

Investigação do Efeito Analgésico Central e Antiinflamatório de *Conocliniopsis prasiifolia* (DC) R.M. King & H. Robinson em Roedores

Maria das Graças da SILVA¹, Fernando de S. OLIVEIRA^{*1}, Lucindo J. QUINTANS-JÚNIOR²
Thenio M. L. de OLIVEIRA¹ & Margareth de F. F. M. DINIZ¹

¹ Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal da Paraíba - LTF/UFPB,
Caixa Postal 5009, CEP 58051-970, João Pessoa, PB, Brasil

² Universidade Federal do Vale do São Francisco, Colegiado Acadêmico de Medicina - UNIVASF,
Caixa Postal 252, CEP 56.306-410, Petrolina, PE, Brasil

RESUMO. *Conocliniopsis prasiifolia* (DC) R.M. King & H. Robinson (Asteraceae), popularmente conhecida como “mentrasto”, é usada na medicina tradicional como antiinflamatória, analgésica e antipirética. O objetivo do presente estudo foi investigar um possível efeito analgésico central e antiinflamatório do extrato etanólico das folhas de *Conocliniopsis prasiifolia* (EECP) em experimentos com animais. O EECP (100 mg/kg, i.p. e 500 mg/kg, v.o.) no teste da placa quente aumentou o tempo de permanência dos animais na placa. No teste do edema de pata induzido por carragenina, o EECP (50, 100, 200 mg/kg i.p. e 250, 500 mg/kg v.o.) causou inibição edematogênica. No teste do edema de orelha induzido por PMA, o EECP (1 mg/orelha, aplicação tópica) foi capaz de inibir o edema. De acordo os resultados o EECP exibiu, nas doses e vias testadas, efeito analgésico central e antiinflamatório em roedores.

SUMMARY. “Investigation of Central Analgesic and Anti-inflammatory Effect of *Conocliniopsis prasiifolia* (DC) R.M. King & H. Robinson in Rodents”. *Conocliniopsis prasiifolia* (DC) R.M. King & Robinson (Asteraceae) commonly known as “mentrasto” is used by traditional medicine as anti-inflammatory, analgesic and antipyretic. The present study evaluated the possible anti-inflammatory and central analgesic effect of the ethanolic extract of leaves at *Conocliniopsis prasiifolia* in experimental animals. EECP (100 mg/kg, i.p. and 500 mg/kg, p.o.) increased the time of permanence of the mice in the hot plate test. This extract on carrageenan-induced paw edema (50, 100, 200 mg/kg i.p. and 250, 500 mg/kg p.o.) and PMA-induced mice ear edema (1 mg/ear, topic application) tests showed inhibitory effects on edema. In conclusion EECP showed central analgesic and anti-inflammatory effects in rodents at routes and doses tested.

INTRODUÇÃO

Por suas propriedades terapêuticas ou tóxicas, as plantas adquiriram fundamental importância na medicina popular¹. Com o desenvolvimento das ciências naturais e do método científico na medicina, os medicamentos de origem vegetal tornaram-se objeto de análise científica. Esforços têm sido feitos no sentido de melhorar as substâncias naturais aumentando as propriedades desejadas e minimizando seus efeitos colaterais adversos². Inúmeros são os registros que mostram a busca incessante, nas plantas medicinais, para a cura ou mesmo alívio de moléstias que têm atingido impiedosamente a humanidade³.

A procura por novos agentes farmacologicamente ativos, obtidos de plantas tem levado a descoberta de muitas drogas clinicamente ativas. Diversas plantas da flora brasileira são utilizadas na medicina popular, mas muitas delas ainda necessitam de estudos que dêem suporte científico ao seu uso na terapêutica⁴.

A espécie *Conocliniopsis prasiifolia* (DC) R.M. King & H. Robinson (Asteraceae), popularmente conhecida como “mentrasto”, “aleluia” e “cabeça-de-lagartixa”, é uma planta distribuída pela América do Sul e utilizada na medicina tradicional como antiinflamatória, analgésica e antipirética^{5,6}.

PALAVRAS-CHAVE: *Conocliniopsis prasiifolia*, Efeito analgésico central, Efeito antiinflamatório, Teste da placa quente, Teste do edema de orelha, Teste do edema de pata.

KEY WORDS: Anti-inflammatory effect, Carrageenan-induced paw edema test, Central analgesic effect, *Conocliniopsis prasiifolia*, Hot plate test, PMA-induced mice ear edema test.

