

TOXICIDADE ORAL AGUDA E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA DO DECOCTO DAS FOLHAS DE *Plectranthus ornatus* Codd.

Paulo Ricardo Batista ¹, Gyllyandeson de Araújo Delmondes ², Maysa de Oliveira Barbosa ³ Marta Regina Kerntopf ⁴

Resumo: *Plectranthus ornatus* é utilizada na medicina popular devido seus atributos terapêuticos. Considerando os aportes dos estudos sobre propriedades farmacológicas de plantas medicinais para a descoberta de princípios ativos. Esse estudo teve como objetivo estimar a dose letal média (DL₅₀) e avaliar a atividade antinociceptiva do decocto das folhas de *Plectranthus ornatus* (DFPO) em camundongos. Quatro modelos experimentais foram utilizados, os testes de contorções abdominais induzidas por ácido acético, de formalina, campo aberto e *Rota rod*. A DL₅₀ foi estimada em ≥ 2.000 mg/Kg, segundo as diretrizes da OECD 423. No teste de contorções abdominais, todas as doses testadas 50, 100 e 200 mg/Kg do extrato manifestaram redução no número de contorções sendo as doses mais efetivas 100 e 200 mg/Kg. No teste de formalina, a dose 200 mg/Kg reduziu o tempo de lambadura na 1ª fase e todas as doses reduziram esse parâmetro na 2ª fase. Os testes de campo aberto e *Rota rod* confirmaram a ausência de efeitos sedativo e/ou miorrelaxante. Conclui-se que o DFPO apresenta atividade antinociceptiva, com possível efeito mais significativo na dor ocasionada por mediadores inflamatórios.

Palavras-chave: Atividade antinociceptiva. *Plectranthus ornatus*. Teste de contorções abdominais por ácido acético. Teste de formalina.

1. Introdução

O uso de plantas medicinais é uma prática vinculada ao conhecimento popular, fruto de observações empíricas e repassado para as gerações seguintes, quase sempre pela oralização (DA SILVA *et al.*, 2009).

O gênero *Plectranthus* L'Herit, pertencente à família Lamiaceae, é utilizado como planta medicinal para o tratamento de inúmeras afecções, tais como dores de cabeça, dermatites e picadas de escorpiões. *Plectranthus ornatus* Codd., por sua vez, trata-se de um dos representantes do gênero, uma erva perene (ASCENSÃO; MOTA; CASTRO, 1999), conhecida popularmente como boldinho, boldo-rasteiro, boldo gambá e boldo-de-folha-miúda (SANTOS *et al.*, 2014), usada no tratamento de problemas estomacais e doenças hepáticas, possuindo também propriedades farmacológicas antipirética, analgésica, antiinflamatória, e antinociceptiva, esta última validada cientificamente (FRANZOTTI, 2004).

A avaliação de atividades antinociceptivas de substâncias em modelos animais abrange as respostas comportamentais, motoras e fisiológicas

1 Universidade Regional do Cariri, email: pauloricardoadauto@outlook.com

2 Universidade Regional do Cariri, email: gyllyandesondelmondes@gmail.com

3 Universidade Federal Rural de Pernambuco, email: maysabarbosa.ce@gmail.com

4 Universidade Regional do Cariri, email: martaluiz@yahoo.com.br

XXI Semana de Iniciação Científica da URCA

05 a 09 de novembro de 2018
Universidade Regional do Cariri

acarretadas por estímulos químicos e térmicos. Aqueles contribuem para a identificação de substâncias promissoras capazes de interferirem em processos dolorosos. O teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético e o teste de formalina, são modelos experimentais comumente usados para avaliação de atividade antinociceptiva de produtos naturais (SOUZA *et al.*, 2015).

Tendo em vista as contribuições dos estudos pertinentes a propriedades farmacológicas de plantas utilizadas na medicina popular para a descoberta de princípios ativos e desenvolvimentos de fármacos isentos ou com mínimos efeitos adversos.

