



Efeitos Antinociceptivo e Antiinflamatório do Extrato Etanólico das Folhas de *Duguetia lanceolata* St.-Hil. (Annonaceae)

Orlando V. SOUSA *¹; Glauciemar DEL-VECHIO-VIEIRA ¹; Maria P. H. AMARAL ¹;
José J. R.G. PINHO ¹; Célia H. YAMAMOTO ¹ & Maria S. ALVES ²

¹ Departamento Farmacêutico e ² Departamento de Análises Clínicas,
Faculdade de Farmácia e Bioquímica, Universidade Federal de Juiz de Fora,
Campus Universitário, Martelos, CEP 36036-330, Juiz de Fora, MG, Brasil

RESUMO. *Duguetia lanceolata* St.-Hil. (Annonaceae), popularmente conhecida como pindaíba, é usada na medicina popular como antiinflamatório, cicatrizante e antimicrobiano. O objetivo do presente estudo foi investigar os efeitos antinociceptivo e antiinflamatório do extrato etanólico das folhas de *D. lanceolata* através dos testes de contorções abdominais, formalina, placa quente e edema de pata. O extrato etanólico reduziu, significativamente ($p < 0,05$), as contorções abdominais (10 mg/kg = $58,37 \pm 1,90$; 50 mg/kg = $54,37 \pm 2,14$; 100 mg/kg = $41,50 \pm 2,04$ e 200 mg/kg = $34,25 \pm 1,76$) quando comparado ao grupo controle. Ambas as fases do tempo da lambida da pata foram inibidas ($p < 0,05$): 1ª fase (50 mg/kg = $72,50 \pm 1,97$; 100 mg/kg = $65,87 \pm 2,27$ e 200 mg/kg = $47,75 \pm 2,20$ e 2ª fase (50 mg/kg = $71,87 \pm 2,78$; 100 mg/kg = $64,25 \pm 1,72$ e 200 mg/kg = $56,62 \pm 2,32$). Após 30 min de tratamento, o tempo de latência sobre a placa quente aumentou a partir da dose 50 mg/kg ($7,62 \pm 0,50$) com efeito máximo na dose de 200 mg/kg ($12,87 \pm 0,87$). As doses de 50, 100 e 200 mg/kg tiveram efeito significativo ao reduzir o edema de pata. Estes resultados sugerem que *D. lanceolata* pode constituir uma fonte de substâncias ativas com efeitos antinociceptivo e antiinflamatório.

SUMMARY. "Antinociceptive and Anti-inflammatory Effects of *Duguetia lanceolata* St.-Hil. (Annonaceae) Leaves Ethanol Extract". *Duguetia lanceolata* St.-Hil. (Annonaceae), popular known as pindaíba, is used in folk medicine as anti-inflammatory, cicatrizing and antimicrobial. The aim of the present study was to investigate the analgesic and anti-inflammatory effects of *D. lanceolata* ethanol extract by acetic acid writhing, paw licking induced by formalin, hot plate and paw edema tests. The ethanol extract reduced ($p < 0.05$) the abdominal contortions (10 mg/kg = 58.37 ± 1.90 ; 50 mg/kg = 54.37 ± 2.14 ; 100 mg/kg = 41.50 ± 2.04 and 200 mg/kg = 34.25 ± 1.76) when compared with control group. Both phases of paw lick were inhibited ($p < 0.05$): 1st phase (50 mg/kg = 72.50 ± 1.97 ; 100 mg/kg = 65.87 ± 2.27 and 200 mg/kg = 47.75 ± 2.20 and 2nd phase (50 mg/kg = 71.87 ± 2.78 ; 100 mg/kg = 64.25 ± 1.72 and 200 mg/kg = 56.62 ± 2.32). After 30 min of treatment, the reaction time on the hot plate increased since dose 50 mg/kg (7.62 ± 0.50) with maximal effect at dose 200 mg/kg (12.87 ± 0.87). The doses of 50, 100 and 200 mg/kg had significant effect to reduce the paw edema. These results suggest that *D. lanceolata* could constitute a source of active substances with antinociceptive and anti-inflammatory effects.