* Autor a quem dirigir correspondência. E-mail: fernandooliveira@ltf.ufpb.br

Outro exemplo de espécie da família Asteraceae é a camomila (*Matricaria recutita* L.), cujas inflorescências têm propriedades antiinflamatória e antiespasmódica atribuídas, sobretudo aos componentes do seu óleo essencial, em especial os sesquiterpenóides (-)- α -bisabolol, as (-)- α -bisaloxidas A e B e a lactona do tipo guaianolido matricina. Os flavonóides e os derivados cumarínicos aumentam os efeitos antiinflamatórios e espasmolíticos ⁷.

Estudos químicos com as raízes de *C. prasiifolia* resultaram no isolamento de nove lactonas sesquiterpênicas e uma cumarina ⁸. A investigação química com as partes aéreas resultou também na obtenção de lactonas sesquiterpênicas ⁹, que são comuns na família Asteraceae, conhecidas por possuírem atividades antitumoral, antileucêmica, citotóxica e antimicrobiana, antiinflamatória e analgésica ^{7,10}.

Apesar de sua utilização na medicina popular a *C. prasiifolia* não possui estudos experimentais controlados sobre suas propriedades farmacológicas. O presente trabalho tem como objetivo investigar um possível efeito analgésico central e antiinflamatório do extrato etanólico das folhas de *Conocliniopsis prasiifolia* (EECp) em metodologias animais.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal

As folhas de *Conocliniopsis prasiifolia* (DC) R.M. King & H. Robinson foram coletadas em outubro de 2003, no município de Santa Rita, Brasil e identificadas pela Dr^a M. F. Agra. Uma exsiccata (M F Agra 8502 JPB, LTF) foi depositada no herbário do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal da Paraíba.

Obtenção do extrato

As folhas previamente selecionadas foram secas em estufa a 40 °C e submetidas à maceração com etanol a 95%, por 72 h. Após este período foi feita a filtração e a concentração do extrato em evaporador rotatório, sendo em seguida liofilizado obtendo-se o extrato etanólico das folhas de *Conocliniopsis prasiifolia* (EECp). Quando requerido, o EECp foi dissolvido em Tween 80 0,2% com 2 gotas de cremofor para realização dos testes com animais.

Animais

Foram utilizados ratos Wistar machos albinos, pesando 200-300 g e camundongos Swiss machos albinos, com peso entre 25-35 g, com

aproximadamente três meses de vida, fornecidos pelo Biotério Prof. Dr. Thomas George da Universidade Federal da Paraíba. Os animais foram mantidos sob condições controladas de temperatura (25 \pm 2 °C) e ciclo de claro/escuro de 12 h, tendo a fase clara iniciando-se às 6 h e terminando às 18 h, com livre acesso a água e ração tipo "pellets" até 60 min antes dos experimentos.

Todos os protocolos experimentais e procedimentos foram aprovados previamente pelo comitê de ética para uso de animais do LTF/UFPB.

Toxicidade aguda

Diferentes doses de EECp até 2000 mg/kg por via intraperitoneal (i.p.) e 5000 mg/kg por via oral (v.o.) foram administradas em grupos de dez camundongos cada. Após cada administração, os animais ficaram em observação durante um período de 48 h com livre acesso a água e comida.

Teste da placa quente

O teste da placa quente foi utilizado para medir a latência de resposta ao estímulo termocéptico, de acordo com o método descrito por Eddy & Leimback ¹¹. Os camundongos (n = 10) foram tratados com Tween 80 0,2% (0,1 mL/ 10 g), morfina 10 mg/kg (i.p.) e 100 mg/kg (i.p.) e 500 mg/kg (v.o) de EECp. Cada animal, individualmente, foi colocado sobre a placa quente (50 \pm 1) °C. A medição do tempo foi interrompida quando o animal apresentou o comportamento instintivo de saltar sobre a placa e, logo em seguida, lambear as patas ou com 35 seg, para evitar injúria tecidual. Foi realizada uma observação basal e após 30, 60, 90 e 120 min dos tratamentos.

Edema de pata induzido por carragenina

Grupos de 6 ratos foram tratados com EECp 50, 100, 200 mg/kg (i.p.), e 250 e 500 mg/kg (v.o), indometacina 10 mg/kg (v.o), Tween 80 0,1 mL/100 g (i.p.). Transcorrido 60 min da administração, foi induzido o edema pela injeção de 0,05 mL de uma solução de carragenina 1% em solução salina, por via subcutânea na área subplantar da pata posterior direita de cada animal. Após 1,5; 3 e 5 h da administração da carragenina o volume da pata até a articulação tibiotarsiana foi determinado com o uso de um pletismógrafo ¹² (Ugo Basile, Itália). A porcentagem de inibição do edema foi calculada por cada grupo de animal, em comparação com o grupo controle.

