

Avaliação da Atividade Antiinflamatória de Frações Etanólicas e Diclorometano da Espécie *Leonurus Sibiricus*

Autores

Rafael Francisco Rosa da Silva

Orientador

Luciane Cruz Lopes

Apoio Financeiro

Fapic

1. Introdução

1 - INTRODUÇÃO

1.1 – O processo inflamatório e as perspectivas terapêuticas

Pode-se afirmar que ainda não dispomos do fármaco antiinflamatório ideal, com efeitos indesejáveis mínimos e que seja realmente eficaz nos transtornos inflamatórios. Os antiinflamatórios não esteroidais (AINES) constituem um grupo heterogêneo de moléculas com propriedades eficazes antiinflamatória, analgésicas e antipiréticas. Desafortunadamente, a frequência dos efeitos adversos descritos em seu uso continuado é alta (BJORKMAN, 1996; WALLACE, 1997).

Por outro lado, devido ao melhor conhecimento que se vai adquirindo da fisiopatologia dos processos inflamatórios, tem-se sugerido diversos níveis de atuação ou estratégia na busca de novos fármacos antiinflamatórios, dirigidos ao controle de mecanismos específicos relevantes na resposta inflamatória.

Existem numerosos agentes, obtidos de fontes naturais, de grande diversidade química, que envolvem diferentes tipos de princípios ativos. Entre eles se encontram triterpenos, esteroides, lactonas sesquiterpênicas, flavonóides, cumarinas e alcalóides que tem demonstrado atividade antiinflamatória em vários modelos de inflamação, atuando sobre distintos mediadores deste processo (WAGNER, 1989; RECIO *et al.*, 1995; LYSS *et al.*, 1997; PELZER *et al.*, 1998). Isto constituiria uma fonte de descobrimento de novos agentes que poderiam exercer sua atividade antiinflamatória por mecanismos distintos a dos fármacos AINES já existentes na terapêutica.

A espécie *Leonurus sibiricus* é uma laminacea de origem asiática, conhecida popularmente como rubim, erva de macaé é usada pela população para tratar inflamações tópicas, o *L. sibiricus* aparece em várias regiões do Brasil e é de fácil reprodução. Conforme achados de literatura, a espécie contém em sua composição química compostos como a leorunina (KUBOTA & NAKASHIMA, 1930), glicosídeos apolares, iridoídes, ácido ursólico, saponinas triterpênicas (KOZLVA, 1968), 03 glicosídeos p-copumaril (apigenina e a luteolina (TOMAS- BARBERAN, KRESTOVSKAYA & GIL 1993) que podem estar relacionado com a atividade antiinflamatória.

2. Objetivos

2 - OBJETIVOS

Esse trabalho tem como principal objetivo, confirmar a atividade antiinflamatória dos extratos desta espécie.

3. Desenvolvimento

3 – DESENVOLVIMENTO

3.1- Planta selecionada: *Leonurus sibiricus* L

3.1.1 – Identificação e Obtenção da exsicata

A coleta da planta foi no horto de plantas medicinais do CPQBA/ UNICAMP (Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas), no período de setembro /outubro de 2005 e identificada botanicamente pela Dra. Glyn Carla Figueira, sua exsicata está no Herbário do CPQBA, com o número de registro: CPQBA 1.205.

3.1.2 – Preparo do material botânico

- Preparação Do Extrato Bruto etanólico

Após a coleta e secagem, o material botânico foi triturado e pulverizado. quinhentos grama do material foram submetidos ao processo de extração por maceração com diclorometano. Faze-se 3 extrações com este solvente e o resíduo foi lavado com etanol 95%. O solvente orgânico foi eliminado sob vácuo numa temperatura de aproximadamente 40 °C. até completa eliminação do etanol e posteriormente evaporado fornecendo o extrato bruto etanólico (EBE).

3.2 - Animais e Grupo Controle

No ensaio de edema de orelha foram utilizados camundongos (*M.musculus*), machos, pesando em média 30 g, tratados com ração balanceada PURINA-LABINA, água "ad libitum" e ciclo claro-escuro de 12 h. Já no modelo de edema de pata utilizou-se ratos "Wistar" pesenado em média de 200g tratados com ração balanceada PURINA-LABINA, água "ad libitum" e ciclo claro-escuro de 12 h. Nos experimentos onde o extrato foi administrado por via oral os animais foram deixados em jejum

Todos os experimentos foram complementados por grupos controle, nos quais os animais foram submetidos exatamente aos mesmos procedimentos que os grupos tratados.

