha mollissima</i> (Pohl) Baill. sobre a mutagenicidade da doxorubicina em células somáticas de <i>Drosophila melanogaster</i>	281
Efeito modulador das folhas de <i>Poincianella bracteosa</i> em células somáticas de <i>Drosophila melanogaster</i>	285
Toxicidade <i>in vitro</i> do extrato etanólico das vagens de <i>Enterolobium contortisiliquum</i>	289
Toxicidade gestacional do extrato etanólico das vagens de <i>Enterolobium contortisiliquum</i>	293
Atividade citogenotóxica do extrato etanólico da folha de <i>Momordica charantia</i> L. em teste vegetal <i>Allium cepa</i>	298
Screening citogenotóxico do extrato etanólico do caule de <i>Mauritia flexuosa</i> L.	302
Avaliação preliminar do potencial citogenotóxico e mutagênico do extrato etanólico da folha de <i>Croton heliotropiifolius</i> Kunth	306
Avaliação da toxicidade aguda do óleo essencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> L. em ratos ( <i>Rattus norvegicus</i> linhagem Wistar)	311
Avaliação da toxicidade aguda da goma do angico, extraída do exsudato de <i>Anadenanthera columbrina</i> var. <i>cebil</i> (Griseb) Altsul em camundongos	316
Análise da toxicidade aguda da goma do cajueiro, um heteropolissacarídeo complexo extraído do exsudato de <i>Anacardium occidentale</i> L., em camundongos	321
Estudo da toxicidade de <i>Combretum leprosum</i> : teste <i>Allium cepa</i>	326
<b>TEMAS TRANSVERSAIS</b>	
Prospecção tecnológica direcionada ao diagnóstico e tratamento do Alzheimer	331
Tratamento da leishmaniose e o uso terapêutico do extratos de <i>Casearia sylvestris</i> : uma prospecção tecnológica	336
Diagnóstico de infecção por Zika Vírus e microcefalia em gestantes: uma prospecção tecnológica	340
Bioprospecção tecnológica direcionada ao diagnóstico do Papiloma Vírus Humano (HPV) e câncer do colo do útero	344
Biomarcadores de desordens neurológicas comuns em idosos: uma prospecção tecnológica	349
Encapsulação de probióticos com ênfase no uso da goma do cajueiro ( <i>Anacardium occidentale</i> ) como material de parede: uma prospecção tecnológica	354



## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

Potencial biotecnológico da atividade anti-inflamatória e cicatrizante do alfa-bisabolol: um estudo de prospecção	359
Atividade antimicrobiana aplicada ao extrato aquoso da <i>Phyllanthus niruri</i> : comparação entre diferentes estabelecimentos de Teresina-PI	364





## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

# FARMACOLOGIA BÁSICA



# II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

## **Análise da atividade lectínica de dez cultivares de feijão caupi**

Brandon Ferraz e Sousa<sup>1</sup>, Kátia Bonfim Leite de Moura Sérvulo<sup>2</sup>, Girlene Soares de Figueirêdo<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Biologia, Centro de Ciências da Natureza, Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, sbrandonferraz@gmail.com

<sup>2</sup> Professora Doutora. Departamento de Bioquímica e Farmacologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, Brasil. katiufpi@gmail.com

<sup>3</sup> Professora Doutora. Departamento de Parasitologia e Microbiologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, Brasil. girlenefs@gmail.com

### **Introdução**

O feijão-caupi, *Vigna unguiculata* (L.) Walp, é uma leguminosa de grande importância econômica para região semiárida do Brasil, Estados Unidos da América e África. Especialmente nas regiões Norte e Nordeste do Brasil, seu consumo é intenso e estratégico na segurança alimentar, devido ao alto teor protéico da leguminosa (ROCHA et al., 2009). Esse alto teor protéico é característico de sementes da família Fabaceae, *Lupinus luteus*, por exemplo possui aproximadamente 50% de proteínas em suas sementes. No entanto, essa família botânica também contém compostos não-nutritivos (NNCs) que afetam a qualidade nutricional do legume.

Alguns desses NNCs são metabólitos secundários acumulados durante a produção da semente e que podem servir como mecanismos de defesa contra fatores bióticos e abióticos. Dentre esses NNCs estão compostos de origem não-protéica como: ácidos fítics, oligossacarídeos da família rafinose, taninos, alcalóides, vicinas, convicinas e saponinas; e compostos protéicos como: inibidores de tripsina e hemaglutininas (GULEWICZ et al., 2014).

Lectinas, também chamadas de hemaglutininas são proteínas altamente conservadas, encontradas em plantas, vertebrados, invertebrados e microorganismos (E-LACERDA et al., 2015). Essas proteínas são capazes de se ligar reversivelmente à carboidratos (INGALE; HIVRALE, 2013), aglutinando células, ou precipitando polissacarídeos e glicoconjugados. Já foram caracterizadas lectinas com atividade inseticida, anti-inflamatória, antimicrobiana, antitumoral e anti-hemolítica (XU et al., 2015) mas o mecanismo de ação dessas proteínas não é muito bem conhecido, sendo elas mais reconhecidas pelos seus efeitos fisiológicos negativos. O seguinte estudo objetiva a extração, purificação e caracterização da atividade biológica de sementes de feijão-caupi.

### **Metodologia**

O experimento foi conduzido no Laboratório de Pesquisa do Departamento de Bioquímica e Farmacologia da Universidade Federal do Piauí, em Teresina. Foram utilizados dez cultivares de feijão-caupi *Vigna unguiculata* (L.) Walp, desenvolvidas pelo programa de melhoramento genético da Embrapa Meio-Norte,



## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

em Teresina, Piauí: BRS Paraguaçu, BRS Cauamé, BRS Itaim, BRS Guariba, BRS Marataoã, BRS Gurgueia, BRS Xiquexique, BRS Tumucumaque, BRS Pajeú, BRS Potengi.

### **Preparação das farinhas:**

As sementes foram maceradas em almofariz e pistilo até obter pó uniforme e homogêneo. A delipidação foi realizada com a adição de hexano à farinha.

### **Preparação dos extratos-brutos totais:**

Todas as farinhas foram extraídas em soluções de NaCl 0,15 M (T1), TrisHCl 0,1 M + NaCl 0,15 M pH 7,6 (T2), Glicina 0,1 M + NaCl 0,15 M pH 2,6 (T3) e Glicina 0,1 M + NaCl 0,15 M pH 9,0 (T4) na proporção 1:10 massa:volume, com 4 horas de contato, seguida de centrifugação à 10.000 x G à 4°C por 20 minutos. O sobrenadante é filtrado em papel filtro qualitativo, e armazenado à -18°C.

### **Fracionamento com sulfato de amônio:**

Para concentração das proteínas, todas as farinhas foram extraídas com as soluções de extração T2 na proporção 1:10 massa:volume, com 2 horas de contato, e centrifugação à 10.000 x G à 4°C por 20 minutos. O sobrenadante é filtrado em papel filtro qualitativo e precipitado com  $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$  a fração 0-60 de acordo com SCOPES, 1995. A solução saturada é novamente centrifugada à 10.000 x G à 4°C por 20 minutos, o sobrenadante equivale à fração 60-90 e o resíduo é redissolvido no menor volume possível do tampão de extração, e em seguida dialisado exaustivamente em água destilada, com troca a cada 30 minutos.

### **Dosagem de proteínas:**

As proteínas solúveis de cada extrato-bruto e frações 0-60 são dosadas seguindo o método de BRADFORD, 1976 para quantificação de proteínas, tomando como base uma curva-padrão de BSA (albumina sérica bovina).

### **Atividade Hemaglutinante:**

O teste foi realizado segundo a metodologia de CORREIA; COELHO, 1995. Utilizando-se tubos de ensaio, cada contendo 200  $\mu\text{L}$  de sangue, 100  $\mu\text{L}$  de tampão T2, para evitar hemólise, e 100  $\mu\text{L}$  dos extratos diluídos em série. Foram utilizadas hemácias de coelho e carneiro normais com a aprovação do comitê de ética protocolo 124/15. A avaliação é realizada após 30 minutos, através da observação da ocorrência da reação de hemaglutinação (HA) como mostra a Figura 1. A presença de HA é considerada como resultado positivo e ausência de HA como resultado negativo.

### **Atividade antimicrobiana:**

Foi realizado um teste de difusão em discos em placas de Petri, seguindo a Farmacopeia Brasileira, 2011. Os discos foram preparados em papel filtro de alta retenção, foram esterelizados e armazenados. As placas de Petri foram vertidas com aproximadamente 20 mL de agar Mueller-Hinton e os inóculos padronizados até a escala 0,5 de McFarland. Foram semeados *Escherichia coli* (ATCC25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC25923) e *Candida albicans* (NEWP31), os discos foram embebidos nos extratos e colocados nas placas, que em seguida foram



## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

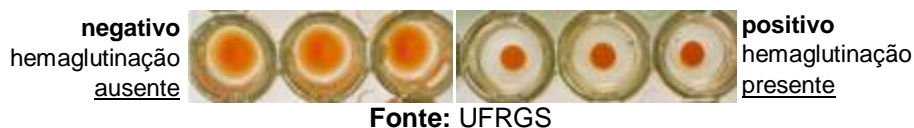
Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

incubadas à  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  por 24 horas. Os controles positivos foram os antibióticos ampicilina, piperacilina/tazobactam e nistatina e os controles negativos foram os tampões de extração T1 e T2.

### Resultados e Discussão

O teste de atividade hemaglutinante dos extratos-brutos totais resultou em apenas o extrato T3 de BRS Pajeú com resultado positivo. Após o fracionamento com sulfato de amônio, as frações 0-60 de BRS Marataoã, BRS Pajeú e BRS Gurguéia demonstraram resultados positivos. A atividade hemaglutinante é a principal característica da presença de uma proteína lectina em um extrato vegetal, pois sua capacidade de formar ligações reversíveis e específicas com carboidratos facilitam a aglutinação das hemácias (GULEWICZ et al., 2014).

Figura 1 – avaliação da atividade hemaglutinante



A dosagem de proteínas dos extratos-brutos mostrou que as soluções T2 (TrisHCl 0,1 M, pH 7,6 com NaCl 0,15 M) e T4 (Glicina 0,1 M, pH 9,0 com NaCl 0,15 M) são as mais eficientes por solubilizar a maior quantidade de proteínas. O fracionamento tem como objetivo precipitar uma fração protéica, concentrando parte das proteínas de um dado extrato, nesse trabalho a solução T2 foi utilizada na preparação das frações por conter pH neutro e por isso não afetar o resultados dos testes de atividade biológica. A precipitação da fração 0-60 nesse trabalho se mostrou eficaz para os cultivares BRS Gurguéia, BRS Marataoã e BRS Pajeú, pois a concentração de proteínas dos extratos fracionados é, em média, maior do que a dos seus respectivos extratos-brutos totais, além de apresentar atividade hemaglutinante com hemácias de coelho e de carneiro, como observado na Tabela 1.

O teste de atividade antimicrobiana mostrou que o extrato-total bruto de BRS Gurguéia e a fração 0-60 de BRS Marataoã possuem atividade inibitória contra as cepas de *E. coli* e *C. albicans* testadas, apresentando em média disco inibitório de 10,5 mm em ambos os microorganismos, no entanto nenhum outro cultivar apresentou atividade inibitória contra os microorganismos testados, e nem mesmo os dois cultivares citados acima apresentaram atividade contra *S. aureus*. A ação antimicrobiana está intimamente ligada à interação lectina-glicano. Bactérias Gram-positivas, como *S. aureus* são mais vulneráveis à compostos sintéticos e antibióticos naturais devido à constituição e organização da parede celular. A ausência de atividade inibitória em *S. aureus* nesse experimento foi inesperada, mas hipotetiza-se que a ligação lectina-glicano não teve caráter disruptivo, ou seja, a ligação da



## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

lectina não favoreceu a destruição do envólucro celular; ou que a concentração da lectina presente nos extratos não era suficiente para causar atividade inibitória visível (GAIDAMASHVILI; VAN STADEN, 2002).

**Tabela 1** – Concentração de proteínas dos extratos-brutos totais e frações 0-60 de feijão caupi

Cultivar	Extratos-brutos Totais				Fração 0-60
	T1	T2	T3	T4	
	$C_i^*$	$C_i$	$C_i$	$C_i$	
<b>BRS Cauamé</b>	60,32	80,70	41,30	103,15	-
<b>BRS Guariba</b>	51,43	95,28	8,08	99,09	-
<b>BRS Gurguéia</b>	40,32	60,93	25,21	77,84	86,15
<b>BRS Itaim</b>	64,61	73,63	6,54	73,63	-
<b>BRS Marataoã</b>	47,53	135,68	10,85	135,08	121,60
<b>BRS Pajeú</b>	50,43	74,60	6,98	81,43	68,97
<b>BRS Paraguaçu</b>	67,33	123,48	11,15	115,15	-
<b>BRS Potengi</b>	75,60	88,95	28,60	151,20	-
<b>BRS Tumucumaque</b>	86,28	64,43	49,35	90,68	-
<b>BRS Xiquexique</b>	61,03	104,85	10,38	125,20	-

\*  $C_i$  – concentração dos extratos em mg de proteína/ g de farinha.

T2 – Glicina 0,1 M, pH 2,6 com NaCl 0,15 M

T3 – Glicina 0,1 M, pH 9,0 com NaCl 0,15 M

T1 – NaCl 0,15 M;

T2 – TrisHCl 0,1 M, pH 7,6 com NaCl 0,15 M



**Fonte:** autores.

Como o mecanismo de ação dessas proteínas permanece incógnito, o meio direto de interação das lectinas com o envólucro externo de bactérias Gram-negativas, como *E. coli*, não é conhecido, mas hipotetiza-se que a capacidade dessas proteínas de precipitar gliconjugados e polissacarídeos rompa a parede celular dessas bactérias, fungos e leveduras de envólucro externo similar, como *C. albicans*, agindo como o principal mecanismo de ação antimicrobiana (HASAN; OZEKI; KABIR, 2014).

## **Conclusão**

No presente estudo foi obtido sucesso com os cultivares BRS Marataoã, BRS Pajeú e BRS Gurguéia, que mostraram atividade hemaglutinante positiva contra hemácias normais de carneiro e coelho; e atividade antimicrobiana contra *E. coli* e *C. albicans*. As próximas etapas da pesquisa tem o objetivo de isolar a lectina e em seguida caracterizá-la.

**Palavras-chave:** Antimicrobianos. Hemaglutininas. Vigna.

## **Referências**

- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of proteins utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, n. 1, p. 248–254, 1976.
- CORREIA, M. T. S.; COELHO, L. C. B. B. Purification of a glucose/mannose specific lectin, isoform 1, from seeds of *Cratylia mollis* mart. (Camaratu Bean). **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 55, n. 3, p. 261–273, 1995.
- E-LACERDA, R. R. et al. Lectin isolated from Brazilian seeds of velvet bean (*Mucuna pruriens* (L) DC.) presents analgesic, anti-inflammatory and antihemolytic action. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 9, n. 8, p. 231–242, 2015.
- Farmacopeia Brasileira**. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/hotsite/farmacopeiabrasileira/conteudo/3a\\_edicao.pdf](http://www.anvisa.gov.br/hotsite/farmacopeiabrasileira/conteudo/3a_edicao.pdf)>.
- GAIDAMASHVILI, M.; VAN STADEN, J. Interaction of lectin-like proteins of South African medicinal plants with *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 80, n. 2–3, p. 131–135, 2002.
- GULEWICZ, P. et al. Non-Nutritive Compounds in Fabaceae Family Seeds and the Improvement of Their Nutritional Quality by Traditional Processing – a Review. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, v. 64, n. 2, p. 75–89, 2014.
- HASAN, I.; OZEKI, Y.; KABIR, S. R. Purification of a novel chitin-binding lectin with antimicrobial and antibiofilm activities from a Bangladeshi cultivar of potato (*Solanum tuberosum*). **Indian Journal of Biochemistry and Biophysics**, v. 51, n. 2, p. 142–148, 2014.
- INGALE, A. .; HIVRALE, A. . Plant as a plenteous reserve of lectin. **Plant signaling & behavior**, v. 8, n. 12, p. e26595, 2013.
- ROCHA, M. M. et al. Controle genético do comprimento do pedúnculo em feijão-caupi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 3, p. 270–275, 2009.



## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

SCOPES, R. K. **Protein Purification: Principles and Practice**. New York: Springer-Verlag, 1995.

XU, P. et al. Purification, characterization, and biological activities of broccolini lectin. **Biotechnology Progress**, v. 31, n. 3, p. 736–743, 2015.



# II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

## **Bergenina isolada de *Peltophorum dubium*: potencial antioxidante *in vitro* e regulação da resposta inflamatória em macrófagos peritoneais de camundongos**

Letícia de Sousa Chaves<sup>1</sup>; Guilherme Antônio Lopes de Oliveira<sup>1</sup>; Gabriella Pacheco<sup>1</sup>; George Laylson da Silva Oliveira<sup>1</sup>; Jelson Lina de Carvalho<sup>1</sup>; André Luis Fernandes Lopes<sup>1</sup>; Jand Venes Rolim Medeiros<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Farmacologia da Inflamação e Distúrbios Gastrointestinais, Universidade Federal do Piauí, Parnaíba /PI - Brasil  
E-mail: [leticiabiomed17@hotmail.com](mailto:leticiabiomed17@hotmail.com)

### **Introdução**

A geração e o aprimoramento de novos fármacos estão intimamente ligados a plantas medicinais. Estima-se que pelo menos 25% de todos os medicamentos modernos são derivados direta ou indiretamente de plantas medicinais, neste contexto, vários fatores estimulam a busca de novos medicamentos originados de produtos naturais para o combate de doenças com tratamentos ainda limitados como as doenças inflamatórias e o câncer, além de buscar vias terapêuticas mais acessíveis economicamente (MARQUES et al., 2017).

Por conta do potencial terapêutico, as plantas são utilizadas tradicionalmente pela medicina popular e vem despertando o interesse de pesquisadores e indústrias farmacêuticas que tem objetivos de desenvolverem novas terapias medicamentosas provenientes de plantas medicinais (MÜGGE et al., 2016).

A Bergenina (BG) é uma molécula derivada do ácido gálico, proveniente das raízes de *Peltophorum dubium* (Spreng) Taub. Popularmente conhecido como canafístula, angico amarelo ou faveiro. É uma planta nativa da zona de mata atlântica do nordeste. As raízes, cascas do caule e folhas são usadas na medicina popular com anticoncepcional e anti-inflamatório. A bergenina é o constituinte majoritário do extrato etanólico das raízes de *P. dubium* (OLIVEIRA et al., 2015). Diante disso, o objetivo do trabalho foi avaliar a possível capacidade antioxidante *in vitro* da BG contra radicais não biológicos além de verificar os possíveis efeitos anti-inflamatórios da molécula em macrófagos peritoneais de camundongos ativados por lipopolissacarídeos (LPS).

### **Material e métodos**

A atividade antioxidante *in vitro* foi determinada utilizando ensaios de eliminação de radicais DPPH e ABTS em concentrações de BG de 0,1 a 3 mM. Foi determinada a concentração efetiva (CE<sub>50</sub>) da BG necessária para inibir 50% dos radicais DPPH e ABTS. Para comparação, o mesmo procedimento experimental foi utilizado com um controle negativo (salina) e um controle positivo (Trolox, nas mesmas concentrações). No estudo da resposta inflamatória, os macrófagos



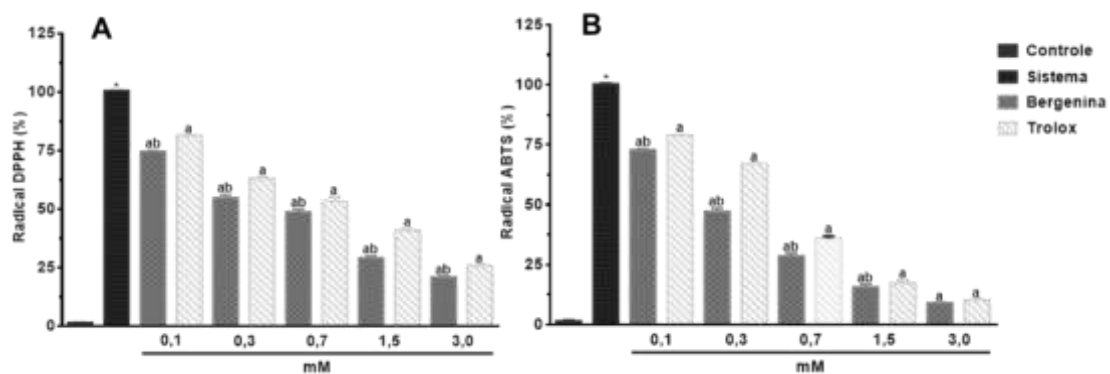
## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

peritoneais murinos foram isolados e tratados em presença ou ausência de lipopolissacarídeos (LPS) ( $5 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) durante 18 h. A viabilidade celular foi determinada utilizando o ensaio de sulfonamida B. A sobrevivência celular foi medida como a porcentagem de absorvância comparada com o obtido em células do grupo controle (não tratadas) e a produção de nitrito (NO) foi medida utilizando a reação de Griess. Os mediadores pró-inflamatórios foram medidos por *Western Blot*. Nos tratamentos com BG, foram utilizadas as concentrações de 6,25 e 12,5  $\mu\text{M}$ . Todos os experimentos envolvendo animais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFPI com o número de protocolo 220/16.

### Resultados e Discussão

O resultado correspondente a capacidade antioxidante da bergenia contra o radical DPPH $\cdot$  nas concentrações de 0,1-3,0 mM foram de  $25,83 \pm 0,21$ ,  $45,56 \pm 1,32$ ,  $51,55 \pm 1,22$ ,  $71,14 \pm 0,75$  e  $79,24 \pm 0,35\%$ , respectivamente, na qual reduziu ( $p < 0,05$ ) o radical DPPH $\cdot$  em relação ao Sistema (**Fig. 1A**). Nas mesmas condições e concentrações experimentais, o Trolox reduziu ( $p < 0,05$ ) a concentração do radical DPPH $\cdot$  apresentando capacidade antioxidante de  $19,11 \pm 0,18$ ,  $37,17 \pm 0,40$ ,  $46,94 \pm 1,72$ ,  $59,46 \pm 0,67$  e  $74,36 \pm 0,51\%$ , respectivamente. De acordo com os resultados da capacidade antioxidante na inibição do radical DPPH $\cdot$ , o valor da ( $CE_{50}$ ) foi de  $0,59 \pm 0,09$  mM para a bergenia e de  $0,76 \pm 0,11$  mM para o Trolox. De forma semelhante, os resultados da capacidade antioxidante da bergenia contra o radical ABTS $^{\bullet+}$  nas concentrações de 0,1- 3,0 mM foram de  $27,54 \pm 0,19$ ;  $53,04 \pm 0,80$ ;  $71,59 \pm 0,72$ ;  $84,48 \pm 0,76$  e  $91,08 \pm 0,08\%$ , respectivamente, na qual reduziu ( $p < 0,05$ ) o radical ABTS $^{\bullet+}$  quando comparado ao Sistema (**Fig. 1B**). O Trolox reduziu ( $p < 0,05$ ) a concentração do radical ABTS $^{\bullet+}$  em  $21,49 \pm 0,12$ ,  $33,06 \pm 0,05$ ,  $64,27 \pm 0,54$ ,  $82,80 \pm 0,68$  e  $89,87 \pm 0,17\%$ , respectivamente, o valor da ( $CE_{50}$ ) foi de  $0,36 \pm 0,05$  mM para a bergenia e de  $0,57 \pm 0,04$  mM para o Trolox.



**Figura 1:** Capacidade antioxidante da bergenia em diferentes concentrações (0,1-3,0 mM) pela inibição do radical DPPH $\cdot$  (A) e ABTS $^{\bullet+}$  (B). Os valores representam a média  $\pm$  E.P.M. dos valores de inibição *in vitro*, n = 3, dos experimentos em duplicata.  $p < 0,05$  versus controle (PBS, pH 7.4); <sup>a</sup>

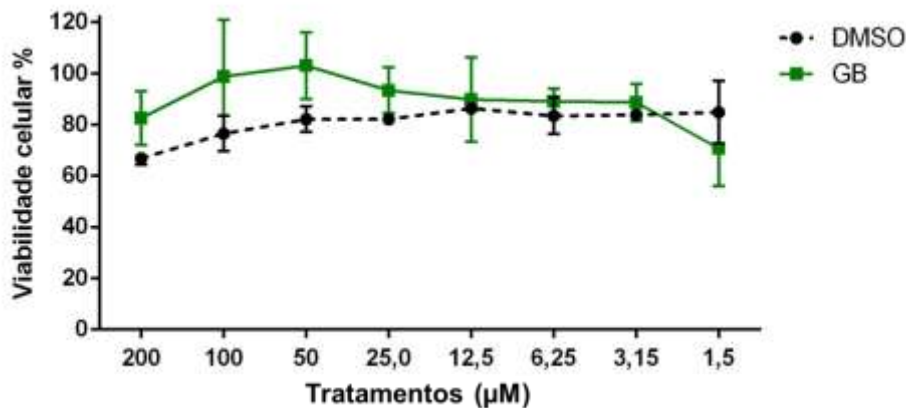


## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

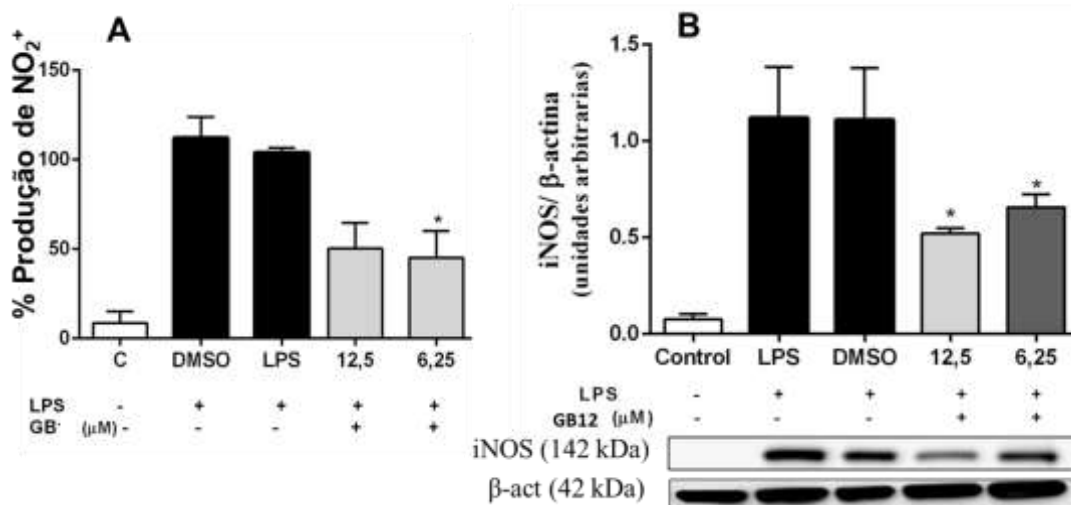
$p < 0,05$  em relação ao sistema (100% de radical DPPH<sup>•</sup> (A) ou ABTS<sup>•+</sup> (B)). <sup>b</sup> $p < 0,05$  em relação ao Trolox (0,1-3,0 mM) (ANOVA e Student-Neuman-Keuls como *post hoc* teste).

Já nos ensaios *in vitro* com macrófagos peritoneais para avaliar a mediação da resposta inflamatória induzida por LPS, a bergenia nas concentrações de 6,25 e 12,5  $\mu\text{M}$  não afetou a viabilidade celular, sendo considerado aceitável o valor acima de 80% de células viáveis (**Fig. 2**).



**Figura 2:** Porcentagem da viabilidade celular das células tratadas com bergenia em comparação às células tratadas com DMSO (veículo). (ANOVA e Student Neuman-Keuls).

Nas mesmas concentrações, a BG reduziu os níveis da produção de nitrito (**Fig. 3A**) e a expressão da proteína pró-inflamatória iNOS (**Fig. 3B**).



**Figura 3:** Redução da porcentagem de produção de nitrito nos macrófagos peritoneais estimulados por LPS e tratados com bergenia (6,25 e 12,5  $\mu\text{M}$ ) (A). Expressão da proteína pró-inflamatória



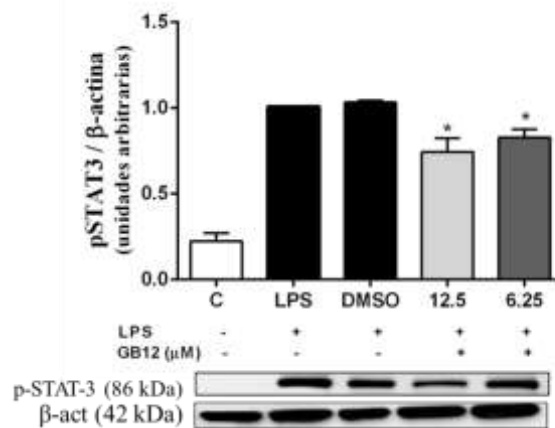


## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomassas Nordestinas e suas Potencialidades Terapêuticas

iNOS. A proteína  $\beta$ -actina serviu como controle de normalização de carga. Os dados mostrados são as médias  $\pm$  E.P. M. (n = 3). \*p < 0,05 VS. grupo DMSO-LPS. (ANOVA e Student Neuman-Keuls).

Os mediadores da inflamação podem ser expressos pela ativação de diferentes vias como a Jak-STAT e NFkB, na avaliação dessa via, a BG foi capaz de reduzir a fosforilação da proteína STAT3 (**Fig. 4**), diminuindo assim resposta inflamatória em macrófagos estimulados por LPS.



**Figura 4.** Expressão da fosforilação da proteína STAT3. A proteína  $\beta$ -actina serviu como controle de normalização de carga. Os dados mostrados são as médias  $\pm$  E.P. M. (n = 3). \*p < 0,05 VS. grupo DMSO-LPS. (ANOVA e Student Neuman-Keuls).

### Conclusão

Este estudo estabelece que a bergenia isolada de *P. dubium* possui atividades antioxidantes e anti-inflamatórias *in vitro* em macrófagos murinos estimulados por LPS. Nos tratamentos com bergenia foram observados a redução dos radicais oxidantes e também a redução dos mediadores pró-inflamatórios NO, iNOS além de diminuir a expressão da via de sinalização da inflamação Jak-STAT. Assim, a bergenia pode ser um alvo promissor para o desenvolvimento de novas terapias anti-inflamatórias com produtos naturais.

**Palavras-chave:** Bergenina. Antioxidante. Anti-inflamatório.

### Referências

MARQUES, A. M.; PROVANCE, D. W.; KAPLAN, M. A. C.; FIGUEIREDO M. R. Echinodorus grandiflorus: Ethnobotanical, phytochemical and pharmacological overview of a medicinal plant used in Brazil. **Food and Chemical Toxicology**, 2017.



## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

MUGGE, F. L. B.; PAULA, S. J.; MELO, J.C.; BRANDÃO, M. G. L. Native plant species with economic value from Minas Gerais and Goiás: a discussion on the currentness of the data recovered by the French naturalist Auguste de Saint-Hilaire. **Horticultura Brasileira**, v. 34, p. 455-462, 2016

OLIVEIRA, G. A. L.; OLIVEIRA, G. L. S.; JÚNIOR, L. M. R.; DAVID, J. P. L.; DAVID, J. M.; FREITAS R. M. Cell toxicity and hemolytic potential of an isolated molecule from *Peltophorum dubium* (Spreng). **Toxicology Letters**, v. 238, n. 2, s. 192, 2015.

