

# ESTUDO DA ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA E ANTI-INFLAMATÓRIA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia bromelyana* Moldenke (VERBENACEAE) EM CAMUNDONGOS

**Jonathan Lima Rios Teles<sup>1</sup>; Marilene Lopes da Rocha<sup>2</sup>; Alanna Caroline de Jesus Dias<sup>3</sup> e Débora Maria Marchesine de Almeida<sup>4</sup>**

1. Bolsista PIBIC/Fapesb, Graduando em Bach. em Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: [jonhrios@gmail.com](mailto:jonhrios@gmail.com)
2. Orientador, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: [mlrochaph@gmail.com](mailto:mlrochaph@gmail.com)
3. Participante do projeto, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: [nany.acjd@gmail.com](mailto:nany.acjd@gmail.com)
4. Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: [debora.mma01@gmail.com](mailto:debora.mma01@gmail.com)

**PALAVRAS-CHAVE:** anti-inflamatório; óleo essencial; *Lippia spp.*

## INTRODUÇÃO

No Brasil, o uso de plantas medicinais é bastante difundido e, em grande parte foi influenciado pela tradição popular das culturas indígenas nativas, africana, asiática e europeia (MACIEL *et al.*, 2002; MARTINS *et al.*, 2000; RATES, 2001). A região Nordeste, que abriga o bioma caatinga, possui muitas espécies de plantas nativas que são empregadas na medicina popular para o tratamento de diversas doenças (ALBUQUERQUE *et al.*, 2007). Dentre as quais, as do gênero *Lippia* (Verbenaceae), empregadas tradicionalmente no tratamento de distúrbios relacionados ao sistema respiratório e a problemas gastrointestinais.

Diversos estudos (MENDES *et al.*, 2010; GOMES, *et al.*, 2011; GUILHON *et al.*, 2011; GUIMARÃES *et al.*, 2012; HALDAR *et al.*, 2012; RIELLA *et al.*, 2012; PEREIRA *et al.*, 2013) comprovaram certas propriedades medicinais dessas plantas, no entanto, mesmo havendo diversidade de espécies de *Lippia* no Brasil com potenciais propriedades farmacológicas, inexistem estudos científicos evidenciando tais atributos para *Lippia bromelyana* Moldenke, em particular.

Nesse sentido, como um dos objetivos da medicina atual é o alívio da sensação dolorosa contínua, o que reflete na busca pelo desenvolvimento de substâncias capazes de cessar a dor, ou mesmo na descoberta de fármacos com eficácia semelhante, ou maior que aqueles usados na terapêutica atual, mas com menor incidência de efeitos colaterais (ALMEIDA *et al.*, 2006), o estudo das propriedades antinociceptivas de *L. bromelyana* foi um passo promissor na bioprospecção de tais substâncias.

Levando-se em consideração que o óleo essencial (OE) de certas espécies do gênero *Lippia* possui, dentre outras, atividades anti-inflamatória e antinociceptiva (GUILHON *et al.*, 2011; GUIMARÃES *et al.*, 2012; HALDAR *et al.*, 2012;), este trabalho teve como objetivo investigar o potencial antinociceptivo e anti-inflamatório da *L. bromelyana* em testes *in vivo*, fornecendo dados científicos para consolidar a sua utilização terapêutica de forma segura, além de auxiliar a realização de estudos mais aprofundados sobre o tema.

## MATERIAL E MÉTODOS

### **1. Coleta do material botânico e obtenção do óleo essencial de *L. bromelyana***

A espécie foi coletada no campo experimental do Horto Florestal da UEFS e foi depositada no herbário da UEFS, sob voucher nº 216826 e identificada por um especialista. Após trituração do material vegetal, o óleo essencial foi extraído por meio da hidrodestilação, em triplicata. A obtenção do OELB foi auxiliada pelo LAPRON/UEFS. O

óleo bruto, após cálculo do rendimento, foi armazenado em baixa temperatura, em recipiente e ambiente com baixa luminosidade, para evitar a degradação e manter a reprodutibilidade das análises (TELES *et al.*, 2014).

## 2. Animais de experimentação

Foram utilizados camundongos *Mus musculus* (LINNAEUS, 1758), machos, adultos, pesando entre 25 e 30 gramas, obtidos da colônia do Biotério Central da UEFS. O presente trabalho foi cadastrado e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Estadual de Feira de Santana.

