

Contribuição ao estudo das atividades analgésicas e antiinflamatória do rabo-de-tatu, *Cyrtopodium andersonii* (Orchidaceae)

Contribution to the study the analgesic and antiinflammatory activities of rabo-de-tatu, *Cyrtopodium andersonii* (Orchidaceae)

Barreiro, D.N.¹; Parente, J.P.²; Cardoso, G.L. & Pereira, N.A.³

RESUMO – O estudo farmacológico do pseudo-bulbo de rabo-de-tatu, foi empregado o chá a 20% e o polissacarídeo isolado (cirtopodina), administrado por via oral em camundongos demonstrou atividade antiinflamatória.

PALAVRAS-CHAVE – *Cyrtopodium andersonii*; rabo-de-tatu; atividade antiinflamatória.

SUMMARY – Aqueous extract of pseudo bulbo of rabo-de-tatu and isolated cyrtopodine administrated by oral way in mouse demonstrated antiinflammatory activity.

KEYWORDS - *Cyrtopodium andersonii*; rabo-de-tatu; cyrtopodine; antiinflammatory activity.

INTRODUÇÃO

O rabo-de-tatu (*Cyrtopodium colensonii*) é uma orquídea cultivada como planta ornamental cujo pseudobulbo é empregado popularmente como antiinflamatório e analgésico na medicina folclórica. Uma outra espécie, o *Cyrtopodium paranaense* Sckiter, conhecido popularmente por sumaré teve estudo farmacognóstico realizado por Vieira, Soares e Lainetti (2000) possuindo muita semelhança com o rabo-de-tatu.

No estudo fitoquímico do rabo-de-tatu no trabalho de tese de Barreto (1998), é divulgado o isolamento de um polissacarídeo, a cirtopodina, cujo estudo farmacológico do extrato aquoso do pseudobulbo e da cirtopodina é apresentado.

No ensaio para a atividade antiinflamatória, foi empregada a metodologia de Whittle (1966) e para atividade analgésica foi usada a técnica da placa quente adotada por Matheus (1993).

As doses empregadas em ambos os testes foi a administração oral do chá do pseudobulbo a 20% na dose de 0,1 ml/10g e do polissacarídeo a dose de 1 mg/10 g do animal.

Os animais usados nos ensaios foram camundongos brancos pesando 20-25 g.

MATERIAL E MÉTODOS

Estudo farmacológico de *Cyrtopodium coden-sonii* – Atividade analgésica e antiinflamatória

A atividade analgésica central do rabo-de-tatu foi testada através do teste de placa quente ("Hot plate test") e a atividade antiinflamatória através do teste das contorções dolorosas induzidas pelo ácido acético. Coolier *et al.*, (1968) modificado por Fernandes *et al.* (1992).

Preparo do Extrato Aquoso

Aproximadamente 10g da planta, cortada em pedaços, em 50 ml de água destilada foram aquecidas até o ponto de ebulição. Em seguida filtrou-se a mistura de modo a se obter um chá da pseudobulbo a 20%.

Teste de Placa Quente ("Hot plate test")

A metodologia seguida foi de acordo com Matheus (1993). Neste teste avaliou-se o tempo que um animal resiste quando colocado sobre uma placa aquecida a $58 \pm 1^\circ\text{C}$. A resposta observada foi o ato de retirar as patas e em seguida lambe as anteriores, registrando-se por meio de cronômetro, o tempo decorrido desde que o animal fora colocado sobre a placa quente até o aparecimento da resposta (tempo de latência). Se em 15 segundos o animal não retirasse ou lambesse as patas, o mesmo era retirado da placa para evitar danos teciduais que poderiam afetar as leituras subsequentes. Para normalizar os limiares da resposta a este teste foi medido o índice de analgesia do teste da placa quente (IAPQ) e a porcentagem do potencial analgésico (PA), através das fórmulas:

$$\text{IAPQ} = \frac{\text{Tempo de latência} - \text{linha de base}}{15 - \text{linha de base}}$$

onde o valor 15 corresponde ao tempo de corte (*cutt off time*) do estímulo nocivo, em segundos, valor este que é 3 vezes o tempo médio de permanência do animal na placa quente. O valor da linha de base foi considerada como a média das 3 respostas consecutivas medidas antes de qualquer tratamento (grupo controle).

$$\text{PA}(\%) = \frac{\text{latência pós-droga} - \text{latência pré-droga}}{15 - \text{latência pré droga}} \times 100$$

onde a latência pré droga foi a latência da resposta imediatamente antes da administração do extrato (tempo zero).