### **Agradecimentos / Apoio financeiro**

RENORBIO, UFPI, UFBA, Universidad de Sevilla / CNPq, CAPES, FAPEPI



# II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

## FARMACOLOGIA PRÉ-CLÍNICA



# II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

## Atividade antiulcerogênica do extrato aquoso de *Psidium guineense* Swartz (Myrtaceae) em camundongos

Débora Luana Ribeiro Pessoa<sup>1</sup>, Ana Kely Araújo de Sousa<sup>1</sup>, Germana Freire Rocha Caldas<sup>1</sup>, Rafaela Goes da Silva<sup>1</sup>, Ramylia Nara Aguiar Barbosa<sup>1</sup>, Sônia Maria de Farias Freire<sup>1</sup>, Marilene Oliveira da Rocha Borges<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Ciências Fisiológicas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Maranhão, Laboratório de Pesquisa e Pós-Graduação em Farmacologia, São Luís-MA, Brasil. [debbyeluna2@yahoo.com.br](mailto:debbyeluna2@yahoo.com.br)

### Introdução

*Psidium guineense* Swartz (Myrtaceae) é um arbusto conhecido popularmente como “Araçá” e está amplamente distribuído pelo Brasil. Suas cascas e raízes são utilizadas tradicionalmente para o tratamento de distúrbios gastrointestinais como cólicas, diarreia e gastrite (GONZÁLEZ et al., 2005). O objetivo deste estudo foi investigar o efeito antiulcerogênico do extrato aquoso das folhas de *P. guineense* (EAPg) em camundongos.

### Metodologia

O extrato foi preparado a partir do pó das folhas por extração aquosa a 60°C por 72 horas e posteriormente liofilizado. Nos experimentos foram utilizados camundongos Swiss (*Mus musculus*), adultos, de ambos os sexos (n=6 / grupo experimental, 22 a 35 g). Os protocolos experimentais foram desenvolvidos de acordo com o Colégio Brasileiro de Experimentação Animal e foram aprovados pelo Comitê de Ética em Uso de Animais da Universidade Federal do Maranhão, (CEUA) sob o número 16/2015. Para a determinação da toxicidade aguda o EAPg foi administrado por via oral (v.o.) em dose única de 5 g/kg (ANVISA, 2013), e foram observados por 14 dias. A atividade antiulcerogênica do EAPg (125, 250 e 500 mg/kg, v.o.) foi avaliada utilizando modelos de úlcera gástrica induzida por etanol 75% (10 mL/kg, v.o.) ou indometacina (30 mg/kg, s.c.), carbenoxolona (CBX, 100 mg/kg, grupo padrão) e água (grupo controle, 10 mL/kg). Os animais foram eutanasiados em uma câmara de CO<sub>2</sub> gasoso após a indução das lesões. Os estômagos foram removidos, abertos ao longo da grande curvatura e fotografados para determinação da área da lesão gástrica. A área de lesão gástrica foi medida por planimetria (mm<sup>2</sup>) em relação a área total do corpo gástrico usando o Software ImageJ<sup>®</sup> e expressa como porcentagem de área ulcerada. Foram também determinados a atividade antissecretória basal, pelo método da ligadura do piloro, e a quantidade de muco gástrico do EAPg (250 mg/kg, v.o.) reduzido pelo etanol. Os resultados foram expressos como média ± erro padrão das médias (e.p.m.). A análise dos dados foi



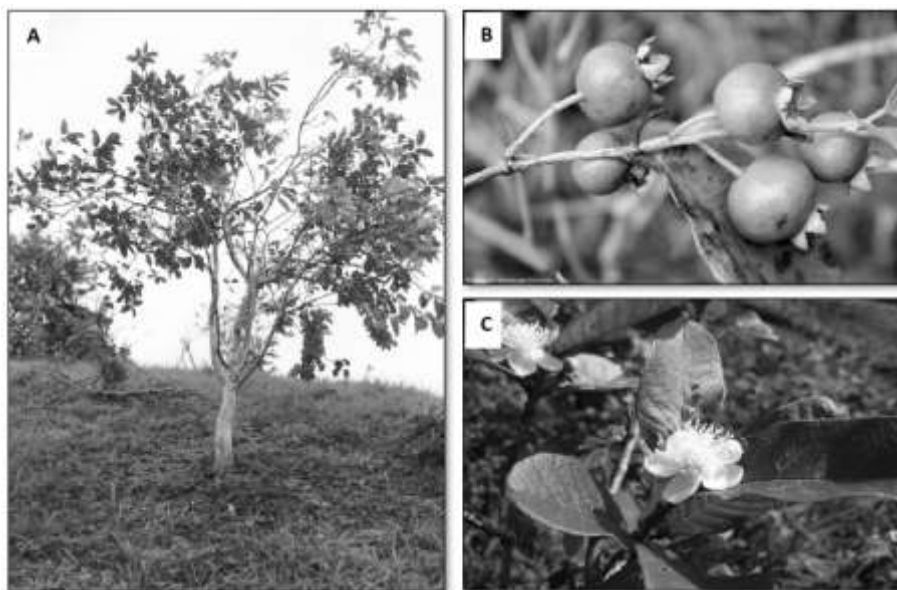
## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

realizada utilizando-se a análise de variância (One-way ANOVA), seguido do teste de Newman-Keuls, empregando-se o software GraphPad Prism 5.0®. As diferenças foram consideradas significativas quando  $p < 0,05$ .

### Resultados e Discussão

Nenhum sinal de toxicidade ou morte foi registrado após a administração aguda de 5,0 g/kg do EAPg. A administração do EAPg 125, 250 ou 500 mg/kg reduziu as lesões gástricas induzida por etanol em 45 ( $5,71 \pm 0,99 \text{ mm}^2$ ), 88 ( $1,14 \pm 0,46 \text{ mm}^2$ ) e 93% ( $0,72 \pm 0,38 \text{ mm}^2$ ), respectivamente (Controle:  $10,33 \pm 1,26 \text{ mm}^2$ ). Além disso, nas mesmas doses, o EAPg reduziu em 53 ( $13,55 \pm 1,89 \text{ mm}^2$ ), 79 ( $5,50 \pm 1,86 \text{ mm}^2$ ) e 94% ( $1,42 \pm 0,82 \text{ mm}^2$ ) a úlcera gástrica induzida pela indometacina (Controle:  $25,60 \pm 3,06 \text{ mm}^2$ ). O EAPg (250 mg/kg) aumentou o pH em 54,8% ( $4,77 \pm 0,28$ . Controle:  $3,08 \pm 0,19$  unidades) e reduziu a acidez total em 68,4% ( $0,18 \pm 0,54$ . Controle:  $0,57 \pm 0,82$  mequiv[H<sup>+</sup>]/mL/4h), mas não alterou o volume da secreção gástrica. A administração prévia do EAPg (250 mg/kg) aumentou os níveis de muco em 89,5 % (Controle:  $8,28 \pm 0,77 \mu\text{g}$  de Alcian blue/g de tecido).



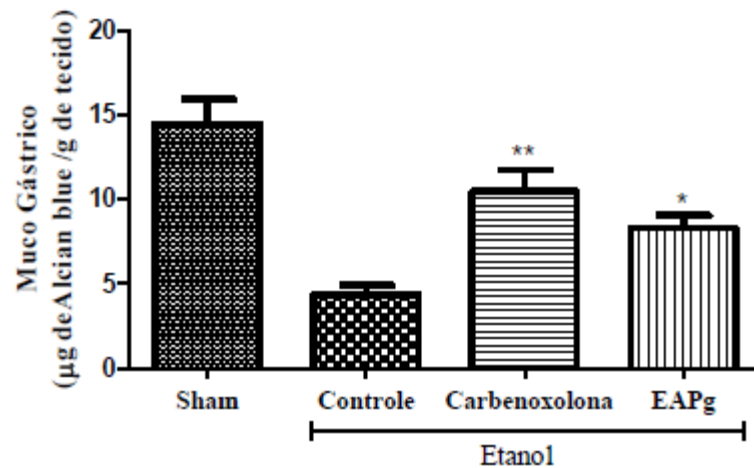
**Figura 1.** *Psidium guineense* Swartz (A), destaque para seus frutos (B) e flores (C). (Fonte: Google imagens).





## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas



**Figura 2.** Efeito do extrato aquoso de *Psidium guineense* (EAPg) sobre o muco aderido à mucosa gástrica de camundongos, reduzido pelo tratamento com etanol. Os grupos foram tratados com água (10 mL/kg), carbenoxolona (100 mg/kg) e EAPg (250 mg/kg). Os resultados são apresentados como média  $\pm$  erro padrão das médias (n=6). ANOVA, seguida pelo teste de Newman-Keuls. Estatisticamente diferente do grupo controle (\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ).

### Conclusão

Os resultados obtidos mostram que o EAPg apresenta atividade antiulcerogênica que pode estar relacionada à ação antissecretória e ao aumento do muco gástrico. Além disso, o EAPg não apresenta toxicidade aguda em dose 10 vezes maior que a dose efetiva como gastroprotetora, observada neste estudo.

**Palavras-chave:** Úlcera gástrica. Toxicidade. *Psidium guineense*.

### Referências

ANVISA. Gerência de Avaliação de Segurança e Eficácia. **Guia para a condução de estudos não clínicos de toxicologia e segurança farmacológica necessários ao desenvolvimento de medicamentos.** Brasília, jan. 2013.

GONZÁLEZ, A. M. N., GONZÁLEZ, M. B. R., PINTO, N. L. S. Estudio fitoquímico y actividad antibacterial de *Psidium guineense* Sw (choba) frente a Streptococcus mutans, agente causal de caries dentales. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, 2005.

Agradecimentos: UFMA, CNPq, CAPES e FAPEMA (Fundação de Amparo à Pesquisa do estado do Maranhão).



# II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

## **Avaliação da atividade antinociceptiva da casca do fruto de *Platonia insignis* MART. (BACURI) em modelo de neuropatia induzida pela constricção do nervo ciático**

Celyane Alves Piauilino<sup>1</sup>, Everton Moraes Lopes<sup>1</sup>, Leonardo Lino Martins Júnior<sup>1</sup>,  
Luan George Lima Xavier<sup>1</sup>, Isabella Cristina Gonçalves Costa<sup>2</sup>, Mariana Helena  
Chaves<sup>2</sup>, Salete Maria da Rocha Cipriano Brito<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Núcleo de Pesquisas em Plantas Medicinais, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, Brasil. [Juanxavier1010@hotmail.com](mailto:Juanxavier1010@hotmail.com)

<sup>2</sup>Departamento de Química, Centro de Ciências da Natureza, Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, Brasil.

<sup>3</sup>Departamento de Bioquímica e Farmacologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, Brasil.

### **Introdução**

A *Platonia insignis* MART.(Clusiaceae), conhecida popularmente como Bacuri, é uma planta nativa da região amazônica, encontrada principalmente no estado do Pará. Ocorre espontaneamente em todos os estados da Região Norte do Brasil, no Mato Grosso, Maranhão e Piauí. Diversos estudos comprovam que o bacuri é rico em compostos químicos e apresenta bom potencial farmacológico, além de apresentar extenso uso na medicina popular como agente anti-inflamatório e analgésico.

A constricção experimental do nervo ciático de ratos é um método para indução de neuropatia crônica e simula os efeitos de uma lesão parcial do nervo, que é o tipo de lesão neural mais comum na prática clínica, resultando em maior sensibilidade à dor (SWAMYDAS, et al., 2004).

É de grande relevância a pesquisa de novos fármacos para o tratamento da dor neuropática e, diante do potencial farmacológico apresentado pela *P. insignis*, o presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos do extrato etanólico e fração acetato de etila, obtidos das cascas dos frutos de *Platonia insignis* MART. em modelo experimental de dor neuropática por compressão do nervo ciático.

### **Metodologia**

**Material vegetal:** os frutos do Bacuri (*Platonia insignis* Mart) foram colhidos no município de Coelho Neto, Estado do Maranhão, sendo as exsicatas da espécie depositadas e avaliadas no Herbário Graziela Barroso da UFPI. As cascas dos frutos foram moídas, liofilizadas e submetidas à extração sucessiva (4 vezes) com etanol absoluto a frio. Após liofilização, o extrato etanólico (E.EtOH) foi submetido à partição com solventes orgânicos para obtenção das frações e prosseguimento de estudo fitoquímico.

**Animais:** Foram utilizados 7 grupos de 6 a 10 ratos *Wistar* machos (*Rattus norvegicus*, 240-290 g) que foram mantidos à temperatura de 22 ± 1°C e ciclo claro escuro de 12 h com água e ração *ad libitum*.



## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

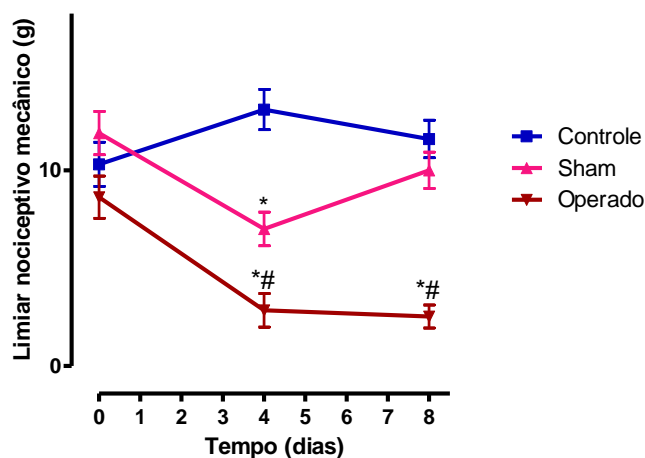
Os protocolos empregados foram aprovados pela Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal do Piauí (parecer 008/12).

**Procedimento experimental:** o protocolo cirúrgico para constricção parcial do nervo ciático foi realizado sob anestesia (cloridrato de cetamina 25mg/Kg, i.p. e cloridrato de xilazina 10mg/Kg, i.p.), sendo 5 grupos de ratos operados, 1 grupo Sham (falso-operados) e o Controle (normal). No procedimento, um fio de seda foi amarrado ao nervo, de forma a comprimir 1/3 do seu diâmetro original. Terminado o procedimento, a pele foi suturada e o animal tratado com solução tópica de clorexidina (a 2%). No 4º, 6º e 8º dias após o procedimento cirúrgico realizou-se o teste de von Frey (CHAPAN et al., 1994) No oitavo dia, os ratos operados foram separados em 5 grupos para tratamento único: E.EtOH 200 mg/kg e 400 mg/kg. p.o receberam extrato etanólico das cascas do fruto, o grupo F.AcOEt 200 mg/kg, p.o, recebeu a fração acetato de etila, o grupo controle positivo recebeu Morfina 5 mg/kg i.p. Aos grupos Veículo (operado), Sham e Controle foram administrados apenas solução de NaCl 0,9%. Após tratamento, os ratos foram submetidos a estímulos mecânicos com filamentos de von Frey (0,016 g a 15 g), na região plantar da pata operada (pata direita), nos tempos de 0, 60, 120 e 180 minutos. Ao término dos protocolos, os ratos foram novamente anestesiados com cetamina/xilasina e eutanasiados com tiopental sódico (100 mg/Kg, i.p). Os dados foram expressos como média  $\pm$  E.P.M (ANOVA one way/Tukey, significância  $p < 0,05$ ).

### Resultados e Discussão

De acordo com a Figura 1, após o processo cirúrgico para indução de constricção parcial do nervo ciático, os animais apresentaram redução do limiar de dor por estímulo mecânico ou alodinia tátil.

**Figura 1.** Indução de neuropatia periférica avaliada pelo limiar nociceptivo mecânico de ratos submetidos à compressão parcial do nervo ciático nos tempos zero, 4º e 8º dia após o procedimento cirúrgico. Os dados representam média  $\pm$  EPM,  $n=8-10$ , \* $p < 0,05$  vs Controle, # $p < 0,05$  vs Operado, ANOVA-One way/Tukey.



Fonte: dados do Laboratório 13 do Núcleo de Pesquisas em Plantas Medicinais-CCS-UFPI.

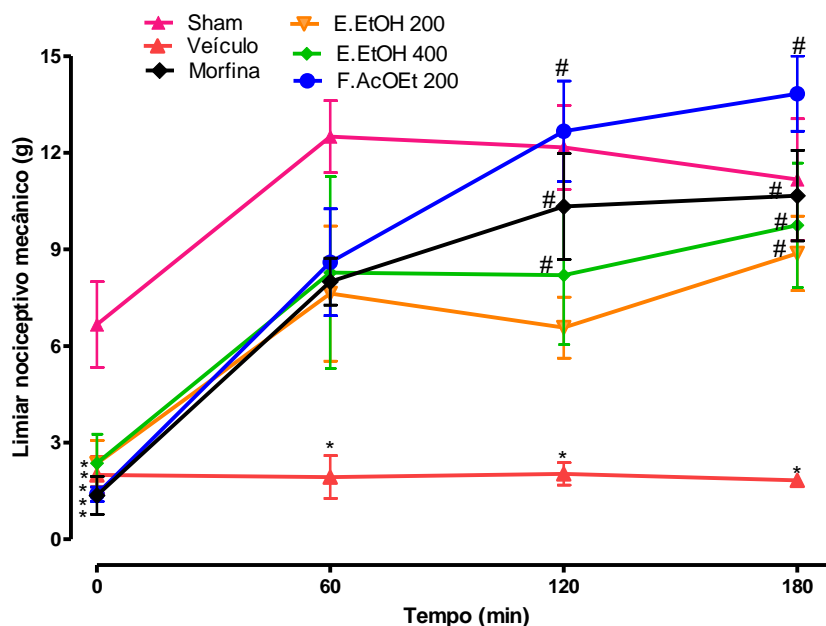


## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

No oitavo dia, pode-se observar que os animais operados demonstraram marcante redução do LNM quando comparados com os grupos Controle e Sham. Conforme dados da literatura, a constrição do nervo ciático, mesmo sendo experimentalmente induzida de forma parcial, promove um processo inflamatório, no qual há liberação de diversas citocinas e outros mediadores que estão relacionados a processos como a sensibilização de nociceptores, redução do limiar das fibras, ou ainda ação direta sobre a hiperalgesia acarretando a instalação do quadro de alodinia tátil observada. (KRAYCHETE, 2008).

**Figura 2.** Limiar nociceptivo mecânico (g) de ratos Sham e operados após tratamento com extrato etanólico (EEtOH 200 ou 400 mg/kg, p.o), fração acetato de etila (F.AcOEt 200 mg/kg, p.o) de *Platonia insignis* ou morfina 5 mg/kg i.p, no 8º dia da indução de neuropatia por constrição do nervo ciático (CCI). Os dados representam média  $\pm$  EPM, n=6-8, \*p<0,05 vs Sham, #p<0,05 vs Veículo, ANOVA-One way/Tukey.



**Fonte:** dados do Laboratório 13 do Núcleo de Pesquisas em Plantas Medicinais-CCS-UFPI.

Conforme a Figura 2, pode-se observar que no oitavo dia, os ratos operados apresentaram limiar de nocicepção ao estímulo mecânico (LNM), abaixo do grupo Sham. Os tratamentos com extratos e frações obtidas das cascas dos frutos de *P. insignis* resultou na redução da alodinia mecânica de forma significativa após 180 minutos de administração destes em todos os grupos. No tempo de 120 minutos, somente os grupos E.EtOH 400 e F.AcOEt 200 apresentaram aumento significativo de LNM. Os animais neuropáticos tratados com morfina apresentaram redução do LNM significativa no tempo de 120 minutos. Os efeitos podem estar correlacionados



## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

com os princípios ativos já identificados nesta espécie, incluindo compostos antioxidantes.

Baseando-se no limiar nociceptivo mecânico observado nos tempos de 90 e 120 minutos de ratos neuropáticos tratados e na literatura, podemos inferir que provavelmente o aumento do limiar nociceptivo determinado previamente e de forma aguda com E.EtOH 400 mg/kg e F. AcOEt 50 mg/kg podem está relacionados com redução do estresse oxidativo. Por outro lado, a atividade analgésica detectada justifica os vários usos do Bacuri na medicina popular, tais como, agente anti-inflamatório e analgésico, tratamento de queimaduras e acne (SANTOS et al., 2009), redução de diarréias (AGRA et al., 2010). O látex amarelo da árvore, é empregado para tratar eczemas, vírus (herpes) e outros problemas de pele (SHANLEY; MEDINA, 2005)

### Conclusão

Os dados obtidos sugerem que o extrato etanólico e a fração acetato de etila obtidos das cascas dos frutos de *P. insignis* Mart apresentaram atividade antinociceptiva no modelo de neuropatia induzida pela constricção do nervo ciático.

**Palavras-chave:** Nervo ciático. Neuropatia.

### Referências

AGRA, F.M; SILVA, K.N; BASÍLIO, I. J.L.D.; FREITAS, P.F.; BARBOSA-FILHO, J.M. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. **Brasilian Journal of Pharmacognosy**, v.18, p. 472-508, 2008.

CHAPLAN, S. R.; BACH, F. H.; POGREL, J. W.; CHUNG, J. M.; YAKSH, T. L. Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 53, p. 55-63, 1994.

KRAYCHETE, D. C.; GOZZANI, J. L.; KRAYCHETE, A. C. Dor neuropática – aspectos neuroquímicos. **Rev. Bras. Anestesiol.** v.8 (5):p. 492-505, 2008.

SANTOS. N. C.B.; CAVALCANTE, M.V.S.; SOUSA, T. O.; SILVA, R. A. C.; COSTA, Jr. S. Quantificação de fenólicos totais das frações das sementes de *Platonia insignis* Mart. JÚNIOR. BELÉM – PA/BRASIL (5<sup>o</sup> CONNEPI), 2009.

SHANLEY, P. MEDINA, G. Frutíferas e Plantas Uteis na Vida Amazônica. Belem: **CIFOR, Imazon**, 2005.





## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

SWAMYDAS, M.; SKOFF, A. M.; ADLER, J.E. Partial sciatic nerve transection causes redistribution of pain-related peptides and lowers withdrawal threshold. **Experimental neurology**, v. 188, p. 444-451, 2004.

### **Agradecimentos**

Aos Programas PIBIC, ICV (UFPI). CNPq, CAPES.



# II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

## Atividade antinociceptiva da quercetina em modelo experimental de neuropatia diabética

Everton Moraes Lopes<sup>1</sup>, Laio Santana Passos<sup>1</sup>, Daiana Clara Bueno de Sousa Brandão<sup>1</sup>, Luan George Lima Xavier<sup>1</sup>, Celyane Alves Piauilino<sup>1</sup>, Salete Maria da Rocha Cipriano Brito<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Núcleo de Pesquisas em Plantas Medicinais, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, Brasil. [luanxavier1010@hotmail.com](mailto:luanxavier1010@hotmail.com)

<sup>2</sup>Departamento de Bioquímica e Farmacologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, Brasil.

### Introdução

Na procura por novas abordagens terapêuticas para o tratamento da neuropatia diabética, uma alternativa racional é buscar novos princípios ativos entre os componentes químicos da biodiversidade. A quercetina, que é um flavonoide natural muito encontrado em plantas e frutos, tem apresentado atividade antioxidante (MAHESH, MENON, 2004), neuroprotetora (HALEAGRAHARA, 2011), e anti-inflamatória (KLEEMANN, et al., 2011), mas o possível potencial terapêutico ainda não foi completamente esclarecido em estudos pré-clínicos e toxicológicos.

### Metodologia

**Material Químico:** foi utilizado Quercetina, 3,3',4',5,7-pentahidroxiflavona, (C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>7</sub>.2H<sub>2</sub>O), solubilizada no veículo (dimetilsulfóxido (DMSO) 1% em água destilada.

**Animais:** 6 grupos de 8 ratos *Wistar* machos (180-240g) que foram mantidos à temperatura de 22 ± 1°C e ciclo claro escuro de 12 h com água e ração *ad libitum*. Os protocolos empregados foram aprovados pela Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal do Piauí (parecer 008/12).

**Procedimento experimental:** Após jejum de 12h, 5 grupos de 4-8 ratos foram submetidos à indução de diabetes mellitus (DM) com sintomatologia tipo I, por injeção de estreptozotocina (STZ, 40mg/Kg de peso, iv.) diluída em tampão citrato 0,01M, pH 4,5. A glicemia foi avaliada 48h após a injeção de STZ nos animais em estado de jejum de 12h. Foram considerados diabéticos os animais com glicemia de jejum igual ou superior a 250 mg/dL. Os animais diabéticos foram tratados com quercetina 5, 10 ou 15 mg/kg, i.p. por 4 semanas. O controle positivo foi o grupo diabético tratado com insulina 2,5 U/rato, 2x ao dia. A alodinia tátil foi avaliada semanalmente durante 4 semanas pelos filamentos de von Frey na superfície plantar da pata traseira dos animais (CHAPLAN et al., 1994). Ao final do período experimental, os ratos foram anestesiados com cloridrato de xilazina (2,0 mg/kg de peso corporal) e cloridrato de cetamina (15 mg/Kg de peso corporal) para retirada de sangue na veia cava para dosagem de glicemia, hemoglobina glicada e frutossamina.



## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

Ainda anestesiados, os animais foram eutanasiados com tiopental sódico (100 mg/Kg, i.p). Os dados representam a média  $\pm$  EPM, Teste t de Student e ANOVA-One-way/Tukey, significância:  $p < 0,05$ .

### Resultados e Discussão

De acordo com as Tabelas 1 e 2, os ratos com diabetes induzido por STZ 40 mg/Kg apresentaram um quadro típico de Diabetes mellitus (DM) tipo I que se caracterizou por um quadro hiperglicêmico e sem ganho significativo de peso corpóreo (APFEL, 2006).

**Tabela 1-** Massa corporal (g) de ratos controles e diabéticos (STZ) antes e após o tratamento com quercetina 5, 10 ou 15 mg/kg ou insulina diária 5 U/rato, durante 4 semanas após a indução do DM. Os dados expressam média e erro padrão,  $n = 4-8$ , <sup>a</sup> $p < 0,05$  vs Controle, <sup>b</sup> $p < 0,05$  vs STZ-Veículo, (ANOVA-One Way/Tukey) e \* $p < 0,05$  vs tempo inicial (Teste t de Student pareado).

GRUPO	MASSA INICIAL (g)	MASSA FINAL (g)
Controle	264,0 $\pm$ 4,3	313,0 $\pm$ 9,3
STZ-Veículo	253,4 $\pm$ 7,5	253,1 $\pm$ 13,6 <sup>a</sup>
STZ-Quercetina 5	259,8 $\pm$ 9,9	303,8 $\pm$ 3,9
STZ-Quercetina 10	252,5 $\pm$ 13,5	286,0 $\pm$ 21,2
STZ-Quercetina 15	249,3 $\pm$ 15,1	269,3 $\pm$ 5,7
STZ-Insulina	249,0 $\pm$ 6,2	282,3 $\pm$ 10,1*

Fonte: dados do Laboratório 13 do Núcleo de Pesquisas em Plantas Medicinais-CCS-UFPI.

**Tabela 2-** Glicemia de ratos controles e diabéticos (STZ) antes e após o tratamento com quercetina 5, 10 ou 15 mg/kg ou insulina diária 5 U/rato, durante 4 semanas após a indução do DM. Os dados expressam média e erro padrão,  $n = 4-8$ , <sup>a</sup> $p < 0,05$  vs Controle, <sup>b</sup> $p < 0,05$  vs STZ-Veículo, (ANOVA-One Way/Tukey) e \* $p < 0,05$  vs tempo inicial (Teste t de Student pareado).

GRUPO	INICIAL	FINAL
Controle	82,3 $\pm$ 14,3	80,5 $\pm$ 10,3
STZ-Veículo	354,7 $\pm$ 67,6	421,8 $\pm$ 33,8 <sup>a</sup>
STZ-Quercetina 5	363,4 $\pm$ 114,6	249,0 $\pm$ 88,3
STZ-Quercetina 10	395,7 $\pm$ 88,9	222,3 $\pm$ 75,9
STZ-Quercetina 15	319,6 $\pm$ 57,8	74,6 $\pm$ 26,1 <sup>*b</sup>
STZ-Insulina	497,0 $\pm$ 39,1	313,8 $\pm$ 66,7*

Fonte: dados do Laboratório 13 do Núcleo de Pesquisas em Plantas Medicinais-CCS-UFPI.

O tratamento por 4 semanas com a quercetina, doses de 5, 10 e 15 mg/kg, melhorou o ganho de peso de ratos diabéticos, sendo que no grupo STZ-Quercetina 15 mg/kg houve redução da glicemia quando comparada com o tempo inicial do



## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

mesmo grupo, como também com o grupo Veículo (Tabela 2). A porcentagem de hemoglobina glicada também foi menor neste grupo (Tabela 3).

A Tabela 4 mostra os resultados do limiar nociceptivo mecânico comparativo entre os distintos grupos experimentais. Observa-se que o grupo STZ-Veículo apresentou uma redução estatisticamente significativa do limiar de dor quando comparado ao grupo Controle (não-diabético). Quanto aos animais tratados com quercetina, o grupo que recebeu 5 mg/kg apresentou uma elevação significativa do limiar de dor quando comparado ao grupo STZ-Veículo. O tratamento crônico de ratos diabéticos com quercetina nas doses de 5, 10 e 15 mg/kg revelou diferenças na atividade da quercetina de acordo com a dose. Entretanto, os dados obtidos na Tabela 4, são sugestivos de melhores efeitos na dose menor, ou seja, 5 mg/kg. O grupo tratado com insulina apresentou-se com limiar à dor elevado em relação ao grupo STZ-Veículo.

**Tabela 3-** Hemoglobina glicada e frutossamina sérica de ratos controles e diabéticos (STZ) antes e após o tratamento com quercetina 5, 10 ou 15 mg/kg ou insulina diária 5 U/rato, durante 4 semanas após a indução do DM. Os dados expressam média e erro padrão, n=4-8, <sup>a</sup>p<0,05 vs Controle, <sup>b</sup>p<0,05 vs STZ-Veículo, (ANOVA-One Way/Tukey).

GRUPO	Hemoglobina Glicada (% da HB total)	Frutossamina ( $\mu\text{mol/L}$ )
Controle	2,25 $\pm$ 0,14	142,4 $\pm$ 11,5
STZ-Veículo	4,34 $\pm$ 0,48 <sup>a</sup>	315,0 $\pm$ 43 <sup>a</sup>
STZ-Quercetina 5	5,35 $\pm$ 1,01 <sup>a</sup>	235,1 $\pm$ 115,5
STZ-Quercetina 10	4,19 $\pm$ 0,57 <sup>a</sup>	216,4 $\pm$ 53,5
STZ-Quercetina 15	2,68 $\pm$ 0,14 <sup>b</sup>	.....
STZ-Insulina	2,97 $\pm$ 0,16 <sup>b</sup>	101,7 $\pm$ 4,0 <sup>b</sup>

Fonte: dados do Laboratório 13 do Núcleo de Pesquisas em Plantas Medicinais-CCS-UFPI.