## 3. Testes farmacológicos para avaliação da atividade antinociceptiva e anti-inflamatória do óleo essencial de *Lippia bromelyana* (OELB)

### 3.1. Teste de nociceção induzida por cinamaldeído

Os grupos de animais (n=8 em cada) receberam, após 30 minutos da administração de soro fisiológico no grupo controle, morfina (10 mg/kg, i.p.) no grupo padrão e OELB (75, 150 e 300 mg/kg) nos grupos experimentais, uma injeção subplantar de cinamaldeído (200 nmol / pata) na pata direita. Em seguida os animais foram observados individualmente durante 5 min nos quais foi contabilizado o tempo em que os animais passaram lambendo a pata, o que foi considerado como parâmetro de nociceção (CÓRDOVA *et al.*, 2011).

### 3.2. Teste de nociceção induzida por glutamato

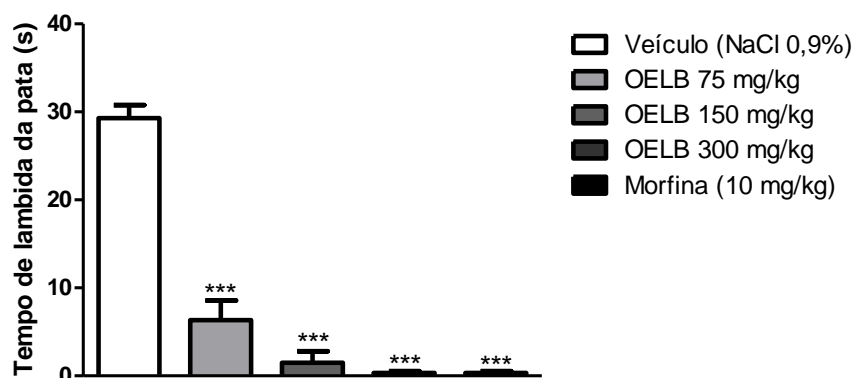
Seguindo semelhante padrão do teste anterior, os animais tratados receberam como agente nociceptivo, uma injeção de 20 µL de glutamato (20 µmol/pata, preparado em solução salina) na pata direita traseira. Logo após, os animais foram observados durante 15 minutos para a contagem do tempo em que passaram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

### 3.3. Teste do edema de pata induzido por carragenina

Os grupos de camundongos foram tratados com diferentes concentrações do OELB (75, 150 ou 300 mg/kg, i.p.), indometacina (20 mg/kg, i.p.) e veículo (NaCl 0,9%, 10 mL/kg). Após 30 minutos, uma solução de carragenina 1% foi injetada (50 µL) na região subplantar da pata direita dos camundongos e, em seguida, o edema foi medido em volume utilizando-se um pletismômetro de pata (Insight-EFF 304) nos intervalos entre 0, 30, 60, 120, 180 e 240 minutos (WINTER; PORTER, 1957).

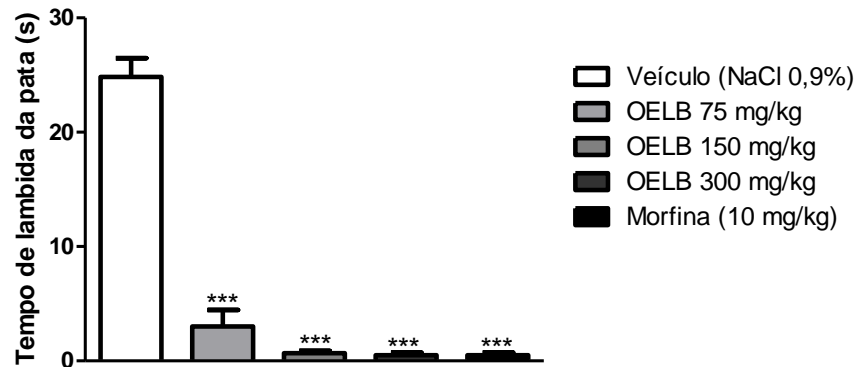
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

No teste do cinamaldeído, o percentual de inibição da resposta nociceptiva foi de 78,40% ( $6,33 \pm 2,25$ ) para OELB 75 mg/kg; 95,00% ( $1,5 \pm 1,31$  s) para OELB 150 mg/kg e 99,00% ( $0,33 \pm 0,21$  s) para OELB 300 e morfina ( $p < 0,001$ ), em comparação ao grupo controle negativo ( $29,29 \pm 1,47$  s). Dessa forma, é possível inferir, a partir da análise desses dados, que OELB é tão eficaz quanto a morfina para a redução da resposta nociceptiva.

