

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANALGÉSICA DA FRAÇÃO CLOROFÓRMICA DO  
*Ocimum basilicum* (MANJERICÃO) EM CAMUNDONGOS**

**ACTIVITY EVALUATION OF ANALGESIC OF THE CHLOROFORM FRACTION OF  
THE *Ocimum basilicum* (BASIL) IN MICE**

ICKERT, Daniela<sup>1</sup>; VINGRA, Fernanda<sup>2</sup>; FREITAS, Willian L.<sup>3</sup>; SOUZA, Wesley M.<sup>4</sup>;  
NOWACKI, Luciana<sup>5</sup>.

<sup>1</sup> Acadêmico do Curso Superior de Tecnologia em Bioprocessos e Biotecnologia,  
Universidade Tuiuti do Paraná, Curitiba.

<sup>2</sup> Acadêmico do Curso Superior de Tecnologia em Bioprocessos e Biotecnologia,  
Universidade Tuiuti do Paraná, Curitiba.

<sup>3</sup> Acadêmico do Curso Superior de Tecnologia em Bioprocessos e Biotecnologia,  
Universidade Tuiuti do Paraná, Curitiba.

<sup>4</sup> Farmacêutico, Professor Adjunto da Universidade Tuiuti do Paraná, Curitiba.

<sup>5</sup> Bióloga, Professor Adjunto a Universidade Tuiuti do Paraná, Curitiba.

## Resumo

Como podemos observar na literatura o *Ocimum basilicum* é um grande produtor de óleo essencial. Seu uso mais freqüente é na culinária, porém apresenta função terapêutica, sendo utilizado para tratar calafrios e reduzir a febre, congestão e dores associadas. Possui propriedade bactericida, atividade fungicida, utilizado em coceiras da pele, mordida de inseto e afecções de pele. Controla níveis de açúcar no sangue, é antiespasmódico e analgésico, diminui a pressão sanguínea e é antiinflamatório. As plantas para serem estudadas passam por vários processos de extração e com vários tipos de solventes, nesse trabalho foi utilizada a fração clorofórmica. O teste de contorção abdominal induzida por ácido acético foi usado para o estudo de atividades analgésicas da fração clorofórmica do *Ocimum basilicum* nas doses de 15, 30 e 60 mg/kg. Foi possível observar que a fração estudada não possui atividade analgésica.

**Palavras-chave:** Manjeriçã, Analgesia, Contorções Abdominais.

## Abstract

As can be seen in the literature *Ocimum basilicum* is a major producer of essential oil. Its most frequent use is in cooking, but has therapeutic function, being used to treat chills and reduce fever, congestion and associated pain. Property has bactericidal, fungicidal activity, used in skin rashes, insect bites and skin disorders. Control blood sugar levels, spasmolytic and analgesic is, lowers blood pressure and is antiinflammatory. The plants are to be studied by various extraction processes and various types of solvents used in this work was the chloroform fraction. The test of writhing induced by acetic acid was used for the study of analgesic activity of the chloroform fraction of *Ocimum basilicum* at doses of 15, 30 and 60 mg / kg. It was observed that the fraction studied has no analgesic activity.

**Keywords:** Basil, Analgesic, Abdominal writhing.

## 1. Introdução

Um dos importantes grupos de plantas que produz óleo essencial é o gênero *Ocimum* rico em constituintes como: ácidos fenólicos, linalol, geraniol, citral, alcanfor, eugenol, timol 1,8-cineol, acetato de nerila, estragol ou metilchavicol, metileugenol, cinamato de metila, farnesol, borneol, safrol e outros compostos (Govin *et al.*, 2000).

Segundo vários autores o *Ocimum basilicum* é muito utilizado na medicina popular, pois tem folhas ricas em linalol e são extraídos muitos óleos essenciais, porém é mais utilizado como tempero na culinária. Segundo Matos (2000) é também utilizado para reduzir a febre e congestão. Possui propriedade bactericida e fungicida, as folhas são utilizadas em afecções de pele. Controla níveis de açúcar no sangue, é antiespasmódico e analgésico, diminui a pressão sanguínea e é anti-inflamatório.

