

# **Avaliação da atividade antiinflamatória do extrato etanólico de *Dioclea grandiflora* Mart. Ex Benth (Fabaceae) em um modelo de inflamação aguda**

*Nadson J. F. de Carvalho\**, *Josué do A. Ramalho*, *Luciana da S. N. Ramalho*, *Guilherme E. N. Dias*, *Margareth de F. F. M. Diniz*, *Isac A. de Medeiros*, *Katy L. G. D. de Albuquerque*,<sup>1</sup> *Nadja de A. Correia*,<sup>1</sup> e *Diego N. Guedes*

<sup>1</sup> *Departamento de Fisiologia e Patologia - UFPB*

Correspondências: Nadson J. F. de Carvalho\* -nadson.jose@hotmail.com

**Resumo:** *Dioclea grandiflora* Mart. Ex Benth, também conhecida popularmente como Mucunã de caroço e Olho de boi, é uma Leguminosae usada em decorrência de seus possíveis efeitos no Sistema Nervoso Central e em inflamações prostáticas. Outras espécies de *Dioclea* apresentaram boa atividade antiinflamatória. Objetivou-se avaliar a atividade antiinflamatória do extrato etanólico bruto de *D. grandiflora* (D-EEtOH) nas doses de 10 mg/kg, 50 mg/kg e 250 mg/kg, que se deu através da realização de experimentos de indução da inflamação aguda utilizando carragenina em ratos de Wistar. Em diversos estudos a carragenina tem sido escolhida como substância ideal para avaliação do efeito antiinflamatório de diversas substâncias como secreções animais e plantas, devido a sua capacidade de induzir inflamação local aguda. Com base nos dados obtidos foi observado que as três doses apresentaram atividade antiinflamatória na primeira e na segunda hora frente ao modelo experimental montado, porém houve perda dessa atividade na avaliação das horas subsequentes. Então, há necessidade de estudos mais aprofundados para confirmar a atividade antiinflamatória e avaliar por qual mecanismo o extrato de *D. grandiflora* está exercendo essa atividade.

**Palavras-chave:** Plantas medicinais, inflamação, mucunã

## Introdução

As plantas medicinais são largamente utilizadas pelo homem no tratamento dos seus males desde os primórdios da civilização. Por suas propriedades terapêuticas ou tóxicas, elas adquiriram fundamental importância na medicina popular (Martins et al., 2000). Nas últimas décadas, a popularidade da fitoterapia tem motivado os órgãos públicos a investirem em pesquisa com plantas usadas na medicina tradicional (Brasil, 1986).

Diante da necessidade, cada vez maior, por medicamentos e considerando-se o seu elevado custo, a busca por fontes alternativas de agentes terapêuticos e a implementação de um projeto sistemático para o estudo e validação do uso de plantas medicinais é de grande interesse para a comunidade científica (Santos, 2002).

Nesse contexto, surge a espécie *Dioclea grandiflora* Mart. ex Benth (Fabaceae), também conhecida como Mucunã, Mucunã de caroço e Olho de boi, que tem sido usada popularmente em decorrência de seus possíveis efeitos no SNC. Além desses possíveis efeitos no SNC, outras espécies desse gênero apresentaram boa atividade antiinflamatória (Paim, L. B., 2006), e a própria *D. grandiflora* é indicada para o tratamento de inflamações prostáticas (Agra et al., 2007).

A inflamação aguda é uma resposta fisiológica a distúrbios locais ou sistêmicos (Gruys et al., 2005). Tem como características marcantes o aumento do fluxo sanguíneo local, a formação de exsudato e o recrutamento de leucócitos (Wallace, 2008); diversos sistemas estão envolvidos nas respostas inflamatórias: destacam-se a cascata de coagulação, o sistema complemento, a cascata das cininas bem como respostas imunológicas celulares mediadas por diversos fatores como interferons, interleucinas e imunoglobulinas (Cotran, 2000). A inflamação buscar promover o retorno do organismo ao estado de homeostasia, através de respostas celulares e da cicatrização por substituição do tecido conjuntivo (Gilroy, 2004).

