

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

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

VINGRA, Fernanda¹; ICKERT, Daniela²; FREITAS, Willian L.³; SOUZA, Wesley M. ⁴;
NOWACKI, Luciana C⁵.

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

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

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

⁴ Farmacêutico, Professor Adjunto da Universidade Tuiuti do Paraná, Curitiba.

⁵ Bióloga, Professor Adjunto a Universidade Tuiuti do Paraná.

Endereço para correspondência: Rua Marechal Deodoro, 252 – Bairro Centro – CEP 80010010-
Curitiba-PR. Telefone: 41 99009527. Email: fe_vingra@hotmail.com

RESUMO

A literatura é vasta em trabalhos referentes à obtenção de extratos de *Ocimum basilicum* L. empregando diferentes técnicas de extração, tais como hidrodestilação, extração supercrítica e extração com solventes, tendo sido avaliados rendimento e composição química dos extratos, atividade antimicrobiana, características sensoriais e efeito do processo de secagem na composição química. O gênero *Ocimum*, pertencente à Família Lamiaceae, compreende espécies ricas em óleos essenciais e substâncias aromáticas, sendo de grande importância para a indústria farmacêutica, cosméticos e etc. Os experimentos com a fração hexânica nas doses de 15mg/kg, 30mg/kg e 60mg/kg apresentaram reduções respectivamente de 11,9%, 29,8%, 8,4% nas contorções abdominais induzidas pelo ácido acético quando comparados ao grupo controle. Em contraste, o tratamento com paracetamol (500 mg/ kg / 50mg/mL) apresentou inibição de 76,2% comparando-se ao grupo controle. A fração hexânica do manjeriço (*Ocimum basilicum*) não apresentou efeito antinociceptivo, por apresentarem elevados números de contorções. Podendo assim concluir que não há presença do princípio ativo com atividade analgésica nas concentrações estudadas.

Palavra chave: antinociceptivo, contorções, extratos

ABSTRACT

The literature is vast in works related to obtaining extracts of *Ocimum basilicum* L. using different extraction techniques such as hydrodistillation, supercritical fluid extraction and solvent extraction, has been evaluated yield and composition of the extracts, antimicrobial activity, sensory characteristics and the effect of the drying process composition. The genus *Ocimum*, belongs to the Lamiaceae family, comprises species rich in essential oils and aromatic substances, it has a great importance for the pharmaceutical industry, cosmetics and so on. The experiments with FH at dosage of 15mg/kg, 30mg/kg and 60mg/kg respectively showed reductions of 11.9%, 29.8%, 8.4% in writhing compared to the control group. In contrast, treatment with acetaminophen (500 mg / kg / 50mg/mL) showed 76.2% inhibition compared to control group. The hexane extract of basil (*Ocimum basilicum*) showed no antinociceptive effect, because they have large numbers of contortions. It can be concluded that there is no presence of the active principle with analgesic concentrations studied.

Keyword: antinociceptive, writhing, extracts.

1. INTRODUÇÃO

Além de produtoras de óleos essenciais, as plantas aromáticas também são medicinais e estão presentes do dia a dia das pessoas, como por exemplo, o gênero *Ocimum* da família Lamiaceae (Nolasco, 1996), que compreende, aproximadamente, 50 espécies que se distribuem amplamente no planeta, sendo mais comum nas regiões tropicais e subtropicais (Vieria; Simon, 2000), muitas das quais utilizadas pelas comunidades como uso medicinal, na culinária e no controle de pragas na agricultura (Grayer *et al.*, 1996).

Este gênero vem despertando interesse de pesquisadores principalmente por seu óleo essencial conter mais de vinte componentes, entre eles metil-chavicol, metil-cinamato, eugenol, citral, linalol, timol, cânfora e taninos (Simon *et al.*, 1990; Morales; Simon, 1997), cuja demanda é muito grande na fabricação de produtos farmacêuticos, perfumaria e produtos alimentícios (Gupta, 1994).

Esses compostos apresentam as mais variadas atividades farmacológicas como: bactericida, fungicida (Chao; Young, 2000), e como utilização na medicina popular como febrífugo, estomáquico, anti-hemético e analgésico.

Segundo Matos (2000), as folhas de *Ocimum basilicum* são ricas em linalol, seu uso é conhecido na culinária por temperar vários alimentos, mas dele também são extraídos óleos essenciais. É utilizado para tratar calafrios, febre e dores associadas. Possui atividade bactericida e fungicida, suas folhas são usadas para tratar afecções na pele, é analgésico e antiinflamatório.

A revisão de literatura cita o potencial analgésico do *Ocimum basilicum*, gerando motivos para o estudo desta planta, justificando assim a utilização da mesma para a realização do trabalho de conclusão de curso. Neste trabalho foram realizadas avaliações do potencial analgésico das frações hexânica do Extrato do *Ocimum basilicum*.

