

Avaliação da atividade analgésica de *Miconia ligustroides* (Melastomataceae) utilizando o teste de contorção abdominal em camundongos

Evaluation of the analgesic activity of *Miconia ligustroides* (Melastomataceae) using the writhing test in mice

Wilson Roberto Cunha^{1*}, Márcio Luis Andrade e Silva¹, Isabel Cristina Casanova Turatti²,
Daniele da Silva Ferreira¹ & Hugo Luiz Betarello¹

RESUMO – Utilizando o teste de contorção abdominal em camundongos induzida por ácido acético, foi observado um efeito analgésico dos extratos em hexano, diclorometano e etanol de *Miconia ligustroides* (Melastomataceae), sugerindo que estes são eficientes no aumento do limiar da dor. Utilizando cromatografia de fase gasosa foi possível identificar os seguintes triterpenos no extrato hexânico: α -amirina, β -amirina, e β -sitosterol. Estas substâncias podem ser as responsáveis pelo marcante efeito analgésico apresentado pelo extrato hexânico da espécie vegetal estudada.

PALAVRAS-CHAVE – *Miconia*, Melastomataceae, triterpenos.

SUMMARY – A significant analgesic effect was observed after oral administration to mice of the extracts in hexane, methylene chloride and ethanol of *Miconia ligustroides* (Melastomataceae), evaluated using chemical stimuli (writhing test), suggesting that they were efficient in increasing the pain threshold. Using only gas chromatography, it was possible to identify the following triterpenes in hexane extract: α -amirin, β -amirin and β -sitosterol.

KEYWORDS – *Miconia*, Melastomataceae, triterpenes.

INTRODUÇÃO

A capacidade de aliviar a dor, através do uso de plantas ou de preparações à base delas, foi provavelmente a grande vitória da medicina e precede em muito a capacidade de curar. Plantas como meimendo (*Hyokymus albus*, Solanaceae) e papoula (*Papaver somniferum*, Papaveraceae), figuram nas primeiras farmacopéias da Babilônia e da Suméria (Pelt, 1979). Um bom exemplo que destaca a importância das plantas neste aspecto é a Aspirina[®], que teve origem na casca do salgueiro, árvore do gênero *Salix* (Salicaceae). No século XVII, descobriu-se que a casca é salgueiro é tão amarga quanto à de uma árvore do Peru, a quina (*Cinchona magnifolia*, Rubiaceae), cujo extrato era tido como remédio supremo contra a malária. Assim, uma infusão da casca de salgueiro passou a ser usada como medicamento antitérmico pelos europeus. Em 1928, o francês Leurox obteve da casca do salgueiro uma substância que denominou salicina (ácido salicílico). Anos depois, foi sintetizado o ácido salicílico, precursor do ácido acetilsalicílico, que é consumido em grande escala em todo o mundo, como analgésico e antitérmico (Pelt, 1979).

A família Melastomataceae constitui-se numa das mais importantes da flora neotropical, com cerca de 4200 a 5000 espécies pertencentes a 11 tribos e 166 gêneros (Renner, 1993).

Miconia é sem dúvida o maior gênero, com aproximadamente 1000 espécies distribuídas ao longo da América Tropical. No Brasil estão representadas cerca de 250 espécies, das quais 64 ocorrem no estado de São Paulo (Martins et al., 1996).

Do ponto de vista químico, poucos estudos foram realizados com espécies do gênero *Miconia* e nestes predominam o isolamento de quinonas, cumarinas e triterpenos (Lowry, 1968; Macari et al., 1992; Chan et al., 1992; Gunatilaka et al., 2001). Estudos sobre atividade biológica de extratos e substâncias isoladas de *Miconia* têm apresentado resultados significativos (Lima et al., 1970; Hasrat, 1997; Cunha et al., 2001).

Assim, este trabalho teve como objetivo a avaliação da atividade analgésica de extratos brutos obtidos das partes aéreas de *Miconia ligustroides* (Melastomataceae), utilizando o modelo de contorção abdominal.

MATERIAIS E MÉTODOS

Coleta e preparação dos extratos

O vegetal *M. ligustroides* foi coletado numa região de cerrado próximo à Rodovia Tancredo Neves (Franca/SP-Claraval/MG) e classificado pela Prof^a Dr^a Ângela Borges Martins, do Instituto de Botânica da UNICAMP.

As partes aéreas do vegetal foram secas e estabilizadas em estufa de ar circulante (40°C) e trituradas até a forma de pó em moinho de facas. O pó resultante (0,8Kg) foi extraído através de maceração com hexano, diclorometano e posteriormente etanol, fornecendo 6,5g; 4,3g e 8,6g de extratos respectivamente.

Avaliação da atividade analgésica dos extratos

Drogas analgésicas padrões

- Indometacina (Merck Sharp Dohme, St. Louis,

Recebido em 19/2/2002

¹Núcleo de Pesq. em Ciências Exatas e Tecnológicas da Univ. de Franca. Av Dr. Armando Salles de Oliveira, 201. Franca-SP, 14404-600.