INTRODUÇÃO

O gênero *Duguetia* (Annonaceae) compreende cerca de 80 espécies, sendo que a maioria é nativa da América subtropical ^{1,2}. No Brasil, espécies de *Duguetia* são encontradas em diversos estados ³ e usadas, popularmente, no tratamento de diarreia, reumatismo, dores de estômago, das costas e dos rins e como sedativo ⁴. Investigações químicas de espécies desse gênero têm identificado substâncias alcaloídicas ^{1,2,5-7},

sesquiterpenoídicas ^{5,8-10} e flavonoídicas ^{5,11-13}. Alguns alcalóides isolados exibiram atividades antimalárica, leishmanicida, tripanossomicida, antimicrobiana e citotóxica ^{1,7,10,14}.

Duguetia lanceolata St.-Hil., popularmente conhecida como "pindaíba", "beribá" ou "pinhão", é uma planta nativa do Brasil, encontrada no Cerrado e Floresta Atlântica, especialmente nos Estados de Minas Gerais, Mato Grosso e São Paulo ³. Na medicina popular, essa es-

PALAVRAS-CHAVE Annonaceae, atividade antinociceptiva, atividade antiinflamatória, *Duguetia lanceolata*.
KEY WORDS: analgesic activity, Annonaceae, anti-inflammatory activity, *Duguetia lanceolata*.

* Autor a quem correspondência deve ser enviada: E-mail: orlando.sousa@ufjf.edu.br

pécie tem sido utilizada como antiinflamatório, cicatrizante e antimicrobiano ¹⁵. O óleo essencial obtido de suas cascas contém β -elemeno, óxido de cariofileno, β -selineno e β -eudesmol como principais componentes e apresenta atividades antinociceptiva, antiinflamatória e antibacteriana ^{15,16}. Frações de *D. lanceolata* contendo alcalóides totais demonstraram atividade antiplasmódica *in vitro* ¹⁷. Com base no uso popular e nas atividades farmacológicas descritas na literatura, a proposta do presente estudo foi investigar os efeitos antinociceptivo e antiinflamatório do extrato etanólico das folhas de *D. lanceolata*.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta do material vegetal

Duguetia lanceolata St.-Hil. foi coletada na Reserva Biológica Santa Cândida em Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil, em maio de 2005. Uma exsicata, identificada por Dra. Rita de Cássia Almeida Lafetá, foi depositada no Herbário Leopoldo Krieger do Departamento de Botânica da Universidade Federal de Juiz de Fora sob nº de registro 29750, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil.

Preparo dos extratos

As folhas coletadas foram submetidas à secagem a 50 °C, sob ventilação forçada, com perda de aproximadamente 92% de umidade. O material botânico (560 g) foi triturado em moinho mecânico e pulverizado em tamise de malha 80. O extrato etanólico foi obtido por maceração estática durante três semanas com oito trocas de solvente. Após remoção do etanol por rotaevaporação, o extrato bruto foi solubilizado em dimetilsulfóxido (DMSO) 1% (v/v) em salina para avaliação das atividades farmacológicas.

Animais

Foram utilizados camundongos Swiss albino (20-25 g) e ratos Wistar (180-200 g) machos provenientes do Centro de Biologia da Reprodução da Universidade Federal de Juiz de Fora. Os animais foram mantidos em gaiolas plásticas com ração e água *ad libitum* em temperatura ambiente e privados de ração doze horas antes da realização dos procedimentos. Os protocolos utilizados foram aprovados pelo Comitê de Ética na Experimentação Animal desta instituição.

Avaliação da atividade analgésica

Teste de contorções abdominais

O extrato etanólico (5, 10, 50, 100 e 200

mg/kg) das folhas de *D. lanceolata* foi administrado, por via oral (v.o.), em 8 camundongos ¹⁸. Após 1 h de tratamento, 10 mL/kg de ácido acético 0,6% foram administrados intraperitonealmente e o nº de contorções abdominais determinado entre 10 e 30 min após esse procedimento. O grupo controle recebeu 10 mL/kg de salina (v.o.). Indometacina (10 mg/kg, v.o.) foi o controle positivo do teste e serviu para validar o método.