Tendo em vista o fato de que a atividade anti-inflamatória foi evidenciada com outras espécies do gênero *Dioclea* (Paim, L. B., 2006), sugere necessidade de ampliação das informações atinentes às possíveis atividades farmacológicas do gênero. Some-se a isto, a importância em

comprovar se a espécie *D. grandiflora*, que tem ampla ocorrência no estado da Paraíba, e é amplamente utilizada pelos populares, também possuirá uma potencial ação no combate ao processo inflamatório agudo.

## **Materiais e Métodos**

A atividade antiinflamatória do extrato etanólico bruto de *D. grandiflora*, foi avaliada através da realização de experimentos de indução da inflamação aguda utilizando carragenina.

### *Local da pesquisa*

As atividades de pesquisa foram desenvolvidas no Laboratório de Ensaio Toxicológicas (LABETOX) – CCS/UFPB, e no biotério Prof. Thomas George do Centro de Biotecnologia – CBIOTEC da Universidade Federal da Paraíba (UFPB).

### *Obtenção do extrato*

O extrato etanólico bruto de *D. grandiflora* foi produzido no Laboratório do Prof. Dr. José Maria Barbosa Filho, e as doses utilizadas nos experimentos foram 10, 50 e 250 mg/kg.

### *Animais*

Nessa pesquisa foram utilizados 25 ratos Wistar (*Ratus norvegicus*), albinos, adultos, machos, pesando entre 200 e 300 gramas, fornecidos pelo biotério Prof. Thomas George do CBIOTEC da UFPB. Todos agrupados em gaiolas de polietileno, contendo cinco animais em cada, mantidos sob condições controladas de temperatura de  $21 \pm 2^\circ \text{C}$ , tendo livre acesso à comida (tipo pellets) e água.

Para diminuir o sofrimento dos animais foram respeitados os tempos limites de exposição do animal aos estímulos dos testes, a fim de evitar lesão tecidual e, após os testes, os animais foram

eutanasiados por administração de excesso de anestésico (Xilazina e Quetamina nas doses de 80 e 5 mg/kg, respectivamente) como recomendado pela comunidade científica.

#### *Teste de edema em pata induzido por carragenina*

A atividade antiinflamatória foi analisada segundo a metodologia descrita por Winter et al. (1962). Ratos Wistar receberam os seguintes tratamentos: veículo (v.o.), o antiinflamatório padrão indometacina e 3 diferentes doses do extrato. Logo em seguida foi medido o volume da pata do animal (tempo zero).

Após 60 minutos foi induzido o processo inflamatório pela administração de 0,1µL de carragenina (cg) a 1% na região subplatar da pata posterior direita de cada animal. O volume da pata será medido logo após a injeção de carragenina (tempo zero) e nas 4 horas posteriores com intervalos constantes de 60 minutos com auxílio de um pletismômetro.

A inibição da indução do processo inflamatório das substâncias testadas foi estimada em termos de percentual de inibição, calculado de acordo com a equação da atividade antiinflamatória, Eq.(1):

$$(\%) = [(n - n') / n] \times 100$$

(1)