2. Objetivo

Estimar a dose letal média (DL_{50}) e avaliar a atividade antinociceptiva do decocto das folhas de *Plectranthus ornatius* Codd. (DFPO) em camundongos.

3. Metodologia

A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética da Universidade Regional do Cariri, mediante o parecer nº 1367311. O estudo se concretizou na comunidade Sítio Arruda, remanescente quilombola, situada no município de Araripe, Ceará, Brasil. As folhas utilizadas na pesquisa foram coletadas na comunidade, cortadas e misturadas em água destilada fria e, em seguida, essa mistura foi fervida durante 15 min. Após esse processo, o chá foi filtrado e submetido ao processo de secagem para obtenção do decocto das folhas de *P. ornatius* (DFPO). Para o estudo foram utilizados camundongos *Swiss* fêmeas (*Mus musculus*) com pesos entre 25 e 30 gramas.

Inicialmente realizou-se a estimativa da DL_{50} do DFPO baseada na diretriz nº 423 da *Organization for Economic Cooperation and Development* (OECD) e posteriormente quatro modelos experimentais foram empregados para a avaliação da atividade antinociceptiva do DFPO: o teste de contorções abdominais por ácido acético, o teste de formalina, campo aberto e *Rota rod*.

Para a DL_{50} , grupos de 3 animais, foram tratados via oral com a dose 2.000 mg/Kg do DFPO e salina 0,9%, após o tratamento os animais foram observados e sinais de toxicidade foram registrados segundo o *screening* hipocrático de Malone em intervalos regulares de tempo até 240 min e, depois, diariamente, até o décimo quarto dia.

Para o teste de contorções abdominais por ácido acético, grupos de 6 camundongos foram tratados via oral, com salina 0,9%, indometacina 10 mg/Kg e as doses 50, 100 e 200 mg/Kg do DFPO, na hora anterior, os animais receberam injeção intraperitoneal de ácido acético 0,6%, em seguida, observações e registros de contorções abdominais foram realizados durante 30 min. O teste de formalina seguiu-se da mesma forma que o protocolo anterior, entretanto ao invés da indução por ácido acético via intraperitoneal, os animais receberam injeção subplantar de formalina, e durante dois tempos (0-5 min e 15-30 min) foram observados e registrados os tempos de lambertura da pata que recebeu a aplicação.

Nos testes de campo aberto e *Rota rod*, os animais também foram separados em grupos de 6 e tratados com as doses do DFPO citadas anteriormente, salina 0,9% e diazepam (2 mg/Kg para o campo aberto e 5

mg/Kg para *Rota rod*). Os dados obtidos foram analisados por ANOVA, considerando os valores $p < 0,05$ como sendo significativos.

4. Resultados e discussão

Seguindo o teste hipocrático de Malone (1977) para avaliação da toxicidade e alterações comportamentais, percebeu-se que a dose 2.000 mg/Kg administrada por via oral manifestou um efeito excitatório no sistema nervoso central (SNC) nos primeiros 15 min, promovendo piloereção, hiperlocomoção e aumento na frequência respiratória, após os 15 min, a piloereção se manteve e a hipolocomoção e analgesia, efeitos depressores do SNC foram observados. A DL_{50} foi estimada como ≥ 2.000 mg/Kg com base na OECD 423. O extrato aquoso apresentou reações estimulantes seguidas por reações depressoras sobre o SNC, resultado semelhante foi obtido por Gurgel (2007) quando avaliou a toxicidade aguda da espécie *Plectranthus amboinicus*.