No grupo de camundongos controle foi medida a latência de resposta no tempo 0, 30, 60, 90 e 120 minutos.

A administração (via oral) do extrato aquoso de rabo-de-tatu (20%), foi imediatamente após de ser medida a latência de resposta no tempo zero minutos. A cinética desta substância natural foi medida relacionando tempo e atividade numa temperatura constante $58 \pm 1^\circ\text{C}$. Para avaliar a atividade de analgesia central deste extrato, foi medido um parâmetro: segundos que os grupos de 10 camundongos suportam a dor.

Metodologia usada para a atividade antiinflamatória (Whittle, 1964)

O extrato aquoso foi administrado por via oral, empregando-se uma cânula de metal acoplado a uma seringa em pequenos intervalos regulares entre os animais testados. Decorrido uma hora, administrou-se por via intraperitoneal 0,1 ml/10g de peso de uma solução de ácido acético 0,1N. Em seguida o animal foi colocado em uma caixa plástica e o número de contorções num período de 30 minutos foi anotado. Os efeitos em termos de analgesia são expressos como redução percentual do valor controle.

Os grupos experimentais constituem-se de 15 animais machos, sendo 10 controle e 5 tratados.

1°. Grupo (controle): Foram administrados 0,1 ml/10g de peso (intraperitoneal) de uma solução de ácido acético 0,1N.

2°. Grupo (tratados): Receberam 0,1 ml/10 g de peso do extrato aquoso a 20% do rabo-de-tatu (via oral). Uma hora após, foram administrados 0,1 ml/10g de peso (intraperitoneal) de uma solução de ácido acético 0,1N.

3°. Grupo (tratados): Receberam 0,1 ml/10g (1 mg/camundongo) de peso da substância isolada (via oral). Uma hora após, foram administrados 0,1 ml/10g de peso (intraperitoneal) de uma solução de ácido acético 0,1N.

Metodologia empregada no estudo da permeabilidade capilar na cavidade peritoneal

O extrato aquoso do rabo-de-tatu foi administrado por via oral, com auxílio de uma cânula de metal acoplada a uma seringa em pequenos intervalos regulares entre um animal e outro. Os animais foram contidos sendo colocados em um tubo de modo a deixar a cauda de fora. Em seguida foram injetados 0,2 ml de uma solução do azul de Evans (1%) na veia lateral da cauda. Dez minutos depois, injetou-se 0,1 ml/10g de peso de solução de ácido acético 0,1N.

A análise do aumento na permeabilidade capilar foi feita medindo-se o extravasamento do corante azul de Evans a partir do compartimento vascular para dentro da cavidade peritoneal. A técnica consistiu em sacrificar os camundongos por inalação de éter 40 minutos após a administração do corante azul de Evans. Em seguida foram fixados através de alfinetes a uma placa de cortiça, e posteriormente, procedeu-se a abertura da cavidade peritoneal com auxílio de uma pinça e tesoura.

Após a abertura da cavidade peritoneal, o corpo do animal foi contido sobre uma placa de Petri e a cavidade peritoneal foi irrigada com 8 ml de água destilada. O fluido da irrigação foi filtrado através de gaze colocada dentro de um funil acoplado a uma proveta graduada, adicionou-se 0,1 ml de NaOH 0,1N, para clarear qualquer turvação devido ao ácido acético ou as proteínas. Em seguida o volume final foi completado para 10 ml com água destilada. A absorvância foi determinada em 590 nm, utilizando-se para tal, uma curva padrão do corante azul de Evans. Os efeitos em termos de permeabilidade capilar são expressos como redução percentual do valor controle.

1°. Grupo (controle): Foram administrados 0,2 ml de uma solução do corante azul de Evans a 1% na veia lateral da cauda. Decorridos 10 minutos, foram injetados 0,1 ml/10g de peso de uma solução de ácido acético (intraperitoneal).