Tratamento	Dose (mg/kg)	Via	Tempo de reação (s)				
			Basal	30 min	60 min	90 min	120 min
Veículo	-	i.p.	13,3 ± 1,2	13,4 ± 1,9	12,8 ± 2,1	13,7 ± 1,9	14,0 ± 3,1
EECp	100	i.p.	13,9 ± 2,0	16,0 ± 2,1	19,6 ± 1,3a	18,0 ± 1,6a	17,4 ± 2,5
EECp	500	v.o.	14,4 ± 1,9	16,9 ± 1,8	23,0 ± 3,0a	21,0 ± 2,4a	15,4 ± 2,1
Morfina	10	i.p.	13,9 ± 1,5	24,9 ± 3,1a	26,8 ± 2,1b	27,2 ± 2,7b	24,9 ± 3,1a

Tabela 1. Efeito do EECp no teste da placa quente, em camundongos. Dados expressam média ± EPM; ^a p < 0,05 em relação ao controle; ^b p < 0,01 em relação ao controle; n = 10.

Edema de orelha induzido por PMA

Grupos de camundongos (n = 6) foram tratados com EECp 0,01; 0,1 e 1,0 mg/orelha, dexametasona 2 mg/orelha e salina 0,9% 20 µL por uso tópico. Após 60 min dos tratamentos, os animais foram anestesiados com éter e, em seguida, o edema foi induzido por aplicação de 20 µL de PMA (éster de forbol) 0,01% dissolvido em acetona, em ambas as faces (dorsal e ventral) da orelha esquerda. A orelha direita recebeu apenas o veículo. Após seis h da aplicação do PMA, os animais foram sacrificados por deslocamento cervical e tiveram suas orelhas cortadas para medida do edema, utilizando o paquímetro, em que se avalia o edema através da medida da espessura das orelhas, e o método de punção auricular no qual se faz a pesagem das orelhas ¹³. O edema foi medido pela subtração do peso da orelha que recebeu apenas o veículo, daquele que recebeu o agente irritante. A porcentagem de inibição do edema foi calculada pela subtração do peso da orelha do grupo controle, pelo peso da orelha do grupo teste, dividindo-se pelo grupo controle, multiplicando-se por 100.

Análise estatística

Os resultados foram expressos em média ± média do erro padrão (EPM) para cada grupo de animais. A análise estatística dos resultados foi realizada utilizando ANOVA e o teste exato

de Fisher, sendo os resultados considerados positivos quando p < 0,05.

RESULTADOS

Toxicidade aguda

Nenhuma mortalidade foi registrada com administração do EECp até a dose de 2000 mg/kg, i.p. e 5000 mg/kg, v.o., durante 48 h de observação após os respectivos tratamentos.

Teste da placa quente

A Tabela 1 mostra que o EECp aumentou de forma significativa (p<0,05) o tempo de permanência dos animais na placa quente aos 60 e 90 min de observação, quando comparados ao grupo controle (tratados com o veículo).

Edema de pata induzido por carragenina

De acordo com a Figura 1, o EECp administrado por via i.p. causou diminuição do volume da pata de rato nas 3^a e 5^a h após aplicação do estímulo, sendo esse efeito dose-dependente. Já por via oral, o EECp apresentou efeito na 3^a hora de observação. A indometacina, utilizada como droga padrão, induziu efeito significativo progressivo nas 1,5; 3,0 e 5,0 h após a administração da carragenina.

Edema de orelha induzido por PMA

Segundo as Figs. 2 e 3, o EECp provocou inibição do edema de orelha, de forma significati-

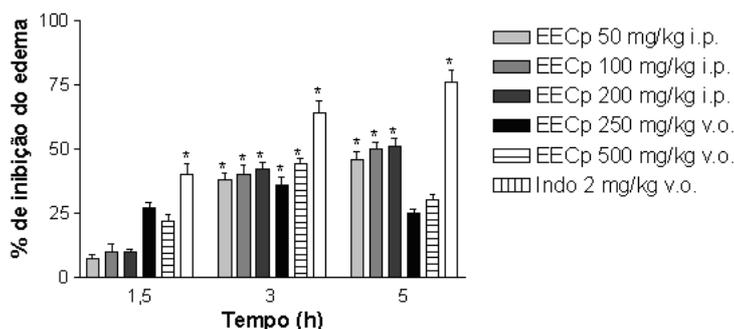


Figura 1. Efeito do EECp na inibição do edema de pata induzido por carragenina, em ratos (n = 6). Os resultados expressam média ± EPM *p < 0,05 comparando-se os grupos EECp com o grupo controle.