O óleo essencial do *Ocimum basilicum* L. é rico em monoterpenos, como  $\delta$ -cadinol, estragol e linalol (Mazutti *et al.*, 2006). O linalol é o produto químico importante do óleo essencial do *O. basilicum* (Blank *et al.*, 2007).

As plantas para serem estudadas passam por vários processos de extração e em alguns casos de fracionamento, nesse trabalho foi utilizada a fração clorofórmica do *Ocimum basilicum*. Para o fracionamento foram utilizados quatro solventes com polaridades diferentes, entre eles foi utilizado o clorofórmio, pois é um solvente com média polaridade (Vieira *et al.*, 2005), também foi utilizado o *n*-butanol, acetato de etila e hexano para assim fazer uma separação de substâncias com diferentes polaridades.

A Extração com solventes consiste basicamente na transferência de íons, específicos, de uma solução pouco concentrada para outra mais concentrada, por meio de um fenômeno de um soluto de distribuir entre dois solventes imiscíveis, em contato.

Esse trabalho tem como objetivo a Avaliação da Atividade analgésica da fração clorofórmica do extrato do *Ocimum basilicum* (Manjericão) em camundongos (*Mus musculus*) através do método de contorções abdominais induzidas por ácido acético.

## 2. Material e Método

### 2.1. Material Botânico

Folhas de *Ocimum basilicum* foram adquiridas no mercado formal de plantas medicinais na região metropolitana de Curitiba em Fevereiro de 2011 e a identificação da espécie foi feita pelo Dr. Osmar dos Santos Ribas, do Museu Botânico municipal tombada com o número 364260. O laudo técnico da empresa responsável pela fabricação e distribuição dessa droga no mercado também foi considerado. Foi depositada uma amostra da droga na herboteca do Laboratório de Farmacognosia da UTP onde permanecerá como material de referência e estudo.

O material botânico adquirido foi seco em estufa a 40°C e triturado a pó, sendo previamente extraído o óleo essencial por hidrodestilação em aparelho de Clevenger (Dóleo<Dágua). Em seguida, a droga foi deixada em maceração por 48 horas em solução hidroalcoólica. O extrato obtido foi filtrado e então concentrado em rotaevaporador (40°C) até *secura*. Após maceração a droga foi esgotada com uma nova maceração com um solvente altamente polar (metanol) e concentrado em rotavapor (40°C) até *secura*.

### 2.2. Fracionamento

O extrato hidroalcoólico foi ressuspenso em uma mistura de metanol e água (1 :1) e submetido à partição líquido-líquido, com solventes de diferentes polaridades (hexano, clorofórmio, acetato de etila e *n*-butanol), para assim obter as frações hexânica (FH), clorofórmica (FC), acetato de etila (FAE) e *n*-butanólica (FB). Essas frações foram concentradas em rotaevaporador e liofilizadas. Com as frações liofilizadas foram preparadas as soluções a serem administradas nos animais. Para preparar essa solução foi utilizado 100mg da fração, 0,5ml de etanol e 9,5ml de soro, então foi bem agitado durante 10 minutos. Neste trabalho foi utilizada a FC nos experimentos.

### 2.3. Ensaio Farmacológicos

Para a realização dos ensaios farmacológicos a fração clorofórmica (FC) foi utilizada. Após obtidos resultados a partir do biomonitoramento, se os mesmos

forem positivos, serão realizadas novas técnicas cromatográficas na fração com a finalidade de isolar os princípios bioativos responsáveis pelas respectivas atividades farmacológicas. Sendo assim os compostos isolados também serão submetidos à análise farmacológica, sendo as concentrações determinadas durante os experimentos através de uma curva dose-resposta.

#### 2.4. Animais

Nos experimentos foram utilizados 46 camundongos *Mus musculus* (30-50g), variedade Swiss disponibilizados pela Centro de Produção e Pesquisa de Imunobiológicos (CPPI), mantidos na sala de aclimação do laboratório de Farmacologia da Universidade Tuiuti do Paraná, em condições de luminosidade 12 horas claro/ 12 horas escuro, temperatura de 21-22°C constante, água e ração *ad libitum*.

Os experimentos foram realizados em sala silenciosa, mantendo o controle da temperatura e sempre durante o ciclo claro. Os experimentos foram realizados mediante submissão e aprovação do projeto ao Comitê de Ética da Universidade Tuiuti do Paraná nº 005P/2011.