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 formalizado também foi considerado 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 rota-vapor (40°C) até *secura*.

2.2 *Fracionamento*

O extrato hidroalcoólico foi ressuspendido 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 roto-vaporador e liofilizadas. Com as frações liofilizadas foram preparadas as soluções a serem administradas nos animais. Neste trabalho foi utilizada a (FH) nos experimentos.

2.3 *Ensaio farmacológicos*

A fração hexânica foi utilizada para as realizações dos ensaios farmacológicos. Conforme resultados obtidos a partir do biomonitoramento, se estes forem positivos, a fração será submetida a novas técnicas cromatográficas com a finalidade de isolar os princípios bioativos responsáveis pelas respectivas atividades farmacológicas.

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 49 camundongos *Mus Musculus* pesando entre 30 e 45 g, variedade Swiss disponibilizados pela Centro de Produção e Pesquisa de Imunobiológicos (CPPI), setor de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Tuiuti do Paraná mantidos em condições controladas de temperatura (22°C) e luminosidade (ciclo 12

horas claro/12 horas escuro) com livre acesso a ração e água antes dos experimentos. Os animais foram transferidos para a sala de aclimatação no mínimo duas semanas antes dos experimentos, e foram agrupados em número máximo de seis animais por caixa. 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 sob o número nº 005P/2011

2.5 Droga e soluções

A droga e as soluções usadas foram paracetamol (Teuto), ácido acético (BIOTEC, reagentes analíticos) e salina (Basafarma).

2.6 Contorções abdominais

O método de contorções abdominais será realizado de acordo com o método descrito por Koster et al. (1959). A fração hexânica obtida do extrato etanólico das folhas de *Ocimum basilicum* foi administrada nas doses de 15, 30 e 60 mg/Kg por via oral em 8 animais para cada grupo. Foram utilizados dois grupos controles, salina e paracetamol, também com 8 animais em cada grupo. Os animais do grupo da salina (NaCl 0.9%) receberam 10 ml/Kg via oral e o grupo do paracetamol (500 mg/Kg / 50 mg/ml). 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 foram contadas de forma somatória durante o período de 20 minutos.

2.7 Analise Estatística

Os resultados foram expressos em média±erro padrão da média. O teste ANOVA foi usado para analisar a diferença entre os grupos, seguindo do teste de Dunnet para determinar a diferença estatística em relação ao grupo controle, sendo considerado significativo a partir de $p < 0.05$. Foi usado pacote estatístico GraphPad Prism 5.

3. RESULTADO

No modelo experimental de analgesia de contorções abdominais, por meio de injeção intraperitoneal de ácido acético a 0,6%, a média de contorções apresentadas pelo grupo

controle foi de $32,071 \pm 2,56$ (n=14). O grupo tratado com paracetamol apresentou uma média de contorções de $7,636 \pm 2,064$ (n=11), sendo o único grupo a demonstrar diferença estatística significativa quando comparado ao grupo controle.

Os animais que foram tratados com o extrato de *Ocimum basilicum* L. com a FH, que receberam doses de 15 mg/kg apresentaram médias de contorções de $28,25 \pm 6,296$ (n= 8), os que receberam dose de 30 mg/kg tiveram média de $22,5 \pm 4,528$ (n= 8) enquanto os que receberam dose de 60mg/kg apresentaram média de $29,375 \pm 4,971$ (n=8). Nenhum dos grupos tratados com FH apresentou diferença estatística significativa quando comparados ao grupo controle.

Os experimentos com a FH nas doses de 15 mg/kg, 30 mg/kg e 60 mg/kg apresentaram reduções respectivamente de 11,9%, 29,8%, 8,4% nas contorções abdominais quando comparados ao grupo controle. Em contraste, o tratamento com paracetamol (500 mg/ kg / 50 mg/mL) apresentou inibição de 76,2% comparando-se ao grupo controle (ver figura 01).

