



# ATIVIDADE ESPASMOLÍTICA DO EXTRATO ETANÓLICO DAS FOLHAS DE *Tocoyena hipidula* Standl EM ÍLEO ISOLADO DE RATO

Suylane S. de Sousa<sup>1</sup>, Tayane Izabely N. da Silva<sup>1</sup>, Daniel B. Nunes<sup>1</sup>, Eduarda P. Silva<sup>1</sup>, Elcilene A. de Sousa<sup>2</sup>, Mariana H. Chaves<sup>2</sup>, Aldeídia P. de Oliveira<sup>1</sup>, Rosimeire F. dos Santos<sup>1</sup>, Rita de Cássia M. Oliveira<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Núcleo de Pesquisas em Plantas Medicinais-NPPM, CCS/UFPI, <sup>2</sup> Departamento de Química, CCN/UFPI.

\*tayanyizabelly@hotmail.com

## INTRODUÇÃO

A *Tocoyena hipidula* Standl. (Rubiaceae), conhecida como flor-do-cerrado no Brasil, é utilizada popularmente no tratamento de dores abdominais e inflamações no útero etc. O extrato etanólico das folhas de *Tocoyena hipidula* (Th-EtOH<sub>r</sub>) em estudos anteriores mostrou baixa citotoxicidade em MTT e atividade anti-diarreica sobre protocolos de diarreia aguda. **Objetivo:** Investigar a atividade espasmolítica do extrato etanólico Th-EtOH<sub>r</sub> em íleo isolados de rato.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados ratos Wistar machos e camundongos *Swiss*, em jejum de 18 horas (CEEA: Parecer 440/18). **Estudo da toxicidade aguda do extrato etanólico Th-EtOH<sub>r</sub>:** Os camundongos receberam o tratamento com o extrato etanólico Th-EtOH<sub>r</sub> (2000 mg/kg) e salina 0,9 % (2,5 ml/kg) em seguida foram observados por 30 minutos após o tratamento e constantemente durante as primeiras 24 horas, com atenção especial nas primeiras 4 horas e diariamente por 14 dias, os sintomas da doença bem como comportamento fora do padrão normal foram considerados, o peso corporal dos animais foram avaliados durante todos os dias, após o período de observação (OECD 423/ 2001).

**Atividade espasmolítica do extrato etanólico das folhas de *Tocoyena hipidula* (Th-EtOH<sub>r</sub>):** Após eutanásia, o íleo foi retirado, seccionado (8-10 mm) e mantidos em cubas para órgão isolado com solução nutritiva de Krebs modificado a 37° C, sobtensão de 1g, aerados com 95% de O<sub>2</sub> e 5 % de CO<sub>2</sub>, fixados a um transdutor de força acoplado a um sistema de aquisição para o registro das tensões isométricas (AVS PROJETOS/SP). Após período de estabilização dos tecidos, iniciou-se a avaliação do efeito relaxante do extrato etanólico Th-EtOH<sub>r</sub> sobre as contrações induzidas por 10 µM de carbacol e KCl 40 mM em preparações individuais onde foi avaliado o efeito relaxante. Durante a fase tônica da segunda contração induzida pelos agentes contráteis individualmente, foi adicionado cumulativamente (0,1 a 750 µg/mL) a cuba, do extrato etanólico Th-EtOH<sub>r</sub> em preparações diferentes. O relaxamento foi expresso como a porcentagem de inibição da contração e expressos como média ± erro padrão da média (E.P.M.). Os valores de E<sub>max</sub> foram obtidos por regressão não linear e considerados significativos para p<0,05 (GraphPad Prism, v. 6.00).

**Avaliação dos escores de severidade diarreica:** A partir da utilização do método de DiCarlo et al. (1994), foi avaliada a severidade da diarreia induzida por óleo de ricino, na qual realizou-se a análise de acordo com uma pontuação baseada na consistência das fezes. Assim foram atribuídos os seguintes escores: fezes normais (ou falta de diarreia) = 0, fezes semi-sólidas

= 1, fezes pastosas/ fezes em pequena/moderada quantidade = 2, fezes aquosas/fezes em grande quantidade = 3.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

**Estudo da toxicidade aguda do extrato etanólico Th-EtOH<sub>r</sub>:** Ao realizar-se o estudo toxicológico, não foi possível calcular a DL<sub>50</sub> visto que ao administrar uma única dose do extrato etanólico Th-EtOH<sub>r</sub> (2.000 mg/kg) não houve mortes durante o período de monitoramento (14 dias), além disso os animais não apresentaram alterações comportamentais, estes permaneceram com o peso corporal sem modificações, conforme a OECD e substâncias com a DL<sub>50</sub> entre 2000 - 5000 mg/kg são consideradas de classe 5, o que supõe que sejam seguras.

**Atividade espasmolítica do extrato etanólico das folhas de *Tocoyena hipidula* (Th-EtOH<sub>r</sub>):** O Th-EtOH<sub>r</sub> promove relaxamento em íleo isolado de rato pré-contraído com CCh e KCl (CE<sub>50</sub>= 18,51 ± 4,7 e 16,79 ± 2,0 µg / mL, respectivamente), sem diferença estatística entre os valores de CE<sub>50</sub>.

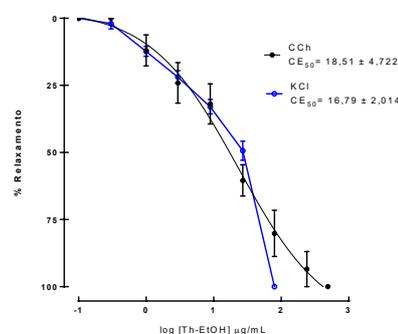


Figura 1º O efeito Th-EtOH<sub>r</sub> sobre contração tônica induzida por CCh (—○—) e KCl (—□—) em íleo isolado de rato. (Fonte: Orelis-Environnement).