#### 2.5. Droga e soluções

As drogas e soluções utilizadas foram ácido acético (BIOTEC Reagentes Analíticos), paracetamol (Teuto), salina (Basa Farma).

#### 2.6. Contorções Abdominais

O método de contorções abdominais foi realizado de acordo com o método descrito por Koster *et al.*,(1959). A fração clorofórmica obtida do extrato etanólico das folhas de *Ocimum basilicum* foi administrada nas doses de 15, 30 e 60 mg/kg por via oral em oito animais para cada grupo. Foram utilizados dois grupos controles a salina e o paracetamol. No grupo salina (NaCl 0,9%) foi adiministrado 10 ml/kg em 14 animais e no grupo paracetamol (500 mg/kg / 50mg/ml) em 11 animais, ambos via oral. Os tratamentos foram realizados uma hora antes da administração

intraperitoneal (ip) de 0,50 ml de ácido acético (0,6% v/v salina). O número de contorções dos animais foi contado de forma somatória durante o período de 20 minutos e foi calculada a porcentagem de inibição do número de contorções.

### 2.7. Análise Estatística

Os resultados foram expressos em  $\text{media} \pm \text{erro padrão da media}$ . O teste ANOVA foi usado para analisar a diferença entre os grupos, seguido do teste de Dunnet para determinar a diferença estatística em relação ao grupo controle, sendo considerado significativo a partir de  $p < 0.001$ . Foi usado pacote estatístico GraphPad Prism 5.

## 3. Resultados

No modelo de contorções abdominais, com injeção intraperitoneal de ácido acético a 0,6%, grupo controle apresentou uma média de contorções de  $32,071 \pm 2,56$  (n=14). O grupo paracetamol apresentaram médias de contorções de  $7,636 \pm 2,064$  (n=11), sendo que foi o único grupo que teve diferença estatística significativa quando comparado ao grupo controle.

Os animais tratados com a fração clorofórmica (FC) de *Ocimum basilicum* L. nas doses de 15 mg/kg apresentaram médias de contorções de  $50,5 \pm 5,661$  (n= 6), os que receberam dose de 30 mg/kg tiveram média de  $38,25 \pm 3,544$  (n= 8) e os que receberam dose de 60 mg/kg apresentaram média de  $37,286 \pm 8,34$  (n=7). Nenhum dos grupos tratados com FC quando comparados ao grupo controle apresentou diferença estatística significativa.

Os tratamentos com a FC nas doses de 15 mg/kg, 30 mg/kg e 60 mg/kg apresentaram um aumento de 57,5%, 19,3% e 16,3% respectivamente na quantidade de contorções abdominais quando comparados ao grupo controle. Entretanto, o tratamento com paracetamol (500 mg/kg / 50 mg/mL) apresentou inibição de 76,2% comparando-se ao grupo controle (Figura 01).