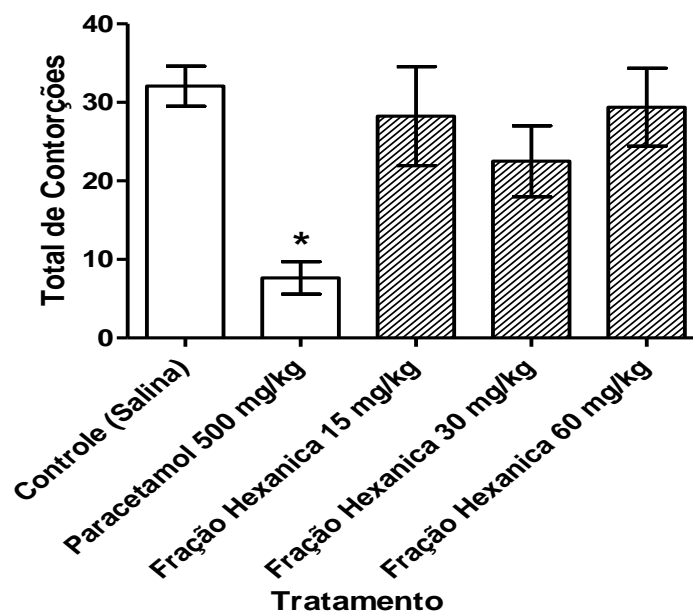


Figura 01: Avaliação do efeito da fração hexânica do *Ocimum basilicum* nas contorções abdominais induzidas por ácido acético. Os grupos foram tratados via oral com salina (controle), com paracetamol (500 mg/kg) ou com a fração hexânica do *Ocimum basilicum* nas doses de 15, 30 e 60 mg/kg. Todos os tratamentos foram via oral. Após 60 minutos das administrações os animais receberam ácido acético 0,6% no volume de 0,5ml intraperitoneal. O número de contorções foi contado no intervalo de 20 minutos. Os dados estão expressos em média±epm (n= 8-14) onde *p<0,001, no teste de ANOVA seguido de Dunnet.

4. DISCUSSÃO

A atividade antinociceptiva foi primeiramente avaliada pelo modelo de contorções abdominais em camundongos, que tem como fundamento a contagem de contorções da parede abdominal seguidas de torção do tronco e extensão dos membros posteriores (Whittle, 1964).

A falta de ação antinociceptiva pode ser considerada a não atividade dos princípios ativos do extrato; mas também pode ser pela não absorção total do extrato pelo gastrointestinal ou ainda seus princípios ativos podem ter sido metabolizados por vias alternativas do metabolismo (Soares, *et al.* 2009)

A administração intraperitoneal de ácido acético induz a liberação de prostaglandinas, mas também a liberação de mediadores como, aminas - noradrenalina e acetilcolina do sistema nervoso simpático (Duarte *et al.*, 1988; Borsato *et al.*, 2000). O ácido acético através da indução da permeabilidade capilar provoca dor inflamatória (Amico-Roxas *et al.*, 1984), e também libera substâncias endógenas que excitam as terminações nervosas (Raj, 1996).

O óleo essencial extraído das folhas de *Ocimum selloi*, na concentração de 200 mg/kg, via oral, reduziu significativamente o trânsito intestinal após os camundongos se alimentarem de carvão e também reduziu, de uma forma dependente da dose, a resposta nociceptiva induzida por ácido acético (0,6%) administrado intraperitonealmente. (Franca *et al.* 2008)

Estudos feitos por Rabelo *et al.* (2008), o óleo essencial em doses de 30, 100 e 300 mg / kg (via oral) das folhas da espécie *Ocimum gratissimum* L. (Labiatae), essencial produziu uma inibição dependente da dose, nas contorções induzidas por ácido acético, causando uma inibição até aproximadamente 60% na dose mais elevada utilizada. Já o o óleo do *Ocimum gratissimum*, nas mesmas doses, inibiu a fase (inflamatória) tardia da resposta à dor induzida por formalina, com uma redução máxima de aproximadamente 60% do controle.

O extrato aquoso liofilizado *Ocimum tenuiflorum* possui propriedades analgésicas no modelo de analgesia usando teste da placa quente e da fonte de calor, como também no método de contorções por ácido acético, obtendo os melhores resultados usando a concentração de 1000 mg/kg, segundo estudos realizados por Fernández *et al.* (2005).

O extrato hidralcolico do *Ocimum basilicum* apresentou atividade analgésica na dose de 150 mg/Kg através do teste de contorções abdominais estudado por Lorber & Nowacki (2011).) O que ocorre com frequência é sinergia das substâncias, tornando a fração mais ou menos ativas contribuindo com a toxicidade (Constantino, 2009). Contudo quando dividido nas frações clorofórmica, *n*-butanólica e hexânica, o mesmo não apresentou efeito, podendo

ser a falta da própria sinergia das frações. Há a possibilidade da presença do princípio ativo na fração de Acetato de Etila que será testada posteriormente.

Utilizamos a doses dez vezes menores que no extrato bruto (150, 300 e 600 mg/kg), tendo como base os experimentos de Lorber & Nowacki (2011), como as frações possuem as substâncias com níveis mais concentrados do que o bruto podemos considerar a hipótese que a doses reduzidas possam ter interferido na atividade analgésica.

Assim sendo é de extrema importância que outros estudos sejam realizados para avaliar outros possíveis resultados quanto à própria ação antinociceptiva da FH por outras vias de administração avaliando todos os aspectos desejados.