**Tabela 4-** Limiar nociceptivo mecânico (LNM, g)) de ratos controles e diabéticos (STZ) antes e após o tratamento com quercetina 5, 10 ou 15 mg/kg ou insulina diária 5 U/rato, durante 4 semanas após a indução do DM. Os dados expressam média e erro padrão, n=4-8, <sup>a</sup>p<0,05 vs controle, <sup>b</sup>p<0,05 vs STZ-Veículo, (ANOVA-One Way/Tukey)

TEMPO (SEMANAS)	0	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>	4 <sup>a</sup>
Controle	8,7 $\pm$ 0,7	8,4 $\pm$ 1,2	10,6 $\pm$ 1,3	8,7 $\pm$ 0,4	9,7 $\pm$ 1,0
STZ-Veículo	10,6 $\pm$ 1,2	0,5 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	1,3 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>	1,7 $\pm$ 0,9 <sup>a</sup>	0,6 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>
STZ-Quercetina	8,0 $\pm$ 1,2	2,6 $\pm$ 1,2 <sup>a</sup>	4,0 $\pm$ 1,4 <sup>a</sup>	5,0 $\pm$ 1,0	4,5 $\pm$ 1,3
STZ-Quercetina 10	9,8 $\pm$ 1,9	5,5 $\pm$ 1,0 <sup>b</sup>	5,5 $\pm$ 1,0	6,0 $\pm$ 1,2	7,0 $\pm$ 1,7
STZ-Quercetina 15	8,0 $\pm$	2,6 $\pm$	4,0 $\pm$	5,0 $\pm$	4,5 $\pm$



## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

	1,2	1,2 <sup>a</sup>	1,4 <sup>a</sup>	1,0	1,3
<b>STZ-Insulina</b>	9,7 ±	6,0 ±	6,6 ±	7,3 ±	7,3 ±
	2,7	1,0 <sup>b</sup>	1,1 <sup>b</sup>	1,6 <sup>b</sup>	1,4 <sup>b</sup>

**Fonte:** dados do Laboratório 13 do Núcleo de Pesquisas em Plantas Medicinais-CCS-UFPI.

Os resultados para o grupo tratado com insulina eram previstos, uma vez que a administração de insulina exógena impediu que se instalasse a neuropatia decorrente do quadro de diabetes descompensado. Nos grupos tratados com quercetina, os dados são indicativos de efeitos protetores da quercetina contra o desenvolvimento da neuropatia diabética dolorosa em ratos, que podem estar correlacionados com atividade antioxidante e/ou inibição da formação de produtos finais de glicação avançada.

### Conclusão

Os dados obtidos sugerem que a quercetina apresentou atividades antinociceptivas e/ou protetora contra a alodinia tátil em ratos submetidos a modelo de dor neuropatia induzida pelo diabetes *mellitus* experimental.

**Palavras-chave:** Quercetina. Neuropatia. Diabetes mellitus.

### Referências

APFEL, S.C. Diabetic neuropathy models: Are they relevant? **Drug Discovery Today: Disease Models**, v.3, n.4, 2006.

CHAPLAN, S. R.; BACH, F. H.; POGREL, J. W.; CHUNG, J. M.; YAKSH, T. L. Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 53, p. 55-63, 1994.

HALEAGRAHARA, N.; SIEW, C. J.; MITRA, N. K.; KUMARI, M. Neuroprotective effect of bioflavonoid quercetin in 6-hydroxydopamine-induced oxidative stress biomarkers in the rat striatum. **Neuroscience Letter**, v. 500, p.139-143, 2011.

KLEEMANN, R.; VERSCHUREN, L.; MORRISON, M.; ZADELAAR, S.; VAN ERK, M. J; WIELINGA, P. Y.; KOOISTRA, T. Anti-inflammatory, anti-proliferative and anti-atherosclerotic effects of quercetin in human in vitro and in vivo models. **Atherosclerosis**, v. 218, n. 1, p. 44-52, 2011.

MAHESH, T; MENON, V. P. Quercetin alleviates oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. **Phytotherapy Research**, v.18, p.123-127, 2004.

**Agradecimentos :** Aos Programas PIBIC, ICV (UFPI); Farmácia Galeno.





# II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

## **Avaliação dos efeitos de *Bauhinia pulchella* BENTH. em animais diabéticos**

Juliana Cunha da Costa<sup>1</sup>, Gabryela Louzeiro Almeida Pedrosa<sup>1</sup>, Janielle de Sousa Lima<sup>1</sup>, Celyane Alves Piauilino<sup>1</sup>, Adonias Almeida Carvalho<sup>2</sup>, Mariana Helena Chaves<sup>2</sup>, Salete Maria da Rocha Cipriano Brito<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Núcleo de Pesquisas em Plantas Mediciniais, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, Brasil. julianaccosta@hotmail.com

<sup>2</sup>Departamento de Química, Centro de Ciências da Natureza, Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, Brasil.

<sup>3</sup>Departamento de Bioquímica e Farmacologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, Brasil.

### **Introdução**

O diabetes mellitus (DM) inclui um grupo de distúrbios metabólicos caracterizados por hiperglicemia resultante de defeitos na secreção de insulina e/ou em sua ação metabólica. A incidência de DM elevou-se nos últimos anos com estimativas alarmantes para as próximas décadas. As complicações crônicas do DM são as principais responsáveis pela morbidade e mortalidade dos pacientes diabéticos (MILECH, et al., 2016).

Novas estratégias estão sendo adotadas para a investigação de plantas medicinais no tratamento de DM e das complicações desta, levando-se em consideração que a hiperglicemia promove alterações no endotélio vascular e os efeitos crônicos do DM (AHMED, 2005 ).

As Plantas do gênero *Bauhinia* são conhecidas como pata de vaca ou unha de boi. São de uso popular no tratamento de infecções, processos dolorosos e de diabetes, tendo sido estudadas quanto à sua possível ação hipoglicemiante, antifúngica, antibacteriana, analgésica e antiinflamatória.

A *Bauhinia pulchella* BENTH, sinonímia de *B. goyazensis*, é popularmente denominada de miroró, mororó-de-boi, mororó-da-chapada, embira-de-bode e pata-de-vaca. Em levantamento botânico, foi encontrada no cerrado piauiense (CARDOSO; QUEIROZ, 2009) e em outros estados do Nordeste, no Norte e Centro-Oeste do Brasil (VAZ; TOZZI, 2003). O perfil fitoquímico de extratos das folhas de *B. pulchella* revelou a presença de fenóis totais e flavonóides, bem como ações antioxidante e inibidora da acetilcolinesterase *in vitro* (CARVALHO; SANTOS; CHAVES, 2014).

Considerando os potenciais químico e farmacológico de outras plantas do gênero *Bauhinia*, o conteúdo de fenóis totais e de flavonóides dos extratos das folhas de *B. pulchella*, o presente trabalho visou avaliar o potencial do extrato etanólico de *B. pulchella* (EEBp) no controle da glicemia, na atividade oxidante e na proteção contra a neuropatia em camundongos diabéticos.

### **Metodologia**

**Material vegetal:** as folhas de *Bauhinia pulchella* BENTH. provenientes de Jatobá do Piauí-PI foram secas e moídas para preparação de extratos hexânico (EHBp), etanólico (EEBp) e aquoso (EABp).



## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

**Animais e toxicidade aguda:** camundongos Swiss (6 machos e 36 fêmeas; 24- 35 g) e provenientes do Biotério do NPPM-CCS-UFPI, foram mantidos à temperatura de  $24 \pm 1^\circ\text{C}$  e ciclo claro escuro de 12 h, com água e ração *ad libitum*. A DL50 foi estudada por meio de doses graduais de EEBp e EABp (1 e 2 g/Kg, p.o.) a 6 camundongos (machos ou fêmeas), e 6 animais controles (MILLER; TAINTER, 1944). Foram avaliados parâmetros comportamentais dos animais. Os protocolos empregados foram aprovados pela Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal do Piauí (parecer 082/14).

**Atividade antioxidante e neuroprotetora:** após jejum de 12 h, cinco grupos de 6 camundongos (fêmeas), foram submetidos à indução de diabetes mellitus (DM) com estreptozotocina (STZ, 200 mg/Kg de peso, i.p). Após 48 h da indução, animais com glicemia  $\geq 250$  mg/dL foram tratados com extrato etanólico de *B. pulchella* (EEBp 200 mg/kg e 400 mg/kg, p.o) por 7 dias. Grupos controles receberam veículo (Tween 80- NaCl 0,9%) ou glibenclamida (0,65 mg/Kg, p.o). A alodinia tátil foi avaliada no nono dia após a indução de diabetes através dos filamentos de von Frey na superfície plantar da pata traseira dos animais (CHAPLAN et al., 1994). Ao final do período experimental, os animais jejuados foram anestesiados com cloridrato de xilazina (2,0 mg/kg) e cloridrato de cetamina (15 mg/Kg) para retirada de sangue venoso e do tecido hepático. Ainda anestesiados, os animais foram eutanasiados com tiopental sódico (100 mg/Kg, i.p). A glicemia foi avaliada pelo método da glicose oxidase. As avaliações da catalase e GSH foram feitas em tecido hepático, segundo (FRANZONI, et AL., 2004; CHING; BEUTLER, 1975), respectivamente. Os dados representam a média  $\pm$  EPM, n= 5 - 6, ANOVA/Bonferroni, \* $p < 0,05$  vs D-Veículo.

### Resultados e Discussão

Na tentativa de determinação da DL50, um teste padrão de toxicidade foi realizado. O extrato etanólico de *B. pulchella* nas doses de 1 e 2g/Kg não promoveu mortes de camundongos e nem alterou parâmetros de comportamento dos animais.

De acordo com a Tabela 1, os camundongos com diabetes induzido por STZ apresentaram um quadro típico de diabetes *mellitus* (DM) tipo I. A destruição das células beta do pâncreas pela mimetizou o estado diabético dependente de insulina, que se caracterizou por um quadro hiperglicêmico e sem ganho significativo de massa corpórea.

Considerando o controle glicêmico, pode-se observar que o grupo tratado com o hipoglicemiante oral apresentou menor glicemia do que o grupo D-Veículo e do que aqueles tratados com *B.pulchella*. Porém não atingiu valores normais. O extrato etanólico não reduziu a hiperglicemia, embora haja relatos de ação hipoglicemiante de outras espécies do gênero *Bauhinia*.

O diabetes induzido por STZ em roedores promove um quadro de neuropatia com menor limiar de dor por estímulo mecânico (CHEN; PAN, 1998). A Tabela 1 mostra que todos os grupos diabéticos apresentam uma redução drástica do limiar



## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

de dor quando comparados ao grupo Controle (não-diabético). Os tratamentos com *B. pulchella* não elevaram o limiar de dor quando comparado ao grupo D-Veículo. Desta forma, o extrato não melhorou a alodinia tátil característica de animais diabéticos neuropáticos.

**Tabela 1-** Massa corpórea, glicemia e Limiar nociceptivo mecânico (LNM) de camundongos controles e diabéticos tratados com EEBp 200 ou 400 mg/kg ou glibenclamida 0,65 mg/Kg, por 7 dias. Os dados representam a média  $\pm$  EPM, n= 5-6, ANOVA/Bonferroni, \*p< 0,05 vs D-Veículo.

GRUPO	MASSA INICIAL (g)	MASSA FINAL (g)	GLICEMIA (mg/dL)	LNM (g)
Controle	29,0 $\pm$ 1,0	31,2 $\pm$ 0,4	170 $\pm$ 14,*	6,40 $\pm$ 0,40*
D-Veículo	29,3 $\pm$ 1,1	27,3 $\pm$ 1,1	639 $\pm$ 144	0,63 $\pm$ 0,08
D- EEBp 200	27,5 $\pm$ 1,1	25,5 $\pm$ 1,3	726 $\pm$ 150	0,53 $\pm$ 0,10
D- EEBp 400	24,0 $\pm$ 1,9	25,4 $\pm$ 1,4	685 $\pm$ 151	0,79 $\pm$ 0,26
D-Glibenclamida	29,8 $\pm$ 1,7	25,5 $\pm$ 1,1	461 $\pm$ 74*	0,43 $\pm$ 0,07

**Fonte:** dados do Laboratório 13 do Núcleo de Pesquisas em Plantas Mediciniais-CCS-UFPI.

Apesar de apresentar menor glicemia do que os demais grupos diabéticos, o grupo tratado com glibenclamida apresentou-se com limiar de dor elevado em relação ao grupo Controle. Pois, o controle da glicemia não foi suficiente para impedir a instalação do quadro de sintomatologia neuropática.

**Tabela 2-** Catalase hepática (U/L/mg de tecido) e GSH (ABS/100 mg de tecido) de camundongos controles e diabéticos tratados com EEBp 200 ou 400 mg/kg ou glibenclamida 0,65 mg/Kg, por 7 dias. Os dados representam a média  $\pm$  EPM, n= 5-6, ANOVA/Bonferroni, \*p< 0,05 vs D-Veículo.

GRUPO	CATALASE	GSH
Controle	3814 $\pm$ 102*	0,095 $\pm$ 0,020*
D-Veículo	3347 $\pm$ 216	0,048 $\pm$ 0,004
D- EEBp 200	4310 $\pm$ 774*	0,183 $\pm$ 0,034*
D- EEBp 400	3249 $\pm$ 668	0,074 $\pm$ 0,05*
D-Glibenclamida	3352 $\pm$ 467	0,086 $\pm$ 0,012*

**Fonte:** dados do Laboratório 13 do Núcleo de Pesquisas em Plantas Mediciniais-CCS-UFPI.

A neuropatia periférica diabética (NPD) é uma das mais comuns complicações do DM. O estudo dos antioxidantes pra NPD em animais e humanos suporta a hipótese de que a hiperglicemia aumenta as espécies reativas de oxigênio que sobrecarregam os mecanismos antioxidantes das células e levam ao desenvolvimento de estresse oxidativo/nitroativo e condições pró-inflamatórias nos tecidos. Na tabela 2, pode-se observar que a indução de diabetes reduziu o GSH e a atividade da catalase hepáticos. O tratamento com EEBp 200 mg/kg ou 400 mg/kg



## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

ou com glibenclamida elevou os níveis de GSH. Na dose de 200 mg/kg, houve elevação da atividade da catalase, sugerindo efeitos antioxidantes de *B.pulchella*.

### Conclusão

Os dados obtidos são sugestivos de ações antioxidantes de *B. pulchella*. Neste estudo, não foram detectadas atividades hipoglicemiantes, analgésicas e protetoras contra a neuropatia dolorosa do diabetes.

**Palavras-chave:** Bauhinia. Neuropatia diabética. Antioxidante.

### Referências

AHMED, N. Advanced glycation endproducts-role in pathology of diabetic complications, **Diabetes Research and Clinical Practice**. v. 67, p. 3-21, Review, 2005.

CARDOSO, D.B.O.S.; QUEIROZ, L.P.D.E. **Leguminosas da Caatinga**. Editora da Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, p. 913 , 2009.

CARVALHO, A.A; SANTOS, L. R.; CHAVES, M.H. Flavonóides do extrato aquoso das folhas de *Bauhinia pulchella* Benth. **Anais da 37ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química (SBQ)**, Natal-RN, 2014.

CHAPLAN, S. R.; BACH, F. H.; POGREL, J. W.; CHUNG, J. M.; YAKSH, T. L. Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 53, p. 55-63, 1994.

CHEN, S. R.; PAN, H. L. Hypersensitivity of spinothalamic tract neurotrogliatone on diabetic neuropathy in streptozotocin-induced diabetics associated with diabetic neuropathic pain in rats, **Journal of Neurophysiology**, v. 87, p. 2726–2733, 1998.

CHING, J. C.; BEUTLER, E. **Purification and characterization of human erythrocyte pyridoxine kinase**, *Clinica Chimica Acta*, v. 61, n. 3(20), p. 353-365, 1975.

FRANZONI, F.; PLANTINGA, Y.; FEMIA, F. R.; BARTOLOMUCCI, F.; GAUDIO, C.; REGOLI, F.; CARPI, A.; SANTORO, G., GALETTA, F. **Plasma antioxidant activity and cutaneous microvascular endothelial function in athletes and sedentary controls**. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 58, p.432–436, 2004.

MILECH, ADOLFO et al., Organização: OLIVEIRA, JOSÉ EGIDIO PAULO de, VENCIO, SÉRGIO. **Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes (2015-2016)**, p. 1-348, A.C. Farmacêutica, São Paulo, 2016.



## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

MILLER, L. C., TAINTER, M. L. Estimation of the LD50 and its error by means of logarithmic probit graph paper. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 57, p. 261-262, 1944.

VAZ M.A.S.F.; TOZZI, A.M.G.A. Bauhinia ser. Cansenia (Leguminosae: Caesalpinioideae) no Brasil. **Rodriguésia**, v. 54, n.83, p. 55-143.

### **Agradecimentos**

Aos Programas PIBIC, ICV (UFPI) e Jovens Talentos (CAPES).





# II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

## Efeito do extrato etanólico de *Bauhinia pulchella* BENTH e do carnaubadiol na glicação protéica *in vitro*

Uaslei Pereira Lima<sup>1</sup>, Caio de Sousa Andrade<sup>1</sup>, Juliana Cunha da Costa<sup>1</sup>, Buana Carvalho de Almeida<sup>2</sup>, Adonias Almeida Carvalho<sup>2</sup>, Mariana Helena Chaves<sup>2</sup>, Salete Maria da Rocha Cipriano Brito<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Núcleo de Pesquisas em Plantas Medicinais, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, Brasil. julianaccosta@hotmail.com

<sup>2</sup>Departamento de Química, Centro de Ciências da Natureza, Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, Brasil.

<sup>3</sup>Departamento de Bioquímica e Farmacologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, Brasil.

### Introdução

As complicações crônicas do DM são as principais responsáveis pela morbidade e mortalidade dos pacientes diabéticos e estão correlacionadas com estresse oxidativo e aumento da produção de sorbitol, proteínas glicadas e produtos finais de glicação avançada (AHMED, 2005).

A glicose se liga ao grupamento amino de proteínas por um processo não-enzimático denominado de glicação (CUSSIMANO, et al, 2003). O processo é espontâneo e ocorre em maior quantidade em resposta ao contato direto das hemáceas ou da hemoglobina com altas concentrações de D-glicose. A hiperglicemia induz glicação de proteínas e maior conversão de glicose em sorbitol catalisada pela aldose redutase. Neste contexto, a pesquisa de inibidores da glicação de proteínas correlacionada com as complicações crônicas do diabetes, tais como, a neuropatia dolorosa, retinopatia e angiopatia, dentre outras, tem contribuído para melhor compreensão destas alterações e levam à busca de terapêutica preventiva dos efeitos crônicos do diabetes (AHMED, 2005; ASGARY et al., 2009).

A literatura aponta que substâncias endógenas e produtos naturais, como flavonóides, atuam como inibidores de glicação protéica. As plantas do gênero *Bauhinia* são conhecidas como pata de vaca ou unha de boi e apresentam indicações de uso popular como hipoglicemiante, dentre várias outras.

A *Bauhinia pulchella* BENTH, sinonímia de *B. goyazensis*, é popularmente denominada de miroró, mororó-de-boi, mororó-da-chapada, embira-de-bode e pata-de-vaca. Em levantamento botânico, foi encontrada no cerrado piauiense (CARDOSO; QUEIROZ, 2009). O perfil fitoquímico do extrato aquoso revelou a presença dos flavonóides quercetina-3-O- $\alpha$ -L-ramnosídeo, canferol-3-O- $\alpha$ -L-ramnosídeo e miricetina-3-O- $\alpha$ -L-ramnosídeo (CARVALHO; SANTOS; CHAVES, 2014).

Considerando os conteúdos de fenóis totais e de flavonóides dos extratos das folhas de *B. pulchella*, o presente trabalho teve como objetivo estudar os efeitos do extrato etanólico de *B. pulchella* (EEBp) em modelo de glicação *in vitro* da hemoglobina comparando-os com a quercetina (comercial) e também com o carnaubadiol, triterpeno extraído da cera da carnaúba (*Copernica prunifera*) que em



## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

experimentos preliminares apresentou efeito antiglicante da hemoglobina (SALES, et al.,2009).

### Metodologia

**Material vegetal:** as folhas de *Bauhinia pulchella* BENTH. (Fabaceae-Caesalpinioideae) foram coletadas no município de Jatobá do Piauí-PI. Depois foram secas, moídas e submetidas à extração por maceração com hexano, etanol e água, sucessivamente. Cada extração ocorreu por 72h à temperatura ambiente. Após destilação do solvente, sob pressão reduzida, seguida de liofilização foram obtidos os extratos hexânico (EHBp), etanólico (EEBp) e aquoso (EABp) (CARVALHO; SANTOS; CHAVES, 2014). O Carnaubadiol foi isolado da cera da Carnaúba (*Copernicia prunifera*, *Arecaceae*) (SILVA; CHAVES; ALMEIDA, 2012).

**Animais:** seis ratas Wistar não diabéticas 200-250 g em jejum de 12 h, provenientes do Biotério do NPPM/UFPI, foram mantidas à temperatura de  $24 \pm 1^\circ\text{C}$  e ciclo claro escuro de 12 h, com água e ração *ad libitum*. Sob anestesia com cloridrato de xilazina (2,0 mg/Kg, i.p) e cloridrato de cetamina (15 mg/Kg, i.p), foi coletado sangue na veia cava e colocado em tubos contendo EDTA. Após a coleta, a eutanásia foi induzida com tiopental sódico (100 mg/kg, i.p). Os protocolos empregados foram aprovados pela Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal do Piauí (Parecer 008/12).

**Glicação *in vitro* da hemoglobina (Hb):** as amostras foram centrifugadas a 3000 rpm por 5 minutos para remoção do sobrenadante. As hemáceas foram filtradas num tecido de cotton, e lavadas com NaCl 0,15M na proporção de 1:10 por 03 vezes, centrifugando-as a 3000 rpm por 5 minutos cada lavagem. A suspensão de células foi transferida para um tubo plástico graduado e acrescentado tampão fosfato 0,01M, pH=7,4 contendo gentamicina 20 mg/dL e CCL4 na seguinte proporção: Suspensão de células: 1volume; Tampão: 2 volumes, CCl4: 0,5 volume. O tubo foi centrifugado a 3000 rpm, 5 minutos ; O sobrenadante foi recolhido, contendo a Hb total. A dosagem da hemoglobina total (HbT) foi feita pelo método LABTEST. Para incubação, triplicatas da solução de hemoglobina (5 g/dL), foram distribuídas em tubos contendo tampão fosfato, pH=7,4, contendo glicose 50 mM, 25 ou 50 µg/mL de Quercetina, extrato etanólico (EEBp) de *B. pulchella* ou Carnaubadiol. Os tubos foram incubados por 48h, protegidos da luz e à temperatura ambiente (LINO et al., 2007). As amostras foram submetidas à cromatografia de troca iônica para a determinação da hemoglobina glicada pelo método DOLES que utiliza uma solução padrão de Hb glicada 6,2%. Os dados representam a média e desvio padrão que foram avaliados por teste t de Student não-pareado,  $p < 0,05$ .

### Resultados e Discussão

Os dados da Figura 1 mostram ação inibitória sobre a glicação protéica quando a hemoglobina foi incubada com Glicose 50 mM na ausência e na presença de 25 ou 50 µg/mL de Quercetina (controle positivo). Nos tubos incubados com o

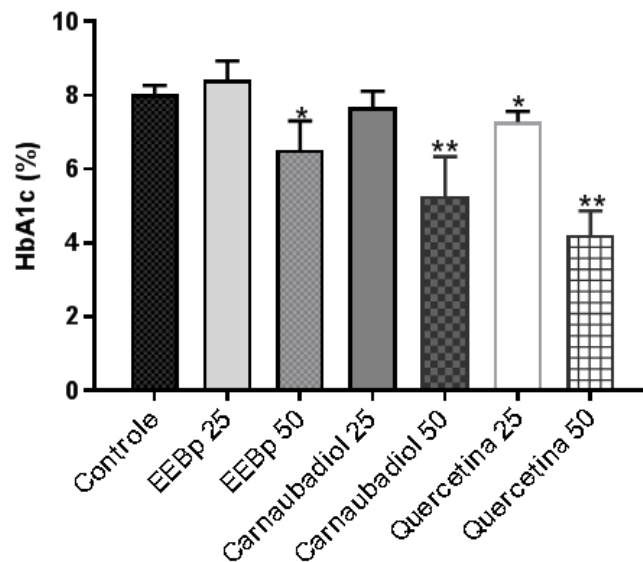


## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

EEBp) ou com Carnaubadiol, ambos na concentração de 50 $\mu$ g/mL, foram observados percentuais mais baixos de glicação quando comparados aos controles incubados somente com Glicose 50 mM (controle negativo). Enquanto que o EEBp e Carnaubadiol na concentração de 25  $\mu$ g/mL não apresentaram diferença significativa em relação aos tubos contendo apenas Glicose.

**Figura 1.** Glicação *in vitro* da hemoglobina de ratas não diabéticas, na presença de D-glicose 50 mM, 25 ou 50  $\mu$ g/mL de extrato etanólico de *B. pulchella* (EEBp) ou Carnaubadiol (*C. prunifera*) ou Quercetina. Os dados representam a média e o desvio padrão, n=3-6 incubações, \*p<0,001, \*\*p<0,0001, vs Tubo controle, teste t de Student não-pareado.



**Fonte:** dados do Laboratório 13 do Núcleo de Pesquisas em Plantas Medicinais-CCS-UFPI.

A Quercetina e o Carnaubadiol na concentração de 50  $\mu$ g/mL, apresentaram percentuais de inibição da glicação protéica de 47,5% e 34,3%, respectivamente. Os dados referentes à Quercetina estão de acordo com a literatura que mostra que este flavonóide apresenta atividade antioxidante e inibidora da glicação da hemoglobina *in vitro* (ASGARY, et al., 1999).

Em animais e pacientes diabéticos, as proteínas glicadas passam por rearranjo de Amadori, sendo fragmentadas para geração dos produtos finais de glicação avançada (AGEs), tais como, pentosidina, carboximetil-lisina-CML, carboximetilvalina-CMV e muitos outros. Desta forma, os AGEs juntamente com os produtos de oxidação da glicose (sorbitol, metilglioxal e glioxal), são lesivos às células e ao endotélio vascular, contribuindo juntamente com outros fatores para os efeitos crônicos do diabetes (retinopatia, angiopatia, nefropatia e neuropatia periférica dolorosa (AHMED, 2005).



## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

O EEBp de *B. pulchella* inibiu em 18,7% a glicação *in vitro* da hemoglobina, sendo esses dados importantes pela promissora atividade protetora contra efeitos crônicos do DM já observados preliminarmente

A busca de inibidores de glicação protéica de origem natural é relevante, pois há raros protótipos terapêuticos para o controle da formação de produtos finais de glicação avançada (AGEs), sendo o controle da glicemia, a melhor forma de evitar o desenvolvimento das complicações crônicas do diabetes.

### Conclusão

Os dados sugerem que o flavonóide Quercetina, o triterpeno Carnaubadiol obtido de *C. prunifera* e o EEBp de *B. pulchella*. apresentam atividade inibidora da glicação *in vitro* da hemoglobina.

**Palavras-chave:** Hemoglobina, Bauhinia. Glicosilação.

### Referências

- AHMED, N. Advanced glycation endproducts-role in pathology of diabetic complications, **Diabetes Research and Clinical Practice**. v. 67, p. 3–21 Review, 2005.
- ASGARY, et al. A. Anti-oxidant effect of flavonoids on hemoglobin glycosylation. **Pharmacy Act Helvet**.v.73, n. 5 , p. 223-226, 1999.
- CARDOSO, D.B.O.S.; QUEIROZ, L.P.D.E. **Leguminosas da Caatinga**. Editora da Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, p. 913 , 2009.
- CARVALHO, A.A; SANTOS, L. R.; CHAVES, M.H. Flavonoides do extrato aquoso das folhas de *Bauhinia pulchella* Benth. **Anais da 37ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química (SBQ)**,Natal-RN, 2014.
- CUSSIMANO, B.L.,BOOTH, A.A., TODD, P., HUDSON, G. B. & KHALIFAH, R.G. Unusual susceptibility of heme proteins to damage by glucose during non-enzymatic glycation. **Biophysical Chemistry**, v. 105, p. 743-755, 2003.
- LINO, et al. Anti-Diabetic Activity of a Fraction from *Cissus verticillata* and Tyramine, its Main Bioactive Constituent, in Alloxan-Induced Diabetic Rats **American Journal of Pharmacology and Toxicology**, v. 2 (4), p. 178-188, 2007.
- SALES FILHO, H. L. A. ; BRITO, S. M. R. C. ; AYRES, M. C. C. ; CARVALHO, A. A. ; FREITAS, S. D. L. . *Inibidores da Glicação in vitro da hemoglobina*. 2009. **XVIII**



## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

**SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA-UFPI**, Teresina, Piauí, Brasil, 2009.

SILVA, C. S.; CHAVES, M. H.; ALMEIDA, B. C. Estudo químico das folhas jovens da espécie *Copernicia prunifera* (Miller) H.E. Moore (Arecaceae). **XXI SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA-UFPI**, Teresina, Brasil, 2012.

### **Agradecimentos**

Aos Programas PIBIC, ICV (UFPI) e Jovens Talentos (CAPES).





# II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

## Atividade antinociceptiva *in silico* de compostos identificados em *Borreria verticillata*

Rosa Helena Moraes Silva<sup>1</sup>, Nathália de Fátima Melo Lima<sup>1</sup>, Alberto Jorge Oliveira Lopes<sup>1</sup>, José Wilson Carvalho de Mesquita<sup>2</sup>, Ricardo Martins Ramos<sup>3</sup>, Maria do Socorro de Sousa Cartágenes<sup>1</sup>, João Batista Santos Garcia<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Departamento de Ciências Fisiológicas. <sup>2</sup>Departamento de Farmácia <sup>1,2</sup>Centro de Ciências Biológicas e da Saúde. Universidade Federal do Maranhão, São Luís-MA, Brasil. n.lima89@live.com

<sup>3</sup>Departamento de Informação, Ambiente, Saúde e Produção Alimentícia, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí, Teresina-PI, Brasil.

### Introdução

A dor representa um sistema de alerta para o organismo e seu mecanismo fisiopatológico envolve componentes biológicos dentre os quais, estão à ativação da enzima ciclooxigenase-2 (COX-2) e do receptor N-metil-D-aspartato (NMDA).

A COX- 2 e o receptor NMDA modulam as vias nociceptivas periféricas e centrais. Estruturalmente a COX-2 é formada por Arg120, Tyr355, e Glu524 na superfície da enzima (MAGALHÃES et al., 2012). O receptor NMDA é um heterotetrâmero composto por duas subunidades GluN1 e GluN2 e sua ativação requer a ligação da glicina e do glutamato respectivamente (TAJIMA et al., 2016).

No Brasil a espécie vegetal *B. verticillata* é conhecida como vassourinha (JÚNIOR, LEMOS, CONSERVA, 2012) e apresenta atividade analgésica e anti-inflamatória (ABUDULLAHI-GERO et al., 2014a). Novas abordagens tecnológicas como docagem e dinâmica molecular têm sido utilizadas para avaliar as propriedades farmacológicas de derivados de plantas medicinais

Levando-se em consideração os fatores que colaboram para os mecanismos da dor, além do uso de plantas medicinais como alternativa terapêutica, este trabalho objetivou avaliar a atividade antinociceptiva da fração acetato de etila de *B. verticillata* a partir das interações moleculares de compostos presentes na FAc com a enzima COX-2 e o receptor NMDA.