Teste da formalina

Injeção de 20 μ L de formalina 2,5 % (em salina estéril) foi aplicada no espaço subplantar da pata direita dos camundongos (n = 8) e a duração do tempo da lambida foi determinada de 0 a 5 min (1ª fase) e 15 a 30 min (2ª fase) ¹⁹. O extrato etanólico de *D. lanceolata* foi administrado nas doses de 5, 10, 50, 100 e 200 mg/kg (v.o.) 1 hora antes da aplicação da formalina. Os animais controle (n = 8) receberam 10 mL/kg de salina (v.o.). Morfina (1 mg/kg, subcutânea) foi usada como controle positivo do teste (n = 8) e serviu para validar o método.

Teste da placa quente

Grupos de oito camundongos foram tratados com o extrato etanólico de *D. lanceolata* (5, 10, 50, 100 ou 200 mg/kg, v.o.; 0,1 mL/10 g) e salina (10 mL/kg). Os animais foram colocados em placa quente aquecida a 55 ± 1 °C ²⁰. As medidas foram realizadas nos tempos zero, 30, 60 e 90 min após administração do extrato, com tempo máximo de permanência (*cut-off*) de 40 s. Em um grupo de animais (n = 8) procedeu-se a determinação do efeito do pré-tratamento com naloxona (1 mg/kg, s.c.) sobre a analgesia produzido pelo extrato (200 mg/kg, v.o.) e morfina (1 mg/kg, s.c.) que foi usada como controle positivo do teste e serviu para validar o método.

Avaliação da atividade antiinflamatória

Edema de pata induzido por carragenina

O edema de pata foi induzido pela injeção de 0,1 mL de carragenina (2% p/v) em salina estéril e administrada na região subplantar da pata direita de rato Wistar machos (n = 6). O extrato de *D. lanceolata* foi administrado (v.o.) nas doses de 5, 10, 50, 100 e 200 mg/kg 1 h antes da injeção de carragenina ²¹. O grupo controle recebeu 10 mL/kg de salina (v.o.). Na pata esquerda, usada como controle, foi injetada 0,1 mL de salina estéril. As medidas do edema foram realizadas nos tempos 1, 2, 3 e 4 h após aplicação da carragenina e o volume deslocado foi medido pela diferença entre o edema das patas direita e esquerda. Indometacina (10

mg/kg, v.o.) foi usada como controle positivo do teste (n = 6) e serviu para validar o método.

Análise estatística

Os resultados foram demonstrados através da média \pm erro padrão. Análise de variância (ANOVA) seguida do teste de Student Newman-Keuls foi utilizada para medir o grau de significância ($p < 0,05$).

RESULTADOS

O extrato etanólico das folhas de *D. lanceolata* demonstrou atividades antinociceptiva e antiinflamatória. As contorções abdominais foram reduzidas, significativamente ($p < 0,05$; $p < 0,01$ ou $p < 0,001$), em 11,39; 17,46; 37,00 e 48,00% em relação ao controle, nas doses de 10, 50, 100 e 200 mg/kg, respectivamente (Tabela 1). O extrato inibiu ambas as fases do tempo da lambida da pata, produzindo uma resposta característica bifásica (Tabela 2). A duração do tempo de lambida na primeira fase (0-5 min) foi de $81,12 \pm 2,94$ s e na segunda fase (15-30 min) foi de $84,37 \pm 2,23$ s para o grupo controle. Após 60 min de tratamento, as doses de 50, 100 e 200 mg/kg do extrato de *D. lanceolata* inibiram, significativamente ($p < 0,05$, $p < 0,01$ ou $p <$

0,001), a primeira fase em 10,63, 18,80 e 41,14% e a segunda fase em 14,81, 23,85 e 32,90% em relação ao controle, respectivamente.

Conforme mostra a Tabela 3, o extrato de *D. lanceolata* aumentou o tempo de latência de camundongos expostos à placa quente. No tempo zero, não houve efeito significativo quando comparado ao grupo controle. Após 30, 60 e 90 min de tratamento, as doses de 50, 100 e 200 mg/kg aumentaram, significativamente ($p < 0,05$; $p < 0,01$ ou $p < 0,01$), o tempo de latência. A dose de 10 mg/kg teve efeito significativo após 90 min da administração do extrato. No entanto, a dose de 200 mg/kg foi mais efetiva, pois aumentou o tempo de latência em 74,57; 78,77 e 94,19% em relação ao grupo controle nos tempos 30, 60 e 90 min, respectivamente. A naloxona, um antagonista opióide, reduziu o efeito da morfina, mas não alterou totalmente o efeito antinociceptivo do extrato testado.