5. CONCLUSÃO

A fração hexânica do manjeriço (*Ocimum basilicum*) não apresentou efeito antinociceptivo, por apresentarem elevados números de contorções. Podendo assim concluir que não há presença do princípio ativo com atividade analgésica nas concentrações estudadas, sendo necessários novos testes para a comprovação dos resultados.

6. AGRADECIMENTOS

Agradeço aos professores Luciana e Wesley pelo apoio para a realização desse trabalho, assim como os meus colegas Daniella e Willian e a Universidade Tuiuti do Paraná por ter disponibilizado os materiais necessários.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMICO-ROXAS, M.; CARUSO, A.; TROMBADORE, S.; SCIFO, R.; SCAPAGINI, U. Gangliosides antinociceptive effects in rodents. Arch. Int. Pharmacodyn. Ther., v. (272), 103-117; 1984.

BORSATO, M.L.C., GRAEL, C.F.F., SOUZA, G.E.P., LOPES, N.P. Analgesic activity of the lignans from *Lychnophora ericoides*. Phytochemistry; 55: 809-813; 2000.

BRITO, A. R. M; BRITO, A. S. Forty years of Brazilian medicinal plant research. Journal of Ethnopharmacology, v.39, p. 53-67, 1993.

CONSTANTINO, Dulce Helena Jardim. Atividade antitumoral do *Ageratum conyzoides* L. (Asteraceae) . Rev. bras. farmacogn. [online]. vol.19, n.3, pp 660-663. ISSN 0102-695X. 2009.

CHAO, S. C.; YOUNG, D. G. Screening for inhibitory activity of essential oils ou selected bacteria, fungi and viruses. Journal Essentials Oil Research, [S.l.], v. 12, p. 630–649, 2000.

DUARTE, J.D.G, NAKAMURA, M, FERREIRA, S.H. Participation of the sympathetic system in acetic acid induced writhing in mice. Braz J Med Biol Res 21: 341-343; 1988.

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.

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.

GRAYEY RJ, KITEte GC; GOLDSTONE FJ; BRYAN SE, Paton A; PUTIEVSKY E. Infraespecific taxonomy and essencial oil chemotypes in sweet basil, *Ocimum basilicum*. Phytochemistry, v.4, p. 10033-1039, 1996.

GUERRA, M.; SOUZA, M. J. de. Como observar cromossomos - um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana. Ribeirão Preto: FUNPEC, 2002. p.131.

GUPTA, R. Basil (*Ocimum* spp.) G-5 Gene Banks for Medicinal and Aromatic Plants. Newsletter, v.1, n.5/6, p. 1-3, 1994.

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

LÓPEZ, C. A. A. Considerações gerais sobre plantas medicinais. Ambiente: Gestão e Desenvolvimento, v. 1, n.1, p. 19-27. 2006

MATOS, F. J. A. Plantas medicinais - guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil. Fortaleza: Imprensa Universitária/UFC, 2000. 344 p.

MORALES, M. R.; SIMON, J. E. 'Sweet Dani': a new culinary and ornamental lemon basil. HortScience, v. 32, n.1, p.148-149, 1997.

NOLASCO, F. Deficiências nutricionais em manjeriço (*Ocimum* spp.) sob hidroponia.1996. 19 f. Monografia (Graduação). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG.

PEREIRA, Rita de Cassia Alves; MOREIRA, Ana Luiza Martins. Manjeriço: cultivo e utilização. Fortaleza: EMBRAPA AGROINDUSTRIAL TROPICAL, 2011, 31p.

JAVANMARDI, J.. Chemical Characterization of Basil (*Ocimum basilicum* L.) Found in Local Accessions and Udes in Traditional Medicines in Iran. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 50, p.5878-5883, 2002.

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, Volume 36(4) 521-524 (Short Communication), 2003.

RAJ, P. P. Pain mechanism. In: RAJ, P. P. (Ed.) Pain Medicine: a comprehensive review. St. Louis: Mosby; 12-23; 1996.

SIMON, J. E.; JAMES QUINN; RENEE G. MURRAY. Basil: a source of essential oils, 1997.

SOARES, Caroline C.; MARQUES, Tiago M.; RIGOLIN, Guilherme G. Atividade analgésica do extrato da *Pectis jangadensis* (S. Moore). Universidade Federal de Mato Grosso, MT. 2009

In: JANICK, J.; SIMON, J. E. (Ed.). Advances in new crops. Portland: Timber, 1990.p. 484-489

VIEIRA, R.F.; SIMON, J.E. Chemical characterisation of basil (*Ocimum basilicum* L.) found in markets and used in traditional medicine in Brazil. Economical Botany, v.54, p.207-216, 2000.

WEISS, R. F. Trattato di Fitoterapia. 1. ed. Roma: Aporie, p.21-23, 1991.

WHITTLE BA. Release of a kinin by intraperitoneal injection of chemical agents in mice. J Neuropharmacol 3:369-378,1964.