### Metodologia

Foram utilizadas partes aéreas de *B. verticillata*, coletadas na cidade de São José de Ribamar-MA e catalogadas no Herbário do Maranhão (MAR) sob o N° 5151. As partes aéreas de *B. verticillata* foram colocadas em estufa, trituradas em moinho obtendo-se um pó. Este foi macerado com etanol 95% e particionado com acetato de etila. Os compostos foram identificados por cromatografia líquida de alta eficiência com detector de ultravioleta-visível (CLAE-UV-Vis).

Para docagem molecular utilizou-se o pacote AutoDock 4.2 (MORRIS et al., 2009). Os centros das malhas de afinidade foram definidos nos resíduos: Arg120 para COX-2; Tyr513 para NMDA GluN1a; Arg487 para NMDA GluN2B. As



## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

simulações por dinâmica molecular dos complexos selecionados na docagem molecular foram realizadas com o software GROMACS 4.6.7. O composto com melhor resultado foi testado in vivo.

Foram utilizados ratos *Rattus norvegicus* e camundongos *Mus musculus* adultos e os protocolos experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFMA parecer n°17, protocolo n° 23115.013545/2015-89.

O grupo controle (CTL) foi tratado com NaCl 0.9% (0,1ml/Kg v.o), o INDO foi tratado com indometacina (10 mg/Kg v.o), o MEM foi tratado com memantina (10 mg/Kg v.o) e o grupo AU foi tratado com ácido ursólico 10mg/kg (v.o).

Após 60 minutos de tratamento o edema de pata foi induzido pela administração subplantar de 50 µL de carragenina 1% na pata direta do animal. O volume da pata do animal foi mensurado pelo pletismômetro digital com 1, 2, 3, 4 e 5 horas após a indução (Winter et al., 1962). No teste do edema de pata após 60 minutos de tratamento foi aplicado na cauda o estímulo térmico e registrado o tempo de latência de retirada da cauda (D'AMOUR; SMITH, 1941).

### Resultados e discussões

Foram identificados na FAc os ácidos gálico, ursólico, caféico e elágico. Dentre os compostos identificados na FAc, o ácido ursólico foi o composto que apresentou melhores parâmetros de afinidade com a COX-2 (-9.86) e subunidades GluN1a (-7.02) e GluN2B (-5.69) do receptor NMDA segundo a docagem molecular.

Energias de ligação negativas representam interações favoráveis do complexo ligante-receptor. Estruturalmente, o local ativo da COX-2 consiste em um canal lipofílico cuja entrada é formada pela Arg120, Tyr355 e Glu524 (Rowlinson et al., 2003) e sua ativação causa a metabolização do ácido araquidônico (AA) a partir da interação com Arg120, Tyr355, Tyr385 e Ser530 da COX, levando a produção de prostaglandinas. As interações do ácido ursólico com aminoácidos adjacentes ao local ativo e ao local de metabolização do AA como Try115, Ser119, Tyr122, Leu123, Asp125, Pro528 podem ainda, intensificar o potencial de inibição da COX-2 pelo ácido ursólico. Após 10 ns de simulações de dinâmica molecular obtivemos alta frequência de interação do ácido ursólico com Ile497, Ala502, Phe507, Ser508, Lys509 e Pro510 localizados próximos aos locais descritos pelos trabalhos anteriores, confirmando com isso o potencial do ácido ursólico em inibir a ligação da glicina ao GluN1.

O tratamento com ácido ursólico 10 mg/Kg reduziu significativamente o edema induzido pela carragenina durante as 5 horas analisadas. Essas reduções foram de 57-84% quando comparadas ao grupo controle (Figura 1). Além disso, o ácido ursólico aumentou significativamente o tempo de latência dos animais do 30-120 minutos em 28-42% quando comparado ao grupo controle. Esse efeito não foi observado aos 180 minutos (Figura 2). O efeito antiedematogênico do AU pode ser

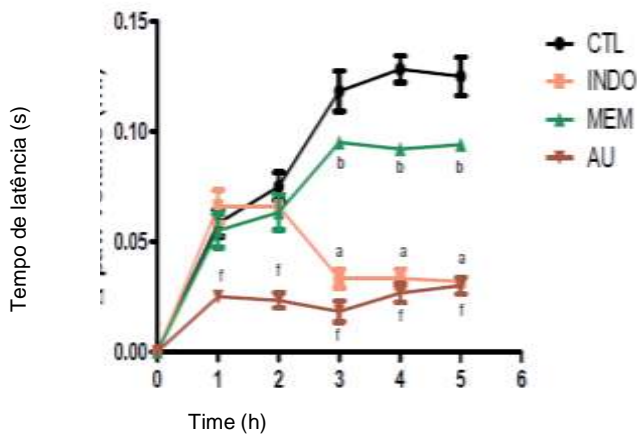


## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

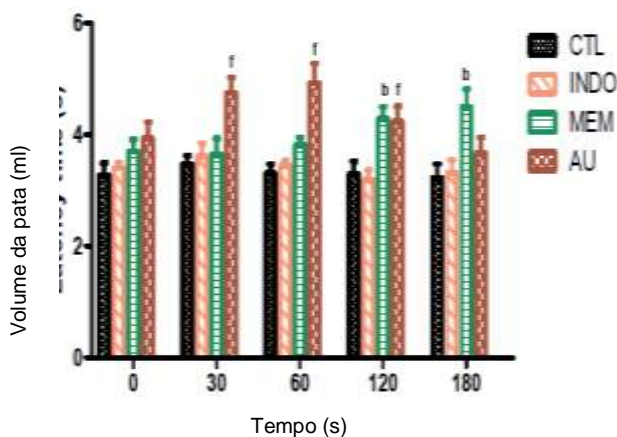
Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

atribuído à inibição da enzima COX-2 e consequente redução da síntese de PGE<sub>2</sub>, assim como ocorrido no tratamento oral com a indometacina. Com isso, a analgesia produzida pelo tratamento com a memantina e AU deve-se ao bloqueio do receptor NMDA.

**Figura 1.** Edema de pata induzido pela administração subplantar de carragenina 1% em camundongos tratados via oral com NaCl 0.9%, indometacina 10 mg/kg, memantina 10 mg/Kg, EHBv 500 mg/Kg AC (10 mg/kg). a: INDO vs CTL; b: MEM vs CTL; f: AU vs CTL. n=6,  $p < 0,05$  (ANOVA; Newman Keuls). Fonte: Arquivo pessoal



**Figura 2.** Tail flick teste em ratos tratados via oral com NaCl 0.9%, indometacina 10 mg/kg, memantina 10 mg/Kg e AU 10mg/Kg. b: MEM vs CTL, f: Au vs CTRL n= 6,  $p < 0,05$  (ANOVA; Newman Keuls). Fonte: Arquivo pessoal.





## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

### Conclusão

Não há estudos na literatura que descrevam *in vivo* e *in silico* a relação do potencial antinociceptivo de compostos presentes nas partes aéreas de *B. verticillata*. Diante dos resultados apresentados, sugerimos que o efeito antinociceptivo pode ser atribuído predominantemente à ação periférica com participação de componentes anti-inflamatórios. Os resultados *in silico* permitiram selecionar e sugerir que o ácido ursólico, presente na fração de *B. verticillata*, realizou interações estáveis com a COX-2 e com as subunidades GluN1 e GluN2B do receptor NMDA configurando-se como uma molécula promissora para o desenvolvimento de inibidores da COX-2 e antagonistas dos receptores NMDA.

**Palavras-chaves:** Ácido ursólico, Receptor NMDA, COX-2.

### Referência

Abdullahi-Gero, H.S.; Ahmad, A.Z.A.U.; Hussaini, I.M. Evaluation of Antioxidant Activity of Leave Extract of *Borreria verticillata* Linn (Rubiaceae). **Journal of Natural Sciences Research**. v.9, p.25-30. 2014.

D'Amour FE, Smith DL. A method for determining loss of pain sensation. **J Pharmacol Exp**. v.72, p.74-79. 1941.

Júnior, J.C.F.; Lemos, R.P.L.; Conserva, L.M. Chemical constituents from *Spermacoce verticillata* (Rubiaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**. v.44, p. 208-11. 2012

Magalhães,W.S.; Corrêa, C.M.; Alencastro, R.B et al. Bases moleculares da ação anti-inflamatória dos ácidos oleanólico e ursólico sobre as isoformas da ciclo-oxigenase por docking e dinâmica molecular. **Química Nova**, n.35, v.2, p.241-248. 2012.

Morris, G.M.; Huey, R.; Olson, A.J. Using AutoDock for ligand-receptor docking. **Curr Protoc Bioinformatics**. 2008 Dec;Chapter 8:Unit 8.14.

Tajima, N.; Karakas, E.; Grant, T.; Simorowski, N.; Diaz-Avalos R, et al. Activation of NMDA receptors and the mechanism of inhibition by ifenprodil. **Nature**. v.534, n. 7605, p.63-8. 2016.

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 Soc Exp Biol Med**.v.111, p.544-7. 1962.



## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

### **Agradecimentos**

Fundação de Amparo a Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico do Maranhão pelo apoio financeiro. Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico pela concessão de bolsa.





# II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

## Avaliação da atividade antiedematogênica do *p*-cumarato de etila em modelos animais

Diana Carvalho de Rezende<sup>1</sup>, Antônio Carlos Melo Lima Filho<sup>2</sup>, Rodrigo Lopes Gomes Gonçalves<sup>2</sup>, Bruno da Silva Gomes<sup>3</sup>, Francisco de Assis Oliveira<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Graduanda em Bacharelado em Farmácia – UFPI; <sup>2</sup>Mestrado em Farmacologia – UFPI; <sup>3</sup>Doutorado em Biotecnologia – UFPI; <sup>4</sup>Docente do Departamento de Farmácia - UFPI

### Introdução

O processo inflamatório é uma resposta fisiológica a uma lesão tecidual de origem física, química e/ou biológica com a finalidade de erradicar o agente agressor. Este quando não controlado, pode gerar uma ameaça à saúde. Os fármacos mais usados para cessar ou diminuir o processo são os anti-inflamatórios não esteróides (AINEs), ao qual inibem a ciclooxigenase-1 e/ou 2 (NAGARAPU et al., 2011). Outra classe de fármacos muito utilizados são os glicocorticóides (GC). Que por sua vez são imunossupressores e anti-inflamatórios (BARNES; ADCOCK, 2009). De modo geral, a utilização prolongada destes fármacos pode produzir muitos efeitos adversos indesejáveis significativos, principalmente para o trato gastrointestinal (AINEs) e perturbações humorais (GC) (ROTH, 2012).

Dentre as alternativas terapêuticas, as plantas medicinais e os seus metabólitos secundários representam uma fonte rica em diversos compostos fitoquímicos que podem ser promissores em diversas atividades biológicas, neste contexto, a utilização de metabólitos secundários é uma estratégia com muitas possibilidades na busca de potencialidades terapêuticas (ANGULO et al., 2009).

O *p*-cumarato de etila é um fenilpropanoide, derivado do ácido *p*-cumárico que não teve, até o momento, suas propriedades anti-inflamatórias avaliadas (CUNHA et al., 2016). Entretanto, por sua semelhança estrutural com outras substâncias com atividades já comprovadas, o objetivo deste trabalho foi investigar tais efeitos anti-inflamatórios em modelo de edema de pata.

### Metodologia

Os protocolos experimentais foram conduzidos em conformidade ao Parágrafo 1º do Art. 14 da Resolução Nº 1000, de 11 de maio de 2012 do CFMV, e segundo as normas estabelecidas pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal. Os procedimentos envolvendo animais estavam sob a responsabilidade técnica da médica veterinária, Dra. Adeline de Andrade Carvalho CRMV-PI Nº 866-VP. O presente trabalho foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética da UFPI, Brasil (protocolo nº 138/16).

Foram utilizados *Mus musculus* Swiss machos e fêmeas de peso entre 25 a 35g, ao qual a avaliação da atividade antiedematogênica do *p*-cumarato de etila (*p*-CE) foi realizada através dos testes de edema de pata. Os camundongos (n=7) foram pré-tratados via oral com veículo (salina 0,9% 1% de Tween 80), *p*-CE (50, 100, 150 e



## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

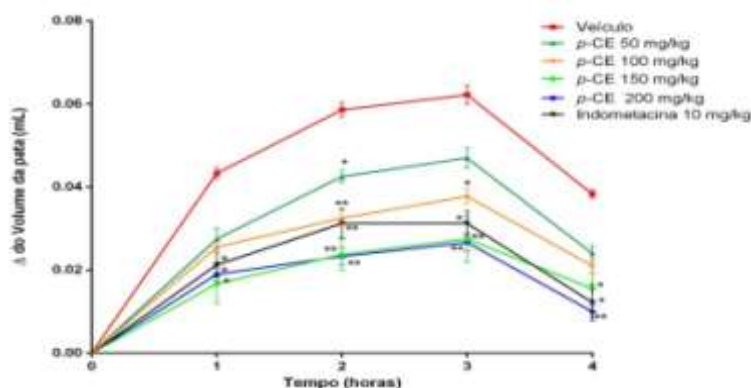
200 mg/kg) ou indometacina (10 mg/kg, v.o.). Após 1h, o edema de pata foi induzido nos animais através da injeção intraplantar de carragenina 1% (50  $\mu$ L) na pata direita. Os volumes das patas foram registrados através de pletismômetro (Insight®) em diferentes tempos (1, 2, 3 e 4h), sendo expressa a diferença, em mililitros (mL), entre o volume final e inicial da pata (WINTER et al., 1962).

Para avaliar a participação de diferentes agentes inflamatórios os animais foram pré-tratados via oral com veículo (salina 0,9% 1% de Tween 80), *p*-CE (150mg/kg) ou indometacina (10 mg/kg, v.o.). Após 1h, o edema de pata foi induzido nos animais através da injeção intraplantar de histamina (100  $\mu$ g/pata), serotonina (100  $\mu$ g/pata) ou composto 48/80 (12  $\mu$ g/pata), no volume de 50  $\mu$ L, na pata direita. Os volumes das patas também foram registrados através com o pletismômetro (Insight®) em diferentes tempos (30, 60, 90 e 120min), sendo expressa a diferença em mililitros (mL) entre o volume final e inicial da pata (WINTER et al., 1962). Para comparação entre as médias, foram utilizada a análise de variância (ANOVA) e a significância entre os grupos estabelecida pelos testes de Student Newman-Keuls. Valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significativos.

### Resultados e Discussão

O modelo de edema na pata induzido pela carragenina é amplamente utilizado para avaliar novos fármacos com atividade anti-inflamatória (MA et al., 2013). Ele é marcado por uma resposta bifásica, caracterizada inicialmente por uma fase celular com liberação de mediadores inflamatórios e participação da histamina, serotonina e leucócitos nas primeiras horas (WANG et al., 2016; WINTER, 1962); e uma fase vascular com aumento da permeabilidade do endotélio e acúmulo de líquidos e proteínas plasmáticas, com pico de edema na terceira hora após administração do agente na pata do animal (BARTH et al., 2016). Devido a inibição do edema observada em todas as horas com as doses de 150 e 200 mg/kg, utilizou-se a menor dose nos protocolos experimentais posteriores.

**Figura 1** – Efeito do pré-tratamento oral com *p*-cumarato de etila sobre o edema induzido por carragenina.



**Legenda:** Edema na pata induzido por carragenina (1%; 0,05 ml, i.pl.) em animais pré-tratados com veículo, *p*-cumarato de etila (50, 100, 150 e 200 mg/kg) e indometacina (10 mg/kg), v.o., de acordo com o tempo (eixo x) e diferença do volume final menos o basal (eixo y). Cada linha representa as médias  $\pm$  E.P.M. \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$  e \*\*\* $p < 0,001$  vs grupo veículo (ANOVA oneway seguida de pós-teste de Newman-Keuls).

Fonte: autoria própria.



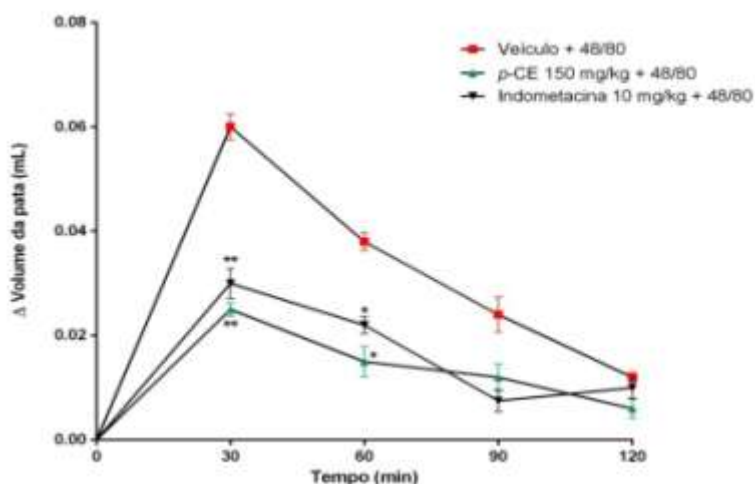
## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

A partir da **Figura 1**, observa-se que as doses de 50 e 100 mg/kg do *p*-CE produziram uma diminuição estatisticamente significativa do volume do das patas na 2ª hora de avaliação (para ambas), e 3ª hora (100 mg/kg), em comparação ao grupo pré-tratado apenas o veículo. As doses de 150 e 200 mg/kg diminuíram os edemas em todas as horas de observação, apresentando resultados similares aos animais tratados com indometacina 10 mg/kg.

Estudos realizados com um fenilpropanoide denominado éster fenetil do ácido cafeico (PARK et al., 2004), demonstraram resultados semelhantes à ação anti-inflamatória do *p*-cumarato de etila nos modelos de edema induzido por carragenina. Para confirmação dessa ação inibitória da inflamação, posteriormente foi investigada a atuação do *p*-CE diante de diversos agentes edematogênicos envolvidos no desenvolvimento da resposta inflamatória, como o composto 48/80, a histamina, serotonina em camundongos.

**Figura 2** – Efeito do pré-tratamento oral com *p*-cumarato de etila sobre o edema induzido pelo composto 48/80.



**Legenda:** Grupos pré-tratados com veículo, *p*-cumarato de etila (150 mg/kg) e indometacina (10 mg/kg) 1 hora antes da indução de edema pelo composto 48/80 (12 µg/pata; 50 µL, i.pl.). Cada linha representa as médias ± E.P.M. da diferença entre os volumes finais e basais (eixo Y), de acordo com o tempo (eixo X). \* $p < 0,05$  e \*\* $p < 0,01$  vs grupo veículo (ANOVA oneway seguida de pós-teste de Newman-Keuls).

**Fonte:** autoria própria.

O Composto 48/80 é um polímero amplamente utilizado para estimulação não dependente de IgE de mastócitos, que ativa e degranula estas células (GILFILLAN; BEAVEN, 2011). Já a histamina e serotonina induzem a formação de edema por atuarem em seus receptores acoplados a proteína G nas células endoteliais. Suas ações apresentam-se como de curta duração, através do aumento da permeabilidade vascular e pela indução da liberação da prostaciclina (PGI<sub>2</sub>) e do NO, resultando no acúmulo de líquidos e proteínas plasmáticas no tecido lesionado. Nos mamíferos, a histamina pode ainda ser vastamente encontrada em neurônios, mastócitos e basófilos (SILVA et al., 2014).

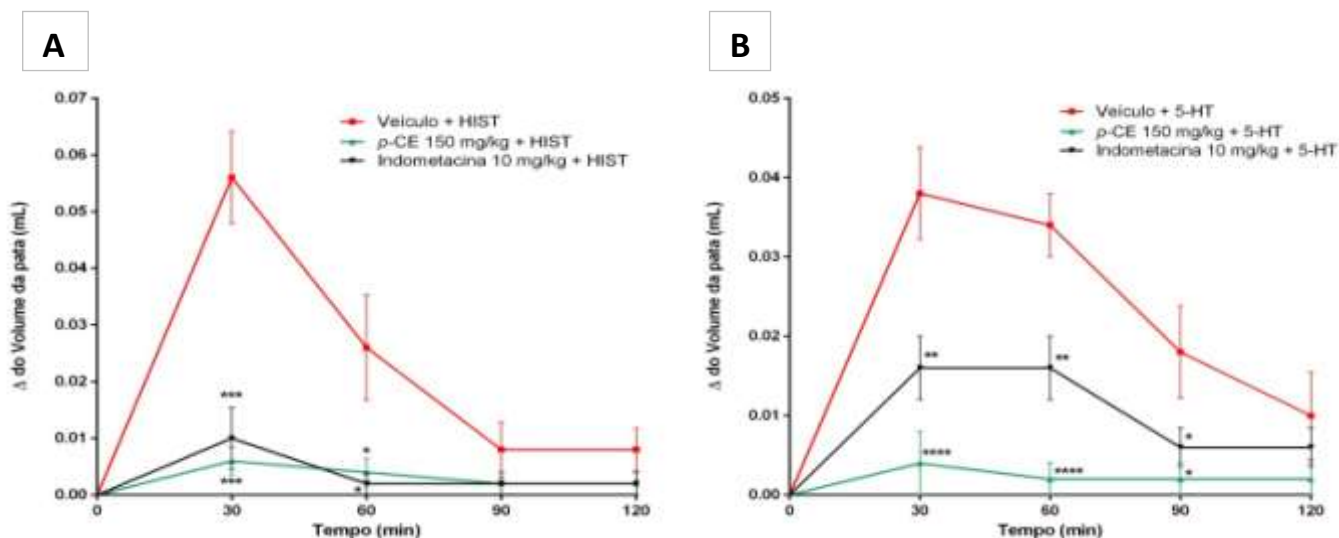


## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

Como pode ser observado na **Figura 2**, a administração do *p*-CE (150 mg/kg) uma hora após a injeção do composto 48/80, resultou em redução significativa do volume da pata dos animais nos tempos de 30 e 60 min, em comparação ao grupo veículo, e similar ao grupo pré-tratado com indometacina.

**Figura 3** – Efeito do pré-tratamento oral com *p*-cumarato de etila sobre os edemas induzidos por histamina (HIST) e serotonina (5-HT).



**Legenda:** Grupos pré-tratados com veículo, *p*-cumarato de etila (150 mg/kg) e indometacina (10 mg/kg) 1 hora antes da indução de edema por **(A)** serotonina (1%; 50  $\mu$ L, i.pl.), **(B)** histamina (1%; 50  $\mu$ L, i.pl.). Cada linha representa as médias  $\pm$  E.P.M. da diferença entre os volumes finais e basais (eixo Y), de acordo com o tempo (eixo X). \* $p$ <0,05, \*\* $p$ <0,01, \*\*\* $p$ <0,001 e \*\*\*\* $p$ <0,0001 vs grupo veículo (ANOVA oneway seguida de pós-teste de Newman-Keuls).

**Fonte:** autoria própria.

Como se pode observar na **figura 3**, a administração de serotonina (5-HT) **(3A)** ou histamina (HIST) **(3B)** induziu edema na pata dos camundongos, com pico em 30 min, característico da ação rápida destas aminas vasoativas. Sobretudo, quando administrado o *p*-CE, houve redução significativa do edema, nos tempos 30, 60 e 90 min para serotonina, e 30 e 60 min para a histamina, em comparação ao grupo veículo, e similar à ação da indometacina.

### Conclusão

Em suma, os resultados indicaram que *p*-CE possui efeito antiedematogênico por inibir os edemas induzidos pelo composto 48/80, histamina e, principalmente, serotonina nas patas de camundongos. Tais atividades ressaltam evidências de uma possível modulação do *p*-CE sobre estes mediadores inflamatórios, mostrando potencial anti-inflamatório deste





## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

fenilpropanoide. Este foi o primeiro trabalho desenvolvido por nosso grupo na investigação das propriedades anti-inflamatórias do *p*-cumarato de etila.

**Palavras-chave:** Fenilpropanóides, *p*-cumarato de etila, atividade antiedematogênica.

### Referências

- ANGULO, M.A., ARMENTA, E., GARCIA, R.S., CARRILLO, J.A., SALAZAR, E., BENIGNO, J. Extractof *Swieteniahumilis* Zucc. seedwithantifungalactivity in *Rhizopusstolonifer* (Ehrenb) Vuill. **Rev MexFitopatolog**, v. 27, p. 84–92, 2009.
- BARNES, P.J., ADCOCK, I.M. Glucocorticoid resistance in inflammatory diseases. **Lancet**, v. 342, p. 1905–1917, 2009.
- BARTH, C.R.; FUNCHAL, G.A.; LUFT, C.; OLIVEIRA, J.R.; PORTO, B.N.; DONADIO, M.V.F. Carragenan-induced inflammation poromores ROS generation and neutrophil extracellular trap formation in a mouse model of peritonitis. **EuropeanJournalofImmunology**, v. 46, p. 964-970, 2016.
- CUNHA, F.V.M.; GOMES, B.S.; NETO, B.S.; FERREIRA, A.R.; SOUSA, D.P.; MARTINS, M.C.C.; OLIVEIRA, F.A. Ferulic acid ethyl ester diminished Complete Freund's Adjuvant-induced incapacitation through antioxidant and anti-inflammatory activity. **NaunynSchmiedebergs Arch Pharmacology**, v. 389, nº 1, 2016.
- GILFILLAN, A.M., BEAVEN, M.A. Regulation of mast cell responses in health and disease. **Crit Rev Immunol**, v. 31, p.475–529, 2011.
- MA, Y., LI, Y., LI, X., & WU, Y. Anti-inflammatory effects of 4- methylcyclopentadecanone on edema models in mice. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, p. 23980–23992, 2013.
- NAGARAPU, L.; MATETI, J.; GAIKWAD, H.K.; BANTU, R.; SHEEBA RANI, M.; PRAMEELA SUBHASHINI, N.J. Synthesis and anti-inflammatory activity of some novel 3-phenyl-N-[3-(4-phenylpiperazin-1yl)propyl]-1H-pyrazole-5-carboxamide derivatives. **Bioorg.Med. Chem. Lett.**, v. 21, p. 4138–4140, 2011.
- PARK, J.H; LEE, J.K.; KIM, H.S.; CHUNG, S.T.; EOM, J.H.; KIM, K.A.; CHUNG, S.J.; PAIK, S.Y.; OH, H.Y. Immunomodulatory effect of caffeic acid phenethyl ester in Balb/c mice. **InternationalImmunopharmacology**, v. 4, n. 3, p. 429–436, 2004.
- ROTH, S. H. Coming to terms with non-steroidal antiinflammatory drug gastropathy. **Drugs**, v. 72, p. 873–879, 2012.
- SILVA, F.V.; OLIVEIRA, I.S.; FIGUEIREDO, K.A.; JÚNIOR, F.B.M.; COSTA, D.A.; CHAVES, M.H.; AMARAL, M.P.M.; ALMEIDA, F.R.C.; OLIVEIRA, F.A.; OLIVEIRA, R.C.M. Anti-Inflammatory and Antinociceptive Effects of *Sterculiastrata* A. St.-Hil.&Naudin (Malvaceae) in Rodents. **Journal of Medicinal Food**, v. 17, n. 6, p. 694–700, 2014.
- WANG, D.; YANG, J.; DU, Q.; LI, H.; WANG, S. The total alkaloid fraction of bulbs of *Fritillariacirrhosa* displays antiinflammatory activity and attenuates acute lung injury. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 193, p. 150–158, 2016.
- WINTER, C.A., RISLEY, E.A., NUSS, G.W. Carrageenan-induced oedema in hind paw of the rats as an assay for anti-inflammatory drugs. **Experimental Biology and Medicine**, v. 111, p. 544–547, 1962.





# II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

## **Atividade anti-inflamatória de *Persea americana*.**

Nathalia de Fátima Melo Lima<sup>1</sup>, Marineide Sodr e Rodrigues<sup>1</sup>, Rosa Helena Moraes Silva<sup>1</sup>, Tazia Lopes Castro<sup>1</sup>, Rogério Rodrigues Ribeiro<sup>1</sup>, João Batista Santos Garcia<sup>1</sup>, Maria do Socorro de Sousa Cartagenes<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Ciências Fisiológicas, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Maranhão, São Luis – MA, Brasil. n.lima89@live.com; marineidesodre@gmail.com

### **Introdu o**

*Persea americana* Mill.   amplamente utilizada no tratamento de diversas patologias e possui a o anti-inflamatória e analgésica cientificamente comprovada. Pertence   família Lauraceae e tem seu fruto conhecido como abacate (TESKE; TRENTINI,1996). Estudos demonstraram que as folhas exibem propriedades anti-inflamatórias (ADEYEMI et al., 2002), antioxidantes, anticonvulsivante (OJEWOLE; AMABEOKU, 2006), hipoglicemiante (EZEJIOFOR et al, 2013), antifúngicas, antian mica, antidiarreica e antiviral, quando estão presentes em extratos hidroalcoólicos, aquosos ou são preparadas por infusão (chás) (ALONSO, 2004; LORENZI; MATOS, 2008).

A inflama o   um processo fisiológico que ocorre em decorrência da ativa o de alguns mecanismos que provocam altera es nos componentes humorais e celulares após injúria tecidual (CRUVINEL et al, 2010). Durante o avanço da inflama o, a produ o dos mediadores também podem sensibilizar termina es nervosas livres, ativando os mecanismos nociceptivos e causando a dor. Uma lesão tissular promove a libera o de mediadores químicos como as citocinas, histaminas, serotonina, eicosanóides e radicais livres. Estes mediadores, além de participarem da resposta inflamatória também, promovem e facilitam a transmissão dolorosa levando   hiperalgesia e libera o de neurotransmissores excitatórios como o aspartato, glutamato e substância P (MURI et al, 2009).

Os anti-inflamatórios estão entre os agentes terapêuticos mais utilizados no mundo, mas trazem consigo limita es com rela o a sua potência e eficácia em diversas patologias de causas inflamatórias, assim como também efeitos adversos (altera es gastrointestinais, cardiovasculares) (GOLAN, 2009).

Considerando o envolvimento de mediadores químicos no processo de inflama o e diante das evidências científicas sobre a existência da atividade anti-inflamatória, busca-se investigar os possíveis mediadores envolvidos na a o anti-inflamatória do Extrato Hidroalcoólico de *Persea americana* (EHPa).

### **Metodologia**

#### **Edema de pata induzido por agentes flogísticos**

Para a realiza o deste experimento os animais foram divididos randomicamente em grupos (n= 6) tratados com veículo, com EHPa (50, 250 e 500mg/Kg, v.o.) ou indometacina (10 mg/Kg, v.o.). Após uma hora da administra o das drogas, os animais receberam inje o de 20  L de soluço de carragenina (1%) na região subplantar da pata traseira direita. O edema da



## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

pata foi mensurado por meio de um pletismômetro, sendo expresso como a diferença do volume da pata direita imediatamente após a injeção do agente flogístico e o volume mensurado nos tempos 1, 2, 3, 4 horas para a carragenina (CAMPOS; CALIXTO, 1995; KATZ et al., 1984; LO et al., 1982). Certificamos que a proposta intitulada "Mecanismo de ação da atividade antinociceptiva e antiinflamatória da *Persea americana*", registrada com o nº 23115.001913/2016-27, sob a responsabilidade de Maria do Socorro de Souza Cartagenes que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei no 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto no 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi considerado Aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA- UFMA) da Universidade Federal do Maranhão em reunião de 07/06/2016.

### Resultados e Discussão

A análise fitoquímica do extrato evidenciou a presença de fenóis, flavonoides e alcaloides (Tabela 1).