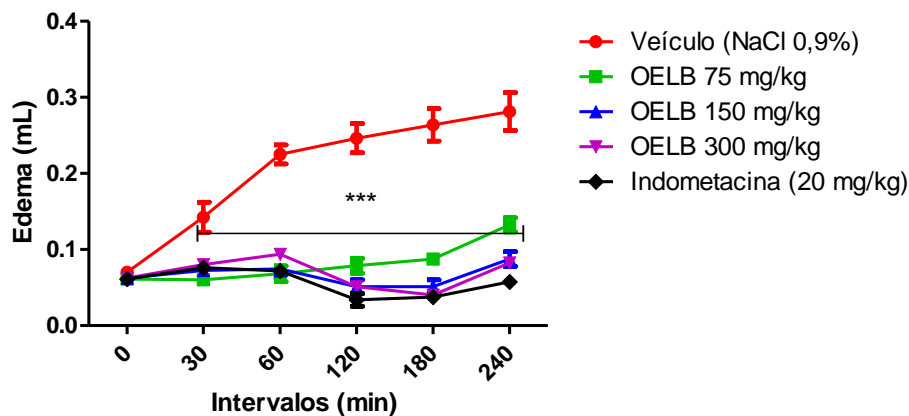


**Figura 1.** Efeito do OELB (75, 150 e 300 mg/kg, i.p.) e morfina (10 mg/kg, i.p.) no teste do cinamaldeído. Os valores foram expressos em média ± e.p.m. (n=6-8). \*\*\* $p < 0,001$  foram considerados significativos quando comparados com o grupo controle. (ANOVA seguido do teste de Tukey).

OELB 75 mg/kg foi capaz de inibir a resposta nociceptiva provocada pelo glutamato cerca de 88,00% ( $3 \pm 1,46$  s), enquanto OELB 150 e 300 mg/kg inibiram em 97,34% ( $0,66 \pm 0,21$  s) e 98% ( $0,5 \pm 0,22$  s), respectivamente, e a morfina 98% ( $0,5 \pm 0,22$  s) quando comparados ao controle negativo. Esses resultados apontam para a eficácia do OELB na diminuição da resposta nociceptiva que foi semelhante ou igual (na dose 300 mg/kg) a da morfina neste experimento.



**Figura 2.** Efeito do OELB (75, 150 e 300 mg/kg, i.p.) e morfina (10 mg/kg, i.p.) no teste do glutamato. Os valores foram expressos em média  $\pm$  e.p.m. (n=6). \*\*\* $p < 0,001$  foram considerados significativos quando comparados com o grupo controle. (ANOVA seguido do teste de Tukey).



**Figura 3.** Efeito do OELB (75, 150 e 300 mg/kg, i.p.) e indometacina (20 mg/kg, i.p.) no teste do edema de pata induzido por carragenina. Os valores foram expressos em média  $\pm$  e.p.m. (n=8). \*\*\* $p < 0,001$  foram considerados significativos quando comparados com o grupo controle. (ANOVA seguido do teste de Tukey).

Nos animais tratados com OELB (75, 150 ou 300 mg/kg), observou-se redução do edema mais pronunciada após 120 e 180 min da administração da carragenina, sendo o percentual de inibição do OELB 150 e 300 mg/kg de 80,55% e 84,83%, respectivamente, aos 180 min. A indometacina, nesse mesmo intervalo, inibiu em 85,78% o edema de pata, valor este bem próximo aos obtidos pelo OELB (150 ou 300 mg/kg) já mencionado.