O efeito antiinflamatório do extrato etanólico de *D. lanceolata* avaliado pelo o método do edema de pata induzido por carragenina é mostrado na Figura 1. A inibição do edema foi observada a partir de 2 h após aplicação de carragenina na dose de 200 mg/kg ($0,57 \pm 0,03$; 18,57 %; $p < 0,05$). Após 3 h da injeção de car-

Grupos	Doses (mg/kg)	Número de Contorções	Inibição (%)
Controle	Salina	$65,87 \pm 2,31$	-
	5	$62,87 \pm 2,04$	4,55
	10	$58,37 \pm 1,90^*$	11,39
Extrato Etanólico	50	$54,37 \pm 2,14^{**}$	17,46
	100	$41,50 \pm 2,04^{***}$	37,00
	200	$34,25 \pm 1,76^{***}$	48,00
Indometacina	10	$12,12 \pm 0,99^{***}$	81,60

Tabela 1. Efeito do extrato etanólico das folhas de *D. lanceolata* sobre as contorções abdominais induzidas por ácido acético (n = 8). * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$. Significativos após análise de variância (ANOVA) seguido do teste de Student Newman-Keuls quando comparados ao controle.

Grupos	Doses (mg/kg)	Tempo de Reação (s)			
		1ª Fase (s)	Inibição (%)	2ª Fase (s)	Inibição (%)
Controle	Salina	$81,12 \pm 2,94$	-	$84,37 \pm 2,23$	-
	5	$80,37 \pm 3,33$	-	$84,12 \pm 2,14$	-
	10	$79,12 \pm 3,11$	2,46	$81,62 \pm 2,31$	3,26
Extrato Etanólico	50	$72,50 \pm 1,97^*$	10,63	$71,87 \pm 2,78^{**}$	14,81
	100	$65,87 \pm 2,27^{**}$	18,80	$64,25 \pm 1,72^{***}$	23,85
	200	$47,75 \pm 2,20^{***}$	41,14	$56,62 \pm 2,32^{***}$	32,90
Morfina	1	$14,12 \pm 1,12^{***}$	82,60	$15,87 \pm 1,29^{***}$	81,19

Tabela 2. Efeito do extrato etanólico das folhas de *D. lanceolata* sobre o tempo de reação da lambida da pata induzido por formalina (n = 8). * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$. Significativos após análise de variância (ANOVA) seguido do teste de Student Newman-Keuls quando comparados ao controle.

Grupos	Doses (mg/kg)	Tempo de Latência (s)			
		Zero	30 min	60 min	90 min
Controle	Salina	6,12 ± 0,44	6,37 ± 0,26	6,50 ± 0,86	6,37 ± 0,26
	5	6,25 ± 0,41	6,50 ± 0,42	6,62 ± 0,84	6,87 ± 0,29
	10	6,37 ± 0,37	6,75 ± 0,36	7,25 ± 0,36	7,50 ± 0,33*
Extrato Etanólico	50	6,12 ± 0,44	7,62 ± 0,50*	8,00 ± 0,46*	8,75 ± 0,67**
	100	6,37 ± 0,37	8,37 ± 0,60**	10,00 ± 0,46***	10,62 ± 0,62***
	200	6,12 ± 0,51	11,12 ± 0,64***	11,62 ± 0,60***	12,87 ± 0,87***
Morfina	1	6,25 ± 0,53	13,62 ± 1,15***	16,12 ± 0,85***	18,37 ± 0,94***
Naloxona+Morfina	1+1	6,00 ± 0,38	10,12 ± 0,64***	9,12 ± 0,40***	7,37 ± 0,26*
Naloxona+Extrato	1+200	6,37 ± 0,37	11,00 ± 0,65***	10,12 ± 0,64***	10,25 ± 0,53***

Tabela 3. Efeito do extrato etanólico das folhas de *D. lanceolata* sobre o tempo de latência de camundongos expostos à placa quente (n = 8). * p < 0,05; ** p < 0,01; *** p < 0,001. Significativos após análise de variância (ANOVA) seguido do teste de Student Newman-Keuls quando comparados ao controle.

