



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA

Autorizada pelo Decreto Federal nº 77.496 de 27/04/76
Recredenciamento pelo Decreto nº 17.228 de 25/11/2016



PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COORDENAÇÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

XXIV SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UEFS SEMANA NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA - 2020

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA DAS FOLHAS DE *Lippia alnifolia* (VERBENACEAE)

Cássia Gabriel Simas¹; Iza Miranda Melo Paulo²; Marilene Lopes da Rocha³

1. Bolsista PROBIC/UEFS, Graduanda em Bacharelado em Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: cassiasimas520@gmail.com
2. Doutora pelo Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Laboratório de Química de Produtos Naturais e Bioativos, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: izamiranda@live.com
3. Orientadora, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: mlrochaph@gmail.com

PALAVRAS-CHAVE: Plantas medicinais; Inflamação; Nocicepção

INTRODUÇÃO

As plantas produzem substâncias biologicamente ativas que constituem a base da maioria dos fármacos clínicos utilizados, apresentando atividades terapêuticas que possam ser alternativas para o tratamento de patologias (Barreiro & Bolzani, 2009). Nesse sentido, diversos estudos comprovam o potencial das espécies do gênero *Lippia* no Brasil (Guilhon *et al.* 2011; Guimarães *et al.* 2012). Dentre as quais está *Lippia alnifolia* Mart. & Schauer, espécie rara e endêmica do interior do estado da Bahia, conhecida popularmente como “alecrim-do-mato”, “pedrécio”, e “alecrim-de-vaqueiro”, sendo utilizada na medicina popular principalmente como agente antisséptico tópico e oral, e antimicrobiano (Agra *et al.* 2008; Pascual *et al.* 2001; Pinto *et al.* 2013; Salimena *et al.* 2015). Entretanto, poucos estudos avaliam seu potencial farmacológico, tendo sido comprovada apenas a ação antinociceptiva do óleo essencial (Santos *et al.* 2015).

Diante da inexistência de estudos que explorem diferentes atividades farmacológicas do extrato de suas partes aéreas, inclusive ensaios *in vivo*, o objetivo desse trabalho foi investigar a atividade anti-inflamatória do extrato das folhas de *L. alnifolia* para proporcionar conhecimentos que auxiliem na busca por moléculas biologicamente ativas.

METODOLOGIA

Preparação do extrato

As folhas de *L. alnifolia* foram coletadas no município de Rio de Contas, na Bahia, e uma exsicata foi depositada no Herbário da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS) (nº de tombo HUEFS 213618). Após trituração do material vegetal, o pó resultante foi submetido a uma maceração com metanol, da qual obteve-se o extrato metanólico bruto das folhas. Foram realizadas 3 extrações consecutivas com intervalo de 5 dias entre elas.

Animais de experimentação

Todos os experimentos foram realizados com camundongos suíços (*Mus musculus*, Linnaeus, 1758) machos, adultos, com peso corporal variando entre 25-35g, provenientes da colônia do Biotério Central da UEFS. Todos os experimentos foram previamente aprovados pelo Comitê de Ética em Uso Animal (CEUA-UEFS, protocolos 002/2016 e 001/2018)

Nociceção induzida por Glutamato

Os grupos de animais (n=6) foram tratados com o extrato das folhas de *L. alnifolia* (300 mg/kg, v.o.), veículo (solução salina a 0,9% e Tween 80 a 5%, 0,1ml/10g, v.o.), morfina (10 mg/kg, i.p.) e indometacina (20 mg/kg, i.p.). Após trinta minutos da administração dos tratamentos, os animais receberam a injeção de glutamato (20 µL intraplantar/20 µmol/pata) na pata direita traseira. Logo em seguida, os animais foram colocados numa caixa de observação triangular espelhada durante 5 minutos para a contagem do tempo (segundos) em que lambem a pata, o que foi considerado como parâmetro de nociceção (Córdova *et al.* 2011).

Nociceção induzida por Cinamaldeído

Seguindo semelhante padrão do teste anterior, os animais tratados receberam como agente nociceptivo uma injeção de 20 µL de cinamaldeído (10 nmol/pata) na pata direita traseira. Logo após, os animais foram observados durante 15 minutos para a contagem do tempo em que passaram lambendo a pata (Nogueira *et al.* 2015).

Mecanismo de ação pelo teste da placa quente

Os grupos de animais (n=6) foram pré-tratados com o antagonista opioide naloxona (1,5mg/kg, via subcutânea) 30 minutos antes da administração do extrato (300 mg/kg, v.o.) e da morfina (10 mg/kg, i.p.), e, após 30, 60 e 120 minutos foram colocados no aparelho da placa quente, mantido a uma temperatura de 50±1°C, para registro da latência obtida pelo tempo (segundos) decorrido entre a colocação dos mesmos na placa e a ocorrência de lambida das patas ou comportamento de pular, sendo o tempo máximo de permanência na placa de trinta segundos, para evitar danos aos animais (Petroviski *et al.* 2006). O grupo considerado como controle negativo foi tratado apenas com o veículo (solução salina a 0,9% e Tween 80 a 5%, 0,1ml/10g, v.o).