Tempo	OELB 75mg	OELB 150mg	OELB 300mg	Indometacina
0'	12,43%	10,71%	10,71%	12,43%
30'	57,89%	49,12%	43,86%	46,46%
60'	69,73%	66,93%	58,31%	68,04%
120'	68,04%	79,17%	79,21%	86,32%
180'	66,83%	80,55%	84,84%	85,78%
240'	52,89%	68,89%	70,67%	79,56%

**Tabela 1.** Percentual de inibição do edema de pata pelo OELB (75, 150 ou 300 mg/kg) e pela Indometacina (20 mg/kg)

## CONSIDERAÇÕES FINAIS (ou Conclusão)

Os dados fornecidos por este trabalho permitem sugerir que o OELB possui efeito antinociceptivo, tanto de ação central quanto periférica, e anti-inflamatório em camundongos *Mus musculus*. Os testes do cinamaldeído e glutamato demonstraram uma redução significativa ( $p < 0,001$ ) na sensação de dor entre os animais, quando aplicadas as doses do OE, aumentando o limiar nociceptivo. No teste da carragenina foi possível notar a ação anti-inflamatória do OELB, diminuindo de forma significativa o volume do edema de pata em todas as doses testadas, em comparação ao grupo controle.

É necessário, porém, a realização de estudos minuciosos sobre as propriedades desse composto para conhecer os seus mecanismos de ação.

## REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, U.P. *et al.* Medicinal plants of the caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil: a quantitative approach. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 114, p.325–354, 2007.
- ALMEIDA, F. R. C.; OLIVEIRA, F. S. Avaliação de drogas analgésicas de ação central. In: ALMEIDA, R. N. *Psicofarmacologia: fundamentos práticos*, 1ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. cap. 17, p. 179-188.
- CÓRDOVA, M. M. *et al.* Further antinociceptive effects of myricitrin in chemical models of overt nociception in mice. *Neuroscience Letters*, v. 495, p. 173–177, 2011.
- GOMES, S. V. F. *et al.*, Aspectos químicos e biológicos do gênero *Lippia* enfatizando *Lippia gracilis* Schauer. *Eclética Química*, v. 36, São Paulo, 2011.
- GUILHON, C. C. *et al.* Characterisation of the anti-inflammatory and antinociceptive activities and the mechanism of the action of *Lippia gracilis* essential oil. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 135, p. 406-413, 2011.
- GUIMARÃES, A. G.; *et al.* Phytochemical characterization and antinociceptive effect of *Lippia gracilis* Schauer. *Journal of Natural Medicines*, v. 66, p. 428-434, 2012.
- HALDAR, S.; *et al.* In vivo anti-nociceptive and anti-inflammatory activities of *Lippia alba*. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, p. S667-S670, 2012.
- MACIEL, M. A. M., *et al.* Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. *Química Nova*, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.
- MARTINS, E. R.; *et al.* *Plantas Mediciniais*. Viçosa: Editora UFV, 2000. 220 p.
- MENDES, S. S., *et al.* Evaluation of the analgesic and anti-inflammatory effects of the essential oil of *Lippia gracilis* leaves. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 129, p. 391-397, 2010.
- NOGUEIRA, L. M. *et al.* Antinociceptive Effect of the Essential Oil Obtained from the Leaves of *Croton cordifolius* Baill. (Euphorbiaceae) in Mice. *Evidence Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, v. 2015, p. 1-8, 2015.
- PEREIRA, S. L. S. *et al.* Clinical effect of a gel containing *Lippia sidoides* on plaque and gingivitis control. *European Journal of Dentistry*, v. 7, 2013.
- RATES, S. M. K. Plants as sources of drugs. *Toxicon*, v. 39, p. 603-613, 2001.
- RIELLA, K. R. *et al.* Anti-inflammatory and cicatrizing activities of thymol, a monoterpene of the essential oil from *Lippia gracilis*, in rodents. *Journal of Ethnopharmacology* 143 656-663, 2012.
- TELES, S. *et al.* *Lippia organoides* H.B.K. essential oil production, composition, and antioxidant activity under organic and mineral fertilization: Effect of harvest moment. *Industrial Crops and Products* n. 60, p. 217–225, 2014.
- WINTER, C.A.; PORTER, C.C. Effect of alteration in side chains upon anti-inflammatory and liver glycogen activities in hydrocortisone ester. *Journal of American Pharmacological Society*, v. 46, p. 515–519, 1957.