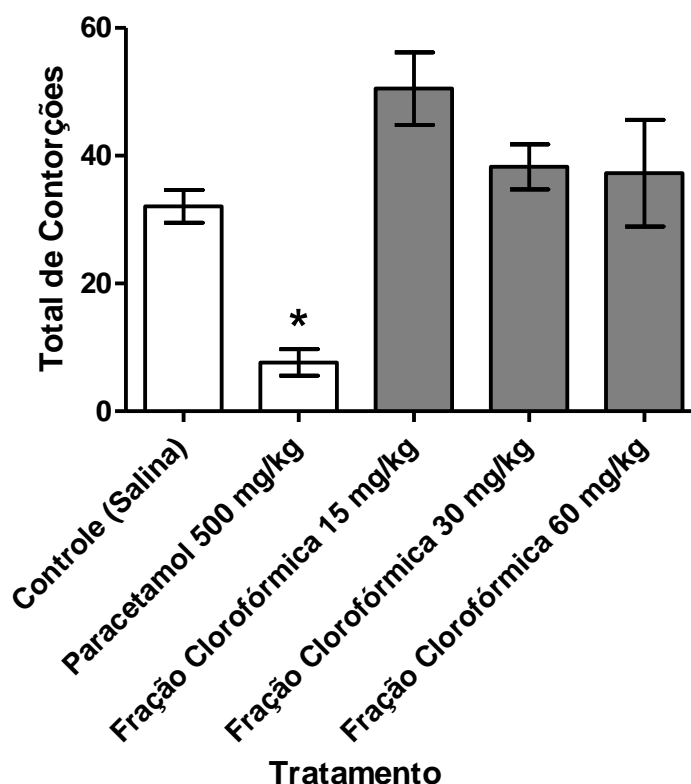


Figura 01 – Avaliação do efeito da fração clorofórmica do *Ocimum basilicum* nas contorções abdominais induzidas por ácido acético. Os camundongos foram tratados v.o com salina (controle), com paracetamol (500 mg/kg) ou com a fração clorofórmica do *Ocimum basilicum* nas doses de 15, 30 e 60 mg/kg. Todos os tratamentos foram via oral. Após 60 minutos das administrações os animais receberam ácido acético 0,6% no volume de 0,50 ml ip. O número de contorções foi contado no intervalo de 20 minutos. Os dados estão expressos em média±epm (n= 7-14) onde \*p<0,001, no teste de ANOVA seguido de Dunnet.

#### 4. Discussão

Com modelo de contorções abdominais pode-se avaliar a atividade antinociceptiva. Como resposta reflexa à irritação e inflamação do peritônio produzidas pela injeção intraperitoneal de ácido acético os camundongos apresentam contorções e cólicas abdominais acompanhadas de torção do tronco e extensão das patas traseiras. O modelo químico de nocicepção de contorções abdominais em camundongos tem como base a contagem dessas contorções (Whittle, 1964).

No teste das contorções abdominais, o pré-tratamento pela via oral com a fração clorofórmica do *Ocimum basilicum* nas doses de 15, 30 e 60 mg/kg, não

apresentou o efeito analgésico, gerando um número elevado de contorções abdominais comparado ao grupo controle (salina). Do mesmo modo, o controle positivo Paracetamol reduziu o número de contorções (Figura 1).

Para induzir contorções abdominais é necessário causar a sensibilização de nociceptores pelas prostaglandinas, e essa sensibilização é feita com substâncias químicas injetadas por via intraperitoneal. Utiliza-se esse teste para avaliar a analgesia moderada que é produzida por compostos antiinflamatórios (Ferreira & Vane, 1974, Berkenkopf & Weichman, 1988).

Segundo Franca *et al.* (2008) o óleo essencial do *Ocimum selloi* em concentração de 200 mg/kg vo. reduz o trânsito intestinal dos camundongos que se alimentaram de carvão. O óleo essencial reduziu de uma forma dependente da dose, a resposta nociceptiva induzida por ácido acético (0,6%) administrado intraperitonealmente. O seu trabalho mostrou que o óleo essencial do *Ocimum selloi* é eficiente tanto para combater a diarreia quanto para a dor visceral.

Segundo experimentos realizados por Fernández *et al.* (2005), o extrato aquoso de *Ocimum tenuiflorum* possui propriedades analgésicas usando teste da placa quente e da fonte de calor, e também no método de contorções por ácido acético, usando a concentração de 1000 mg/kg obteve-se os melhores resultados.

De acordo com estudos realizados por Rabelo *et al.* (2003), efeitos antinociceptivos foram apresentados pelo óleo essencial extraído das folhas da espécie *Ocimum gratissimum* L. (Lamiaceae) em testes de contorção abdominal e formalina em camundongos. O óleo essencial produziu uma inibição dependente da dose, nas doses de 30, 100 e 300 mg / kg (via oral), causando uma inibição até aproximadamente 60% na dose mais elevada utilizada. Nas mesmas doses, o óleo do *Ocimum gratissimum*, predominantemente, inibiu a fase (inflamatória) tardia da resposta à dor induzida por formalina, com uma redução máxima de aproximadamente 60% do controle.

Segundo estudos feitos por Lorber & Nowacki (2011) o extrato hidroalcoólico do *Ocimum basilicum* apresentou atividade analgésica na dose de 150 mg/kg através do teste de contorções abdominais. O que pode ocorrer com freqüência é a sinergia de substâncias, a fração pode se tornar mais ou menos ativa, contribuindo também com a toxicidade (Constantino, 2009). Observando os resultados positivos do extrato hidroalcoólico do manjeriço podemos perceber que o mesmo possui



atividade analgésica, porém quando dividido nas frações clorofórmica, *n*-butanólica e hexânica não apresentou o mesmo efeito, uma das explicações pode ser a falta de sinergia das substâncias, o que pode ter ocorrido com as frações. Outro fato que pode ter ocorrido é a presença do princípio ativo na fração Acetato de Etila que não foi testada, mas serão realizados testes posteriores para observar se há presença ou não das substâncias desejadas.

