

Eleusa F. Taveira (**), José A. Rizzo (**), Joaquim T. Sousa (**), Lelia S. Fernandes (**), Wagner F. Torres (**), Maria C. M. Pereira (**), Ricardo F. Ansorval (***), Antonio J. Lapa (****)

RESUMO

O *Connarus fulvus* Planch é utilizado em Goiás por ser "bom para o coração". Este trabalho estudou, a atividade farmacológica do extrato bruto etanólico (EE) do pó da casca do caule e da fração hidrossolúvel (FH) obtida após partição benzina/água. O EE e a FH produziram em ratos e camundongos diminuição da motilidade, sonolência sem hipnose, dificuldade respiratória, analgêsia e arrastamento do trem posterior; estes proporcionam às doses. As DL_{50} em camundongos foram 210 ± 22 e 310 ± 52 mg/Kg, i.p. para o EE e FH respectivamente. A FH prolongou o sono barbitúrico, o tempo de reação ao calor na placa quente e antagonizou (80%) as ações convulsivantes do pentilenotetrazol, mas não as da estricnina. Protegeu (100%) camundongos contra a ação letal do pancurônio e potencializou a ação da succinilcolina. Em preparações isoladas, a FH potencializou (20%) a contração do diafragma em resposta ao estímulo elétrico do nervo frênico de ratos e reverteu o bloqueio neuromuscular produzido pela d-tubocurarina, em âtrios de ratos e cobaias a frequência e a força de contração não foram alteradas. As injeções do EE e FH em ratos anestesiados produziram hipotensão (5 a 10 mg/Kg); doses maiores foram letais. Os dados obtidos não confirmaram ação cardiática direta. A planta apresentou ações depressoras do S.N.C., analgésica, anticonvulsivante e descurarizante.

INTRODUÇÃO

Connarus fulvus, é uma planta da família Connaraceae, conhecida popularmente como "tropeiro" ou "bico de papagaio", é utilizada em chás e garrafadas (Rizzo, 1981) por suas atividades cardíacas (sic).

(*) Financiado pelo CNPq.

(**) Departamentos de Botânica, Fisiologia e Farmacologia-ICB/UFG.

(***) Departamento de Química Orgânica - IQG/UFG.

(****) Setor de Produtos Naturais - INFAR - EPM

Ocorre nos cerrados dos estados de Goiás, Minas Gerais, Mato Grosso, Bahia e Piauí. É uma árvore de pequeno porte, ramos crassos-suberosos, os novos apresentam-se aveludados, folhas com 7 a 11 folíolos, panículas grandes com raque densamente ferrugíneo aveludado. Cálice aveludado, pétalas 1 1/2 maiores que o cálice, rubras. Folículo (Corrêa, 1974).

Como este gênero de plantas é pouco estudado farmacologicamente (Worthley & Schott 1969), e o uso popular do *Connarus fulvus* é freqüente em nosso meio, o presente relata algumas de suas propriedades farmacológicas.

MATERIAL E MÉTODOS

Material Botânico

O material botânico foi coletado parte no alto da Serra Dourada na reserva da UFG, localizado no município de Mossamedes, e outra na fazenda Joazeiro no município de Santo Antonio do Descoberto - Go. Os caules eram retirados e secos à sombra e a casca do caule moída e pulverizada. Este pó foi submetido ao seguinte procedimento extrativo (Lapa et al., 1978) conforme Diagrama I.

Animais

Ratos machos Wistar de 200 - 300g de peso, camundongos machos e fêmeas, albinos de 20 - 40g de peso, cobaias machos e fêmeas de 300 a 400g de peso, com água e ração "Libitum" procedentes do Biotério Central da UFG.

Ensaio Farmacológicos

Efeitos Gerais

Grupos de dez camundongos machos eram injetados por via i.p. com quatro doses diferentes do EE.

Grupos de cinco ratos machos eram injetados por via i.p. com três doses diferentes da FH e os grupos controle com salina-cremofor. Os animais depois de injetados eram observados em um balcão branco por 6 horas seguidas e 24 horas após (Carlini, 1972).

Efeito analgésico

A Fig. 2 mostra o efeito analgésico da FH do *Connarus fulvus* Planch. Há um aumento significativo ($p < 0,05$) no tempo de reação do animal ao estímulo término até aos 5 minutos.