**Tabela 1** - Grupos de metabólitos secundários presentes no Extrato Hidroalcoólico de *Persea americana* (EHPa).

METABÓLITOS	RESULTADOS
Taninos	+
Fenóis	+++
Flavonoides	++
Alcaloides	++
Saponinas	-

**Legenda:** Não detectado: 0; Traços: - ; Fraco: + ; Moderado: ++ ; Forte: +++ .

**Fonte:** Elaborada pelo autor.

Os flavonoides pertencem a uma ampla classe de substâncias químicas de origem natural, cuja síntese não ocorre em seres humanos (Peterson et al., 1998). Inúmeras atividades biológicas estão associadas aos flavonoides, como funções antioxidante, anti-inflamatória e anticancerígena (KSOURI et al., 2013). Aos alcaloides, são atribuídas propriedades farmacológicas variadas, sendo usados como analgésicos, antioxidantes, vasorrelaxantes e antitumorais, o que causou um aumento no interesse por potenciais fontes desses compostos (CUI et. al., 2006). Os fenóis possuem a capacidade de capturar e neutralizar as espécies reativas de oxigênio (ERO) apresentando assim a capacidade anti-inflamatória por modular importantes vias de sinalização celular (KOBUCHI; VIRGILI; PACKER, 1999).

A avaliação da atividade anti-inflamatória do EHPa foi realizada por meio do teste de edema de pata induzido por carragenina, avaliando-se a variação



## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

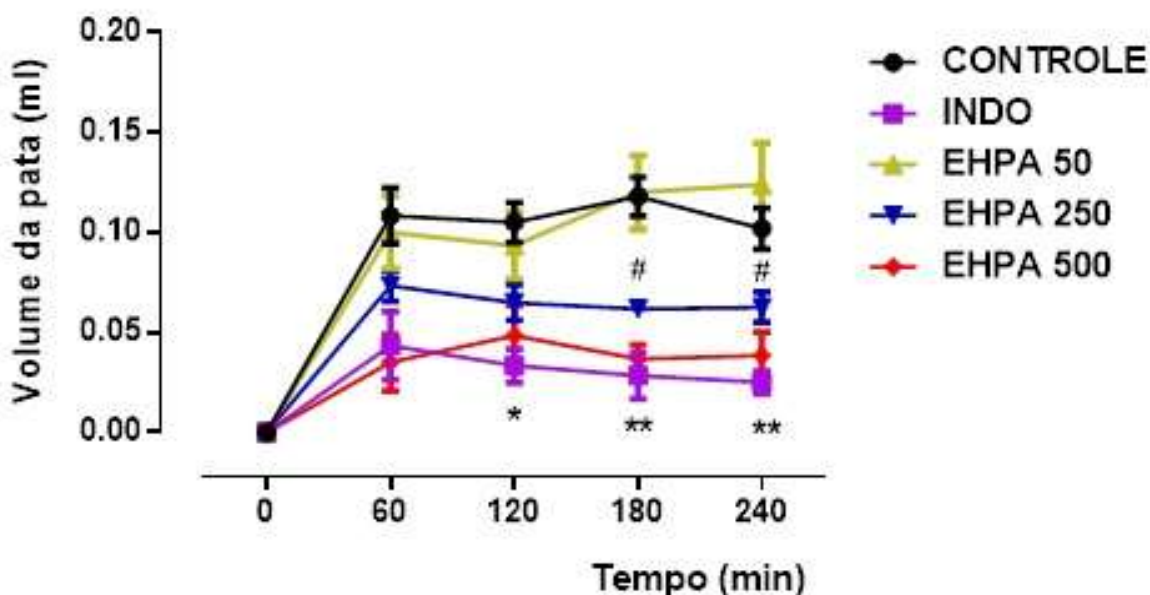
Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

de edema 1, 2, 3 e 4 horas após a indução pelo agente flogístico.

A administração intraplantar de carragenina em camundongos evoca a hiperalgesia estimulando a produção e liberação de TNF- $\alpha$ , quimiocinas derivadas de queratinócitos (KC) e IL-1 $\beta$  (Cunha et al.,2005). Diversas outras substancias e mediadores inflamatórios são liberados durante o teste. Primeira fase começa com a liberação de histamina, serotonina e cininas após a injeção de agente flogístico nas primeiras horas ,enquanto a segunda fase está relacionada ao liberação de prostaglandinas em 2-3 horas de inicio do teste (Bhukya et al, 2009).

O EHPa na dose de 500mg/kg diminui o edema causado pela carragenina a partir da primeira hora do teste quando comparado ao grupo controle. A dose de EHPa de 250mg/Kg conseguiu gerar o mesmo efeito a partir da terceira hora após administração do agente flogístico (Figura 1).

**Figura 1** - Efeito anti-inflamatório do EHPa (50, 250 e 500 mg/Kg), Indometacina (10mg/Kg) e Salina (NaCl 0,9%) no teste de edema de pata induzido por carragenina em camundongos. Análise estatística realizada no Graphpad Prisma 6, usando teste one-way ANOVA seguido pelo Teste de Tukey. \* $p < 0,05$  e \*\* $p < 0,01$  comparando EHPa 500 X grupo controle. # $p < 0,05$  comparando EHPa 250 X grupo controle.



Fonte: Elaborada pelo autor.

O EHPa possui diversos compostos metabolitos secundários com ação anti-inflamatória. Vários estudos com espécies vegetais ricas em compostos fenólicos evidenciam ação anti-inflamatória, como o *Zingiber officinale* (CHOI et al, 2013) e *Mucuna pruriens* (MOTTA et al, 2012). Leandro (2015), em sua pesquisa sobre a atividade de *Satureja hortensis L.*, rica em fenóis e flavonoides, evidenciou ação anti-inflamatória da espécie sugerindo ligação a esses metabolitos secundários. Os flavonoides, devido ao amplo arsenal de estudos envolvendo esses compostos, possui uma gama de espécies ricas



## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

nesse metabolito com ação anti-inflamatória cientificamente comprovada, como *Alafia barteri* (SOFIDIYAA, 2014). *Duguetia furfuracea* (SOUZA, 2013), *Chondrodendron platyphyllum* (LEITE, 2012) são algumas dentre as várias espécies que possuem alcaloides e ação anti-inflamatória comprovada.

### Conclusão

Com base nos resultados, sugere-se que o EHPa foi capaz de diminuir a liberação de mediadores inflamatórios e conseqüentemente diminuir o edema de pata induzido por carragenina. Sugere-se ainda que esta ação se deve aos compostos secundários presentes no extrato hidroalcoólico de *Persea americana*. Ainda são necessários mais estudos para evidenciar os mediadores inflamatórios responsáveis por essa ação do EHPa.

**Palavras-Chave:** Inflamação. Edema de pata. Carragenina.

### Referências

B. BHUKYA, R. N. R. ANREDDY, C. M. WILLIAM, and K. M. Gottumukkala, "Analgesic and anti-inflammatory activities of leaf extract of *Kydia calycina* Roxb," *Bangladesh Journal of Pharmacology*, vol. 4, no. 2, pp. 101–104, 2009.

CRUVINEL, W. de M.; MESQUITA JÚNIOR, D.; ARAÚJO, J. A. P.; CATELAN, T. T. T.; SOUZA, A. W. S. de; SILVA, N. P. da; ANDRADE, L. E. C. Sistema imunitário – parte I Fundamentos da imunidade inata com ênfase nos mecanismos moleculares e celulares da resposta inflamatória. **Rev. Bras. Reumatologia**, v. 50, n. 4, p. 434-461, 2010.

CUI, W. et al. Potencial cancer chemopreventive activity of simple isoquinolines, 1 benziylisoquinolines, and protoberberines. **Phytochemistry**, v.67, p.70-79, 2006.

GOLAN, D. E et al. **Princípios de Farmacologia: A base fisiopatológica da farmacoterapia**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. p 240-259. 2009

KOBUCHI, H.; VIRGILI, F.; PACKER, L. Assay of inducible form of nitric oxide synthase activity: effect of flavonoids and plant extracts. **Methods in Enzymology**, v. 301, p. 504–513, 1999.

KSOURI, W.M. et al. LC–ESI–TOF–MS identification of bioactive secondary metabolites involved in the antioxidant, antiinflammatory and anticancer activities of the edible halophyte *Zygophyllum album* Desf. **Food Chemistry**, v.139, p.1073- 1080, 2013.





## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

MURI, E. M. F.; SPOSITO, M. M. de M.; METSAVAHT, L. Nonsteroidal antiinflammatory drugs and their local pharmacology. **Acta Fisiatr.** v. 16, n.4, p. 186-190, 2009.

PETERSON, J., LAGIOU, P., SAMOLI, E., KATSOUYANNI, K., VECCHIA, C.L., DWYER, J., TRICHOPOULOS, D. (2003). Flavonoid intake and breast cancer risk: a case – control study in Greece. **British Journal of Cancer**, 89(7), pp 1255 – 1259.

P. M. Brooks and R. O. Day, “Non steroidal anti-inflammatory drugs difference and similarities,” *New England Journal of Medicine*, vol. 324, pp. 1716–1725, 1991.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M.; FLOWER, R. J. (Trad. Do Nascimento, A. P.); *Farmacologia*, 6ª ed., Elsevier: Rio de Janeiro, 2007.

RÊGO, T. J. A. **Fitogeografia das plantas medicinais no Maranhão**. 2. ed. São Luís: EDUFMA, 1995.

SOFIDIYAA, M O., IMEHA, E, EZEANIA, C., AIGBEB, F R, AKINDELEB, A J, Antinociceptive and anti-inflammatory activities of ethanolic extract of *Alafia barteri* .**Rev Bras Farmacognosia**; 24, 2014

SOUSA, R. S. M. **A disfunção redox espinal na dor neuropática**. 2012. 71f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Bioquímica em Saúde) - Instituto Politécnico do Porto, Porto, 2012.

SOUZA, A V M. **Atividade anti-inflamatória do extrato, de frações e do alcalóide dicentrinona obtidos de *Duguetia furfuracea* (St. Hil) em camundongos**. 2013. 73f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2013.

**Apoio:** CNPq e Fundação de Amparo à Pesq. e Desenvolvimento Científico do Maranhão - **FAPEMA**





# II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

## Avaliação da atividade relaxante da espécie *Combretum mellifluum* Eichler do cerrado nordestino em traquéia isolados de rato

Thiago Oliveira Rodrigues<sup>2</sup>, Daniel Barbosa Nunes<sup>1</sup>, Henrique Luz Guedes<sup>1</sup>,  
Elo da Cunha Soares<sup>2</sup>, Rita de Cassia Meneses Oliveira<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Curso de Farmácia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, Brasil.

<sup>2</sup>Curso de Medicina, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, Brasil.

<sup>3</sup>Departamento de Biofísica e Farmacologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, Brasil.

### Introdução

Plantas medicinais tem sido uma fonte valiosa de agentes terapêuticos, sendo que muitas das drogas de hoje são produtos de origem vegetal ou seus derivados (KINGHORN et al, 2011; NEWMAN; CRAGG, 2012). Cerca de 80% da população do mundo utiliza plantas medicinais para fins de saúde (AGISHO et al, 2014) e pelo menos, 25% das drogas modernas contêm um ou mais princípios ativos de origem vegetal (ENYEW et al, 2014).

O gênero *Combretum* encontra-se distribuído na Ásia, África e nas Américas (EXELL, 1931; STACE, 1980) com cerca de 200 espécies, com hábito arbóreo, arbustivo ou lianas e inflorescências em espigas, racemos ou panículas (BARROSO, et al. 1984). As espécies de *Combretum* são polinizadas por pequenos insetos, sendo algumas polinizadas por beija-flores (Gentry 1991), aves e/ou primatas (PRANCE, 1980; JANSON, et al. 1981). Diferenças adaptativas como forma, tamanho e cor das flores indicam um grande espectro de biótipos florais no gênero.

### Metodologia

Foram utilizados ratos *Wistar* (*Rattus norvegicus*) provenientes do Biotério Setorial do Núcleo de Pesquisas em Plantas Medicinais- NPPM/UFPI, mantidos sob condições controladas de temperatura ( $24 \pm 1^\circ \text{C}$ ) e ciclo claro-escuro de 12 horas, tendo livre acesso à alimentação e água. Foram utilizados 4 preparações por animal ( $n=5$ ) por protocolo experimental, num sistema de 4 cubas para órgão isolado. Os protocolos experimentais foram submetidos à aprovação pelo Comitê de Ética em Experimentação com Animais da UFPI (CEEA: Parecer 008/12), como parte de um subprojeto ainda não executado. Todos os procedimentos experimentais estão em conformidade com a Legislação vigente e com o projeto maior já aprovado.

Após a eutanásia dos animais por anestesia (tiopental sódico 75 mg/kg i.p.), os órgãos foram retirados e livre de tecido conectivo e adiposo, seccionados em anéis (3-4 mm). As preparações foram mantidas em cubas para órgão isolado, contendo 6 mL de solução de Krebs, a  $37^\circ \text{C}$ , sob tensão de 1,0 g, estabilizados por 60 minutos e gaseificada com uma mistura carbogênica (95% de  $\text{O}_2$  e 5 % de  $\text{CO}_2$ ), suspensos por linhas de algodão fixadas a um transdutor de força acoplado a um sistema de aquisição



## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

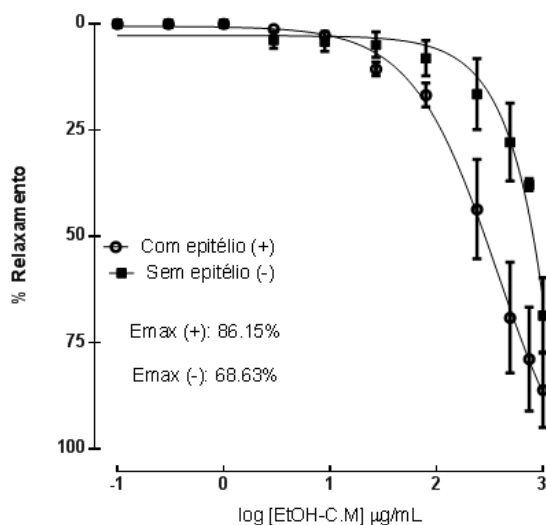
(AQCAD/AVS PROJETOS) para o registro das tensões isométricas. Durante este tempo as soluções nutritivas foram trocadas a cada 15 minutos para prevenir a interferência de metabólitos (ALTURA; ALTURA, 1970).

Foi avaliado o efeito relaxante da fração acetato de etila obtido da espécie de *Combretum mellifluum* Eichler sobre as contrações tônicas induzidas por carbacol 10  $\mu$ M, em traquéia na presença e na ausência de epitélio funcional, em preparações individuais e, foi avaliado o efeito relaxante dos produtos investigados.

Os resultados obtidos foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (e.p.m.). Os valores serão considerados significativos para  $p < 0,05$ . Em todos estes procedimentos, serão utilizados o programa estatístico GraphPad Prism, versão 5.00.

### Resultados e Discussão

**Figura 1** – Comparação do efeito da Cm-AcOET sobre as contrações tônicas induzidas por carbacol (10  $\mu$ M) em anéis isolados de traqueia de rato na presença de epitélio e na ausência de vascular funcional, (N=5).



**Fonte:** Laboratório de farmacologia funcional/NPPM/UFPI.

O presente trabalho investigou o possível efeito espasmolítico da fração acetato de etila (AcOet-CM) da *Combretum mellifluum* Eichler, dependente da sua concentração, em anéis de traqueia de rato pré-contraídas por agonistas utilizados como padrão. Para atender os objetivos propostos foram realizados protocolos experimentais in vitro para determinar o perfil farmacológico da espécie *C. mellifluum* Eichler, testando o acetato de etila sobre a traqueia de ratos.

As preparações de traqueia de ratos foram expostas a várias concentrações do AcOet-CM adicionado cumulativamente para se demonstrar e caracterizar o efeito relaxante desta substância após contração induzida pelos agonista carbacol (CCH).

O CCh é um agonista dos receptores muscarínicos e ao ativá-los desencadeia o aumento de  $Ca^{2+}$  no meio intracelular e, conseqüentemente, a contração do músculo liso. A ação do CCh resulta da ligação a receptores



## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

acoplados à proteína G (GPCRs) que ativam a cascata do IP<sub>3</sub>, estimulando a liberação de Ca<sup>2+</sup> dos estoques intracelulares pelo RS e a entrada de Ca<sup>2+</sup> pela abertura dos seus canais de membrana (Cav) (TAKEUCHI et al., 2004).

Observa-se que o AcOet-CM até o momento não reduz aos valores basais a contração induzida na presença do CCh, atingindo o valor médio em percentagem do efeito máximo obtido pela amostra (Emáx) de 86.15 % para o AcOet-CM em traqueia na presença de epitélio vascular funcional (Figura 1) e 68.63% para AcOet-CM em traqueia na ausência de epitélio vascular funcional (Figura 1) quando adicionado concentrações cumulativas crescentes. Além disso, percebe-se que ocorreu um desvio à esquerda na curva em presença de epitélio vascular funcional em relação à curva referente a ausência de epitélio vascular funcional, isso significa que pode existir algum constituinte do AcoEt que é dependente de epitélio para o efeito de relaxamento da musculatura lisa. Porém, ainda não pode ser afirmado pelo grande erro no desvio padrão de algumas concentrações. Vários constituintes provenientes de plantas utilizadas na medicina popular são empregados no tratamento de enfermidades e, considerando que, a identificação de espécies com atividade relaxante de músculos lisos é estratégica na pesquisa em produtos naturais, ressalta-se a importância desse trabalho na identificação dos efeitos farmacológicos de espécies de *Combretaceae*.

Seguem-se os experimentos in vitro com realização de protocolos para verificação da atividade espasmolítica da *C. mellifluum Eichler* na presença e na ausência de epitélio vascular funcional de traqueia isolada de rato, a fim de corrigir erros de desvio padrão em determinadas concentrações e, também, na investigação de possíveis mecanismos responsáveis pelo relaxamento. Além disso, a expectativa é que outras espécies da planta de gênero *Combretaceae* apresentem uma boa atividade relaxante em músculo liso.

### Conclusão

O AcOet-CM, até o momento, não promoveu um relaxamento até os níveis basais em anéis isolados de traqueia de rato, entretanto, mais experimentos ainda precisam ser realizados. Prossegue-se a pesquisa tanto com experimentos para corrigir erros de desvio padrão quanto para investigação dos possíveis mecanismos de relaxamento para o AcOet-CM, ambos isolados de rato. Além disso, será investigado o efeito espasmolítico de outras espécies de *Combretaceae*.

**Palavras-chave:** Plantas medicinais. Combretum. Fitoterapia.

### Referências

AGISHO, Habtamu; OSIE, Mulatu; LAMBORE, Tsdeke. Traditional medicinal plants utilization, management and threats in Hadiya Zone, Ethiopia. **Journal of Medicinal Plants**, v. 2, n. 2, 2014.

ALTURA, B. M.; ALTURA, B. T. Differential effects of substrate depletion on



## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

drug induced contractions of rabbit aorta. **American Journal of Physiology**, 219: 1698 - 1705, 1970.

BALUNAS, M. J.; KINGHORN, A. D. Drug discovery from medicinal plants. **Life Sciences**, v. 78, p. 431-441, 2005.

BARROSO, G.M., GUIMARÃES, E.F., ICHASO, C.L.F., COSTA, C.G. & PEIXOTO, A.L. 1984. **Sistemática de Angiospermas do Brasil**. v. 2. Imprensa Universitária, Viçosa.

ENYEW, Abiyu et al. Ethnobotanical study of traditional medicinal plants in and around Fiche District, central Ethiopia. **Current Research Journal of Biological Sciences**, v. 6, n. 4, p. 154-167, 2014.

EXELL, A.W. 1931. The genera of Combretaceae. **Journal of Botany** 69:113-128.

GENTRY, A.H. 1991. Breeding and dispersal systems of lianas. In *The Biology of vines*. (F.E. Putz & H.A. Mooney, eds.). Cambridge University Press, Cambridge, p.393-423.

JANSON, C.H., TERBORGH, J. & EMMONS, L.H. 1981. Non flying mammals as pollinating agents in the Amazonian forest. **Biotropica** 13:1-6

NEWMAN, David J.; CRAGG, Gordon M. Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. **Journal of natural products**, v. 75, n. 3, p. 311-335, 2012.

PRANCE, G.T. 1980. A note on the probable pollination of Combretum by Cebus. **Biotropica** 12:239.

STACE, C.A. 1980. The significance of the leaf epidermis in taxonomy of the Combretaceae: conclusions. **Botanical Journal of the Linnean Society** 81:327-339.

TAKEUCHI, T. et al. Mechanisms involved in carbachol-induced Ca<sup>2+</sup> sensitization of contractile elements in rat proximal and distal colon. **Br J Pharmacol**. v. 142, n. 4, p. 657-666, 2004.

### **Agradecimentos**

CNPq/UFPI





# II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

## Investigação do efeito vasorrelaxante do $\gamma$ -terpineno em anéis de artéria mesentérica superior isolada de rato

Lorranya Éveli Pereira Feitosa Araújo<sup>1</sup>; Kalynca Kayla Viana Aragão<sup>2</sup>; Aldeídia Pereira de Oliveira<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, Brasil. lorranyaevelyn@gmail.com

<sup>2</sup>Rede Nordeste de Biotecnologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, Brasil.

<sup>3</sup> Departamento de Biofísica e Fisiologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, Brasil.

### Introdução

O tônus da musculatura lisa vascular é o principal fator determinante da resistência vascular, cuja regulação é dependente de uma complexa interação entre estímulos vasodilatadores e vasoconstrictores provenientes da ação de hormônios, neurotransmissores e fatores derivados do endotélio. Alterações nessa musculatura estão relacionadas ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares, como a hipertensão arterial, infarto do miocárdio e acidente vascular cerebral (PAIVA; FARIAS, 2005).

Os monoterpenos constituem a classe de substâncias naturais mais estudada e a que apresenta maior potencial terapêutico sobre o sistema cardiovascular (SANTOS et al., 2015). O gama-terpineno é um monoterpeno encontrado em óleos essenciais de espécies vegetais utilizadas na medicina popular como agentes anti-inflamatórios, antioxidantes e antibacterianos (ABDESLAM et al., 2010; SILVA et al., 2010; RAMOS; BORGES; TEBALDI, 2012). Adicionalmente, estudos demonstraram que o  $\gamma$ -terpineno inibe a oxidação *in vitro* de lipoproteínas de baixa densidade e suprime o aumento dos níveis séricos de colesterol e triglicerídeos em ratos (TAKAHASHI et al, 2003), processos que desempenham um papel central no desenvolvimento de aterosclerose (DAUGHERTY et al., 1995) que, por sua vez, está associada ao desenvolvimento de diversas complicações cardiovasculares.

Com base em tais considerações, o presente estudo teve como objetivo investigar o potencial vasorrelaxante do  $\gamma$ -terpineno em anéis de artéria mesentérica superior isolada de ratos.

### Metodologia

Após eutanásia de ratos Wistar (*Rattus norvegicus*) (CEEAP/PI N°069/14) com uma dose letal de tiopental sódico (150 mg/kg, *i.p.*) (Resolução nº 1000, de 2012 – CFMV), a artéria mesentérica superior foi removida e imersa em placa de Petri contendo solução de Tyrode a 37 °C, aerada com uma mistura carbogênica (95% de O<sub>2</sub> e 5% de CO<sub>2</sub>). Após remoção dos tecidos conectivo e adiposo, a artéria foi seccionada em anéis (2-4 mm) do primeiro segmento da artéria. Estes foram inseridos individualmente em alças de aço inoxidável e suspensos por linhas de algodão fixadas a um transdutor de tensão acoplado a





## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

um sistema de aquisição (AECAD 1604, software AQCAD 2.3.6, AVS Projetos, SP) para o registro das tensões isométricas.

Anéis com e sem endotélio vascular foram pré-contraídos com fenilefrina ( $10^{-5}$  M) e na fase tônica da contração foram adicionadas de forma cumulativa concentrações crescentes de  $\gamma$ -terpineno ( $10^{-9}$ - $10^{-2}$  M) para obtenção de uma curva concentração-resposta. Para investigar a resposta contrátil da fenilefrina na presença de concentrações de  $\gamma$ -terpineno, os anéis foram pré-incubados com diferentes concentrações de  $\gamma$ -terpineno ( $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  e  $10^{-6}$  M). Após 30 minutos, realizou-se uma curva cumulativa com a adição de fenilefrina ( $10^{-9}$  -  $10^{-5}$ ) para obtenção de uma curva concentração-resposta. Em outro protocolo, anéis foram pré-incubados com TEA 3 mM durante 30 minutos. Em seguida, foi induzida uma contração com fenilefrina ( $10^{-5}$  M) e na fase tônica da contração adicionou-se  $\gamma$ -terpineno de maneira cumulativa ( $10^{-9}$  -  $10^{-2}$  M). Os resultados obtidos foram expressos como média  $\pm$  E.P.M e utilizou-se o teste t de Student não pareado para análise de significância ( $p < 0,05$ ). Toda a análise estatística foi realizada utilizando o programa estatístico Graph-Pad Prism 6.0.

### Resultados e Discussão

A artéria mesentérica superior, por ser um vaso de pequeno calibre, participa da regulação da resistência vascular periférica global e, com isso, reflete as alterações pressóricas sistêmicas, podendo servir como modelo para a investigação da atividade biológica de substâncias naturais e sintéticas (WATTERSON et al., 2005).

Os resultados obtidos neste estudo mostraram que a adição cumulativa de  $\gamma$ -terpineno ( $10^{-9}$  -  $10^{-2}$  M) induziu um efeito vasorrelaxante dependente de concentração na presença ( $pD_2=5,58 \pm 0,02$ ;  $E_{m\acute{a}x}= 124,44 \pm 4,88\%$ ) e na ausência do endotélio vascular ( $pD_2=5,34 \pm 0,03$ ;  $E_{m\acute{a}x}= 128,21 \pm 7,23\%$ ) em anéis de artéria mesentérica superior pré-contraídos com fenilefrina (Figura 1). No entanto, não houve diferença estatística significativa na resposta induzida pelo monoterpene nas preparações estudadas, sugerindo que o vasorrelaxamento promovido pelo  $\gamma$ -terpineno não envolve fatores relaxantes derivados do endotélio.

A fenilefrina promove o aumento do tônus vascular pela estimulação de receptores  $\alpha 1$ -adrenérgicos e pelo aumento do influxo de cálcio pelos canais para cálcio operados por receptor (KARAKI; WEISS, 1988). Como pode ser observado na figura 2, a incubação de diferentes concentrações de  $\gamma$ -terpineno não atenuou de forma significativa as contrações induzidas pela adição cumulativa de fenilefrina, sugerindo que o  $\gamma$ -terpineno não influencia na resposta contrátil desencadeada por agonistas  $\alpha 1$ -adrenérgicos.

A ativação de canais para potássio na membrana do músculo liso vascular gera o aumento do efluxo de íons potássio causando uma hiperpolarização da membrana celular, levando ao fechamento dos canais de cálcio dependentes de voltagem, desencadeando vasodilatação (SOBEY et al., 2001). Na presente pesquisa, a incubação de TEA 3 mM, um inibidor não seletivo de canais de potássio (McCULLOCH, 1997), promoveu um acentuado

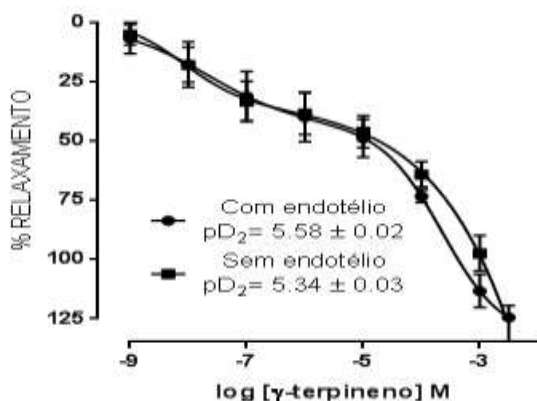


## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

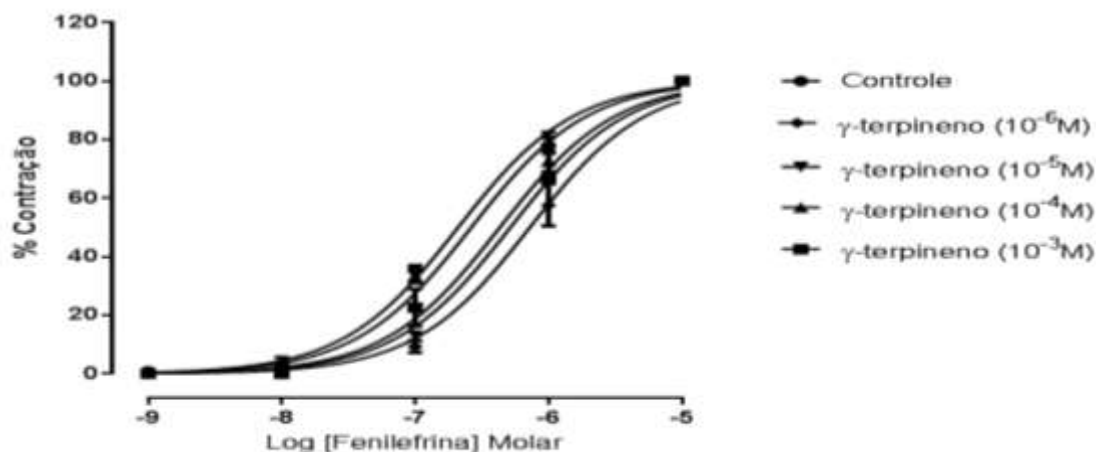
Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

deslocamento da curva concentração-resposta para a direita, com atenuação significativa do efeito máximo (endotélio removido:  $pD_2 = 5,34 \pm 0,03$ ;  $E_{máx} = 128,21 \pm 7,23\%$ ; TEA 3 Mm:  $pD_2 = 3,75 \pm 0,09^*$ ;  $E_{máx} = 110,14^*$ ) (Figura 3), indicando o envolvimento de canais para potássio no efeito vasorrelaxante promovido pelo  $\gamma$ -terpineno.

**Figura 1.** Curvas concentração-resposta do efeito vasorrelaxante do  $\gamma$ -terpineno em anéis de artéria mesentérica superior pré-contraídos com fenilefrina na presença (●) e na ausência (■) do endotélio vascular.



**Figura 2.** Curvas concentração-resposta para fenilefrina na presença de diferentes concentrações de  $\gamma$ -terpineno em anéis de artéria mesentérica superior isolada de ratos.



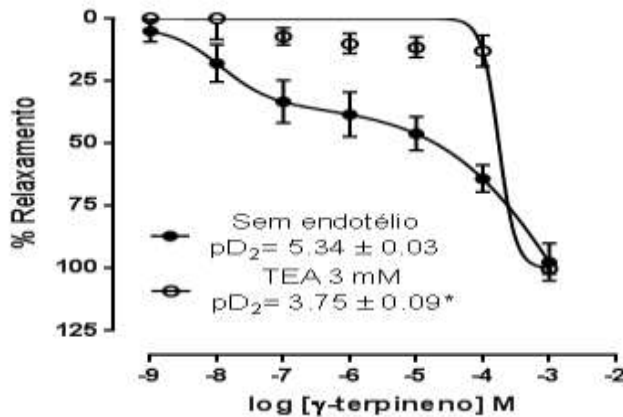
Contudo, é necessário realizar experimentos adicionais para identificar o subtipo de canal para potássio que participa do mecanismo de ação subjacente à resposta vasorrelaxante induzida pelo  $\gamma$ -terpineno.



## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

**Figura 03.** Curvas concentração-resposta do efeito vasorrelaxante do  $\gamma$ -terpineno ( $10^{-9}$  -  $10^{-2}$  M) em anéis de artéria mesentérica superior isolada de ratos sem endotélio pré-contraídos com fenilefrina ( $10^{-5}$  M), na ausência (●) e na presença TEA 3 mM (◐).



### Conclusão

Os resultados obtidos neste estudo demonstraram que o  $\gamma$ -terpineno exerce efeito vasorrelaxante de maneira dependente de concentração e independente do endotélio vascular em anéis de artéria mesentérica superior isolada de ratos, envolvendo provavelmente os canais para potássio.

**Palavras-chave:**  $\gamma$ -terpineno, Vasorrelaxamento, Artéria Mesentérica.

### Referências

- ABDESLAM, J. et al. Chemical composition and antitumor activity of different wild varieties of Moroccan thyme. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.17, n.4, p.477- 491, 2007.
- DAUGHERTY, A.; ROSELAAR, S. E. Lipoprotein oxidation as a mediator of atherogenesis: insights from pharmacological studies. **Cardiovascular Research**, v. 29, n.3, p. 297-311, 1995.
- KARAKI, H.; WEISS, G. B. Calcium release in smooth muscle. **Life Sciences**, v. 42, p. 111-122, 1988.
- McCULLOCH, A. L. et al. Characterization and modulation of EDHF-mediated relaxations in the rat isolated superior mesenteric arterial bed. **British Journal of Pharmacology**, v. 120, n.8, p. 1431-1438, 1997.
- PAIVA, T. B.; FARIAS, N. C. Mecanismos da contração do músculo liso vascular. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v.12, n. 12, p. 89 - 92, 2005.



## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

RAMOS, E. T. A.; BORGES, C. K. S.; TEBALDI, V. M. R. Atividade bactericida dos extratos hidroalcoólicos de hera-roxa e capim-limão e dos óleos essenciais de orégano, tomilho e melaleuca sobre *Xanthomonas albilineans*. **Cadernos UniFoa**. n. 19, 2012.

SILVA, J. P. L. et al. Óleo essencial de orégano: interferência da composição química na atividade frente a *Salmonella* Enteritidis. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n.1, p. 136-141, 2010.

SANTOS, M. E. P. *et al.* Hypotensive and vasorelaxant effects induced by the ethanolic extract of the *Mimosa caesalpinifolia* Benth. (Mimosaceae) inflorescences in normotensive rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 164, p. 120–8, 2015.

TAKAHASHI, Y. et al. Effects of  $\gamma$ -terpinene on lipide concentrations in serum using Triton WR1339-treated rats. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 67, n. 11, p. 2448-2450, 2003.

WATTERSON, K. R.; RATZ, P. H.; SPIEGEL, S. The role of sphingosine-1-phosphate in smooth muscle contraction. **Cellular Signalling**. v. 17, n.3, p. 289-298, 2005.



# II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

## Estudo da ação farmacológica do mentofurano no sistema gastrointestinal de roedores

Naira Moura Alves<sup>3</sup>, Tiago Medeiros da Silva<sup>1</sup>, Jéssica Vanessa Lindoso<sup>2</sup>, Railson de Sousa Santos<sup>2</sup>, Ana Karolinne da Silva Brito<sup>2</sup>, Paulo Humberto Moreira Nunes<sup>1</sup>, Maria do Carmo Carvalho e Martins<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Depto. Biofísica e Fisiologia/CCS-UFPI; <sup>2</sup>Núcleo de Pesquisa em Plantas Mediciniais (NPPM)-UFPI; <sup>3</sup>CPCE-UFPI.  
nayrinhamv@gmail.com

### 1. Introdução

A utilização de plantas medicinais como recurso terapêutico alternativo é amplamente difundida na região Nordeste (ALVES et al. 2007; FREITAS et al., 2012). Dentre essas plantas, a *Mentha piperita* (Lamiaceae) se destaca pelo uso do seu óleo essencial, composto majoritariamente pelos monoterpenos mentona, mentofurano, pulegona, acetato de mentila e mentol (SOUSA et al. 2006). Cientificamente pouco se conhece sobre a atividade farmacológica do mentofurano, presente em óleos essenciais de várias plantas utilizadas na medicina popular no combates de diversas patologias, dentre elas os distúrbios gastrointestinais (SILVA et al. 2006). Assim, tornou-se objetivo deste trabalho, investigar a atividade do mentofurano na motilidade intestinal fisiológica e sobre a hiperomotilidade induzida por óleo de rícino.

### 2. Metodologia

O projeto do qual faz parte o subprojeto ora apresentado foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal do Piauí (parecer nº 008/12).

Para a investigação da atividade sobre o trânsito intestinal no modelo do carvão ativado, camundongos (20-40 g), mantidos em jejum por 18 horas, foram tratados por via oral com veículo (Tween-80 1%, 10 mL/kg), mentofurano (25, 50 ou 100 mg/kg) ou escopolamina (12 mg/kg). Trinta minutos após os tratamentos, os animais receberam, por via oral, 1 mL/100 g de suspensão contendo carvão ativado 2,5% em carboximetilcelulose 3%, e, após mais 30 minutos, foram eutanasiados. A seguir, o estômago e o intestino delgado de cada animal foram retirados para a determinação do trânsito intestinal avaliado pela razão entre a distância percorrida pelo carvão, do piloro até a última porção do intestino delgado que contivesse pelo menos 1 cm contínuo de carvão, e o comprimento total do intestino delgado, expressa como porcentagem.

Para o estudo da hiperomotilidade induzida por óleo de rícino, camundongos (20-40 g), mantidos em jejum por 18 horas, foram distribuídos aleatoriamente em seis grupos de oito animais. Os animais do primeiro grupo foram tratados, por via oral com água e os demais com óleo de rícino (0,2 mL/animal). Passados 30 minutos, os animais do primeiro grupo (normal) e do segundo grupo (controle diarreia) receberam veículo (5 mL/kg, v.o.). Os quatro outros grupos receberam mentofurano (25, 50 ou 100 mg/kg) ou loperamida na dose de 6 mg/kg (grupo padrão). A seguir, os animais foram acompanhados individualmente por 4 horas, efetuando-se a quantificação da excreção de





## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

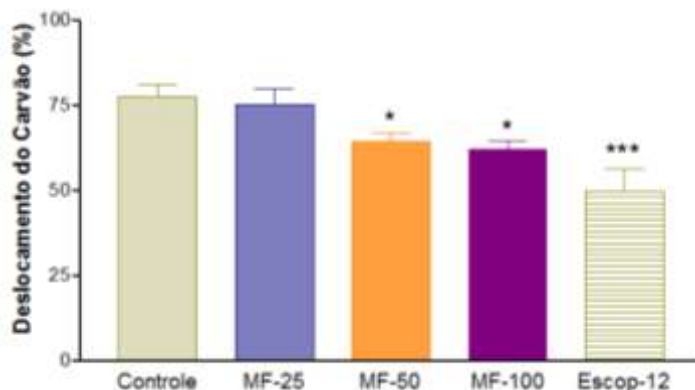
Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

fezes líquidas após 30, 60, e 90 min e 2, 3 e 4 horas, a fim de avaliar a velocidade de indução e a severidade da diarreia provocada pelo óleo de rícino.

Os dados obtidos foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da media (EPM). A comparação estatística entre os grupos foi efetuada utilizando-se ANOVA seguida do teste de múltipla comparação de Newman Keuls ou de Tuckey. A significância foi estabelecida ao nível de  $p < 0,05$ .

### 3. resultados

**Trânsito intestinal:** O mentofurano reduziu significativamente o trânsito intestinal nas doses de 50 mg/kg ( $64,46 \pm 2,64\%$ ) e 100 mg/kg ( $62,36 \pm 2,36\%$ ), bem como a escopolamina ( $49,98 \pm 6,75\%$ ), quando comparados ao controle ( $77,62 \pm 3,60\%$ ). Na dose de 25 mg/kg o mentofurano não alterou o trânsito intestinal ( $75,23 \pm 4,83\%$ ) (Figura 1).



**Figura 1: Efeito do mentofurano (25, 50 e 100 mg/kg) e da escopolamina (12 mg/kg) sobre o trânsito intestinal de camundongos conforme o método do carvão ativado.**

Os dados são apresentados como média (M)  $\pm$  erro padrão da média (E.P.M.). (\*)  $p < 0,05$  e (\*\*\*)  $p < 0,001$  comparados ao grupo controle (ANOVA e teste de Newman Keuls). Escop = escopolamina; MF = mentofurano.

**Diarreia induzida por óleo de rícino:** O óleo de rícino provocou uma diarreia com início após meia hora e duração de 4 horas. O mentofurano na dose de 100 mg/kg e a loperamida (12 mg/kg) reduziram significativamente a eliminação total de fezes moles ao longo das 4 horas de observação (Tabela 2).

**Tabela 01 – Efeito do mentofurano (25, 50, e 100 mg/kg) e da loperamida (6 mg/kg) sobre a eliminação de fezes moles 4 h após indução de hipermotilidade intestinal por óleo de rícino em camundongos.**

Tratamento	n	Dose	Eliminação de fezes moles (n/4 h; Média $\pm$ EPM)	Inibição da diarreia (%)
Normal	8	---	0,13 $\pm$ 0,13	---
Controle	8	10 mL/kg	17,31 $\pm$ 1,94	0,0



## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

Mentofurano	8	25 mg/kg	15,00 ± 1,04	NS
	8	50 mg/kg	12,93 ± 1,15	NS
	8	100 mg/kg	11,36 ± 2,07*	34,4
Loperamida	8	6 mg/kg	4,79 ± 0,75***	72,3

Os dados são apresentados como média (M) ± erro padrão da média (E.P.M.). NS: Não significativo; (\*)  $p < 0,05$  e (\*\*\*)  $p < 0,001$ ; comparados a grupo controle (ANOVA e teste de Newman Keuls). EPM = erro padrão da média.

Em todos os grupos tratados a diarreia instalou-se meia hora após a administração do óleo de rícino. No grupo tratado com loperamida, a diarreia foi totalmente inibida após uma e meia hora. Nos grupos tratados com mentofurano, nas doses de 50 e 100 mg/kg, a inibição total também ocorreu, mas apenas após a terceira hora de observação (Figura 2).

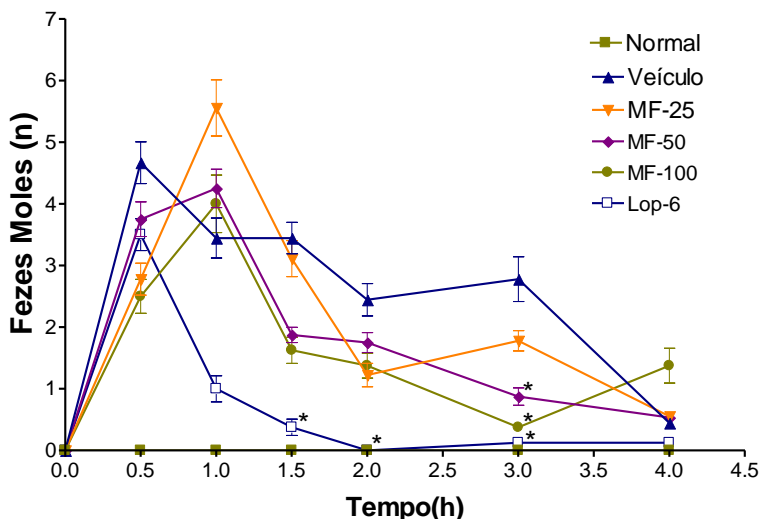


Figura 2: Efeito do mentofurano (25, 50, e 100 mg/kg) e da loperamida (6 mg/kg) sobre a eliminação de fezes moles 30, 60, 90 min e 2, 3 e 4 h após indução de hipermotilidade intestinal por óleo de rícino em camundongos.

Os dados são apresentados como média (M) ± erro padrão da média (E.P.M.). (\*)  $p < 0,05$  comparados ao grupo veículo (ANOVA e teste de Tuckey). Lop = loperamida; MF = mentofurano.

#### 4. Conclusão

Os resultados obtidos indicam que o mentofurano apresenta potencialidades de uso como ferramenta farmacológica ou como droga antidiarreica e na redução da motilidade intestinal, desde que estudos complementares sejam efetuados, como por exemplo, a respeito de sua toxicidade e atividade sobre outros sistemas do organismo.

Palavras chave: Mentofurano, Produtos Naturais, Motilidade Gastrointestinal.



## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

### REFERÊNCIAS

ALVES, R. R. N., SILVA, A. A. G., SOUTO, W. M. S. & BARBOZA, R. R. D. Utilização e comércio de plantas medicinais em Campina Grande, PB, Brasil. **Revista Eletrônica de Farmácia**, 4(2): 175-198, 2007.

FREITAS, A. V. L., COELHO, M. F. B., AZEVEDO, R. A. B., MAIA, S. S. S. Os raizeiros e a comercialização de plantas medicinais em São Miguel, Rio Grande do Norte, Brasil. **R. Bras. Bioci.**, v. 10, n. 2, p. 147-156, 2012.

SILVA, M. S.; ANTONIOLLI, A. R.; BATISTA, J.S; MOTA, C. N. Plantas medicinais usadas nos distúrbios do trato gastrointestinal no povoado Colônia Treze, Lagarto, SE, Brasil. **Acta Bot. Bras.** [online], vol.20, n.4, pp. 815-829, 2006. ISSN 0102-3306.

SOUZA, W.P., QUEIROGA, C.L., SARTORATTO, A., HONÓRIO, S.L. Avaliação do teor e da composição química do óleo essencial de *Mentha piperita* (L.) Huds durante o período diurno em cultivo hidropônico. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.8, n.4, p.108-111, 2006.



## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

### **Atividade espasmolítica do extrato etanólico das folhas de *Combretum mellifluum* Eichler em anéis de aorta isolada de rato**

Daniel Barbosa Nunes<sup>1</sup> (IC/CNPQ/UFPI); Thiago Oliveira Rodrigues<sup>1</sup> (IC/CNPQ/UFPI); Pedro Simão da Silva Azevedo<sup>1</sup> (ICV/UFPI); Mariana Helena Chaves<sup>2</sup> (colaboradora Depto. de Química/CCN/UFPI); Aldeídia Pereira de Oliveira<sup>3</sup> (colaboradora NPPM/UFPI); Rosimeire Ferreira dos Santos<sup>3</sup> (colaboradora NPPM/CCS/UFPI); Rita de Cássia Meneses Oliveira<sup>3</sup> (orientadora NPPM/CCS/UFPI).

<sup>1</sup> Acadêmicos de farmácia-UFPI, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, Brasil.

<sup>2</sup> Departamento de química, Centro de Ciências da natureza, Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, Brasil

<sup>3</sup> Núcleo de pesquisa em plantas medicinais, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, Brasil.

### **Introdução**

O conhecimento sobre atividades medicinais de plantas vem desde o início da humanidade, onde os homens buscam na natureza recurso que retomem a homeostasia corpórea e assim recuperação da saúde humana. Com o desenvolvimento da indústria farmacêutica esses recursos inicialmente usados na medicina popular passaram a ser usado na medicina moderna que trata das formas mais sofisticadas de fabricação industrial de medicamentos (LORENZI; MATOS 2008). Cerca de 80% da população do mundo utiliza plantas medicinais para fins de saúde (AGISHO et al, 2014), e pelo menos, 25% das drogas modernas contêm um ou mais princípios ativos de origem vegetal (ENYEW et al, 2014).

O gênero *Combretum* é maior da família da Combretaceae. Plantas deste gênero são empregadas no tratamento de câncer, lepra, dores lombares, dor de cabeça, resfriados, infertilidade feminina, doenças cardíacas, picadas de cobras e escorpião, infecções, diabetes, malária, hemorragias, diarreia, desordens digestivas e como diuréticas (LIMA et al., 2012). As espécies desse gênero apresentam inúmeros metabólitos secundários com atividades farmacológicas conhecidas, como taninos, di e triterpenos e seus derivados glicosilados, saponinas, flavonóides, cumarinas, estilbenos, derivados do ácido elágico e de fenantreno, alcalóides e bibenzilas. (FARIAS et al, 2015).

A espécie *Combretum mellifluum* Eichler conhecida popularmente por mofumbo-da-chapada, distribui-se nas regiões Norte (AC, PA, TO), Nordeste (BA, CE, MA, PI), Centro-Oeste (GO, MS, MT) e Sudeste (MG) (FARIAS et al, 2015). O objetivo do presente trabalho consiste em avaliar o efeito vasorelaxante do extrato etanólico das folhas de *C. mellifluum* Eichler em anéis de aorta isolada de rato.

### **Metodologia**

O extrato etanólico de *Combretum mellifluum* Eichler (Cm-EtOH) foi obtido e cedido pelos nossos colaboradores do Laboratório de Produtos Naturais do Departamento de Química/CCN/UFPI, sob a coordenação da Profa. Dra. Mariana Helena Chaves.



## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

Foram utilizados ratos Wistar machos (*Rattus norvegicus*) provenientes do Biotério Setorial do Núcleo de Pesquisas em Plantas Mediciniais-NPPM/UFPI. Os protocolos experimentais foram submetidos à aprovação pelo Comitê de Ética em Experimentação com Animais da UFPI (CEEA: Parecer 008/12). Todos os procedimentos experimentais estão em conformidade com a Legislação vigente e com o projeto maior já aprovado.

Os animais foram eutanasiados por anestesia (tiopental sódico 75 mg/kg i.m.) a aorta foi retirada livre de tecido conectivo e adiposo, seccionada em anéis de 2-4 mm. Os anéis foram mantidos em cubas para órgão isolado, contendo 6 mL de solução de Krebs Normal, a 37° C, estabilizados por 60 minutos e gaseificada com uma mistura de 95 % de O<sub>2</sub> e 5 % de CO<sub>2</sub>. Durante este tempo as soluções nutritivas foram trocadas a cada 15 minutos para prevenir a interferência de metabólitos (ALTURA; ALTURA, 1970). Os anéis foram pré-contraído com fenilefrina 10 µM na ausência e na presença do endotélio vascular, que foi verificada pelo relaxamento dos anéis, após adição de acetilcolina 10 µM. Foram considerados com endotélio funcional os anéis com relaxamento superior a 50% da pré-contracção com fenilefrina. Já os anéis com relaxamento inferior a 10%, foram considerados sem endotélio funcional (FURCHGOTT; ZAWADZKI, 1980). Anéis com relaxamento entre 10 e 50% foram utilizados em outros protocolos. Durante a fase tônica de uma segunda contração induzida por fenilefrina, adicionou-se cumulativamente o Cm-EtOH (0,1 – 1000 µg/mL), para obtenção de uma curva concentração-resposta e assim, avaliou-se o efeito vasorelaxante do Cm-EtOH. Os valores foram expressos como média ± E.P.M., sendo considerados  $p < 0,05$  para significância estatística. Em todos estes procedimentos foram utilizados o programa estatístico GraphPad Prism, versão 6,00.

### Resultados e Discussão

O Cm-EtOH induziu efeito vasorelaxante dependente de concentração e independente de endotélio sobre a contração tônica induzida por fenilefrina (10 µM) em anéis de aorta isolados de rato (Figura 01), apresentando  $CE_{50} = 242,9 \pm 40,78$  para os anéis sem endotélio e  $CE_{50} = 471,2 \pm 65,06$  para os anéis com endotélio vascular.

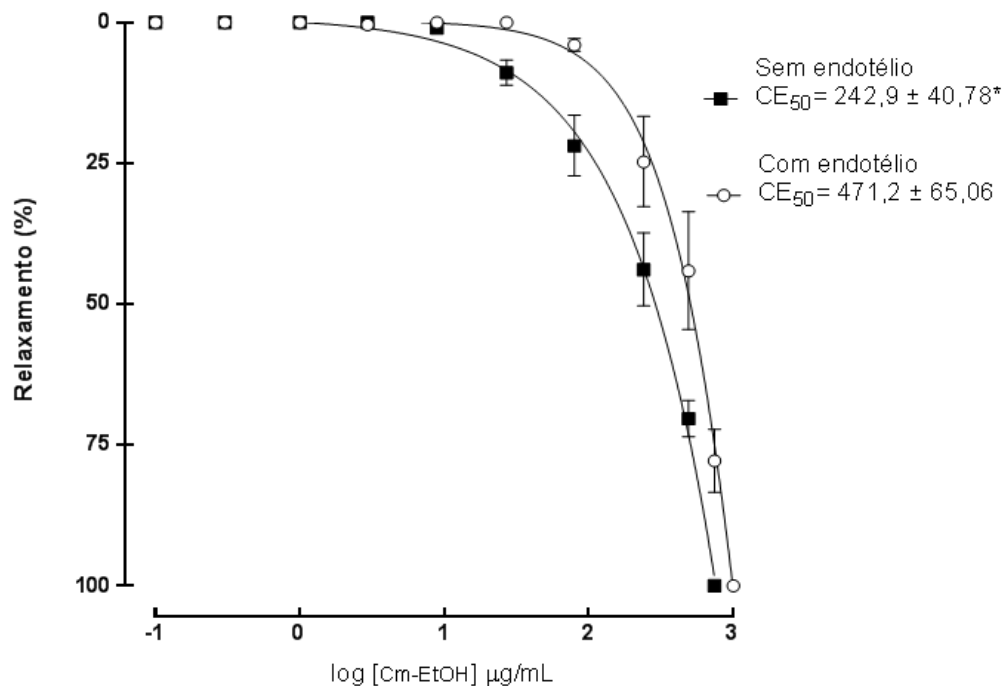




## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

**Figura 01** – Efeito do extrato etanólico de *Combretum mellifluum* Eichler (Cm-EtOH) sobre as contrações tônicas induzidas por (fenilefrina 10  $\mu$ M) em anéis de aorta isolada de rato (n=5). Os símbolos (■) (○) e a barra vertical representam a média  $\pm$  e.p.m.



Diante dos resultados supracitados o principal achado desse trabalho é o potencial vasorrelaxante do Cm-EtOH em anéis de aorta com e sem endotélio, como ocorre em algumas drogas anti-hipertensivas que utilizam a diminuição da resistência vascular por meio da dilatação direta dos vasos sanguíneos como mecanismo para a diminuição da pressão arterial, principalmente em de vasos de condutância ou de resistência como é o caso da aorta e da artéria mesentérica. (SUN et al, 2011).

Para avaliar o efeito vasorrelaxante induzido pelo Cm-EtOH utilizou-se um agente contrátil, a fenilefrina, um agonista dos receptores  $\alpha$ -1adrenérgicos, que está ligado a proteína Gq/11. Ao ser ativado, induz a formação de inositol-1,4,5-trifosfato ( $IP_3$ ) e diacilglicerol (DAG) por meio da hidrólise do fosfatidilinositol 4,5-bifosfato ( $PIP_2$ ) da membrana plasmática. O  $IP_3$  liga-se ao seu receptor no retículo sarcoplasmático ( $RIP_3$ ), que induz a liberação de cálcio, gerando, assim, um processo de contração do músculo liso vascular (ZHANG et al., 2010). Essa atividade pode se dar agindo diretamente sobre o endotélio vascular ou no musculo liso.

Devido ao efeito vasorelaxante ser apresentado tanto na presença como na ausência de endotélio em todos os anéis de aorta utilizados nos experimentos, considera-se a adição cumulativa do Cm-EtOH promoveu um efeito vasorrelaxante em anéis de aorta pré-contraído com fenilefrina de maneira dependente de concentração e independente de endotélio vascular. Nesse caso considera-se que esse efeito vasorelaxante independente de endotélio vascular tenha se dado pelo bloqueio do influxo de  $Ca^{2+}$  através



## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

de canais para  $\text{Ca}^{2+}$  transmembrana ou pela inibição da liberação de  $\text{Ca}^{2+}$  dos estoques intracelulares mediado por agonista ou pela abertura de canais para  $\text{K}^+$  ou pela inibição do aparato contrátil (CHEN et al., 2009).

### Conclusão

Diante disso conclui-se que o Cm-EtOH promoveu um efeito vasorelaxante em anéis de aorta pré-contraídos por fenilefrina de maneira dependente de concentração e independente de endotélio vascular.

**Palavras-chave:** Combretum. Aorta. Plantas Medicinais.

### Referências

- AGISHO, H.; OSIE, M.; LAMBORE, T. Traditional medicinal plants utilization, management and threats in Hadiya Zone, Ethiopia. **Journal of Medicinal Plants Studies**. Vol. 2, p. 94–108, 2014.
- ALTURA, B. M.; ALTURA, B. T. Differential effects of substrate depletion on drug-induced contractions of rabbit aorta. **American Journal of Physiology**.v. 219, p.1698 - 1705, 1970.
- CHEN, G. P.; YE, Y.; LI, Y. Y.; QIAN, A.; HU, S. Endothelium-independent vasorelaxant effect of sodium ferulate on rat thoracic aorta. **Life Sciences**, v. 84, p. 81–88, 2009.
- ENYEW, A.; ASFAW, Z.; KELBESSA, E.; NAGAPPAN, R.. Ethnobotanical study of traditional medicinal plants in and around Fiche District, Central Ethiopia. Current **Research Journal of Biological Sciences**. vol. 6, p.154–167, 2014.
- FARIAS, R. R. S.; PEREIRA, E. T. V. ; CHAVES, M. H. ; CASTRO, A. A. J. F. . Prospecção científica e tecnológica das espécies Combretum duarceanum Cambess E Combretum mellifluum Eichler. **Revista GEINTEC: gestao, inovacao e tecnologias**, v. 5, p. 1606-1616, 2015.
- FURCHGOTT, R. F.; ZAWADZKI, J. V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. **Nature**, 288: 373-376, 1980.
- LIMA, G. R. M. et al. Bioactivities of the Genus Combretum (Combretaceae): **A Review. Molecules**, v. 17, p. 91429206, 2012
- LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. Plantas Medicinais no Brasil: nativas e exóticas. 2ª ed. Nova Odessa, Instituto Plantarum, 2008.



## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

SUN, T.; LIU, R.; CAO, Y. Vasorelaxant and Antihypertensive effects of formononetin through endothelium dependent and -independent mechanisms. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 32, p.1009–1018, 2011.

ZHANG, Y.; WANG, Q.L.; ZHAN, Y.Z.; DUAN, H.J.; CAO, Y.J., HE, L.C. Role of storeoperated calcium entry in imperatorin-induced vasodilatation of rat small mesenteric artery. European **Journal of Pharmacology**, v. 647, p.126–131, 2010.

**Agradecimentos:** UFPI/CNPQ



# II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

## Ação antinociceptiva do terpinoleno em modelos de neuropatia por injúria nervosa

Hildeneide Rocha Lima<sup>3</sup>, Jullyan Sttefanny Martins Castelo Branco<sup>1</sup>, Willian Amorim Dias<sup>2</sup>, Lúcio Fernandes Pires<sup>1</sup>, George Laylson da Silva Oliveira<sup>1</sup>, Everton Moraes Lopes<sup>1</sup>, Fernanda Regina de Castro Almeida<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Núcleo de pesquisas em plantas medicinais, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, Brasil. [hildalima62@gmail.com](mailto:hildalima62@gmail.com)

<sup>2</sup>discente do curso de farmácia, AESPI - Associação de Ensino Superior do Piauí, Teresina-PI, Brasil

### Introdução

Para o tratamento da dor sabe-se que ainda não existe no mercado um fármaco analgésico ideal, ou seja, que não promova muitos efeitos colaterais. Embora sejam altamente eficazes, os analgésicos de ação central, assim como os analgésicos de ação periférica também apresentam efeitos indesejáveis (RANG et al., 2012). Assim, tem-se a necessidade de buscar alternativas terapêuticas para o tratamento da dor (SILVA, 2013). O terpinoleno (TPO) é um monoterpeno encontrado em espécies vegetais farmacologicamente ativas, como a *Protium heptaphyllum* March, e apresenta semelhança com monoterpenos com ação antinociceptiva, como o limoneno (SOUSA, 2012). Dessa forma, considerando esse potencial antinociceptivo promissor, buscou-se investigar a ação do terpinoleno em modelos de dor neuropática.

### Metodologia

Foram utilizados camundongos (*Mus musculus*) albinos, fêmeas (25-30g, n=6-8). Os protocolos foram realizados após aprovação pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFPI (CEEA/UFPI N° 82/2014). A neuropatia foi induzida através do procedimento de Compressão Parcial do nervo Ciático (CPC), no qual o nervo foi exposto e circundado por um fio de sutura de seda (3-0) (MOSCONI; KRUGER, 1996), após a instalação da neuropatia foi feita a avaliação nociceptiva mecânica nos animais com os filamentos de von Frey (CHAPLAN et al., 1994) e o teste de sensibilidade térmica ao frio (10 °C, teste da acetona) foi utilizado para a avaliação da nocicepção térmica (FLATTERS; BENNET, 2004). Esses testes nociceptivos foram feitos antes do procedimento cirúrgico para obtenção de valores basais e nos dias pós-operatórios 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8. Em todos os dias, após os testes, os animais eram tratados com terpinoleno (100 mg/kg, v.o), terpinoleno (200 mg/kg, v.o.) veículo (água destilada + Tween 80, v.o.) e pregabalina (10 mg/kg, v.o.) ou morfina (5 mg/kg, v.o.) como controle positivo. Desse modo, fez-se a avaliação do efeito subagudo destas substâncias.

### Resultados e Discussão

A neuropatia é uma síndrome complexa, com diversos mecanismos envolvidos. Teorias inflamatórias e imunes estão entre os principais, mas há ainda, o envolvimento do estresse oxidativo e da degeneração nervosa. Esses



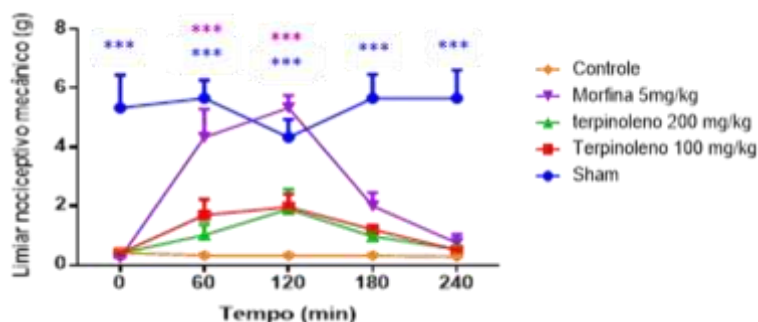
## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

fatores somados interferem na condução normal dos impulsos dolorosos (KRAYCHETE et al., 2008).