O teste de contorções abdominais induzidas pela administração intraperitoneal de ácido acético é um modelo experimental químico baseado na contagem de contorções do abdômen frente a irritações e inflamação no peritônio promovidas pelo ácido acético (SILVA *et al.*, 2013), este promove de forma indireta a síntese e liberação de mediadores nociceptivos e inflamatórios endógenos (RIBEIRO *et al.*, 2014; WHITTLE, 1964). Para avaliação do efeito antinociceptivo neste modelo, todas as doses do DFPO testadas promoveram uma redução significativa no número de contorções abdominais. As doses de 100 (64,16%) e 200 (82,08%) mg/Kg foram as mais eficazes neste teste, quando comparadas salina.

O teste de formalina, se expressa como mais específico do que o modelo do ácido acético, este consiste na injeção subplantar de formalina, na pata traseira de ratos ou camundongos, a resposta nociceptiva evocada pelo estímulo da injeção, se traduz no registro do tempo de lambadura da pata realizada pelo animal. Este modelo experimental permite a distinção de dois tipos de dores: a dor neurogênica na primeira fase do teste, caracterizada pela estimulação de nociceptores por mediadores químicos e a dor inflamatória tardia, observada na segunda fase do teste, é caracterizada pela liberação de mediadores químicos pró-inflamatórios (PERAZA *et al.*, 2007). A 2ª fase do teste é sensível a drogas antiinflamatórias não-esteroidais, por esse motivo a indometacina, que atua depletando a síntese de mediadores inflamatórios através da inibição não-seletiva da ciclooxigenase (RANG *et al.*, 2015) foi utilizada como droga padrão para comparações com o grupo salina no teste.

Para esse modelo, apenas a dose de 200 mg/Kg do extrato foi eficaz em reduzir o tempo de lambadura da pata na 1ª fase quando comparado com a salina, promovendo um percentual de redução de 23,47%. Já na 2ª fase deste teste, todas as doses do extrato testadas (50, 100 e 200 mg/Kg) foram eficazes em reduzir o tempo de lambadura, sendo a dose de 200 mg/Kg a mais eficaz, promovendo uma redução de 59,78%.

O DFPO apresentou um melhor efeito na segunda fase, a qual é caracterizada como fase inflamatória. Chiu *et al.* (2012) quando testaram o extrato aquoso das folhas de *Plectranthus amboinicus*, pertencente ao mesmo gênero, encontraram resultados semelhantes, as doses 100, 500 e 1.000 mg/Kg testadas promoveram um efeito antinociceptivo, tanto no modelo de contorções abdominais por ácido acético quanto no teste de formalina, neste

XXI Semana de Iniciação Científica da URCA

05 a 09 de novembro de 2018
Universidade Regional do Cariri

último mostrando-se mais eficaz na segunda fase. Em ambos os testes a dose mais eficaz foi a de 1.000 mg/Kg. *Rijo et al.* (2012), avaliaram um composto químico diterpeno de *Plectranthus ornatus* e observaram que tal composto foi capaz de inibir a COX-1, etapa vinculada ao processo inflamatório.

O efeito analgésico observado no DFPO pode ser decorrente da presença dos metabólitos secundários, flavonóides, com propriedades analgésicas e antiinflamatórias validadas cientificamente em diversos estudos (MEOTTI, 2006).

Para os testes de campo aberto que avalia o número de cruzamentos, o número de auto-limpezas e o número de levantar do animal e *Rota rod* que avalia o tempo de permanência e o número de quedas em um barra giratória (DE OLIVEIRA *et al.*, 2008) para a verificação de um possível efeito sedativo ou miorrelaxante do DFPO, que pudesse acarretar um resultado falso positivo de antinocicepção.

Observou-se que o extrato, em ambos os protocolos, não promoveu nenhuma alteração estatisticamente significativa nos parâmetros analisados em relação ao grupo salina. Verificou-se que o DFPO não apresenta efeito do tipo sedativo e nem provoca prejuízo na coordenação motora dos animais. Assim sendo, pode-se afirmar que o efeito do extrato nos testes de nocicepção é realmente do tipo antinociceptivo ao invés de sedativo e/ou miorrelaxante.