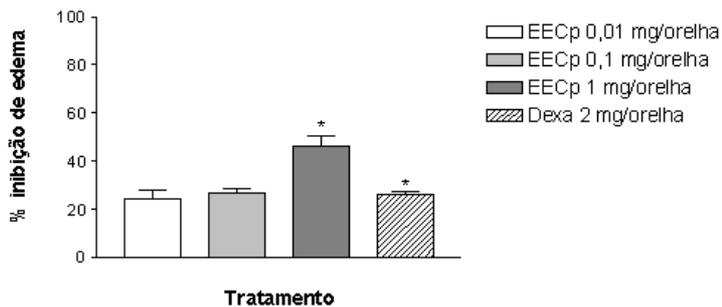


Figura 2. Efeito do EECp na inibição do edema de orelha induzido por PMA, em camundongos (n = 6), medição pelo paquímetro. Os resultados expressam média ± EPM *p < 0,05 comparando-se os grupos EECp com o grupo controle.

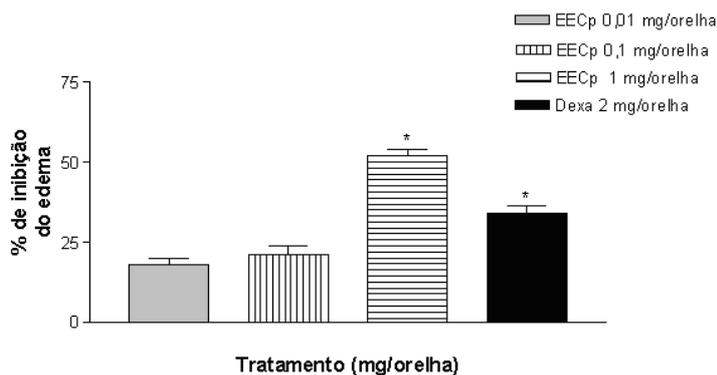


Figura 3. Efeito do EECp na inibição do edema de orelha induzido por PMA, em camundongos (n = 6), pesagem por punção auricular. Os resultados expressam média ± EPM *p < 0,05 comparando-se os grupos EECp com o grupo controle.

va, apenas na dose de 1 mg/orelha, sendo esse efeito observado tanto pelo método de medição utilizando o paquímetro, como por punção auricular. A dexametasona também inibiu o edema em ambos os métodos.

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Os resultados obtidos com o presente estudo indicam que o EECp não causou mortalidade dos animais até 48 h após administração nas doses testadas, sendo esses dados sugestivo de baixa toxicidade aguda do EECp.

O estímulo térmico do teste da placa quente é utilizado para avaliar a atividade analgésica mediada por mecanismos centrais¹⁴. É um modelo animal que avalia a atividade antinociceptiva de fármacos opióides, mas outras drogas com atividade central, tais como sedativas e hipnóticas, mostraram atividade no modelo da placa quente¹⁵. O EECp aumentou o tempo de permanência dos animais na placa, em ambas as doses e vias utilizadas, sugerindo que esse extrato possui efeito analgésico central, já que o bloqueio das respostas na placa quente indica um mecanismo de ação no sistema nervoso central^{16,17}.

Para a investigação do efeito antiinflamatório foram utilizadas as metodologias da indução de edema de orelha por PMA em camundongos, e indução de edema de pata por carragenina em ratos.

O edema induzido por carragenina é um

modelo bifásico, com vários mediadores atuando em seqüência para produzir a resposta inflamatória. Na fase inicial (0-1 h) ocorre liberação de histamina, serotonina e bradicinina¹⁸. A fase posterior (1-6 h) está correlacionada com elevada produção de prostaglandinas, ativação da COX-2 e, mais recentemente liberação de NO, na resposta inflamatória¹⁹. De acordo com os dados acima o EECp parece atuar sobre a fase final da resposta inflamatória induzida por carragenina, já que o efeito foi melhor observado na 3ª hora após a administração do agente flogístico, sendo essa atividade dose-dependente, pois com o aumento da dose por via i.p. houve aumento da inibição edematogênica.