Efeito da FH em convulsões induzidas por estriçnina e pentilenotetrazol

A FH protegeu os animais das convulsões induzidas por pentilenotetrazol, mas não impediu aquelas induzidas pela estriçnina, conforme pode ser observado na Tabela I. número de mortes não foi igual entre o grupo controle e os que receberam a FH.

Efeito da FH com bloqueadores neuromusculares "in vivo"

A FH protegeu (100%) os animais da morte produzida pelo pancurônio e houve potencialização do relaxamento muscular provocada pela succinilcolina, sendo que a administração

tração da FH antes da succinilcolina provocou a morte em 60% dos animais. Os resultados são apresentados na Tabela 2.

Efeito da FH em diafragma isolado

Os experimentos com a FH do *Conarus fulvus* Planch revelaram uma potencialização de 20% da contração do diafragma ao estímulo nervoso, com doses de 200 a 300µg/ml. O bloqueio neuromuscular com d-tubocurarina (2µg/ml) foi revertido pela FH (500µg/ml).

Ação da fração hidrossolúvel no bloqueio muscular produzido por pancurônio e succinilcolina

Grupos de 6 a 10 camundongos receberam duas injeções (i.p.) com intervalo de quinze minutos como a seguir:

a) Pancurônio e Salina; b) FH e Pancurônio; c) Pancurônio e FH; d) Succinilcolina e Salina; e) FH e Succinilcolina; f) Succinilcolina e FH.

Ação da fração hidrossolúvel em diafragma isolado de rato

Grupos de 6 ratos foram sacrificados por convulsão cerebral e rapidamente retirado o nervo frênico e o diafragma esquerdo, suspensos em Tyrode à temperatura ambiente borbulhado com $O_2 - 95\% - CO_2 - 5\%$.

Tanto o nervo frênico quanto o diafragma eram estimulados com eletrodos de platina com pulsos de 0,5ms de duração e frequência de 0,1Hz e voltagem 50% acima do limiar. A contração isométrica foi registrada com um transdutor por deslocamento de força conectado a um polígrafo, com uma tensão de 1,5g. A FH foi testada com doses de 10 a 500µg/ml. Foi feito bloqueio neuromuscular com d-tubocurarina 2µg/ml.

Pressão arterial de rato

Ratos machos anestesiados com uretana (1,2g/kg) tiveram canuladas a carótida esquerda para medida da pressão arterial e a veia ilíaca externa direita para injeção de drogas. As medidas da pressão arterial foram feitas utilizando-se manômetro de mercúrio e os registros feitos em quimógrafo enfumado. O EE e FH foram testados com doses de 10µg/Kg até 12mg/Kg.

Ação da fração hidrossolúvel em átrio isolado

Grupos de 5 ratos ou cobaias foram sacrificados por convulsão cerebral e rapidamente retirado o coração. Os átrios eram isolados e suspensos em Tyrode, a 37°C borbulhado com $O_2-95\% - CO_2-5\%$. As preparações foram estimuladas com eletrodos de platina com pulsos de 2ms de duração, frequência de 2 a 3Hz e voltagem 50% acima do limiar. A força de contração isométrica foi registrada com um transdutor por deslocamento de força conectado a um polígrafo, com uma tensão de 1,0g (Takeda et al., 1982). Após 30 minutos do início da estimulação, a FH foi testada em doses cumulativas (100 até 1000 µg/ml).

Análise Estatística

Os resultados foram analisados através do teste "t" de Student.

RESULTADOS

Ações Farmacológicas

Efeitos Gerais

Os efeitos observados em camundongos, com o EE nas doses de 10, 50, 100 e 200mg/kg foram semelhantes entre si e dose dependente em intensidade. São eles: contorções abnormais, ptose, diminuição da movimentação espontânea e arrastamento do trem posterior. A FH foi usada nas doses de 100, 200 e 400mg/kg sendo seus efeitos semelhantes aos do EE. O arrastamento do trem posterior era mais freqüente em ratos do que em camundongos tanto para o EE como para a FH. A dose de 400mg/kg causou morte por dificuldade respiratória em todos os animais.

Dose letal 50%

A dose letal 50% para camundongos, com o EE, foi de 210 ± 22 mg/kg enquanto que, com a FH, foi de 310 ± 52 mg/kg.