3.3 - Modelos Experimentais

3.3.1- Modelo de Edema de Pata por Carragenina (WINTER, RISLEY & NUSS, 1962)

Os ratos receberam injeção subplantar em uma das patas posterior de carragenina 1% na dose de 0,1 mL. A aplicação de solução de NaCl 0,9% foi feita na pata contralateral. Após 30 minutos da aplicação do agente flogístico, foram realizados os tratamentos: G1 – controle NaCl 0,9%/subcutânea; G2 – controle Piroxicam 50 mg/Kg/subcutânea; G3 – Diclofenaco 0,5g/Kg/subcutânea e G4 - EBE *L. sibiricus* 500mg/kg/vo Decorrido 60 minutos após a indução, e nos tempos 2, 3 e 4h após,foi feita a leitura do volume das patas com auxílio do aparelho pletismômetro (UGO-BASILE).

3.3.2 – Edema de orelha induzido por óleo de cróton (ROMAY, LEDON & GONZALES,1998)

A inflamação foi induzida por aplicação tópica de óleo de cróton 2.5% em acetona (20 ¼L/orelha) na orelha direita de cada camundongo, segundo Romay et al (1998). A orelha esquerda (controle) recebeu o veículo (20 ¼L de acetona) os tratamentos EBD (0,2 e 2,0mg/kg/orela) e EBE (0,2mg/kg/orelha) e controles veículo (acetona 70%, 20 ¼L/orelha) e dexametasona 1% foram administrados por via tópica 15 minutos após a indução da inflamação. Decorrido 6h da aplicação do agente flogístico os animais foram sacrificados por deslocamento cervical onde se procedeu a ressecção de um segmento de 8 mm de cada orelha para pesagem em balança analítica. O edema foi avaliado através da porcentagem de aumento.

4. Resultados

4 - RESULTADOS e DISCUSSÃO

4.1- Atividade antiedematogênica sistêmica

Neste ensaio foram avaliados os efeitos do EBE 500 mg/Kg pelas vias oral, sobre a resposta inflamatória induzida por carragenina 1%, subplantar, no teste de edema de pata em ratos. Os dados deste experimento, foram expressos como aumento do volume deslocado pela pata (mL) registrados pelo aparelho Pletismômetro (UGO-BASILE), estão demonstrados na Figura 1. A atividade antiedematogênica do extrato EBE foi observada na segunda fase (quarta hora), quando administrado pela via oral. Este tipo de efeito é típico de drogas inibidoras da enzima cicloxigenase (ENGELHARDT *et al.*, 1995).

4.2 Atividade antidermatogênica tópica

Neste teste o tratamento tópico com o extrato inibiu o edema induzido por óleo de cróton nas três doses utilizadas, porém o efeito máximo, que foi semelhante ao da dexametasona, foi atingido com o extrato EBD nas doses de 0,2mg e 2 mg/kg. Os valores estão expressos em % do aumento do peso da orelha (mg) obtida para os grupos controle e tratados com dexametasona e extrato de *L. sibiricus* (Figura 2).

O extrato tem significativo efeito neste modelo o que poderia sugerir uma atividade estabilizadora de membrana vascular que reduz a permeabilidade capilar e/ou um efeito inibitório sobre os mediadores.

A espécie *Leonurus sibiricus* apresenta compostos, como os iridóides e o ácido ursólico que apresentam atividade respectivamente na inibição da expressão de NO (inibindo a iNO) e inibição da ciclooxygenase (PICERNO, *et al*, 2005). Os resultados obtidos nestes modelos mostram que o extrato apresenta maior atividade quando nas fases relacionadas a liberação dos prostanoídes sendo o EBD mais efetivo em ambas doses. Considerando que os compostos com atividades já estudada apresentam perfil lipossolúvel, isto explica a eficácia maior do EBD em relação ao EBE.

5 – CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conclui-se que os extratos apresentaram atividade antiedematogênica nos modelos de edema de pata e orelha inibindo aparentemente a síntese dos prostanóides e permeabilidade vascular. O EBD mostrou-se mais ativo, infere-se que tal atividade pode se dever aos compostos mais lipofílicos o que confirma outros estudos com a possível atividade dessas substâncias.