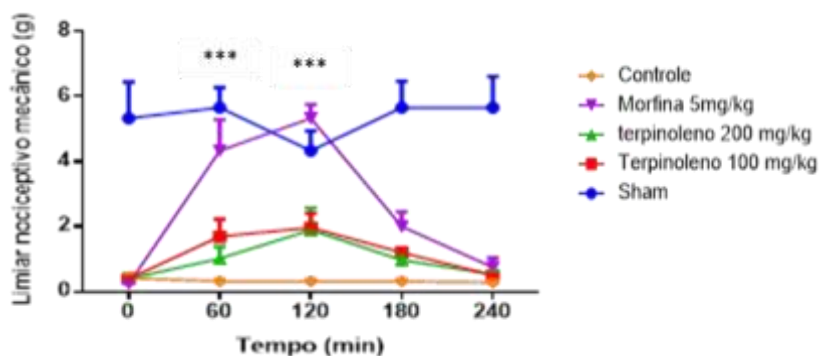
Os dados da figura 1 mostram que as administrações agudas de terpinoleno 100 e 200 mg/kg não demonstraram efeito antinociceptivo por não alterarem o limiar nociceptivo mecânico (LNM) dos animais. Apenas o grupo morfina aumentou significativamente ( $p < 0.001$ ) esse limiar nos tempos 60 e 120 minutos.

**Figura 1.** Efeito do terpinoleno sobre o limiar nociceptivo mecânico (LNM), expresso em gramas, de camundongos Swiss fêmeas após a ligadura do nervo ciático no tratamento agudo. Avaliados pelo teste de von Frey. Os grupos ( $n = 6$  a  $8$ ) receberam terpinoleno (100 e 200 mg/kg v.o.), veículo (água destilada + tween 80, v.o.) ou morfina (5 mg/kg i.p.) ( $***p < 0,001$  comparado com grupo veículo; ANOVA duas vias, Teste de Tukey). Dados expressos em média  $\pm$  E.P.M.



No teste da acetona, aos 60 minutos da administração de TPO 100 mg/kg v.o, foi observada uma redução significativa ( $p < 0,01$ ) no escore ( $1,50 \pm 0,34$ ). Já no tempo de 120 minutos além do grupo terpinoleno 100 mg/kg ( $1,33 \pm 0,21$ ) o grupo terpinoleno 200 mg/kg ( $1,50 \pm 0,22$ ) reduziram significativamente os escores em relação ao controle ( $2,67 \pm 0,21$ ) como mostra a figura 2.

**Figura 2.** Efeito do terpinoleno sobre o escores de sensibilidade térmica de camundongos Swiss fêmeas após a ligadura do nervo ciático no tratamento agudo. Avaliados pelo teste da acetona. Os grupos de animais ( $n = 6$  a  $8$ ) receberam terpinoleno (100 e 200 mg/kg v.o.), veículo (água destilada + tween 80, v.o.) ou morfina (5 mg/kg i.p.) ( $**p < 0,01$ ,  $***p < 0,001$  comparado com grupo veículo; ANOVA duas vias, Teste de Tukey). Dados expressos em média  $\pm$  E.P.M.





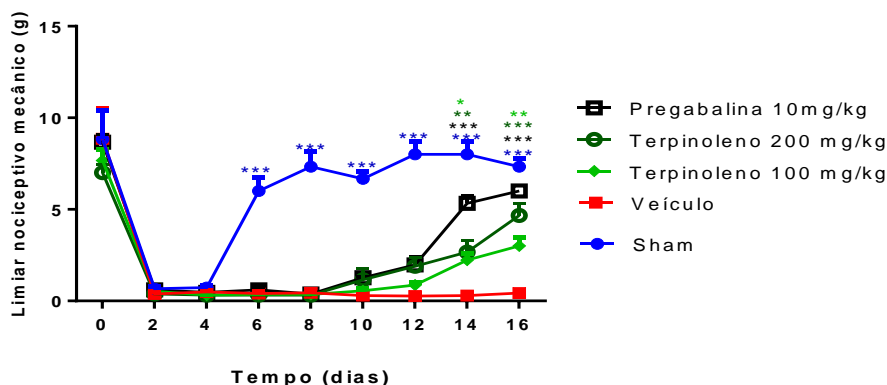


## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

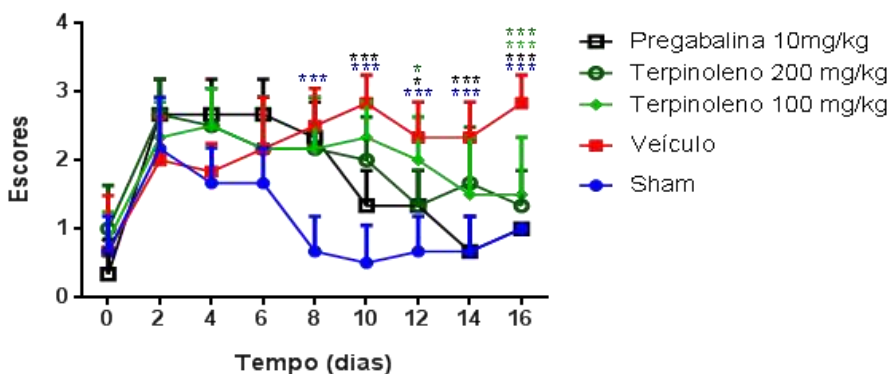
Após a avaliação aguda foi realizado o teste subagudo, e os resultados mostram que os animais tratados com terpinoleno (100mg/kg) e com terpinoleno (200 mg/kg) apresentaram efeitos significativos no aumento do limiar de retirada da pata no 16º dia, com uma média de  $3,0 \pm 0,44$  (\* $p < 0,05$ ) e  $4,66 \pm 0,66$  (\*\* $p < 0,01$ ), respectivamente (figura 3).

**FIGURA 3.** Avaliação do efeito do pós-tratamento com terpinoleno sobre o limiar de retirada de pata de camundongos *Swiss* fêmeas (25-30g), submetidos ao teste de filamentos de von Frey na neuropatia periférica induzida por Compressão Parcial de Ciático. Os grupos (n = 6 a 8) receberam terpinoleno (100 e 200 mg/kg v.o.), veículo (v.o.) ou pregabalina (10 mg/kg v.o.). (\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$  e \*\*\* $p < 0,001$  comparado com grupo veículo; ANOVA duas vias, Teste de Tukey).



A figura 4 demonstra que, no teste de sensibilidade térmica ao frio (teste da acetona), os animais tratados com terpinoleno tanto de 100 como 200 mg/kg apresentaram significativa (\*\* $p < 0,01$ ) redução do escore, com média de escore de  $1,50 \pm 0,34$  e  $1,33 \pm 0,21$ , respectivamente, isso no 16º dia após a CPC. Estes resultados estão em concordância com relatos na literatura, que mostram a efetividade de monoterpenos, tanto de forma específica como geral, de bloquear a hipersensibilidade mecânica e térmica ao frio, induzida por esse modelo (CAMARGO; VASCONCELOS, 2014).

**FIGURA 4.** Avaliação do efeito do pós-tratamento com terpinoleno sobre o escore de resposta nociceptiva de camundongos *Swiss* fêmeas (25-30g), submetidos ao teste de sensibilidade térmica ao frio (teste da acetona) na neuropatia periférica induzida por Compressão Parcial de Ciático. Os grupos de animais (n = 6 a 8) receberam terpinoleno (100 e 200 mg/kg v.o.), veículo (v.o.) ou pregabalina (10 mg/kg v.o.). (\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$  e \*\*\* $p < 0,001$  comparado com grupo veículo; ANOVA duas vias, Teste de Tukey).





## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

Diversas pesquisas têm demonstrado o potencial analgésico de monoterpenos, caracterizado os seus mecanismos de ação, e destacado nessa classe, novas opções para o tratamento da dor. O carvacrol, limoleno,  $\alpha$ -felandreno, terpineol e o pineno estão nesse grupo de monoterpenos que apresentam atividade antinociceptiva (GUIMARÃES; QUINTANS; QUINTANS-JÚNIOR, 2013).

### Conclusão

Conforme o presente estudo foi demonstrado que o terpinoleno promove efeito antinociceptivo no modelo de neuropatia periférica induzida por ligadura do nervo ciático, possuindo propriedades potenciais para o tratamento da dor, por aumentar o limiar nociceptivo mecânico e térmico de animais neuropáticos.

**PALAVRAS-CHAVE:** Terpinoleno. Monoterpeno. Neuropatia.

### Referências

- CARMARGO, S. B.; VASCONCELOS, D. F. S. A. Atividades biológicas de Linalol: conceitos atuais e possibilidades futuras deste monoterpeno. **Rev. Ciênc. Méd. Biol.**, v. 13, n. 3 – especial, p. 381-387, 2014.
- CHAPLAN, S. R. et al. Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw. **J Neurosci Methods**, v. 53, p. 55-63, 1994.
- FLATTERS, S.J.L.; BENNETT G.J. Ethosuximide reverses paclitaxel- and vincristine induced painful peripheral neuropathy. **Pain**, v. 109, p.150-61, 2004.
- GUIMARÃES, A. G., et al. Monoterpenes with Analgesic Activity-A Systematic Review. **Phytother. Res.**v.27, p.1-15, 2012.
- KRAYCHETE, D.C., et al. Dor Neuropática – Aspectos Neuroquímicos. **Rev. Bras. Anestesiol.**, v. 58, n. 5, p. 492-505, 2008.
- MOSCONI, T.; KRUGER, L. Fixed-diameter polyethylene cuffs applied to the rat sciatic nerve induce a painful neuropathy: ultrastructural morphometric analysis of axonal alterations. **Pain**, v. 64, p.37–57, 1996.
- RANG H. P, et al. **Farmacologia**. 7a ed. Rio de Janeiro: Elsevier. 2012.
- SILVA, J. C. Modelos experimentais para avaliação da atividade antinociceptiva de produtos naturais: uma revisão. **Rev. Bras. Farm.** v.94, n.1, p. 18-23, 2013.
- SOUSA, L. Q., et al. Investigação do efeito do monoterpeno terpinoleno na dor inflamatória. 2012. Disponível em: <http://leg.ufpi.br/21sic/ Documentos/ RESUMOS/Modalidade/Vida/Livia%20Queiroz.pdf>. Acesso em: 22 fev. 2017.



# II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

## Avaliação da atividade toxicológica e antinociceptiva do óxido de rosa em roedores

Yuri Lima de Abreu<sup>4</sup>, Everton Moraes Lopes<sup>2</sup>, Marluce Pereira Damasceno Lima<sup>2</sup>, Celyane Alves Piauilino<sup>2</sup>, Larissa Cristina Teixeira Furtado Leite<sup>3</sup>, Laércio da Silva Gomes<sup>1</sup>, Fernanda Regina de Castro Almeida<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Acadêmico de Farmácia da Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, Brasil. [yurilima72@gmail.com](mailto:yurilima72@gmail.com)

<sup>2</sup>Doutorando em biotecnologia – RENORBIO - Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, Brasil.

<sup>3</sup>Mestranda em farmacologia da Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, Brasil.

<sup>4</sup>Docente do Departamento de Bioquímica e Farmacologia da Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, Brasil.

### Introdução

A dor é uma sensação desagradável, presente ao longo de toda a vida, desde o nascimento até a morte. É associada a diversos processos inflamatórios, trauma tecidual, e várias doenças. A Associação Internacional para o Estudo da Dor (IASP) define dor como “uma sensação desagradável com sofrimento emocional associada com lesão tecidual real ou potencial, ou delimitada em termos de tal lesão” (IASP, 2015)

Diversas pesquisas têm demonstrado o potencial analgésico de monoterpenos, caracterizado os seus mecanismos de ação, e destacado nessa classe, novas opções para o tratamento da dor. Dessa forma, considerando o potencial promissor dos monoterpenos, buscou-se investigar o potencial antinociceptivo do óxido de rosa diante dos modelos de neuropatia dolorosa.

### Metodologia

**Obtenção do Óxido de rosa:** a substância Óxido de Rosa foi fornecida pelo Prof. Dr. Damião Pergentino de Sousa, membro do Departamento de Ciências Farmacêuticas/UFPB.

**Animais experimentais:** foram utilizados camundongos (*Mus musculus*) albinos, fêmeas, da linhagem Swiss (25-30g) e ratas (*Rattus norvegicus wistar*), (n= 6 a 8) Os animais foram obtidos do Biotério do Núcleo de Pesquisas em Plantas Mediciniais (NPPM) da Universidade Federal do Piauí (UFPI) e os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Farmacologia da Dor do Núcleo de Pesquisas em Plantas Mediciniais (NPMM/UFPI). Os animais foram eutanasiados com superdosagem de tiopental sódico (100 mg/kg, i.p.) de acordo com o estabelecido pela Resolução Nº 1.000 de 11 de maio de 2012 do Conselho Federal de Medicina Veterinária – CFMV, tendo como responsável técnico a Médica Veterinária, Adeline de Andrade Carvalho, CRMV-PI Nº 866. Os protocolos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFPI (CEEA/UFPI Nº 148/2016).

**Toxicidade aguda- Determinação da DL50:** foram tratados com veículo e o Oxido de Rosa (2 mg/kg, v.o). A toxicidade foi avaliada por 4 horas e nas 72 horas após a administração da substância-teste, onde foram registrados alguns parâmetros, número de animais mortos em cada grupo e dosagens bioquímicas dos animais (MILLER; TAINTER, 1944).



## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

**Teste do glutamato:** foi utilizado o glutamato (20  $\mu$ l de uma solução 10  $\mu$ mol) por via intraplantar. Os camundongos foram tratados com 6,3,4-Trimethoxyflavanone, Morfina (5mg/kg, s.c.) ou veículo. Após 60 min dos tratamentos os animais receberam injeção de glutamato (20  $\mu$ L; 10  $\mu$ mol/pata) na região dorsal da pata traseira direita. O tempo que o animal lambe ou morde a pata durante 15 min foi quantificado e comparado entre os grupos (BEIRITH et al., 2002).

**Teste de compressão de pata (Randall-Sellito):** os animais (n=5), foram submetidos a compressão mecânica na pata. O limiar de dor foi medido a partir da aplicação de uma força contínua crescente (g) à região dorsal da pata do animal capaz de induzir a reação de retirada desta (RANDALL; SELLITO, 1957).

**Teste de campo aberto:** os animais (n=6) foram tratados com o Óxido de Rosa (25 e 50 mg/Kg, v.o.), veículo ou Diazepam. Após 60 ou 30 minutos, foram levados ao campo aberto. Ao término desse período, foi quantificado o número de quadrantes atravessados com as quatro patas pelo animal.

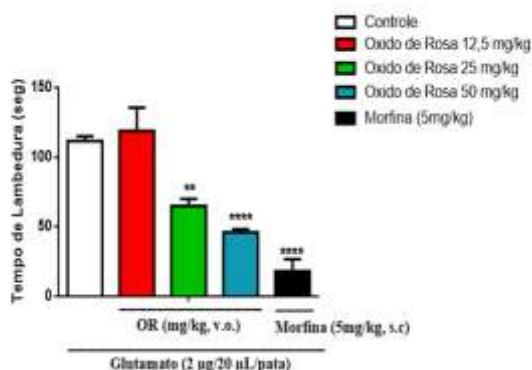
**Rota Rod:** os animais (n=6 a 8) selecionados 24 horas antes do procedimento, através de uma triagem em sessões de 1 min, foram tratados com Óxido de Rosa (25 e 50 mg/Kg, v.o.) ou Diazepam (4 mg/Kg i.p.) como controle positivo e registrado o tempo de permanência na barra giratória, no tempo máximo de um minuto.

**Análise estatística:** os valores foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (E.P.M.), utilizados os testes “*t Student*” para amostras pareadas e não pareadas e análise de variância “one-way” (ANOVA) seguida de Teste de Tukey,  $p < 0,05$ . Em todos estes procedimentos, foi utilizado o programa estatístico GraphPad Prism versão 6.0.

### Resultados e Discussão

Na figura 1, pode-se observar que o Oxido de Rosa foi capaz de diminuir o tempo de lambedura da pata, nas doses de 25mg/Kg e 50 mg/Kg, sendo que na dose de 50mg/Kg houve uma redução de significância semelhante à morfina 5mg/Kg, em relação ao controle.

Figura 1. Avaliação antinociceptiva do Oxido de Rosa determinada por modelo de nocicepção química induzida por glutamato



Fonte: NPPM / UFPI





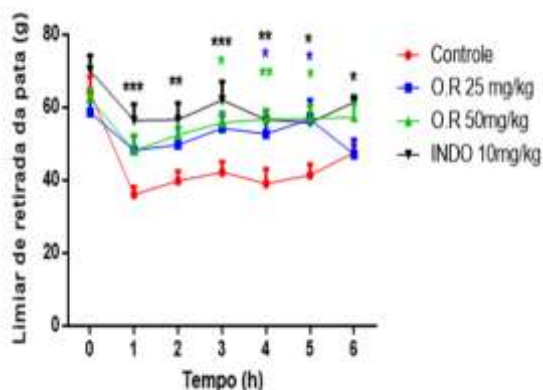
## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

A nociceção induzida pelo glutamato parece envolver sítios de ação periférica, espinal e supra-espinal (BEIRITH, SANTOS, CALIXTO, 2002).

O pré-tratamento por via oral com OR, levando a um aumento do limiar nociceptivo, a partir da terceira hora na dose de 50 mg/Kg perdurando o efeito até a sexta hora. O grupo tratado com o OR na dose de 25 mg/Kg, aumentou o limiar de retirada apenas na quarta e quinta hora. A indometacina (10 mg/Kg, v.o.) inibiu significativamente a hiperalgesia a partir da primeira hora e perdurou até a sexta hora (Figura 2).

Figura 2. Efeito da administração aguda do óxido de rosa sobre o limiar de retirada de pata de ratas Wistar com hiperalgesia mecânica induzida pela injeção (i.pl.) de carragenina 1% (50  $\mu$ L / pata), submetidas ao teste de compressão da pata (Randall- Selitto). Os grupos de animais (n=6-8) receberam OR (25 a 50 mg/Kg, v.o.), veículo ou indometacina (10mg/Kg, v.o.). Cada grupo representa a média  $\pm$  E.P.M. (\* $p$ <0,1, \*\* $p$ <0,01 e 8\*\*\* $p$ <0001 comparado com grupo controle; ANOVA two way, Teste Bonferroni).

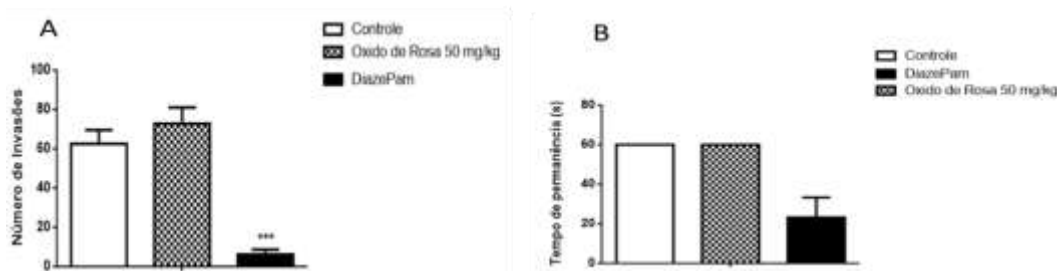


Fonte: NPPM / UFPI

A inflamação neurogênica contribui para a hiperalgesia periférica e central resultante. Neste protocolo, os camundongos pré-tratados com citronelal, todas as doses, apresentaram aumento no limiar mecânico, semelhante aos camundongos que receberam indometacina. Este efeito é provavelmente o resultado da atividade antiinflamatória da citronelal, que foi relatada na literatura. O resultado obtido se apresentou semelhante ao do citronelal (BRITO et al, 2015).

A figura 3A demonstrou que o diazepam reduziu significativamente o número de invasões, enquanto que o óxido de rosa 50mg/Kg não gerou reduções significativas.

Figura 3. Efeito do Óxido de Rosa sobre a atividade locomotora no teste de campo aberto (A) e no teste do rota-rod (B) em camundongos.



Fonte: NPPM / UFPI





## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

O epóxido de limoneno por sua vez, ocasionou uma redução no número de cruzamentos no teste de campo aberto em função do nível de excitabilidade do sistema nervoso central (ALMEIDA et al, 2012).

A figura 3B demonstrou que o Diazepam reduziu de forma significativa o tempo de permanência na barra giratória, em relação ao grupo controle, enquanto que o grupo tratado com o óxido de rosa 50mg/Kg não mostrou reduções significativas.

Estudos citronelal, semelhantes ao presente estudo, não mostraram interferência na coordenação motora dos animais no teste rota-rod e na atividade locomotora (BRITO et al, 2015).

### Conclusão

O presente estudo demonstrou, a partir de testes como indução de nocicepção química por glutamato e compressão de pata (Randall-Selito), que o óxido de rosa possui ação antinociceptiva. Além disso, foi possível comprovar que a substância em estudo não apresenta efeitos tóxicos ou qualquer alteração sobre a atividade locomotora dos animais, representando assim uma alternativa significativa no tratamento da dor.

**Palavras-chave:** Nocicepção. Terpeno. Toxicidade.

### Referências

ALMEIDA, A. A. C. et al.; Evaluation of acute toxicity of a natural compound (+)-limonene epoxide and its anxiolytic-like action. **Brain Research**, v. 1448 p. 56-62, 2012.

BEIRITH, A.; SANTOS, A.R.; CALIXTO, J.B. Mecanisms underlying the nociception and paw o edema caused by injection of glutamate into the mouse paw. **Brain Research**, v924, n2, p.219-228, 2002.

BRITO, G. R. et al.; Citronellol, a natural acyclic monoterpene, attenuates mechanical hyperalgesia response in mice: Evidence of the spinal cord lamina I inhibition. **Chemico-Biological Interactions**, v. 239, p. 111-117.

IASP **Pain Terminology**. Disponível em: < <http://www.iasp-pain.org/Education/Content.aspx?ItemNumber=1698&navItemNumber=576>>. (Acessado em 15 de outubro de 2015).

MILLER, C.L.; TAINTER, M.L. Estimation of LD50 and its error by means of log-probit graph paper. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, 57: 261-264, 1944.

ZIMMERMANN, M. Pathobiology of neuropathic pain. **European Journal of Pharmacology**, v. 429, n. 1-3, p.23-37, 2001.



# II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

## **Avaliação oxidativa, antioxidante, de prevenção e reparo de danos oxidativos ao DNA em *Saccharomyces cerevisiae* tratadas com acetato de nerila**

Jonas Moura de Araújo<sup>5</sup>, Lízia Carreiro Tomaz Aguiar<sup>1</sup>, Laércio da Silva Gomes<sup>1</sup>, Marluce Pereira Damasceno Lima<sup>1</sup>, Antonio Lima Braga<sup>2</sup>, Ana Amelia de Carvalho Melo Cavalcante<sup>2</sup>, Fernanda Regina de Castro Almeida<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Núcleo de pesquisas em plantas medicinais, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, Brasil. [hildalima62@gmail.com](mailto:hildalima62@gmail.com)

<sup>2</sup> Núcleo de Tecnologia farmacêutica, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, Brasil.

### **Introdução**

Os óleos essenciais são compostos naturais complexos voláteis constituídos de derivados fenilpropanóides ou terpenóides, caracterizados pela presença de odor pronunciado (BAKKALI et al., 2008). Os monoterpenos, que são os principais e mais frequentes constituintes dos óleos essenciais, representam boas opções para diversas terapêuticas, por apresentarem propriedades antioxidantes (GUIMARÃES; QUINTANS; QUINTANS-JÚNIOR, 2013). Dessa forma, considerando o potencial promissor dos monoterpenos, objetivou-se avaliar a capacidade oxidante, antioxidante e de reparo do acetato de nerila em *Saccharomyces cerevisiae* frente aos danos do peróxido de hidrogênio.

### **Metodologia**

Teste com *Saccharomyces cerevisiae*

O crescimento das células foi procedido em meio líquido completo (YEL), contendo 1% de extrato de levedura, 2% de bactopectona e 2% de glicose. Realizou-se sementeiras em meio sólido YEPD, que foi preparado adicionando-se à composição do meio YEL 2% de bacto-ágar com diferentes linhagens da *Saccharomyces cerevisiae*. Utilizou-se o acetato de nerila em diferentes concentrações (3, 6 e 60 mg/mL). As linhagens foram cultivadas para avaliação dos efeitos do monoterpeno frente aos danos induzidos pelo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em *S. cerevisiae*. Para a determinação da atividade antioxidante 2x10<sup>7</sup> células/mL provenientes da fase estacionária de crescimento, foram tratadas com o monoterpeno em presença do peróxido de hidrogênio.

### **Resultados e Discussão**

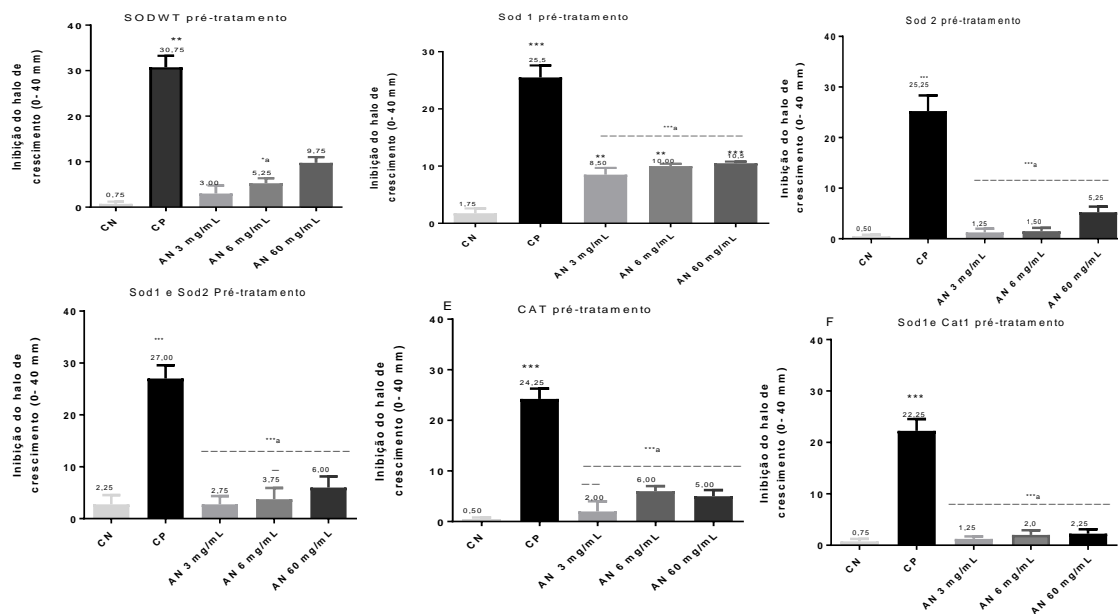
Utilizou-se três concentrações do acetato de nerila para a realização do experimento, as concentrações escolhidas foram baseadas nas doses de 100 e 200mg/kg, e na dose de avaliações toxicológicas de 2g/kg. E os resultados mostraram que a utilização do acetato de nerila no pré-tratamento de linhagens reduziu os danos induzidos pelo peróxido de hidrogênio conforme apresentado na figura 1.



# II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

**Figura 1** – Efeito pré-tratamento das diversas cepas *Saccharomyces cerevisiae* tratadas com acetato de nerila nas concentrações de 3 mg/mL, 6 mg/mL e 60 mg/mL.

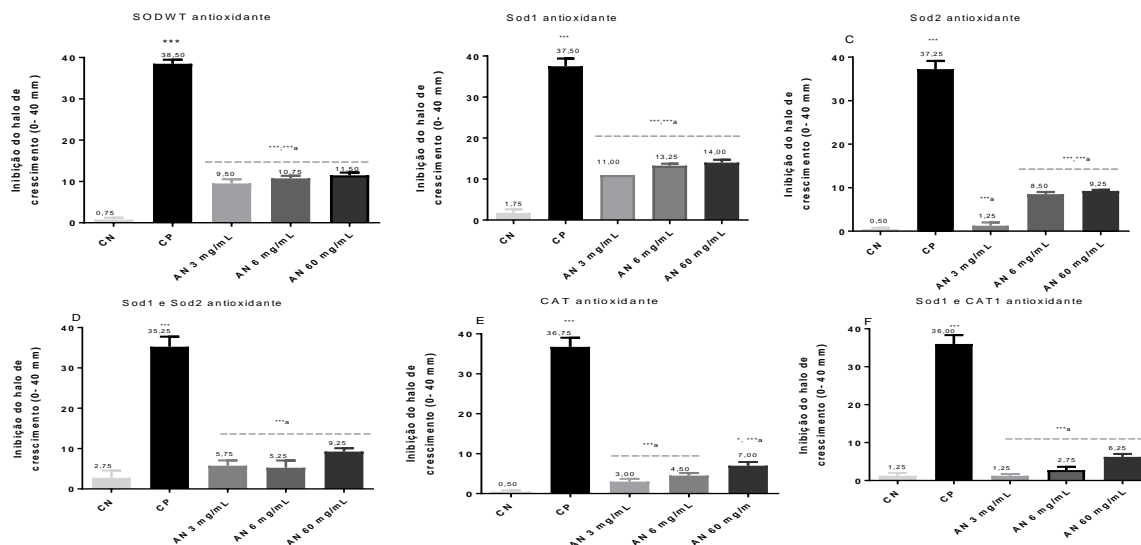


**Fonte:** Laboratório de Farmacologia da Dor do Núcleo de Pesquisas em Plantas Medicinais

Os resultados do monoterpeno evidenciam o efeito de pré-tratamento com resultados significativos em todas as cepas mutadas, apresentando resultados satisfatórios nas três concentrações do aceto de nerila.

Os experimentos apresentados na figura 2, tiveram como finalidade investigar o efeito antioxidante do acetato de nerila frente as diversas linhagens de *S. cerevisiae*, que foram cultivadas para a avaliação da ação do monoterpeno frente aos danos induzidos pelo peróxido de hidrogênio.

**Figura 2** – Efeito do co-tratamento das diversas cepas *Saccharomyces cerevisiae* tratados com acetato de nerila nas concentrações de 3 mg/mL, 6 mg/mL e 60 mg/mL.



**Fonte:** Laboratório de Farmacologia da Dor do Núcleo de Pesquisas em Plantas Medicinais



## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

De forma semelhante ao resultado anterior o acetato de nerila, nas três concentrações, apresentou um efeito protetor diante do estresse oxidativo, ao proteger as cepas da formação de agentes pro-oxidantes, destacando assim a atividade antioxidante do monoterpreno.

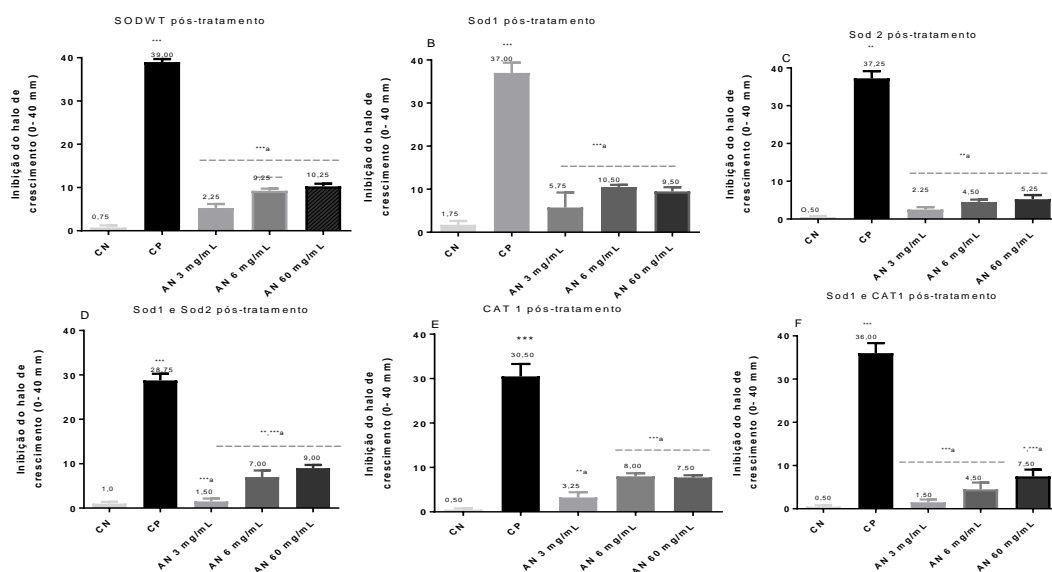
Muitas doenças crônicas e degenerativas tem o estresse oxidativo relacionado a sua gênese, segundo Gardner (1997) o processo de doenças como câncer, envelhecimento e a oxidação de biomoléculas estão associadas aos radicais livres e espécies reativas de oxigênio.