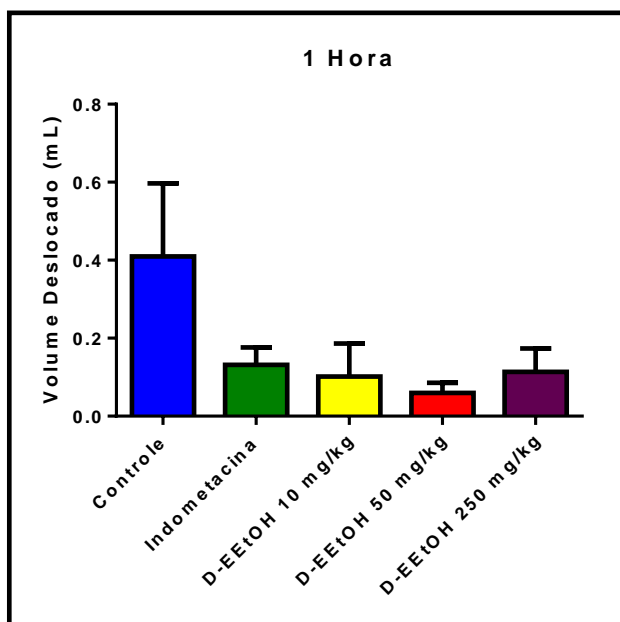
Onde n e n' indicam a média ± erro padrão do volume do edema nos grupos controle e teste em uma determinada hora (Palaska et al., 2002).

#### *Análise estatística*

Para análise estatística dos resultados, foi utilizado o Teste “t” de Student não pareado, utilizando o Software GraphPadPrism 6.0 sendo os resultados considerados significativos quando apresentaram valores de  $p < 0,05$ .

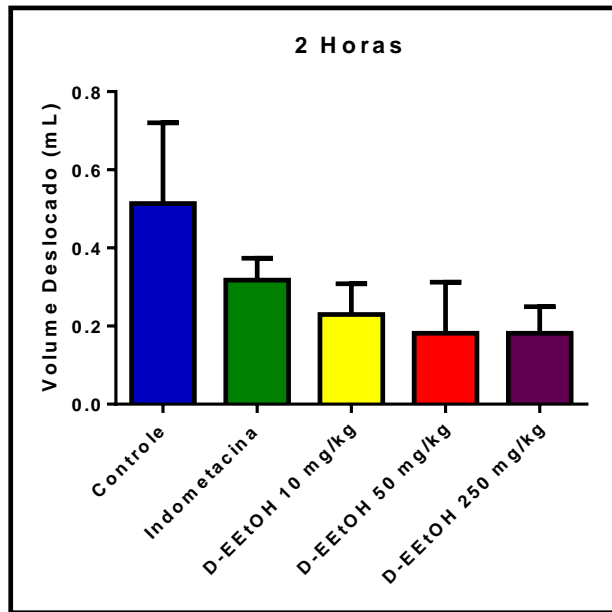
## Resultados e discussões

Na análise da figura 1 observa-se que na primeira hora o D-EEtOH inibiu de forma significativa a formação do edema nas doses de 10mg/kg, 50 mg/kg e 250 mg/kg, e comprovou que a indometacina um antiinflamatório não esteroideal conhecido inibiu significativamente a formação do edema.



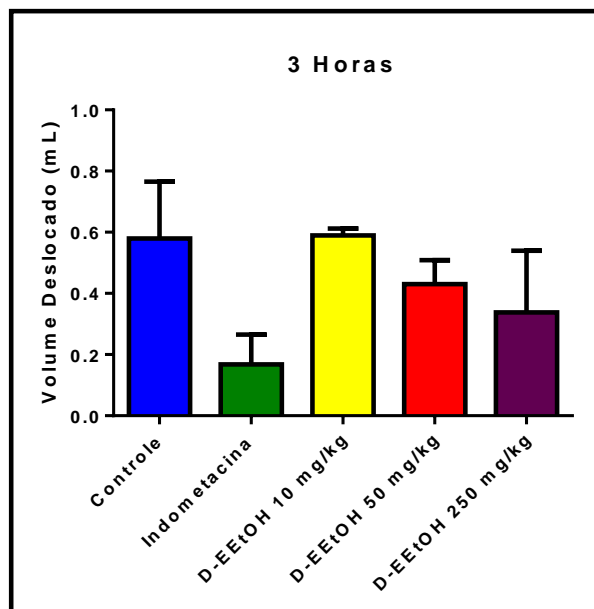
**Figura 1.** Efeito da administração oral do extrato etanólico de *D. grandiflora* em edema de pata induzido por carragenina na primeira hora.