5. Conclusão

O DFPO apresenta um efeito antinociceptivo tanto no modelo de contorções abdominais induzidas por ácido acético quanto no teste de formalina, com possível efeito mais significativo na dor ocasionada por mediadores inflamatórios. O extrato teve sua DL₅₀ estimada em dose ≥ 2.000 mg/Kg.

6. Referências

ASCENSÃO, L.; MOTA, L.; CASTRO, M. de M. Glandular trichomes on the leaves and flowers of *Plectranthus ornatus*: morphology, distribution and histochemistry. **Annals of Botany**, v. 84, n. 4, p. 437-447, 1999.

CHIU, Y. J. *et al.* Analgesic and antiinflammatory activities of the aqueous extract from *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng. both *in vitro* and *in vivo*. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2012, 2012.

DA SILVA, D. M. *et al.* Levantamento etnofarmacológico em comunidades rurais do Recôncavo da Bahia/BA. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 4, n. 2, 2009.

DE OLIVEIRA, R. B. *et al.* Avaliação dos efeitos depressores centrais do extrato etanólico das folhas de *Synadenium umbellatum* Pax. e de suas frações em camundongos albinos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 3, p. 485-491, 2008.

FRANZOTTI, E. M. Identificação de agonistas e antagonistas de receptores nucleares em extratos de plantas medicinais: *Morus nigra* L., *Plectranthus*

XXI Semana de Iniciação Científica da URCA

05 a 09 de novembro de 2018
Universidade Regional do Cariri

ornatus Codd., *Ipomoea cairica* (L) Sweet e *Pouteria torta* (Mart.) Radlk. 2004.

GURGEL, A. P. A. D. **A importância de *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng como alternativa terapêutica - métodos experimentais.** Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Pernambuco, 2007.

MALONE, M. H. Pharmacological approaches to natural product screening and evaluation. In: **New natural products and plant drugs with pharmacological, biological or therapeutical activity.** Springer, Berlin, Heidelberg, 1977. p. 23-53.

MEOTTI, F. C. **Análise dos mecanismos de ação antinociceptiva e antiinflamatória do flavonóide miricitrina: estudos *in vivo* e *in vitro*.** 2006. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

OECD – Organization for Economic Cooperation and Development, Guide 423: **Acute Oral Toxicity – Acute Toxic Class Method**, 2001.

PERAZA, G. G. *et al.* O uso de modelos animais para avaliar o potencial antinociceptivo dos produtos de origem natural. **VITTALE – Revista de Ciências da Saúde**, v. 19, n. 1, p. 35-44, 2007.

RANG, H. P. *et al.* Farmacologia. 5 ed. Elsevier Brasil, 2015.

RIBEIRO, D. A. *et al.* Potencial terapêutico e uso de plantas medicinais em uma área de Caatinga no estado do Ceará, nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 4, p. 912-930, 2014.

RIJO, P. *et al.* Evaluation of diterpenoids from *P. ornatus* as potencial COX-1 inhibitors. **Biomedical and Biopharmaceutical Research**, v. 9, n. 1, p. 111-118, 2012

SANTOS, L. A. *et al.* Determinação da atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico da planta *Plectranthus ornatus* Codd. (Boldo chinês). **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 12, n. 1, p. 119-129, 2014.

SILVA, J. C. *et al.* Modelos experimentais para avaliação da atividade antinociceptiva de produtos naturais: uma revisão. **Brazilian Journal of Pharmacy**, v. 94, p. 18-23, 2013.

SOUZA, G. R. *et al.* Atividade antinociceptiva do extrato etanólico das folhas de *Morus nigra* L. (Moraceae). **Jornal of Basic and applied Pharmaceutical Scienses**, v. 36, n. 1, 2015.

WHITTLE, B. A. The use of changes in capillary permeability in mice to distinguish between narcotic and nonnarcotic analgesic. **British Journal of Pharmacology and Chemotherapy**, v. 22, n. 2, p. 246-253, 1964.