Referências Bibliográficas

6- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bjorkman, D.J. ; **Nonsteroidal anti inflammatory drug induced gastrointestinal injury**; *Am. J. Med.* ; 101 (suppl 1A), p.25-32 1996.

ENGLHARDT, G; HOMMA, D. SCHLEGEL, K.. ULTZMANN, R. & SCHNITZLER, C. **Antiinflammatory, analgesic, antipyretic and related properties of meloxicam, a new nonsteroidal anti-inflammatory agent with favourable gastrointestinal tolerance.** *Inflammation research*, v.44, p.423-433, 1995.

KOZLVA, L.M. **Glycosides of pentadactyl motherwort.** *Mosk. Med. Inst.*, cidade, v. 61, p.345-8, 1968.

KUBOTA, S. & NAKASHIMA, S. **The study of Leonurus sibiricus L. I. Chemical study of alkaloids "leonurine" isolated from Leonurus sibiricus L.** *Folia Pharmacol. Japon.*, v. 11 n.2, p. 159-67, 1930.

Lyss, G., Schmidt, T.J., Merfort, I. & Pahl, H.L., **Helenalin, an anti-inflammatory sesquiterpene lactone from Arnica, selectively inhibits transcription factor NF- κ B.** *Biol. Chem.*, 378, p.951-961, 1997.

Pelzer, E.I., Guardia, T., Juárez, A.O. & Guerrero, E., **Acute and chronic antiinflammatory effects of plant flavonoids.** *Il Farmaco*, 53, p.421-424, 1998.

[PICERNO, P.](#); [AUTORE, G.](#); [MARZOCCO, S.](#); [MELONI, M.](#); [SANOGO, R.](#) & [AQUINO, R.P.](#)

Anti-inflammatory activity of verminoside from *Kigelia africana* and evaluation of cutaneous irritation in cell cultures and reconstituted human epidermis. J Journal of natural products., 68(11), 2005, p1610-1614.

Recio, M.C., Giner, R.M., Máñez, S. & Ríos, J.L., **Structural requirements for the anti-inflammatory activity of natural terpenoids;** Planta Med., 61, p. 182-185, 1995.

Romay, C., Ledon, N. & González R. **Further studies on anti-inflammatory activity of phycocyanin in some animal models of inflammation.** Inflamm. Res. P. 47:334-338,1998.

TOMAS- BARBERAN, F. A.; KRESTOVSKAYA, T. & GIL, M.; **Flavonoid p_ coumaroylglycosides in some *Leoinurus*, *Chaitutus* e *Panzeria* species (laminaceae).** Biochem. Syst. Ecol., v.21, n.4, p.531-2, 1993.

Wallace, J.L. ; **Nonsteroidal anti inflammatory drugs and gastroenteropathy: The second hundred years;** Gastroenterology ; p. 112,1000 1016, 1997.

Wagner, H., **Search for new plant constituents with potential antiphlogistic and antiallergic activity.** Planta Med., 55, p. 235-241 1989.

WINTER, C.A; RISLEY, E.A. & NUSS, G.W. **Carrageenin induced oedema in the hind paw of the rat as an assay for antiinflammatory drugs.** Proc. Soc. Exp. Biol. v.III,p.544-547, 1962