Na análise da figura 2 observa-se que na segunda hora o D-EEtOH continuou reduzindo de maneira significativa a formação do edema nas doses de 10mg/kg, 50 mg/kg e 250 mg/kg.



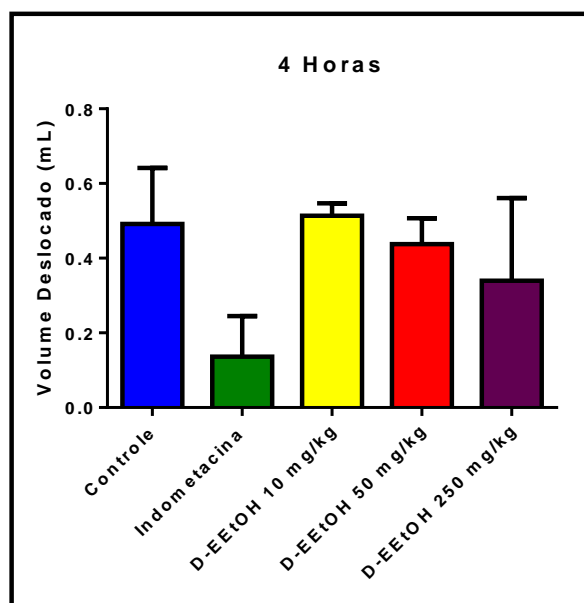
**Figura 2.** Efeito da administração oral do extrato etanólico de *D. grandiflora* em edema de pata induzido por carragenina na segunda hora.

Na análise da figura 3 observa-se que na terceira hora o D-EEtOH não apresentou redução significativa do edema em nenhuma das três doses.



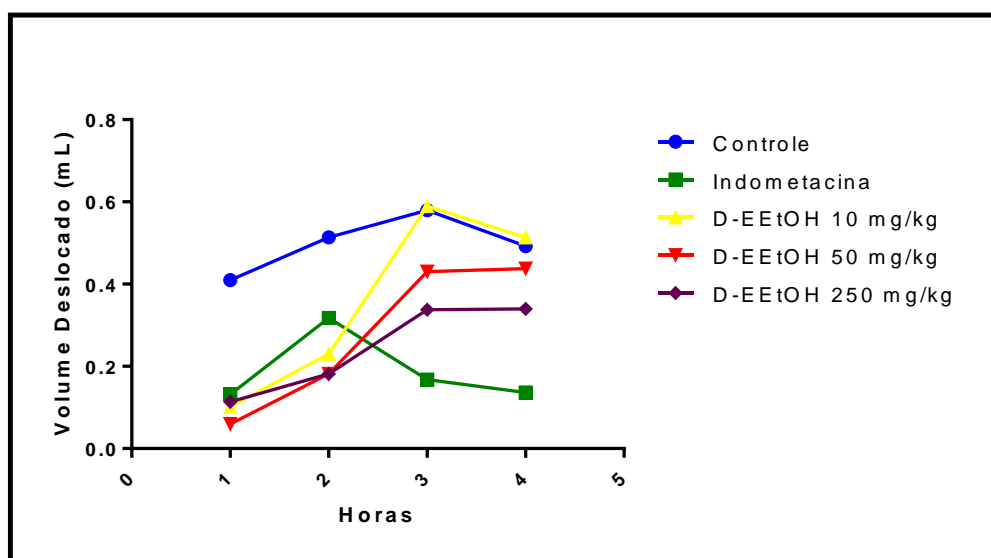
**Figura 3.** Efeito da administração oral do extrato etanólico de *D. grandiflora* em edema de pata induzido por carragenina na terceira hora.