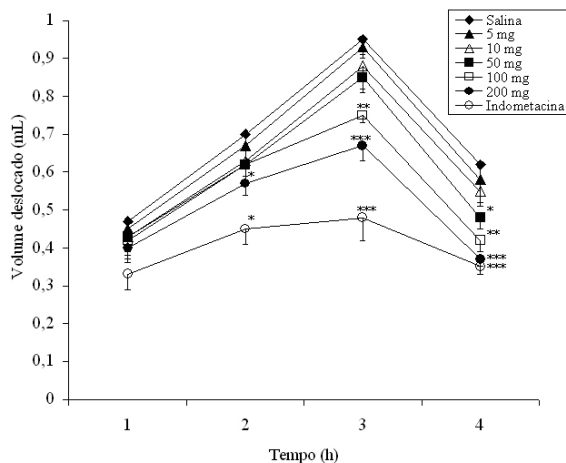


Figura 1. Efeito do extrato etanólico das folhas de *D. lanceolata* sobre o edema de pata induzido por carragenina (n = 6). *p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001. Significativos após análise de variância (ANOVA) seguido do teste de Student Newman-Keuls quando comparados ao controle.

ragenina, as doses de 100 (0,75 ± 0,02; p < 0,01) e 200 mg/kg (0,67 ± 0,04; p < 0,001) reduziram o edema de pata em 21,05 e 29,47 %, respectivamente. As doses de 50 (22,58 %; p < 0,05), 100 (32,26 %; p < 0,01) e 200 mg/kg (40,32 %; p < 0,001) foram mais efetivas após 4 h após indução de edema em relação ao controle. Nesse tempo, a indometacina reduziu o edema de pata em 43,55%.

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos no presente estudo, observa-se que o extrato etanólico das folhas de *D. lanceolata* possui efeito antinociceptivo sobre o sistema nervoso periférico e central. Os dados demonstram que o extrato re-

duziu as contorções abdominais, sugerindo a inibição da síntese de prostaglandinas pela via da ciclooxigenase²². Além disso, o efeito central e periférico foi demonstrado através de uma resposta bifásica do tempo da lambida da pata induzida por formalina¹⁹. A ação central foi confirmada no teste da placa quente (10, 50, 100 e 200 mg/kg), mostrando que o efeito máximo é alcançado após 90 minutos. Pela análise dos dados observa-se, também, que a ação antinociceptiva do extrato não depende totalmente do sistema opióide, pois o tratamento com naloxona não reverteu completamente o efeito produzido. O teste do tempo da lambida da pata também indicou uma possível atividade antiinflamatória, pois a segunda fase foi reduzida a partir de 50 mg/kg.

A atividade antiinflamatória do extrato etanólico de *D. lanceolata* sugerida no teste da formalina foi confirmada pelo modelo do edema da pata induzido por carragenina através da redução do volume deslocado (Fig. 1). Como agente inflamatório, a carragenina induz inflamação pela liberação de prostaglandinas, ocasionando a formação de um edema. Antiinflamatórios não-esteróides, como a indometacina, inibem a ciclooxigenase, reduzindo a biossíntese de prostaglandina e o edema de pata²³. Provavelmente, o extrato testado possui ação semelhante a esses antiinflamatórios.

Portanto, os resultados obtidos no presente estudo corroboram para o emprego de plantas do gênero *Duguetia* na medicina popular visto que o extrato etanólico das folhas de *D. lanceolata* possui efeitos antinociceptivo e antiinflamatório, sugerindo suas potencialidades para fins terapêuticos. Entretanto, novos estudos necessitam ser realizados para garantir seu uso seguro.