²Departamento de Física e Química da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto-USP.

Mo, USA) e Ácido acético (Merck, Darmstadt, Germany).

Animais de laboratório

Foram utilizados camundongos Swiss albinos, machos, pesando 25-30g, provenientes do Biotério do Campus da Universidade de Franca, mantidos em gaiolas com água e alimentação *ad libitum*. Vinte e quatro horas depois do experimento os camundongos foram transferidos do laboratório onde receberam água *ad libitum*.

Teste de contorção abdominal em camundongos induzido por ácido acético

O processo inflamatório é deflagrado por um agente agressor ou flogístico que provoca lesão tecidual. Esta lesão induz liberação de histamina dos grânulos localizados nos mastócitos (células teciduais), a qual é responsável pela gênese do processo inflamatório, que culmina com a liberação de prostaglandina, o agente causador da dor inflamatória (Goodman *et al.*, 1996).

Assim sendo, o teste de contorção abdominal em camundongos é um método muito utilizado para se avaliar a atividade analgésica de substâncias contra dor de origem inflamatória, onde o ácido acético na concentração de 0,6% (v/v), induz lesão no abdômen do camundongo, o que é suficiente para provocar os espasmos traduzidos como contorção (Koster & Anderson, 1959).

As contorções foram induzidas pela administração intraperitoneal de ácido acético (80mg/kg, v/v) para um grupo de seis ratos albinos. As respostas contorsivas foram tomadas e os resultados obtidos equivaleram à média \pm EPM do número de contorções no intervalo de 20 minutos. Os resultados foram analisados e comparados com o composto padrão de analgesia (Indometacina).

Análise estatística

Os resultados obtidos foram analisados estatisticamente utilizando one-way ANOVA e Dunnett's Multiple Comparison test.

Análise do extrato em hexano através de cromatografia gasosa

O extrato em hexano foi submetido a processo de purificação por cromatografia em coluna, utilizando mistura de celite e carvão ativo (proporção 3:1 em massa) como fase estacionária e eluição com diclorometano. A fração obtida, foi submetida à análise por cromatografia em fase gasosa. Na análise foram utilizadas colunas HP-1 e HP-50, gás hidrogênio com fluxo 1,07ml/min e colesterol como padrão interno. Os resultados obtidos foram comparados com padrões autênticos de triterpenos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O grupo de pesquisa de Deraedt *et al.* (1980) descreve a quantificação de prostaglandinas por radioimunoensaio no exudato peritoneal de ratos, obtidos após injeção intraperitoneal de ácido acético, observando-se altos níveis de prostaglandinas PGE_{2 α} e PGF_{2 α} durante os primeiros 30 minutos após sua administração. A administração intraperitoneal de ácido acético induz a liberação de prostaglandinas, mas também a liberação de mediadores do sistema nervoso simpático (Duarte *et al.*, 1988; Borsato *et al.*, 2000). Portanto, pode-se concluir que substâncias com atividade antiinfla-

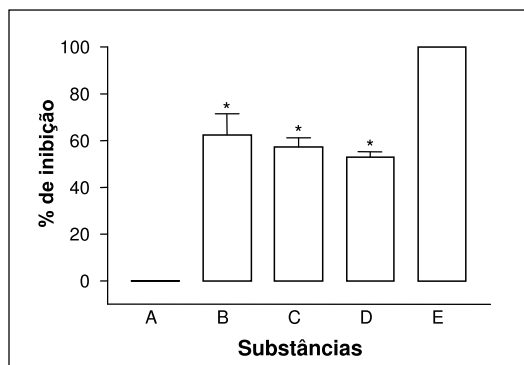


FIG. 1 - Porcentagem de inibição obtida no teste de contorção abdominal induzida por ácido acético e expressa durante 20 minutos. Onde: A (Controle negativo: 10% de solução Tween); B (extrato em hexano); C (extrato em diclorometano); D (extrato em etanol); E (controle positivo - indometacina 5mg/kg). *Valor significativo $p < 0,01$.

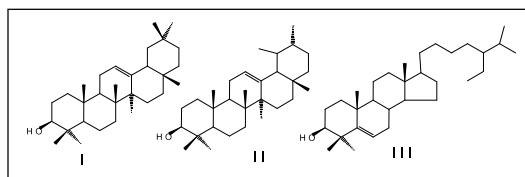


FIG. 2 - Triterpenos presentes no extrato hexânico de *M. ligustroides*.

matória podem estar envolvidas na atividade analgésica periférica.

Os resultados obtidos no teste de contorção usando ácido acético foram estatisticamente significantes tanto para o extrato em diclorometano quanto para o extrato em hexano, os quais inibiram 57,3% e 62,5% da dor. Este efeito também foi observado, porém com menor intensidade, para o extrato etanólico, o qual inibiu 52,9% da dor (Fig. 1). A análise do extrato hexânico de *M. ligustroides*, através de cromatografia de fase gasosa por comparação com padrões autênticos, revelou a presença dos triterpenos β -amirina (I), α -amirina (II) e do esteróide β -sitosterol (III) (Fig. 2).