Tempo de hipnose

Os resultados obtidos neste ensaio estão representados na Fig. 1. A réplica deste ensaio mostrou também diferenças significativas no tempo do sono induzido por pentobarbital na presença da FH. A potencialização do sono apresentou nítida relação dose-efeito ($p < 0.01$).

Dose letal 50%

Cento e dez camundongos foram utilizados, sendo que cada grupo de dez animais (05 machos e 05 fêmeas) recebia uma dose i.p. As DL50 foram calculadas com as observações feitas durante 24 horas após a administração dos EE e FH pelo método gráfico de Tainter-Miller. (Miller & Tainter, 1944).

Efeito da FH no tempo de hipnose induzido por pentobarbital

Grupos de dez camundongos fêmeas eram injetadas (i.p.) com duas diferentes doses de FH ou salina, quinze minutos antes de serem injetados com pentobarbital. Mediu-se como tempo de hipnose a perda e a recuperação do reflexo de postura de cada animal (Valle & Leite, 1983).

Efeito da FH sobre a reação de camundongos ao estímulo térmico

Grupos de dez camundongos machos eram colocados em uma placa de alumínio a 55°C , medido o tempo de reação ao calor demonstrado pelo lamber das patas dianteiras. Cinco minutos após, eram injetados (i.p.) com FH e salina e o tempo de reação ao calor medido 15, 30, 60 e 90 minutos após as injeções.

Ação da FH em convulsões induzidas por estriçnina e pentilenotetrazol

Grupos de 5 camundongos machos foram injetados (i.p.) com duas doses diferentes de FH, salina ou diazepam. Quinze minutos após, administrava-se aos animais os convulsivantes (s.c.)

Efeito dos extratos EE e FH em pressão arterial

A Fig. 3 mostra o efeito hipotensor do EE levando o animal à morte. Efeito semelhante foi obtido com a FH na mesma dose. Doses abaixo de 10mg/Kg produziram hipotensão, dose dependente, sem no entanto levar o animal à morte.

Efeito da FH em átrios

A FH não alterou a frequência e a força de contração do átrio isolado de rato e cobaia nas doses de 100 e 1000µg/ml.

DISCUSSÃO

Em pesquisa de campo realizada por Rizzo (1981) a informação popular era de que o "tropeiro" ou "bico de papagaio" era bom para o coração e além disto um sono tranquilo era seguido após o seu uso.

Dos efeitos gerais observados com o extrato bruto e a fração hidrossolúvel obtida do pó da casca do caule de *C. fulvus* Planch, os mais evidentes foram: contorções abdominais, ptose, diminuição da movimentação espontânea e arrastamento do trem posterior. Estes efeitos foram de intensidade proporcionais às doses, e com 400mg/Kg os animais morriam com dificuldades respiratórias, eventualmente em 3 horas. Determinou-se a toxicidade aguda para o extrato etanólico bruto e para a fração hidrossolúvel, verificando que se trata de uma espécie vegetal tóxica, pois, as DL50 estão abaixo de 500mg/kg.

Worthley (1969) estudando os extratos etanólico e aquoso do *Connarus suberosus* Planch também encontrou diminuição da atividade motora, hiperpnéia e fraqueza do trem posterior.

A ocorrência de ptose, diminuição da movimentação espontânea e insensibilidade ao pinçamento da cauda, levou à determinação do tempo de reação ao calor, do tempo do sono induzido pelo pentobarbital e ação com drogas convulsivas.

Estes testes farmacológicos realizados com a fração hidrossolúvel detectaram potencialização do tempo do sono induzido pelo pentobarbital, dose dependente, 66% de aumento no tempo de reação ao calor e 80% de inibição das convulsões tônicas induzidas pelo pentileno-tetrazol, tais efeitos podem ser atribuídos a ação farmacológica a nível do S.N.C.

Embora a medicina popular regional recomende o uso do "tropeiro" por suas ações "cardíacas", os ensaios farmacológicos realizados em átrios isolados não detectaram nenhuma ação direta neste órgão; enquanto que os efeitos hipotensores apresentados são inespecíficos e comuns a várias plantas.

Como a morte dos animais era sempre precedida de dificuldade respiratória, e o arrastamento do trem posterior era freqüente, tentou-se verificar uma possível ação periférica, daí o uso da fração hidrossolúvel com bloqueadores neuromusculares.