Anexos

Edema de pata por carragenina

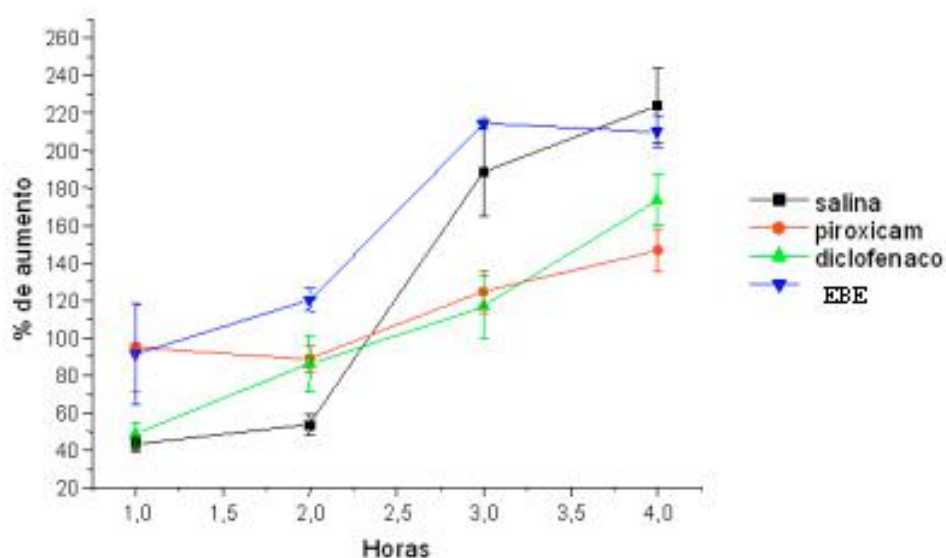


Figura 1: Evolução temporal do edema (mL) induzido por carragenina 1% subplantar, em ratos pré tratados (30 min) com Solução salina 0,9% (10 mL/kg; v.o.), Piroxicam (50 mg/kg/vo), Diclofenaco e EBE (500mg/kg/vo)

Edema de Orelha induzido por óleo de cróton

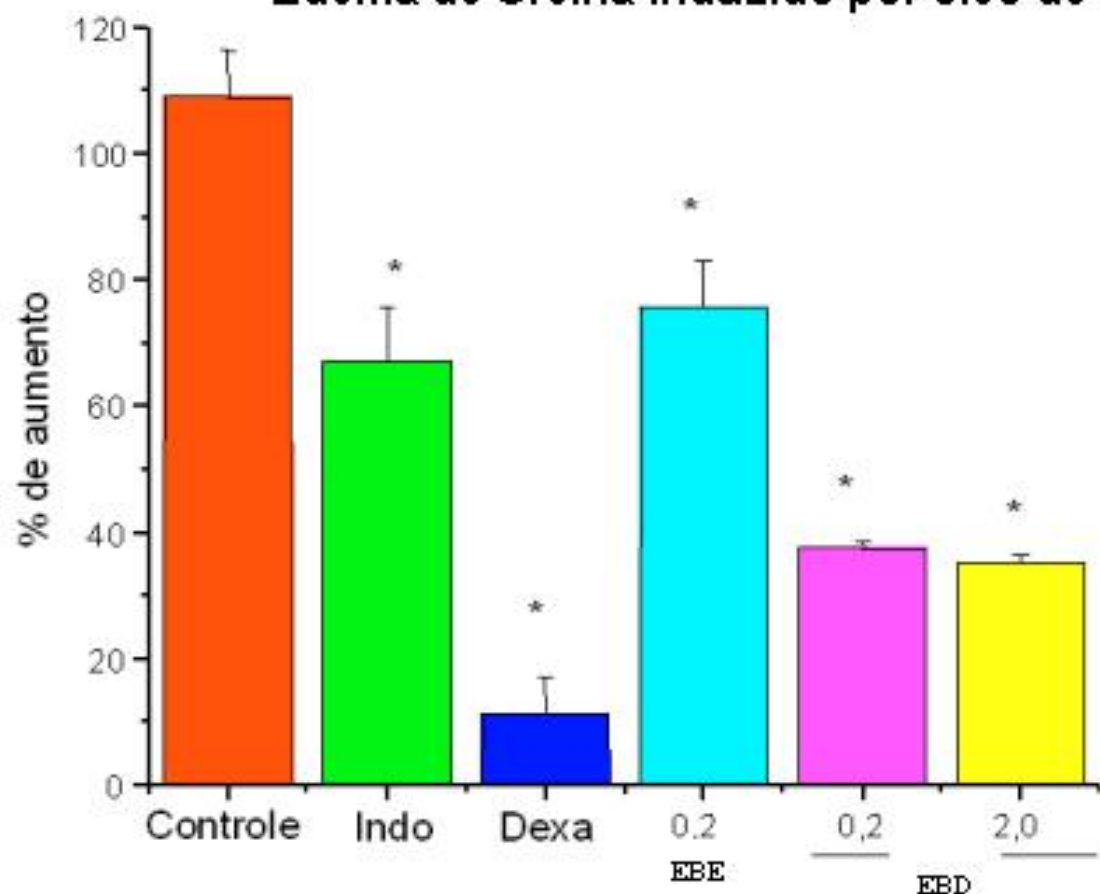


Figura 2: Efeito tópico de doses do extrato de *L. sibiricus* sobre o aumento da permeabilidade vascular induzida no modelo de edema de orelha por óleo de cróton