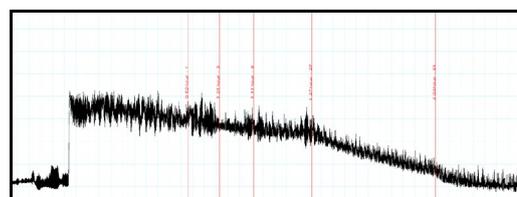


Figura 2a. O Registro original representativo do efeito do extrato etanólico Th-EtOH<sub>r</sub> sobre as contrações tônicas induzidas por carbaccol (10-6 M) em íleo isolado de rato (n =5). A seta para cima representa as contrações de Th-EtOH. (Fonte: Orelis-Environnement).

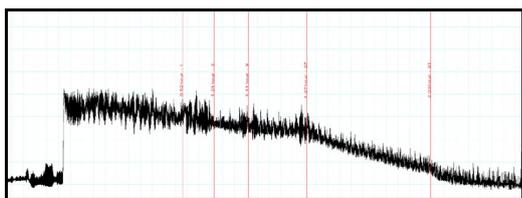


Figura 2b. O registro original representativo do efeito do extrato etanólico Th-EtOH sobre as contrações tônicas induzida por KCl em íleo isolado de rato (n=5). A seta representa o começo das contrações de Th-EtOH. (Fonte: Orelis-Environnement).

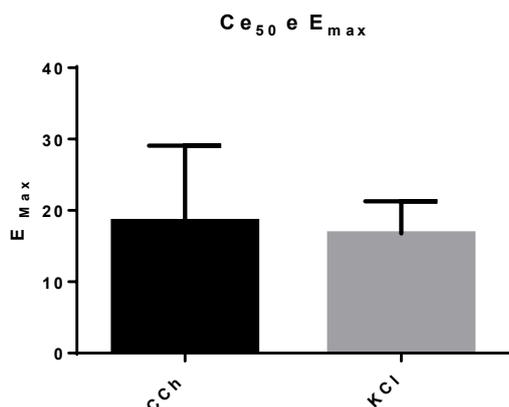


Figura 3. Sem diferença estatística significativa entre os valores CCh e KCl de  $E_{50}$  (Fonte: Orelis-Environnement).

**Avaliação dos escores de severidade diarreica:** Os resultados dos escores de severidade deram significativos na dose de 50mg/kg do extrato, que indica que houve uma menor severidade na sujidade perianal dos animais, quando comparado ao grupo que recebeu apenas o controle, isso sugere um potencial antidiarreico do extrato na diarreia induzida por óleo de rícino, estes achados corroboram com os encontrados por Santana (2016) que estudou as propriedades antidiarreica de proteínas do látex.

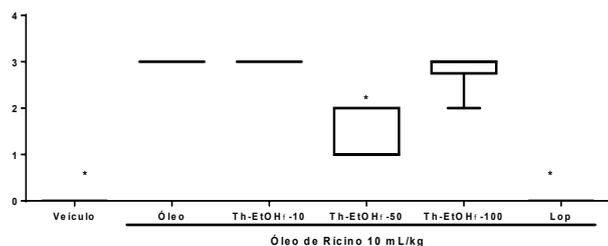


Figura 4. Quatro horas após a administração oral de óleo de rícino, todos os camundongos do grupo veículo + óleo de rícino produziram diarreia abundante. O pré-tratamento dos animais com o extrato etanólico Th-EtOH<sub>r</sub> (10; 50; 100 mg/kg), reduziu significativamente a severidade da diarreia (Th-EtOH<sub>r</sub> 50 mg/kg) e a pontuação geral dos escores. A droga antidiarreica padrão, loperamida (5 mg/kg, v.o), produziu um efeito inibidor significativo. Os valores estão expressos como mediana  $\pm$  EPM (n = 5-7). \*p < 0,05 quando comparado com o grupo veículo + óleo de rícino. Os dados apresentados são medianos com pontuação mínima e máxima. O teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, seguido do teste de Dunn foi usado para as comparações múltiplas. Abreviaturas: Lop, loperamida; Th-EtOH<sub>r</sub>, *Tocoyena hispidula*.

## CONCLUSÃO

Th-EtOH<sub>r</sub> não apresentou sinais de toxicidade aguda de acordo com os critérios da OECD 423/ 2001, o mesmo também promoveu relaxamento no músculo liso de íleo isolado de rato, pré- contraído com KCl e Carbacol e reduziram os escores diarreica de severidade

de forma significativa, demonstrando uma possível atividade antidiarreica.

## REFERÊNCIAS

- DICARLO, G. D. et al. Effects of quercetin on gastrointestinal tract in rats and mice. *Phytotherapy research*, v. 8, n. 1, p. 42-44, 1994.
- ORGANISATION FOR ECONOMIC COOPERATION AND DEVELOPMENT (OECD). Guidelines for the Testing of Chemicals, OECD 423. Acute Oral Toxicity-Acute Toxic Class Method. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris, 2001.
- SANTANA, L.. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIDIARREICA DE PROTEÍNAS DO LÁTEX DE *Plumeria pudica* (JACQ, 1760). 2016. Dissertação de mestrado - Programa de Pós-graduação em Biotecnologia- Universidade Federal do Piauí, Parnaíba, 2016.
- SILVA, L. M. P. et al. Isolation and Identification of the Five New Flavonoids of *Genipa americana* Leaves. *Molecules*, v. 23, ed. 10, 2018.