Surpreendentemente, a fração hidrossolúvel protegeu 100% dos animais à morte provocada pelo relaxamento muscular induzido pelo pancurônio. A Tabela 2 mostra a poten-

cialização à ação da succinilcolina quando aumenta o tempo de relaxamento muscular e provoca a morte em 60% dos casos, quando a fração hidrossolúvel é administrada 15 minutos antes do bloqueador neuromuscular. Estes resultados foram confirmados com o diafragma isolado, quando a FH potencializou a sua contração em resposta à estimulação elétrica do nervo frênico e ainda reverteu o efeito da d-tubocurarina, demonstrando assim uma provável ação anticolinesterásica. Esta ação foi detectada com a fração hidrossolúvel incubada com soro e Ach, em resultados preliminares, com experimentos realizados em jejuno de rato.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem aos professores Dra. Janaína Passos Amado Batista de Figueiredo e Dr. Paulo Roberto Figueiredo da Silva pelo incentivo durante a realização deste trabalho.

SUMMARY

Connarus fulvus Planch is popularly utilized in the State of Goiás because it is said to be "good for the heart". This paper studied the pharmacological activities of the crude ethanolic extract (EE) of the powdered bark and of the hidrosoluble fraction (HF) of the benzine/water partition. The EE and HF produced in rats and mice a decrease in locomotion, certain drowsiness, respiratory problems, insensitivity to pain and weakness of the posterior limbs. These effects were proportional to the administered doses. The DL_{50} in mice were 210 ± 22 and 310 ± 52 mg/kg, i.p. for the EE and HF, respectively. The HF potentiated barbiturate - induced sleeping-time, reaction time to heat in the hot-plate and, in 80% of the cases, it antagonized the convulsive actions of PENTYLENETETRAZOL but not of STRYCHNINE. It protected the mice, in all of the cases, against the lethal action of PANCURONIUM and potentiated the action of SUCCINYLCHOLINE. In isolated tissues the HF potentiated, in 20% of the cases, contractions of the diaphragm in response to electrical stimulus of the phrenic nerve of the rats and reversed the neuromuscular block produced by d-TUBOCURARINE. In rat and guinea pig atriums electrically stimulated neither the chronotropism nor inotropism were altered. The injection of EE nor HF in rats under anesthetics produced hypotension (5 to mg/kg) while higher doses were lethal. The data obtained from studies didn't confirm direct action on the heart. The plant thus presented depressive action in the CNS, analgesic and anticonvulsive action while, it also annulled the effect of CURARE.

Diagrama 1

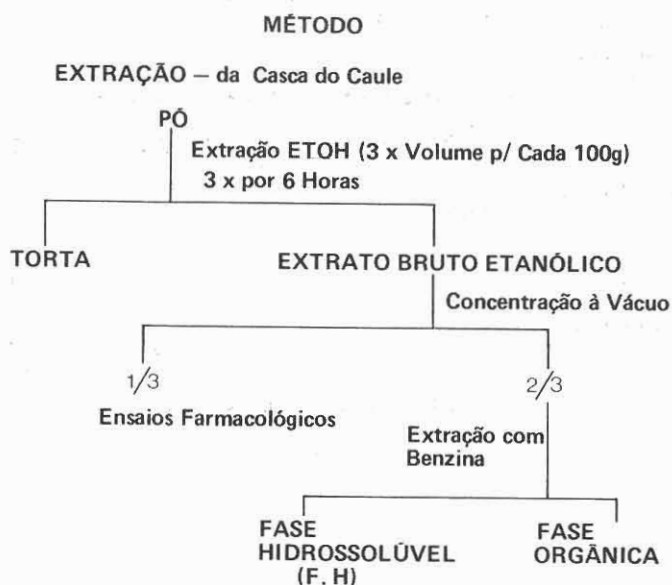


Tabela 1

Ação do *Conarus fulvus* Planch (Fração Hidrossolúvel – F.H) em Camundongos com Convulsões Induzidas pela Estricnina e pelo Pentilenotetrazol

Estricnina (2mg/kg)

Droga	Dose (mg/kg)	% de Animais em Convulsão	% Morte
Salina (N = 4)	0,1ml/10g	100	100
F. H (N = 5)	100	100	100
F. H (N = 5)	200	100	100
Diazepam (N = 5)	2	100	100

Pentilenotetrazol (60mg/kg)

Droga	Dose (mg/kg)	% de Animais em Convulsão	% Morte
Salina (N = 4)	0,1ml/10g	100	25
F. H (N = 5)	100	20*	0
F. H (N = 5)	200	100*	0
Diazepam (N = 5)	2	0	0

(*) Apenas Convulsão Clônica

Tabela 2

Ação do *Connarus fulvus* Planch (Fração Hidrossolúvel - F.H -100mg/kg) na Presença de Succinilcolina em Camundongos.