Na análise da figura 4 observa-se que na quarta hora o D-EEtOH continuou não apresentando redução significativa do edema em nenhuma das três doses.



**Figura 4.** Efeito da administração oral do extrato etanólico de *D. grandiflora* em edema de pata induzido por carragenina na quarta hora.

Analisando os resultados da figura 5 observa-se que o D-EEtOH apresentou atividade comparada a indometacina apenas na primeira hora de avaliação perdendo essa capacidade nas horas seguintes para as três doses. Pode-se observar que a indometacina um inibidor da ciclooxigenase reduziu o edema de forma significativa comprovando assim a sua atividade anti-inflamatória e a confiabilidade do modelo utilizado para avaliar esse parâmetro.



**Figura 5.** Efeito da administração oral do extrato etanólico de *D. grandiflora* em edema de pata induzido por carragenina nas quatro horas avaliadas.

A carragenina é um polissacarídeo sulfatado de alto peso molecular derivado de várias espécies de algas vermelhas da família Rhodophyceae (Buck et al., 2006). Tem sido utilizada como emulsificante pelas indústrias alimentícias (Roch-Arveiller; Giroud, 1979). Curiosamente, esta substância também é usada como lubrificantes sexuais e preservativos lubrificados (Buck et al., 2006).

Em diversos estudos, tem sido escolhida como substância ideal para avaliação do efeito antiinflamatório de diversas substâncias como secreções animais e plantas, devido a sua capacidade de induzir inflamação local aguda (RochArveiller; Giroud, 1979). O edema provocado pela carragenina ocorre em três fases. Na primeira hora após a injeção de carragenina acontece o aumento da permeabilidade vascular mediado pela liberação de histamina e serotonina. Na segunda hora, o aumento da permeabilidade é mediado pela liberação de cininas.

A carragenina induz a inflamação de forma aguda e não imune sendo o modelo de inflamação induzido por carragenina altamente reprodutível e bem pesquisado. Imediatamente após a injeção de carragenina intraplantar pode-se observar os sinais clássicos da inflamação; edema, hiperalgesia e eritema. Esses efeitos são resultantes da ação de citocinas pró-inflamatórias como bradicininas, histamina, taquicininas, espécies reativas de oxigênio e óxido nítrico. Sendo essas substâncias geradas pela implantação no local ou por células infiltrante no tecido. A inflamação é quantificada pelo edema na pata que é máximo na quinta hora após a injeção de carragenina (Morris, C. J. 2003).

A inflamação é um processo complexo que é essencial para o sistema de defesa do hospedeiro. A produção excessiva de alguns mediadores inflamatórios pode levar a doenças crônicas. Matérias-primas vegetais podem ter uma ação antiinflamatória que afeta vários estágios do processo de inflamação e inibem a formação de citocinas e eicosanoides, evitando o início da cascata inflamatória (Seelinger et al., 2008).

Alguns metabólitos secundários podem proporcionar alívio de sintomas semelhantes a medicamentos alopáticos. Então os produtos naturais e seus derivados são uma alternativa atraente



para o tratamento de diversas doenças tais como inflamações agudas, crônicas, asma e alergias (Rogerio et al., 2010).

Os resultados obtidos demonstraram que as três doses apresentaram atividade antiinflamatória comparável a indometacina na primeira e segunda hora.

Baseado nos resultados obtidos pode-se observar que o extrato etanólico bruto de *D. grandiflora* apresentou atividade antiinflamatória, na primeira e na segunda hora, nas três doses (10 mg/kg, 50 mg/kg e 250 mg/kg) frente ao modelo de edema de pata induzido por carragenina, e que não houve redução significativa do efeito edematogênico na terceira e quarta hora em nenhuma das três doses propostas, o que corrobora para a necessidade de estudos posteriores mais aprofundados para confirmar a atividade antiinflamatória, e avaliar por qual mecanismo o extrato de *D. grandiflora* está exercendo essa atividade.