As doses de 15, 30 e 60 mg/kg foram utilizadas baseando-se nos experimentos de Lorber & Nowacki (2011), como as frações possuem as substâncias com níveis mais concentrados do que o extrato bruto, utilizamos as doses dez vezes menores que no bruto (150, 300 e 600 mg/kg). Podemos considerar a hipótese que a doses reduzidas possam ter interferido na atividade analgésica.

Será necessário realizar novos experimentos para confirmar os resultados obtidos nesse trabalho bem como seu respectivo mecanismo e ação.

## **5. Conclusão**

Podemos concluir que a fração clorofórmica das folhas do *Ocimum basilicum* nas dose de 15, 30 e 60 mg/kg não apresenta atividade analgésica.

## **6. Agradecimentos**

Quero agradecer pela orientação da Professora Luciana Nowacki, também desejo agradecer ao Professor Wesley Maurício de Souza e à Universidade Tuiuti do Paraná, por permitir o uso dos laboratórios e dos aparelhos e disponibilizar os materiais. Agradecer pela ajuda de todos os técnicos e funcionários dos laboratórios da Universidade. Quero agradecer também aos meus colegas, Willian e Fernanda, pela ajuda e cooperação durante as práticas e na elaboração deste trabalho.

## **7. Referências**

CARVALHO FILHO, J. L. S.; BLANK, A. F.; ALVES, P. B.; EHLERT, P. A. D.; MELO, A. S.; CAVALCANTI, S. C. H.; ARRIGONI-BLANK, M. de F.; SILVA-MANN,

R. Influence of the harvesting time, temperature and drying period on basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oil. *Rev. bras. farmacogn.* [online]. vol.16, n.1, pp. 24-30. ISSN 0102-695X. 2006.

CECHINEL FILHO, V. Principais avanços e perspectivas na área de produtos naturais ativos: estudos desenvolvidos no NIQFAR/UNIVALI. *Quím. Nova* [online]. vol.23, n.5, pp. 680-685. ISSN 0100-4042. 2000.

CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais: conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. *Quím. Nova* [online]. vol.21, n.1, pp. 99-105. ISSN 0100-4042. 1998.

FRANCA, C. S.; MENEZES, F. S.; COSTA, L. C. B.; NICULAU, E. S.; ALVES, P. B.; PINTO, J. E. B.; MARÇAL, R. M. Analgesic and antidiarrheal properties of *Ocimum selloi* essential oil in mice. *Fitoterapia*, Volume 79, Issues 7–8, Pages 569-573. 2008.

FERNÁNDEZ, P. B.; FIGUEREDO, Y. N.; FERNÁNDEZ, S. A.; HERNÁNDEZ, I. C.; SANABRIA, M. L. S.; VALDÉS, Y. I.; CARPIO, M. O. Efecto analgésico del extracto acuoso liofilizado de *Ocimum tenuiflorum* L. *Rev Cubana Plant Med* 10(1): 0-0, ND. 2005.

FUJIHASHI, G. DE A.; BARBOSA, W. L. R. *Ananas Erectifolius* (Curauá): Padronização dos Extratos, Frações e do Material Vegetal. *Revista Científica da Universidade Federal do Pará*. vol. 3. 2002.

KOSTER, R., ANDERSON, M., DE-BEER, E.J.,. Acetic acid for analgesic screening. *Federation Proceedings* 18, 412–418. 1959.

LORBER, R. R.; NOWACKI, L. C.. Análise das Propriedades Analgésicas de *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae). Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tuiuti do Paraná, Curitiba, PR. 2011

MATOS, L. G.; SANTOS, L. D. A. R.; VILELA, C. F.; PONTES, I. S.; TRESVENZOL, L. M. F.; PAULA, J. R.; COSTA, E. A. Atividades analgésica e/ou anti-inflamatória da fração aquosa do extrato etanólico das folhas da *Spiranthera odoratissima* A. St. Hillaire (manacá). *Revista Brasileira de Farmacognosia*. vol. 13, supl., p. 15-16, ISSN: 0102-695X. 2003.