Agradecimentos. Nossos agradecimentos ao CNPq e a UFJF pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

1. Muhammad, I., D.C. Dunbar, S. Takamatsu, L.A. Walker & A.M. Clark (2001) *J. Nat. Prod.* **64**: 559-62.
2. Almeida, J.R.G.S., A.S.S.C. Lúcio, J.M. Barbosa-Filho, M.F. Agra, M.S. Silva, E.V.L. Cunha, D.E.A. Uchoa & R. Braz-Filho (2007) *Biochr. Syst. Ecol.* **35**: 456-8.
3. Maas, P.J.M., H.M.-v. Kamer, L. Junikka, R. Mello-Silva & H. Rainer (2001) *Rodriguésia* **52**: 65-98.
4. Toledo, M.R.S., M.T.L.O. Peres, M.C. Vieira, T.S.C. Bazzano, I.R. Teixeira, L.A. Moreles, M.B.M. Ramos, D. Valério, E.H. Kitaguti, H.G.N. Oliveira, F. Paula Souza & Z.V. Lima (2006) *Rev. Bras. Pl. Med.* **8**: 218-22.
5. Fechine, I.M., V.R. Navarro, E.V.L. da-Cunha, M.S. Silva, J.G.S. Maia & J.M. Barbosa-Filho (2002) *Biochem. Syst. Ecol.* **30**: 267-9.
6. Carollo, C.A., J.M. Siqueira, W.S. Garcez, R. Diniz & N.G. Fernandes (2006) *J. Nat. Prod.* **69**: 1222-4.
7. Brastianos, H.C., C. M. Sturgeon, M. Roberge & R.J. Andersen (2007) *J. Nat. Prod.* **70**: 287-8.
8. Jürgens, A., A.C. Webber & G. Gottsberger (2000) *Phytochemistry* **22**: 551-8.
9. Carollo, C.A., A.R. Hellmann & J.M. Siqueira (2005) *Biochem. Syst. Ecol.* **33**: 647-9.
10. Matos, M.F.C., L.I.S.P. Leite, D. Brustolim, J.M. Siqueira, C.A. Carollo, A.R. Hellmann, N.F.G. Pereira & D.B. Silva (2006) *Fitoterapia* **77**: 227-9.
11. Leboeuf, M., A. Cave, P.K. Bhaumik, B. Mukherjee & R. Mukherjee (1982) *Phytochemistry* **21**: 2783-813.
12. Santos, D.Y.A.C. & M.L.F. Salatino (2000) *Phytochemistry* **55**: 567-73.
13. Siqueira, J.M., M.G. Ziminiani, U.M. Resende & M.A.D. Boaventura (2001) *Quim. Nova* **24**: 185-7.
14. Mesquita, M.L., J. Desrivot, C. Bories, A. Fournet, J.E. Paula, P. Grellier & L.S. Espindola (2005) *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* **100**: 783-7.
15. Sousa, O.V., M.S. Oliveira, M.R. Figueiredo, P. Heringer, L.C. Benchetrit, M.C. Mattos, I.C.M. Oliveira, C.R. Gattass & M.A.C. Kaplan (2003) *Rev. Bras. Ciênc. Farm.* **39** (supl. 2): 206.
16. Sousa, O.V., D.T. Soares Júnior, G. Del-Vechio, R.G. Mattosinhos, C.R. Gattass & M.A.C. Kaplan (2004) *Rev. Bras. Farmacog.* **14** (Supl. 2): 11-4.
17. Fischer, D.C., N.C.A. Gualda, D. Bachiega, C.S. Carvalho, F.N. Lupo, S.V. Bonotto, M.O. Alves, A. Yogi, S.M. Santi, P.E. Ávila, K. Kirchgatter & P.R. Moreno (2004) *Acta Trop.* **92**: 261-6.
18. Collier, H.D.J., L.C. Dinnin, C.A. Johnson & C. Schneider (1968) *Brit. J. Pharmacol. Chemother.* **32**: 295-310.
19. Hunskaar, S. & K. Hole (1987) *Pain* **30**: 103-14.
20. Eddy, N.B. & D. Leimbach (1953) *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **107**: 385-93.
21. Winter, C.A., E.A. Risley & G.W. Nuss (1962) *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **111**: 544-7.
22. Duarte, I.D.G., D.L. Ferreira-Alves & M. Nakamura-Craig (1992) *Life Sci.* **50**: 891-7.
23. Farsam, H., M. Amanlou, A.R. Dehpour & F. Jahaniani (2000) *J. Ethnopharmacol.* **71**: 443-7.