CONCLUSÕES

O significativo efeito analgésico apresentado pelo extrato em hexano pode ser explicado pela presença de mistura de substâncias no extrato com propriedades analgésicas. Os triterpenos, presentes neste extrato, podem ser as substâncias responsáveis pela atividade observada, uma vez que já foi comprovado anteriormente que estas substâncias quando associadas possuem atividade analgésica (Gaertner *et al.*, 1999; Santos *et al.*, 1995).

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho teve apoio financeiro da FAPESP (Proc. 00/03911-4). Gostaríamos de agradecer as professoras Alba Regina Barbosa Araújo e Maria Inês Junqueira Garcia Teixeira, da Universidade de Franca, pela cooperação na coleta da espécie vegetal estudada.

REFERÊNCIAS

1. Chan W. R., Sheppard, V., Kathleen, A.M., Tinto, W.F., Reynolds, W.F., Triterpenes from *Miconia stenostachya*. *J. Nat. Prod.*, v. 55, 963-966, 1992.

2. Borsato, M.L.C., Graef, C.F.F., Souza, G.E.P., Lopes, N.P. Analgesic activity of the lignans from *Lychnophora ericoides*. *Phytochemistry*, v.55, 809-813, 2000.
3. Cunha, W.R., Silva, M.L.A., Martins, C., Ferreira, D.S. Evaluation of the analgesic activity of the organic fractions of the ethanolic extract of *Miconia fallax* (Melastomataceae). *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.13(suppl.1), 95, 2001.
4. Deraedt, R., Jouquey, S., Delevallee, F., Flahaut, M. Release of prostaglandins E and F in an algogenic reaction and its inhibition. *Eur.J. Pharmacol.*, v.61, 17-24, 1980.
5. Duarte, J.D.G., Nakamura, M., Ferreira, S.H. Participation of the sympathetic system in acetic acid induced writhing in mice. *Brazilian J. Med. Res.*, v.21, 341-343, 1988.
6. Gaertner, M., Muller, L., Roos, J. F., Cani, G., Snatos, A. R., Niero, R., Calixto, J. B., Yunes, R. A. Delle Monache, F., Cechinel-Filho, V. Analgesic triterpenes from *Sebastiania schottiana* roots. *Phytomedicine*, v. 6, 41-44, 1999.
7. Goodman, L.S., Gilman, A.G., Rall, T.W., Schleifer, L.S. *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 442-443, 1996.
8. Gunatilaka, A.A.L., Berger, J.M., Evans, R., Miller, J.S., Wisse, J.H., Nedderrmann, K.M., Bursucker, I., Kingston, D.G.I. Isolation, Synthesis and structure-activity relationships of bioactive benzoquinones from *Miconia lepidota* from the Suriname rainforest. *J. Nat. Prod.*, v. 64, 2-5, 2001.
9. Hasrat J. A., De Backer, J.P. Vauquelin, G., Vlietinck, A.J. Medicinal plants in Suriname: screening of plant extracts for receptorbinding activity. *Phyto-medicine*, v. 4, 56-65, 1997.
10. Koster, R., Anderson, M., Beer, E.J. Acetic acid for analgesic screening. *Fed. Proc.*, v. 18, 412, 1959.
11. Lima, O.G., Marini-Bettolo, G.B., Delle Monache, F., Coelho, J.S.B., D'albuquerque, I.L., Maciel, G.M., Lacerda, A., Martins, D.G.M. Substâncias antimicrobianas de plantas superiores. *Revista do Instituto de Antibióticos*, v. 10, p.29-32, 1970.
12. Lowry J. B. The distribution and potential taxonomic value of alkylated ellagic acids. *Phytochemistry*, v.7, 1803-1813, 1968.
13. Macari, P.A.T., Emerenciano, V.P., Ferreira, Z.M.G.S. Identificação dos triterpenos de *Miconia albicans* Triana através de análise por microcomputador. *Química Nova*, v.13(4), 260-262, 1990.
14. Martins, A.B., Semir, J., Goldenberg, R., Martins, E. O gênero *Miconia* Ruiz & Pav. (Melastomataceae) no estado de São Paulo. *Acta bot. Bras.*, v.10, 267-316, 1996.
15. Pelt, J.M. A revolução verde da Medicina, O Correio da Unesco, 1979.
16. Renner, S. S. Phylogeny and classification of the Melastomataceae and Memecylaceae. *Nord. J. Bot.*, v.13, 519-540, 1993.
17. Santos, A. R. S., Cechinel Filho, V., Yunes, R. A. And Calixto, J. B. Further studies on the antinociceptive action of the hydroalcoholic extracts from plants of the genus *Phyllanthus*. *J. Pharm. Pharmacol.*, v.47, 66-71, 1995.

Endereço para correspondência

Wilson Roberto Cunha

*E-mail: wrcunha@unifran.br