A indução da inflamação por PMA tem um mecanismo que está relacionado com a ativação de fosfolipase A₂, e é mediada principalmente por prostaglandina E₂¹³. O EECp pode estar possivelmente inibindo o edema, por interferir diretamente sobre as prostaglandinas ou inibindo a produção de enzimas como fosfolipase A e/ou ciclooxigenase.

Em conclusão, os resultados obtidos sugerem que o EECp apresentou, nas doses e vias testadas, e nas metodologias utilizadas, efeito analgésico central e antiinflamatório em roedores. Outros estudos são requeridos para uma melhor caracterização dos efeitos analgésico central e antiinflamatório de *Conocliniopsis prasiifolia*.

Agradecimentos. Os autores agradecem a José Crispim Duarte e Raimundo Nonato Filho pela assistência técnica, a Dr^a Maria de Fátima Agra pela identificação botânica da espécie estudada e ao CNPq pelo suporte financeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Martins, E.R., Castro, D.M., D.C. Castellani & J.E. Dias (2000) "Buscando a saúde por meio das plantas medicinais", en "Plantas medicinais" (UFV, ed.), Viçosa, págs. 17-55.
- Schulz, V., R. Hansel & V.E. Tyler (2002) "Plantas medicinais, fitomedicamentos e fitoterapia", en "Fitoterapia racional - um guia de fitoterapia para as ciências da saúde" (Mande, ed.), Barueri, págs. 1-40.
- Carlini, E.A. (1995) "Pesquisa com plantas brasileiras usadas em medicina popular", en "Medicamentos, drogas e saúde" (Hucitec/Sobravime, ed.), São Paulo, págs. 23-8.
- Souza Brito, A.R.M. & A.A. Souza Brito (1993) *J. Ethnopharmacol.* **39**: 53-67.
- Matos, F.J.A. (1997) "Parte II: Conjunto de verbetes descritos das plantas medicinais do formulário terapêutico do professor Dias da Rocha", en "O formulário fitoterápico do professor Dias da Rocha" (EUFC, ed.), Fortaleza, págs. 49-226.
- Diniz, M.F.F.M., Oliveira, R.A.G., A.C.D. Medeiros & A. Malta-Jr. (1998) "Memento terapêutico", en "Memento fitoterápico" (UFPB, ed.), João Pessoa, 131-4.
- Robbers, J.E., M.K. Speedie & V.E. Tyler (1997) "Terpenóides", en "Farmacognosia farmacobiologia - terpenóides" (Premier, ed.), São Paulo, págs. 91-103.
- Bohlmann, F., Zdero, C., R.M. King & H. Robinson (1980) *Phytochemistry* **19**: 1547-9.
- Bohlmann, F., Zdero, C., R.M. King & H. Robinson (1984) *Phytochemistry* **23**: 1509-11.
- Evans, W.C. (1991) "Isoprenóides diversos", en "Farmacognosia. Sesquiterpenos" (McGraw-Hill Interamericana, ed.), México, págs 561-79.
- Eddy, N.B. & D.J. Leimback (1953) *Pharmacol. Exp. Ther.* **107**: 385-93.
- Winter, C.A., E.A. Risley & G.W. Nuss (1962) *Proc. Soc. Exp. Biol.* **3**: 544-7.
- Merlos, M., Gómez, L.A., Giral, M., Verticat, M.L., J. Garcia-Rafarel & J. Forn (1991) *Brit. J. Pharmacol.* **104**: 990-4.
- Al-Ghamdi, M.S (2001) *J. Ethnopharmacol.* **76**: 45-8.
- Hiruma-Lima, C.A., Gracioso, J.S., Bighetti, E.J.B., L. Germons Robineou & A.R.M. Souza Brito (2000) *J. Ethnopharmacol.* **71**: 267-74.
- Loro, J.F., I. Del Rio & L. Perez-Santana (1999) *J. Ethnopharmacol.* **67**: 213-8.
- Ramezani, M., H. Hosseinzadeh & N. Daneshmand (2001) *Fitoterapia* **72**: 255-62.
- Lima, K.V.B. (1999) "Estudo da atividade anti-inflamatória do extrato hidroalcolico de *Cissampelos sympodialis* Eich (Menispermaceae) em diferentes modelos experimentais" Centro de Ciências da Saúde/LTF, UFPB, João Pessoa, págs. 14-32.
- Salvemini, D., Wang, Z-Q., Wyatt, P.S., Bourdon, D.M., Marina, M.H., P.T. Manning & M.G. Currie (1996) *Brit. J. Pharmacol.* **118**: 829-98.