Succinilcolina 3mg/kg

Droga	% de Animais com Relaxamento Muscular (10 min.)*	% de Animais com Relaxamento Muscular (30 min.)*	% Morte
Succinilcolina + Salina (N = 10)	100	0	0
Succinilcolina + F. H (N = 10)	0	100	10
F. H + Succinilcolina (N = 10)	0	100	60

* 10 e 30 = Duração do Relaxamento Muscular (Em minutos)

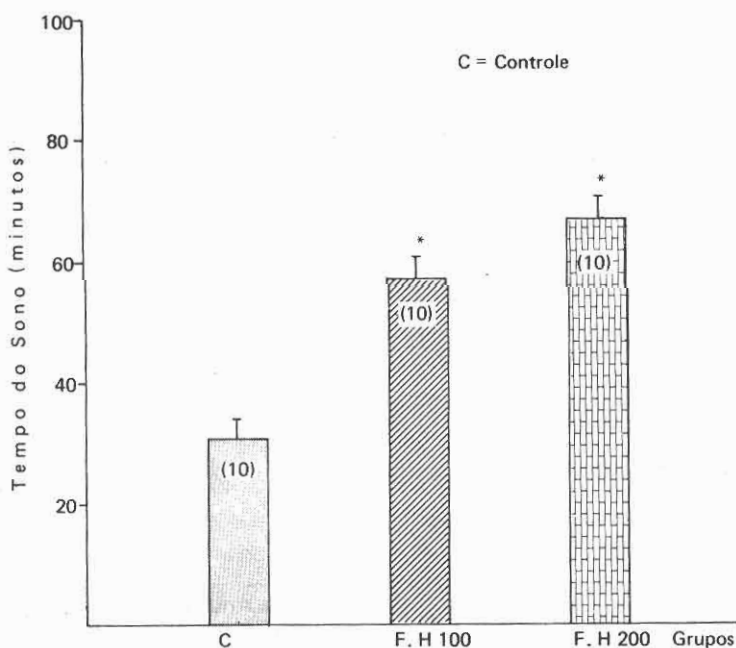


FIG. 1. Efeito do *Connarus fulvus* Planch (Fração Hidrossolúvel) nas doses de 100 e 200mg/kg sobre o tempo de hipóse induzido por pentobarbital (Camundongos).

(*) $p < 0,01$ - Teste "t" de Student.