## Referências

- Almeida, R.N., Carlini, E. L.A, 2006. Aspectos Éticos da Experimentação com Animais. In: Almeida, R. N. *Psicofarmacologia. Fundamentos Práticos*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.62-75.
- Almeida, R. N., Falcão, A. C. G., Diniz, R. S. T., Quintans-Júnios, L. J., Polari, R. N., Barbosa-Filho, J. M., Agra, M. F., Duarte, J. C., Ferreira, C. D., Antonioli, A. R., Araújo, C. C., 1999. Metodologia para avaliação de plantas com atividade no Sistema Nervoso Central e alguns dados experimentais. *Rev. Bras. Farm.* v.80, n.3-4, p.72-76.
- Andreoli, T.E., 2000. Free radicals and oxidative stress. *Am J Med*, v. 108, p. 650-651.
- Barroso, G.M., 1986. Sistemática de angiospermas do Brasil. Viçosa: UFV, v.3, 314p.
- Borrelli, F., Izzo, A.A., 2000. Review article: The plant Kingdom as a source of anti-ulcer remedies. *Phytother Res*, v. 14, p. 581-91.
- Berkowitz, B.A., 2005. Avaliação básica e clínica. In: Katzung, B.G. *Farmacologia: básica e clínica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- Bremer, K., 1994. *Asteraceae Cladistics and Classification*. Portland, OR: Timber Press, p 752.
- Brazilian Journal Medical Biological Research*. 2000. v. 33. n.2. p. 179-189.
- Carlini, E.A, 1995. *Medicamentos, drogas e saúde*. São Paulo: Hucitec/ Sobravime.
- Di Carlo, G., Mascolo, N., Izzo, A. A., Capasso, F., 1999. Review article: Flavonoids Old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life Sci*, v. 65, n.4, p. 337-353.

- Diniz, M. F. F. M., Oliveira, R. A. G., Malta Júnior, A., Moura, M. D., 2006. *Memento de Plantas Mediciniais*, Editora Universitária UFPB, 2 ed, p 79-81.
- Evans, W.C., 1991. *Farmacognosia. Sesquiterpenos*, 13 ed. McGraw-Hill. Interamericana. México, p 561-562.
- Halliwell, B., Aeschbach, R., Loliger, J., Aruoma, O.I., 1995. *The characterization of antioxidants*. Chem. Toxic, v. 33, n.7, p 601-617.
- Harbone, J. F., Williams, C. A., 2000. Review: Advances in flavonoid research since. Phytochem, v. 55, p 481-504.
- Junior, V. F. V., Pinto, A. C., Maciel, M. A. M., 2005. Plantas Mediciniais Cura Segura? Quím. Nova, v. 2, n 3, p 2-4.
- Martins, E.R., Castro, D.M., Castellani, D.C., Dias, J.E., 2000. *Plantas Mediciniais*. Viçosa: MG. Ed UFV, 3 ed, p 220.
- Miller, A. L., 1996. *Antioxidant flavonoids: structure, function and clinical usage*. Altern Med Ver, v 1, p 103-111.
- Cotran R.S., Kumar V., 2000. *Collins T. Robbins - Patologia Estrutural e Funcional*, 6 ed, 3(6): 44-77.
- Silva, M. G., 2002. Estudo das atividades antiinflamatória/analgésica de *Conocliniopsis prasiifolia* (DC) R. M. King & H. Robinson (Asteraceae). Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e sintéticos Bioativos do LTF da UFPB. João Pessoa. p 68.
- Silva, M. G.; Oliveira, F. S.; Quintans-Junior, L. J.; Oliveira, T. M. L.; Diniz, M. F. F. M., 2005. Investigação do Efeito Analgésico Central e Antiinflamatório de *Conocliniopsis prasiifolia* (DC) R. M. King & H. Robinson em roedores. *Acta Farm. Bonaerense* 24(4): 533-7.