2°. Grupo (tratados): Receberam 0,1 ml/10 g de peso da substância pura. Uma hora após foram administrados 0,2 ml de uma solução do corante azul de Evans a 1% na veia lateral da cauda. Decorridos 10 minutos, foram injetados

0,1 ml/10g de peso de uma solução de ácido acético (intraperitoneal).

3°. Grupo (tratados): Receberam 0,05 ml/10g de peso da substância pura. Uma hora após foram administrados 0,2 ml de uma solução do corante azul de Evans a 1% na veia lateral da cauda. Decorridos 10 minutos, foram injetados 0,1 ml/10g de peso de uma solução de ácido acético (intraperitoneal).

Obtenção da curva padrão de azul de Evans

Para os testes da difusão do corante com água destilada

A solução padrão de azul de Evans (0,2 mg/ml) em água destilada foi diluída para a obtenção de uma concentração de 10 ug/ml. Em seguida adicionou-se em diferentes tubos de ensaio, 9,9; 7,5; 5,0; 2,5 e 1,0 ml da solução de azul de Evans, completando-se o volume a 10 ml de água destilada.

Assim, cada tubo correspondeu, respectivamente, as seguintes concentrações finais de azul de Evans: 99; 75; 50; 25 e 10 ug/10ml.

Procedeu-se logo a seguir, as leituras fotométricas de tais concentrações a 590 nm. Cada ensaio foi repetido 3 vezes construindo-se em seguida uma curva padrão-média do corante baseada nas seguintes leituras de absorvância: 99 ug/10 ml – 0,781; 75 ug/10 ml – 0,585; 50 ug/10 ml – 0,378; 25 ug/10 ml – 0,168 e 10 ug/10 ml – 0,073.

RESULTADOS

Os resultados obtidos estão descritos nas tabelas I e II:

TABELA I
Atividade analgésica na placa quente e tempo de resposta seguido após administração oral

Substâncias	depois de 30 min.	60 minutos	90. minutos	120 minutos
Controle	6 ± 1	7 ± 1	7 ± 1	6 ± 1
Chá a 20% 0,1 ml/10g	7 ± 1	8 ± 1	7 ± 1	6 ± 1

TABELA II
Atividade antiinflamatória - contorções e difusão do corante azul de Evans

Substâncias	Contorções (%)	Inibição (%)	Corante difundido (%)	Inibição (%)
Controle	80 ± 20		127 ± 5,6	
Chá a 20% - 0,1 ml/10g	13 ± 6,3	83,7		
Polissacarídeo 1mg/10g	3,8 ± 4,5	95,2	25,8 ± 18,8	79,8
0,5 mg/10 g	14,3 ± 3,8	82,1	42,1 ± 21,6	67,0

CONCLUSÃO

Tanto o chá a 20% como o polissacarídeo e a cirtopodina apresentaram atividade antiinflamatória, não sendo constatadas as atividades analgésicas.

REFERÊNCIAS

- Barreto, D.W. 1998. Cirtopodina, polissacarídeo isolado do pseudo bulbo do *Cyrtopodium andersonii* Orchidaceae, em trabalho de tese.
- Coolier, H.O.J. et al. 1968. The abdominal constriction response and its suppression by analgesic drugs in mouse. Brit. Pharmacol., 32: 295-310.
- Fernandes, R.M., Pereira, N.A. & Paulo, L.G. 1992. Antiinflammatory activity of copaiba balsam (*Copaifera carensis*, Huber). Rev. Bras. Farm., 73(3): 53-56.
- Matheus, M.E. 1993. Atividade antinociceptiva periférica e central de nossos derivados pirazocicos. Tese de Mestrado.
- Vieira, A.C.M., Soares, A.P.C. & Lainetti, R. 2000. Estudo farmacognóstico do Sumaré: *Cyrtopodium paranaensis* Schetr (Orchidaceae). Rev. Bras. Farm. 81(1/2): 11-13.
- Whittle, B.A. 1964. The use of changes in capillary permeability in mice to distinguish between narcotic and non-narcotic analgesic. Brit. J. Pharmacol., 22: 246-253.