Salmon et al. (2010) relata que os mecanismos de ação dos antioxidantes ocorrem com a inibição das reações em cadeias das espécies reativas. O mesmo autor diz que os antioxidantes impedem os ataques aos aminoácidos das proteínas, lipídeos e DNA mesmo havendo a geração de radicais livres.

Conforme os respectivos resultados a ação do acetato de nerila com o efeito antioxidante mais satisfatório diante das diversas cepas testadas, a que teve o melhor potencial dessa ação foi na cepa mutada para Sod 1 e CAT 1. Pode-se verificar que o respectivo monoterpreno na concentração de 3 mg/mL obteve o mesmo valor do controle negativo.

As linhagens de *S. cerevisiae* no pós-tratamento (figura 3), foram expostas primeiramente ao dano oxidativo provocada pelo peróxido de hidrogênio. A ação do acetato de nerila no pós-tratamento nas cepas de linhagens da *S. cerevisiae* obteve um efeito mais expressivo na cepa Sod1 e Sod2 apresentando um aumento da sobrevivência com a diminuição de inibição de crescimento quando pós tratadas na concentração de 3 mg/mL quando comparadas ao controle negativo.

**Figura 3** – Efeito do pós-tratamento das diversas cepas de *Saccharomyces cerevisiae* tratados com acetato de nerila nas concentrações de 3 mg/mL, 6 mg/mL e 60 mg/mL.



Fonte: Laboratório de Farmacologia da Dor do Núcleo de Pesquisas em Plantas Medicinais



## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

O excesso de espécies reativas de oxigênio (ROS) pode danificar lipídios, ácidos graxos, proteínas e DNA, levando a ruptura estrutural e funcional da membrana celular, inativação de enzimas e morte celular. A atividade antimutagênica de substâncias derivadas de plantas pode ser devido a uma variedade de mecanismos, tais como inibição de efeitos genotóxicos, modulação de transdução de sinal, atividade antioxidante e eliminação de radicais livres (MOSHAHID; FRAGOSO; KHAN., 2012).

### Conclusão

Desse modo a investigação do acetato de nerila com cepas de *Saccharomyces cerevisiae* evidencia sua ação preventiva, antioxidante e de reparo frente aos danos causados pelo estresse oxidativo, sugerindo assim um efeito promissor na terapêutica de processos patológicos que tenham o aumento de radicais livres e danos oxidativos em sua gênese.

**Palavras-chave:** Acetato de nerila. Estresse oxidativo. Monoterpeno.

### Referências

- BAKKALI, F. Biological effects of essential oils – A review. **Food Chem Toxicol**, v. 46, p. 446-75, 2008.
- COSTIGAN, M., SCHOLZ, J., WOOLF, C.J. A maladaptive response of the nervous system to damage. **Annu Rev Neurosci Neuropathic pain**, v.32, p.1 - 32, 2009.
- DWORKIN, R.H. et al: Pharmacologic management of neuropathic pain: evidence-based recommendations. **Pain**, v. 132, n.3 p. 237-251, 2007.
- FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 43, n. 1, p.61- 68, jan./mar. 1997.
- GANGADHARAN, V.; KUNER, R.; pain hypersensitivity mechanisms at a glance. **Disease Models and Mechanisms**, v. 6, p. 889. 2013.
- GARDNER, P. Superoxide-driven aconitase. **Bioscience Rap.**, v.17, p. 32- 40, 1997.
- GUIMARÃES, A.G.; QUINTANS, J.S.; QUINTANS JR, L.J. Monoterpenes with analgesic activity-a systematic review. **Phytother Res**, v. 27, p. 1 –15, 2013.
- GUIMARÃES, A. G.; QUINTANS, J. S.S.; QUINTANS JUNIOR, L. J. Monoterpenes with Analgesic Activity-A Systematic Review. **Phytother. Res.**v.27, p.1-15,2012.
- MOSHAHID, M. KHAN, S.S. RAZA, H. JAVED, A. Ahmad, A. Khan, F. Islam,





## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

M.M. Safhi, F. Islam Rutin protects dopaminergic neurons from oxidative stress in animal model of Parkinson's disease. **Neurotox. Res.**, v. 22, p. 1-15, 2012.

SALMON, A. B. et al. Update on the oxidative stress theory of aging: Does oxidative stress play a role in aging or healthy aging? **Free Radical Biology & Medicine**, San Antonio, v.48, n.1, p.642–655, nov./dec. 2010.



# II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

## Investigação da atividade espasmolítica do nerol em corpo cavernoso isolado de rato

Monique Luana Frazão Ramos<sup>6</sup>, Teresa Mariana Abreu dos Santos<sup>7</sup>, José Vítor Menezes Lacerda<sup>3</sup>, Oscar Correia da Fonseca<sup>4</sup>, Damiano Pergentino de Sousa<sup>5</sup>; Rita de Cássia Meneses Oliveira<sup>6</sup>, Rosimeire Ferreira dos Santos<sup>7</sup>

<sup>1,3,4</sup> Programa de Pós-Graduação em Farmacologia (PPGF) monique.luana@hotmail.com

<sup>7</sup> Departamento de Bioquímica e Farmacologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, Brasil.

<sup>2</sup> Departamento de Farmácia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, Brasil.

<sup>4</sup> Departamento De Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa-PB

<sup>7</sup> Departamento de Biofísica e Fisiologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI

### Introdução

A ereção peniana é um processo neurovascular complexo realizado pelo músculo liso do corpo cavernoso e o relaxamento deste é essencial para a manutenção da função erétil (ANDERSSON, 2011). Nesse contexto, pode-se definir disfunção erétil como a incapacidade consistente de obter ou manter ereções penianas com qualidade suficiente para permitir uma relação sexual satisfatória (CARSON, LUE, 2005). Atualmente, o tratamento de tal patologia baseia-se no uso de inibidores da fosfodiesterase, que promovem o aumento do processo fisiológico da tumescência peniana induzindo um efeito de relaxamento concentração-dependente e, assim, predispondo a ereção do pênis (KALSI, KELL, 2004).

Na busca por novos meios para solucionar tal problemática, observa-se a relevância das plantas medicinais como fonte de pesquisa. A despeito disso, dentre os vários produtos naturais obtidos de plantas, destacam-se os óleos essenciais que são metabólitos secundários constituídos, em sua maioria, por terpenos, sendo estes formados pela união de moléculas de isopreno e dependendo do número de moléculas possuem classificação e propriedades funcionais diferentes (BAKKALI et al., 2008). Dentre estes, os monoterpenos, demonstraram efeito espasmolítico significativo no sistema cardiovascular (PEIXOTO-NEVES et al., 2010; SANTOS, OLIVEIRA, 2016).

Nesse sentido, a investigação da ação de novas substâncias sobre a musculatura lisa reside no fato das substâncias com ação espasmolíticas possuírem vasta aplicação no tratamento de vários processos fisiopatológicos. Além disso, como os mecanismos de contração e de relaxamento muscular envolvem mobilização de íons  $Ca^{2+}$  e este íon medeia grande parte das ações das drogas no organismo, o músculo liso se apresenta como um modelo apropriado para a investigação de novos compostos (WEBB, 2003).

Tendo em vista tais considerações, o presente estudo teve como objetivo investigar o potencial espasmolítico do monoterpeno nerol, bem como elucidar o



## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

mecanismo de ação envolvido na resposta evidenciada em preparações de corpo cavernoso isolado de rato.

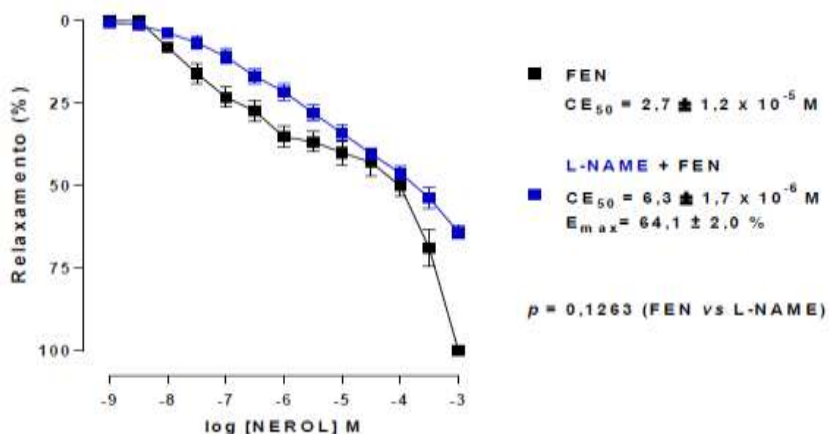
### Metodologia

Os corpos cavernosos de ratos Wistar foram montados em cubas de banho para órgãos isolados, contendo solução de Krebs Ringer, a 37° C e aerados com uma mistura carbogênica (95% CO<sub>2</sub> e 5% O<sub>2</sub>), suspensos por linha de algodão a um transdutor de força, conectados a um amplificador e este a um computador. Todos os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética da Universidade Federal do Piauí (CEEa/UFPI nº270/2016). Decorridos 60 minutos, com troca a cada 15 minutos da solução nutritiva, era induzida uma contração com fenilefrina (FEN:10<sup>-5</sup>M), e o nerol era adicionado à cuba de maneira cumulativa (10<sup>-9</sup> a 10<sup>-3</sup> M) em preparações diferentes. Para a verificar a participação da enzima óxido nítrico sintase (NOS), incubou-se previamente nas preparações o N<sup>G</sup>-nitro-L-arginina metil éster (L-NAME;10<sup>-5</sup>M) por 20 minutos e em seguida era induzida uma contração por FEN. De maneira semelhante, em preparações diferentes, para a verificação da participação da via da guanilato ciclase solúvel (GCs), foi adicionado o 1H-[1,2,4]Oxadiazolo-[4,3-a] Quinoxalin -1 -One (ODQ ;10<sup>-6</sup> M).Os resultados obtidos neste estudo foram expressos como média ± erro padrão da média (e.p.m) e submetidos ao teste t de Student não pareado, para análise de diferença entre as médias foram considerados valores significativos p<0,05. A análise estatística e plotagem das curvas foram realizadas utilizando o programa estatístico Graph-Pad Prsim® 6.00.

### Resultados e Discussão

Os resultados do presente estudo demonstraram que o monoterpene nerol promove relaxamento de maneira dependente de concentração (10<sup>-9</sup>-10<sup>-3</sup> M) em corpo cavernoso isolado de rato pré-contraído com FEN, obtendo uma CE<sub>50</sub> de 2,7 ± 1,2 x 10<sup>-5</sup> M (Figura 1).

**Figura 1** - Curvas concentração-resposta do efeito espasmolítico do nerol em corpo cavernoso isolado de rato na ausência ( ) e na presença ( ) de L-NAME ( ) (Média ± e.p.m., Teste t de Student, N = 5).



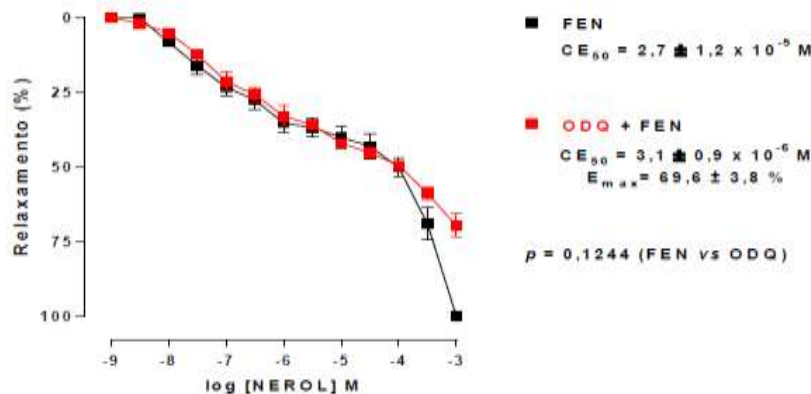
Fonte: A autoria própria.



## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

**Figura 2** – Curvas concentração-resposta do efeito espasmolítico do nerol em corpo cavernoso isolado de rato na ausência (■) e na presença (■) de ODQ. (Média ± e.p.m., Teste t de Student, N = 5.).



Fonte: Autoria própria.

Tais resultados direcionaram a pesquisa para a investigação do possível mecanismo de ação envolvido na resposta obtida, visto que o processo de relaxamento promovido pelas substâncias ocorreu sobre a contração induzida por fenilefrina, um agonista dos receptores alfa-1-adrenérgicos ligado a proteína Gq/11 que promove o aumento de  $Ca^{2+}$  intracelular desencadeando, assim, o processo contrátil da musculatura lisa (VERGARA-GALICIA et al., 2010). Considerando os mecanismos que poderiam estar envolvido nesse efeito, a participação da molécula de óxido nítrico (NO) é relevante uma vez que, segundo Ignarro (1990), ela age como principal mediador responsável pela ereção peniana. Desse modo, investigou-se o envolvimento dessa via através da inibição da enzima NOS (SCHIAVINI; DAMIÃO, 2010), observou-se que a pré-incubação com o L-NAME não alterou a potência relaxante do nerol quando comparado à sua ação na ausência desse bloqueador, sugerindo que, provavelmente, não há participação da via do NO no efeito relaxante promovido (Figura 1), uma vez que a  $CE_{50}$  para as duas curvas não diferiram significativamente ( $CE_{50} = 3,1 \pm 0,9 \times 10^{-6} M$ ). Estudo realizado por Santos e Oliveira (2016) demonstrou o efeito vasorrelaxante induzido por acetato de nerila, um derivado do nerol, na ausência de endotélio vascular, indicando uma possível participação de outras vias no efeito espasmolítico, assim como foi observado neste estudo.

Observou-se também que a inibição da GCs promoveu a mesma resposta obtida com adição do L-NAME, com a  $CE_{50}$  ( $6,9 \pm 1,7 \times 10^{-6} M$ ) sem diferença significativa entre as curvas (Figura 2). Contudo, apesar da potência relaxante não ter sido alterada, é notória a diferença entre o efeito máximo produzido pelo mesmo nas condições em que a NOS e a GCs estavam bloqueadas (Figura 1 e 2), sugerindo um possível mecanismo de ação inespecífico nas maiores concentrações utilizadas do nerol.



## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

### Conclusão

O nerol promove relaxamento de corpo cavernoso isolado de rato de maneira dependente de concentração, porém este efeito parece não envolver a participação da óxido nítrico sintase nem da guanilil ciclase.

**Palavras-chave:** Atividade espasmolítica. Músculo liso. Disfunção erétil.

### Referências

ANDERSSON, K.E. Mechanisms of penile erection and basis for pharmacological treatment of erectile dysfunction. **Pharmacology Review**.v.63, p. 811-859, 2011.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 446-475, 2008.

CARSON, C.C.; LUE, T.F. Phosphodiesterase type 5 inhibitors for erectile dysfunction. **BJU International** 96: 257-80. 2005.

IGNARRO,L.J. Biosynthesis and Metabolism of Endothelium-Derived Nitric Oxide **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**. v.30, n.1. p.535-560, 1990.

KALSI, J.S.; KELL, P.D. Update on oral treatments for male erectile dysfunction. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 18, n. 3, p. 267-274, 2004.

PEIXOTO-NEVES, D.; SILVA-ALVES, K.S.; GOMES, M.D.; LIMA, F.C.; LAHLOU, S.; MAGALHÃES, P.J.; CECCATTO, V.M.; COELHO- SOUZA, A.N.; LEAL-CARDOSO, J.H. Vasorelaxant effects of the monoterpenic phenol isomers, carvacrol and thymol, on rat isolated aorta. **Fundamental & Clinical Pharmacology** v. 24 p.341-350,2010

SANTOS, R. S.; OLIVEIRA, R.C.M. Avaliação do efeito vasorrelaxante do monoterpeno nerol e do acetato de nerila em aorta isolada de rato. Teresina. Projeto de iniciação cinetífica ( Graduação em Biologia) Universidade Federal do Piauí, 2016

SCHIAVINI, J.L.; DAMIÃO, R. Abordagem da disfunção erétil. **Revista Hospital Universitário Pedro Ernesto**, v. 9, p.48-59, 2010.

VERGARA-GALICIA, J.; ORTIZ-ANDRADE, R.; RIVERA-LEYVA, J.C.; CASTILLO-ESPANA, P.; VILLALOBOS-MOLINA, R.; IBARRA-BARAJAS, M.; GALLARDO-ORTIZ, I.; ESTRADA-SOTO, S. Vasorelaxant and antihypertensive





## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

effects of methanolic extract from roots of *Laelia anceps* are mediated by calcium-channel antagonism. **Fitoterapia**. v.81.p 350–357,2010

WEBB, R. C. Smooth muscle contraction and relaxation. **Advances in Physiology Education**.v. 27, n. 1-4, p.201-206, 2003.



# II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

## **Investigação do mecanismo tocolítico do extrato etanólico das cascas do caule de *Platonia insignis* Mart. em útero de rata**

José Vítor Menezes Lacerda, Lorranya Éveli Pereira Feitosa Araújo , Teresa Mariana Abreu dos Santos, Monique Luana Frazão Ramos, Izabela Borges Carvalho, Mariana Helena Chaves, Rosimeire Ferreira dos Santos

Departamento de Biofísica e Fisiologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI

### **Introdução**

A hipercontratibilidade da musculatura uterina está relacionada a problemas como a dismenorrea e o parto prematuro, os quais apresentam como possíveis causas: hormônios, sejam eles esteroidais ou pituitários, obstrução cervical e, mais comumente, aumento na quantidade de prostaglandinas (DAWOOD, 2006). Além disso, sabe-se que, com prevalência de 43% a 93% da população feminina, a dismenorrea constitui a queixa ginecológica mais comum em jovens (RODRIGUES et al., 2011).

Dentre as plantas investigadas na atualidade, a espécie *Platonia insignis* Mart., conhecida popularmente como bacurizeiro, apresenta diversas características que levaram ao estudo da composição de seus extratos. A decocção das sementes é utilizada na medicina popular para tratamento de diarreias (AGRA et al., 2008). A graxa de bacuri (banha), fabricada pela população a partir do óleo extraído das sementes é usada de forma sistemática principalmente como ação anti-inflamatória e para o tratamento de queimaduras e acne (SANTOS JÚNIOR et al., 2010).

Diante desse contexto, o presente trabalho teve como objetivo investigar o mecanismo de ação tocolítico do extrato etanólico (PI-EtOH) das cascas do caule de *Platonia insignis* Mart. em útero isolado de rata.

### **Metodologia**

Foram utilizadas ratas Wistar (*Rattus norvegicus*) provenientes do Biotério Setorial da Universidade Federal do Piauí ( CEEA :271/16)

Após eutanásia das ratas por sobredose de anestésico geral (tiopental sódico, 150 mg/kg, *i.p.*) o útero foi removido e cortado em 2 cornos, separados por incisão e abertos longitudinalmente e em seguida suspensos verticalmente por linhas de algodão fixadas a uma transdutor de tensão acoplado a um amplificador de sinal para registro das tensões isométricas, em cubas de 12 ml contendo solução de Locke Ringer a 32°C aerada com uma mistura carbogênica (95% de O<sub>2</sub> e 5% de CO<sub>2</sub>). A preparação foi mantida em repouso por 60 minutos, sob tensão de 1 grama força (g/f), com troca da solução nutritiva a cada 15 minutos. Após este período, adicionou-se às cubas 5 mM de tetraetilmônio (TEA<sup>+</sup>), o qual nessa concentração age como um bloqueador inespecífico dos canais para potássio; 1 mM de TEA<sup>+</sup>, um inibidor seletivo dos canais para potássio de grande condutância ativados por Ca<sup>2+</sup> (BK<sub>Ca</sub>) ou glibenclamida (3x10<sup>-5</sup> M), um bloqueador dos canais para potássio sensíveis ao ATP (K<sub>ATP</sub>) Após 20 minutos de incubação de tais agentes, induziu-se uma contração pela adição de ocitocina (1UI/ mL) e durante a fase tônica e



## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

sustentada da contração o PI-EtOH foi adicionado de maneira cumulativa (0,1 - 750 µg/ mL).

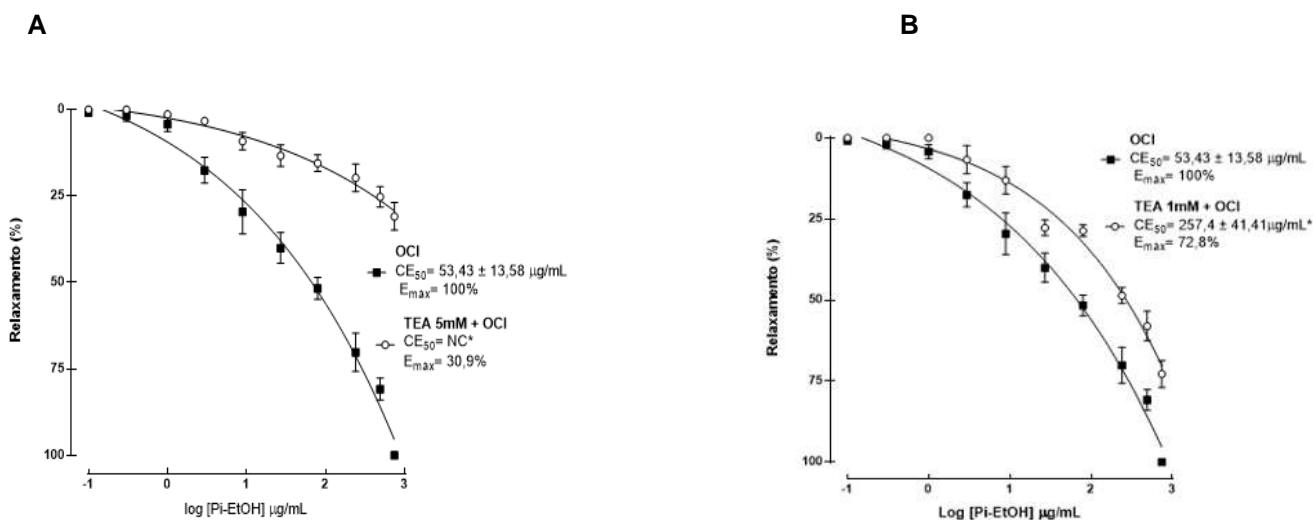
Os resultados obtidos foram expressos como média ± E.P.M e submetidos ao teste t de Student não pareado para análise de significância ( $p < 0,05$ ). Toda a análise estatística foi realizada utilizando o programa estatístico Graph-Pad Prism 6.0.

### Resultados e Discussão

Um dos mecanismos chave para o tratamento de dismenorreias e do trabalho de parto prematuro é impedir a contração excessiva da musculatura lisa do útero. Em estudos anteriores, Carvalho (2013) demonstrou que o extrato etanólico (Pi-EtOH) das cascas do caule de *Platonia insignis* Mart., apresenta atividade tocolítica em útero isolado de rata pré-contraído por ocitocina, um hormônio fisiologicamente presente no organismo, cuja ligação ao seu receptor OT, acoplado à proteína  $G_{q/11}$ , resulta no aumento da concentração citosólica de  $Ca^{2+}$  desencadeando o processo de contração muscular (FUKATA; AMANO; KAIBUCHI, 2001).

Os canais de potássio tem um papel chave na manutenção do tônus muscular liso. Para investigar a participação destes canais no mecanismo de ação tocolítico do Pi-EtOH, utilizou-se  $TEA^+$  5mM, que nessa concentração age como um bloqueador inespecífico dos canais para potássio. Na Figura 1, observa-se que a presença do bloqueador alterou o relaxamento promovido pelo Pi-EtOH, com redução significativa do efeito máximo (ausência de  $TEA^+$  5mM:  $E_{max} = 100\%$  e  $CE_{50} = 53,45 \pm 13,58$ ; presença de  $TEA^+$  5mM:  $E_{max} = 30,9\%$ , sugerindo a participação dos canais para  $K^+$  no efeito tocolítico do Pi-EtOH.

**Figura 1** – Curvas concentração-resposta para o efeito tocolítico de Pi-EtOH sobre as contrações tônicas induzidas por ocitocina na ausência (■) e na presença (○) de  $TEA^+$  5mM (A) ou  $TEA^+$  1 mM (B) em útero isolado de rata.



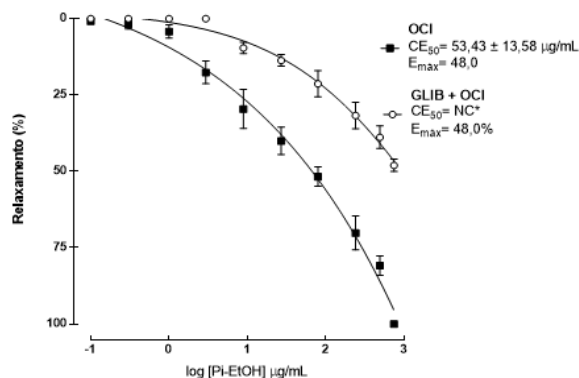
Fonte: Dados do autor



## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

**Figura 2** – Curvas concentração-resposta para o efeito tocolítico de Pi-EtOH sobre as contrações tônicas induzidas por ocitocina na ausência (■) e na presença (○) de glibenclamida em útero isolado de rata.



Fonte: Dados do autor

Para investigar o envolvimento dos subtipos de canais para potássio no efeito tocolítico do Pi-EtOH, foram utilizados inibidores seletivos para os BK<sub>Ca</sub> e K<sub>ATP</sub>. Para o primeiro, fez-se uso do bloqueador TEA<sup>+</sup> na concentração de 1 mM (HUANG, 1998, MURRAY et al., 1991). Já para o segundo, utilizou-se o bloqueador glibenclamida (HUGHEST; HOLLINGSWORTH, 1997).

Os BK<sub>Ca</sub> são os canais para K<sup>+</sup> que estão presentes em maior quantidade no miométrio. Várias substâncias que apresentam ação uterotônica agem modulando esses canais, possibilitando a sugestão de que seu principal papel fisiológico é induzir o relaxamento do miométrio em resposta a despolarização (BRAINARD et al., 2007). Neste estudo, observou-se que o bloqueio dos BK<sub>Ca</sub> alterou de forma significativa a ação tocolítica do Pi-EtOH, com redução do efeito máximo e deslocamento da curva de relaxamento para a direita (ausência de TEA<sup>+</sup> 1 mM: E<sub>max</sub> = 100% e CE<sub>50</sub> = 53,43 ± 13,58; presença de TEA<sup>+</sup> 1 mM: E<sub>max</sub> = 68,9% e CE<sub>50</sub> = 257,4 ± 41,41). Com isso, propõe-se a participação dos BK<sub>Ca</sub> no mecanismo de ação tocolítico do Pi-EtOH.

Assumindo grande importância na regulação do potencial de repouso do miométrio durante a gravidez (INAGAKI et al., 1996), os K<sub>ATP</sub> são responsáveis pela manutenção do potencial de membrana no seu estado basal, mesmo em baixo estado de abertura (TERAMOTO, 2006). A adição de um bloqueador específico dos K<sub>ATP</sub> promoveu um desvio significativo da curva de relaxamento para a direita do Pi-EtOH (ausência de glibenclamida: E<sub>max</sub> = 100% e CE<sub>50</sub> = 53,43 ± 13,58; presença de glibenclamida: E<sub>max</sub> = 48% e CE<sub>50</sub> = não calculada) (Figura 3). Diante de tais resultados, pode-se sugerir que os K<sub>ATP</sub> estão envolvidos no efeito tocolítico do Pi-EtOH.

### Conclusão

Os resultados obtidos neste estudo indicam que o efeito tocolítico induzido pelo Pi-EtOH das cascas do caule de *Platonia insignis* Mart. em útero



## II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

isolado de rata envolve a participação dos canais para potássio, provavelmente os subtipos  $BK_{Ca}$  e  $K_{ATP}$ .

**Palavras-chave:** Atividade espasmolítica. Canais para potássio. Útero.

### Referências

AGRA, F. M. et al. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v. 18, n. 3, p. 472-508, 2008.

BRAINARD, A. M; KOROVKINA, V. P.; ENGLAND, S. K. Potassium channels and uterine function. **Semin Cell Dev Biol.**, v. 3, n.18, 2007

CARVALHO, I. B. **Investigação da atividade espasmolítica da espécie *Platonia insignis* Mart. (Clusiaceae) em útero isolado de rata.** 2013. Teresina. 3 p. Projeto de Iniciação científica (Graduação em Farmácia). Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2013.

DAWOOD, M. Y. Primary dysmenorrhea: advances in pathogenesis and management. **Obstet Gynecol.**, v. 108, n. 2, p. 428–441, 2006.

FUKATA, Y.; AMANO, M.; KAIBUCHI, K. Rho–Kaibuchi, K-kinase pathway in smooth muscle contraction and cytoskeletal reorganization of non-muscle cells. **Trends Pharmacol Scienc.**, v. 22, n. 1, p. 32-9, 2001.

HUANG, Y. Hydroxylamine-induced relaxation inhibited by  $K^+$  channel blockers in rat aortic rings. **Eur J Pharmacol**, v. 349, n. 1, p. 53-60, 1998.

HUGHEST, S. J.; HOLLINGSWORTH, M. Relaxin as a relaxant of the isolated rat uterus: comparison with its mechanism of action *in vivo*. **Gen Pharmacol.** v. 29, n. 5, p. 829-833. 1997.

INAGAKI, N. et al. A family of sulfonylurea receptors determines the pharmacological properties of ATP-sensitive  $K^+$  channels. **Neuron.**, v. 16, p. 1011–7, 1996.

RODRIGUES, A. C. et al. Dismenorreia em adolescentes e jovens adultas: prevalência, fatores associados e limitações na vida diária. **Acta Med Port.**, v. 24, n. 2, p. 383-92, 2011.

SANTOS JÚNIOR, R. Q. et al. Estudo histológico da cicatrização de feridas cutâneas utilizando a banha de bacuri (*Platonia insignis* Mart.). **ConScientiae Saúde**, v. 9, n. 4, p. 575-81, 2010.

TERAMOTO, N. Physiological roles of ATP-sensitive  $K^+$  channels in smooth muscle. **J Physiol**, v. 572, n. 3, p. 617-24, 2006.





# II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

[www.uifarpi.com.br/renapte](http://www.uifarpi.com.br/renapte)

## REALIZAÇÃO:



## APOIO:



Ministério da  
Educação





# II SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS - II RENAPTE

Tema : Biomas Nordestinos e suas Potencialidades Terapêuticas

## **EDIÇÃO**

**Editor-chefe**

Viriato Campelo

**Editores e avaliadores**

Ivisson Lucas Campos da Silva

Laís Rocha Lima

Brenna Emannuella de Carvalho