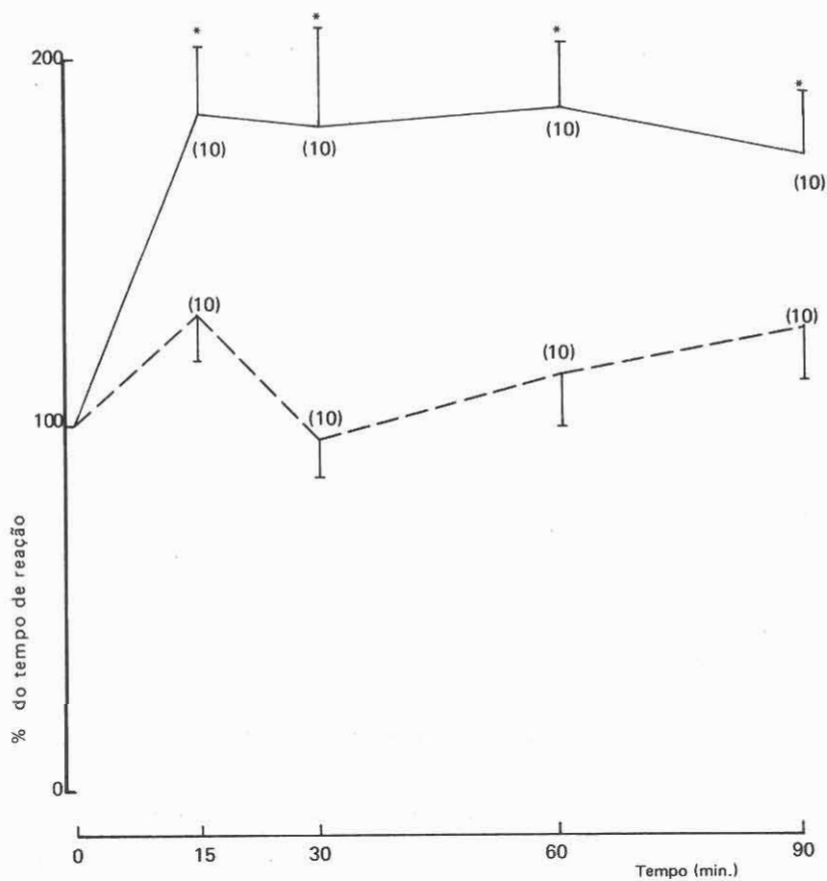


FIG. 2. Efeito do *Connarus fulvus* Planch (Fração Hidrossolúvel - 100mg/kg) sobre o tempo de reação de camundongos na placa quente (55°C). O tempo zero medido sem drogas.

- - - Salina 0,1ml/10g(i.p.);

_____ FH 100mg/kg (i.p.)

(*) $P < 0,05$ - Teste "t" de Student.

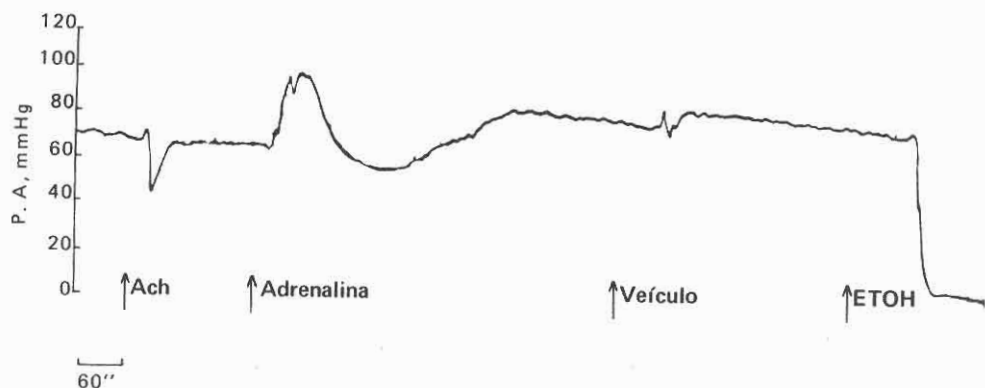


FIG. 3. Efeito farmacológico do ETOH na pressão arterial de rato anestesiado. Rato de 300g; anestesia: uretana (1,2g/kg); dose de Ach: 1 μ g/kg; dose de adrenalina: 1 μ g/kg; veículo (salina 0,9% + cremofor 1,5%); ETOH 10mg/kg.

Referências bibliográficas

- Carlini, E. A. - 1972. "Screening" farmacológico de plantas brasileiras, *Rev. Brasil Biol.* 32 (2): 265-274.
- Correia, P. M. - 1974. Dicionário das Plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas, IBDF - Ministério da Agricultura, 5 pp. 406.
- Lapa, A. J.; Teixeira, J. R.; Souccar, C. and Valle, J. R. - 1978. The pharmacology of timbós. Toxic plants used to fish. *Ciência e Cultura* (suplemento), 43-46.
- Miller, L. C. and Tainter, M. L. - 1944. Estimation of the ED and its error by means of logarithmic-probit graph paper. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 201-204.
- Rizzo, J. A. - 1981. Plano de Coleção - Flora do Estado de Goiás: Coleção Rizzo. Goiânia, 1:35p. ilustr.
- Takeda, K.; Temma K. and Akera, T. - 1982. Inotropic effects of Vanadate in isolated rat and guinea-pig heart under conditions with modify calcium pools involved. *Pharmacol. Exp. Therapy*, 222(1):132.
- Turner, R. A. - 1965. The phrenic nerve and diaphragm of the rat. *Screening in Pharmacology*, Academic Press: 241.
- Valle, N. B. & Leite, J. R. - 1983. Efeitos psicofarmacológicos de preparações de *Passiflora edulis* (maracujá). *Ciência e Cultura*, 35(1): 11-34.
- Worthley, E. G. and Schott C. D. - 1969. Biologically active compounds in some flowering plants. *Life Sciences*, 8, 225-238.