MAY, A.; BOVI, O. A.; MAIA, N. B.; BARATA, L. E. S.; SOUZA, R. DE C. Z. DE; SOUZA, E. M. R. DE; MORAES, A. R. A. DE; PINHEIRO, M. Q. Basil plants growth

and essential oil yield in a production system with successive cuts. *Bragantia*[online]. vol.67, n.2, pp. 385-389. ISSN 0006-8705. 2008.

MOMESSO, L. DA S.; MOURA, R. M. X. DE; CONSTANTINO, D. H. J. Atividade antitumoral do *Ageratum conyzoides* L. (Asteraceae). *Rev. bras. farmacogn.* [online]. vol.19, n.3, pp 660-663. ISSN 0102-695X. 2009.

PEREIRA, R. DE C. A.; MOREIRA, A. L. M. Manjeriço Cultivo e Utilização. Artigo da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa). 2011, vol. 136, ISSN 2179-8184. 2011.

PIMENTEL, H. DE C.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J. *Ocimum basilicum* leaf essential oil and (-)-linalool reduce orofacial nociception in rodents: a behavioral and electrophysiological approach. *Rev. bras. farmacogn.* [online]. vol.21, n.6, pp. 1043-1051. Epub Aug 26, 2011. ISSN 0102-695X. 2011.

PIRES, P. A., MALVAR, D. C.; BLANCO, L. C.; VIGNOLI, T.; CUNHA, A. F. C.; VIEIRA, E.; VIEIRA, T. N. C. D.; MACIEL, M. A. M.; CÔRTEZ, W. S.; VANDERLINDE, F. A. Estudo das Atividades Analgésicas do Extrato Metanólico da *Capsicum Frutescens* – Solanaceae (Pimenta Malagueta). *Rev. Univ. Rural, Sér. Ci. Vida. Seropédica*, RJ, EDUR, v. 24, n.2, Jul.-Dez, p.129-134, 2004.

RABELO, M.; SOUZA, E. P.; SOARES, P. M. G.; MIRANDA, A. V.; MATOS, F. J. A.; CRIDDLE, D. N. Antinociceptive properties of the essential oil of *Ocimum gratissimum* L. (Labiatae) in mice. *Braz J Med Biol Res* [online]. vol.36, n.4, pp. 521-524. ISSN 1414-431X. 2003.

SILVA, F.; SANTOS, R. H. S.; ANDRADE, N. J. DE; BARBOSA, L. C. A.; CASALI, V. W. D.; LIMA, R. R. DE; PASSARINHO, R. V. DE M. Basil conservation affected by cropping season, harvest time and storage period. *Pesq. agropec. bras.* [online]. vol.40, n.4, pp. 323-328. ISSN 0100-204X. 2005.

SILVA, L. DA; ONIKI, G. H.; AGRIPINO, D. G.; MORENO, P. R. H.; YOUNG, M. C. M.; MAYWORM, M. A. S.; LADEIRA, A. M. Bicyclergmacreno, resveratrol e atividade antifúngica em extratos de folhas de *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & Jarvis (Vitaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*. ISSN 0102-695X. 2007.

VENANCIO, A. M.; MARCHIORO, M.; ESTAVAM, C. S.; MELO, M. S.; SANTANA, M. T.; ONOFRE, A. S. C.; GUIMARÃES, A. G.; OLIVEIRA, M. G. B.; ALVES, P. B.;

VIEIRA, O. M. C.; SANTOS, M. H.; SILVA, G. A.; SIQUEIRA, A. M. Atividade antimicrobiana de *Struthanthus vulgaris* (erva-de-passarinho). Rev. bras. farmacogn. [online]. vol.15, n.2, pp. 149-154. ISSN 0102-695X. 2005.

Nogueira, MS.; Fabri, RL., Scio, E. Atividade antibacteriana das espécies Lamiaceae. 47° Congresso Brasileiro de Química. Disponível em: [www.abq.org.br/cbq/2007](http://www.abq.org.br/cbq/2007). Acessado em: 06/06/2012.