RESULTADOS

No modelo de nociceção, onde a substância algésica foi o glutamato, o extrato metanólico bruto das folhas de *L. alnifolia* reduziu o tempo que os camundongos lambem a pata em 25,8±4,1 segundos em comparação com os animais do grupo controle negativo (74,5±6,5 s). Resultado muito similar alcançado quando os animais foram administrados com indometacina (29,3±4,2 s), droga padrão utilizada que tem ação anti-inflamatória periférica, não havendo diferença estatística entre eles. Já com a administração da morfina, droga de ação central, houve redução total do tempo de lambida (0 s). Essa ação antinociceptiva do extrato metanólico bruto das folhas de *L.*

alnifolia pode ocorrer devido sua atuação sobre os receptores glutamatérgicos (receptores NMDA e não-NMDA).

No teste da nocicepção induzida por cinamaldeído, o grupo tratado com o extrato metanólico das folhas de *L. alnifolia* lambeu a pata em média $6,8 \pm 5$ s, e os animais que receberam o veículo lambeiram em média $34 \pm 8,7$ s. Dessa forma, o extrato reduziu o tempo de lambida da pata em comparação aos animais do grupo controle negativo. O grupo que recebeu a indometacina reduziu o tempo em que os camundongos lambeiram a pata, em média, $14,8 \pm 5,1$ segundos, e o grupo que recebeu a morfina reduziu totalmente o tempo de lambeir a pata (0 s).

Para o teste da placa quente, verificou-se que os grupos que receberam morfina apresentaram uma considerável diferença entre eles ($p < 0,05$), principalmente com a presença da naloxona, que inibiu a ação antinociceptiva da morfina e se manteve similar ao controle negativo. O grupo que recebeu apenas o extrato de *L. alnifolia* apresentou um resultado expressivo nos três tempos de observação (30 min: $27,8 \pm 3,1$ s; 60 min: $27,8 \pm 2,8$ s; 120 min: $26,8 \pm 4,1$ s) e se manteve da mesma forma no grupo que foi pré-tratado com naloxona (30 min: $27,8 \pm 3,1$ s; 60 min: $27,8 \pm 2,8$ s; 120 min: $26,8 \pm 4,1$ s), indicando assim não atuar pela via dos receptores opioides, já que estes estavam sob a ação da naloxona.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados encontrados nesse trabalho, indicam que o extrato metanólico das folhas de *L. alnifolia* apresenta uma significativa atividade antinociceptiva e anti-inflamatória, visto que tanto no teste de nocicepção induzida pelo Glutamato como no teste de nocicepção induzida pelo cinamaldeído, o extrato conseguiu reduzir significativamente o tempo de lambida da pata, além disso esses resultados demonstraram ação periférica. Essa indicação foi confirmada através da realização de um experimento com a coadministração de um antagonista opioide, no qual a naloxona não conseguiu bloquear a ação do extrato, demonstrando então que a atividade de *L. alnifolia* não tem envolvimento com os receptores do sistema opioide, portanto, não apresentou ação central.

REFERÊNCIAS

- AGRA, M.F. *et al.* 2008. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. *Braz J Pharmacogn.* 18(3): 472-508.
- BARREIRO, E. J.; BOLZANI, V. S. 2009. Biodiversidade: fonte potencial para a descoberta de fármacos. *Quím Nova.* 32(3): 679-688.
- CÓRDOVA, M. M. *et al.* 2011. Further antinociceptive effects of myricitrin in chemical models of overt nociception in mice. *Neuroscience Letters.* 495: 173–177.
- GUILHON, C. C. *et al.* 2011. Characterisation of the anti-inflammatory and antinociceptive activities and the mechanism of the action of *Lippia gracilis* essential oil. *J Ethnopharmacol.* 135(2): 406-413.
- GUIMARÃES, A. G. *et al.* 2012. Phytochemical characterization and antinociceptive effect of *Lippia gracilis* Schauer. *J Nat Med.* 66(3): 428–434.
- NOGUEIRA, L. M. *et al.* 2015. Antinociceptive effect of the essential oil obtained from the leaves of *Croton cordifolius* Baill. (Euphorbiaceae) in Mice. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2015:1-8.

- PASCUAL, M. E. *et al.* 2001. *Lippia*: Traditional uses, chemistry and pharmacology: a Review. J Ethnopharmacol. 76: 201-214.
- PIETROVSKI, E. F. *et al.* 2006. Antinociceptive properties of the ethanolic extract and of the triterpene 3 β , 6 β , 16 β -trihidroxilup-20(29)-ene obtained from the flowers of *Combretum leprosum* in mice. Pharmacol Biochem Behav. 83: 90-99.
- PINTO, C.D.P. *et al.* 2013. Antimicrobial activity of *Lippia species* from the Brazilian semiarid region traditionally used as antiseptic and anti-infective agents. Evid Based Complement Alternat Med. 2013: 1-5.
- SANTOS, A. C. B. *et al.* 2015. Uso popular de espécies medicinais da família Verbenaceae no Brasil. Rev Bras Plant Med. 17(4): 980-991.
- SALIMENA, F.R.G. *et al.* 2015. Verbenaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2015.