

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANALGÉSICA DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE *OCIMUM BASILICUM* L. EM CAMUNDONGOS.

VIVIANE CARDOSO¹, RODRIGO BITTENCOURT DE BORBA¹, LETICIA COSMO RODERJAN¹, NOÉLE BETTEZ PEREIRA¹, WESLEY MAURÍCIO DE SOUZA², LUCIANA NOWACKI³.

1- Acadêmico do curso de Tecnologia em Bioprocessos e Biotecnologia da Universidade Tuiuti do Paraná (Curitiba, PR).

2- Farmaceutico Bioquimico, Prof. Drº da Universidade Tuiuti do Paraná (Curitiba, PR).

3- Bióloga, Profa. Mestre da Universidade Tuiuti do Paraná (Curitiba, PR).

Endereço eletrônico para correspondência: Luciana Nowacki ,
luciana.nowacki@utp.br

Endereço: Heitor Baggio Vidal, 1103, casa. Bairro Alto, Curitiba, PR

CEP 82.820-120. Telefone: 4188554070

Resumo: De acordo com a literatura a utilização de plantas com fins medicinais para tratamento, cura e prevenção de doenças, é uma das mais antigas formas de prática medicinal da humanidade. O manjeriço é uma planta herbácea, aromática e medicinal conhecida desde a antiguidade pelos indianos, gregos, egípcios e romanos. Um dos componentes da dor é o estímulo nocivo que alerta os indivíduos para a ocorrência de alterações na funcionalidade do organismo, permitindo ser adotados mecanismos de defesa. Em relação ao tempo de duração da dor pode ser classificada como aguda ou crônica, onde a dor aguda é aquela que tem função de alerta. O presente trabalho tem como objetivo avaliar as atividades analgésicas do extrato hidroalcoólico do *Ocimum basilicum* no edema de pata. Para isto, foi realizado o teste de tempo da lambida da pata induzida por formalina. No teste de formalina na fase 1 em relação ao grupo controle ($97s \pm 19,36s$) o grupo tratado com dexametasona teve um tempo de lambedura reduzido em 3,78 %, os grupos tratados com frações de 150,300 e 600mg/kg teve um tempo de lambedura reduzido em 49%, 67% e 68% respectivamente. Na fase 2 o grupo tratado com dexametasona obteve um tempo de lambedura reduzido em 100%. Os resultados indicam que o extrato de *O. basilicum* testado pode constituir alvo potencial para uso em terapias da dor e da inflamação. A administração subcutânea de formalina na pata de camundongo gera comportamentos onde a elevação da pata é um parâmetro confiável de comportamento doloroso. A resposta nociceptiva à formalina ocorre de maneira bifásica. Em geral a resposta inicial é atribuída à ativação direta de nociceptores, enquanto a fase II está associada a liberação de mediadores endógenos locais.

Palavras-chaves: *Ocimum basilicum*, Atividade analgésica, dor aguda.

ABSTRACT: According to the literature, the use of plants for medicinal purpose to treat, cure and prevention of disease is one of the oldest forms of medical practice of mankind. The basil is a herbaceous, aromatic and medicinal plant known since ancient times by the Indians, Greeks, Egyptians and Romans. The component of pain is the the noxious stimulus that alerts individuals to the occurrence of changes in functionality of the body, allowing mechanisms to be adopted defense. In relation to the duration of pain can be classified as acute or chronic, where acute pain is one that

has the alert function. This study aims to evaluate the analgesic activity of the hydroalcoholic extract *Ocimum basilicum*. For this, we performed the test of time licking the formalin induced paw. In the formalin test phase 1 in the control group (97s±19,36s) group treated with dexametasona had a time of lick reduced by 3.78%, the groups treated with fractions of the 150, 300 and 600 mg/kg had a time lick reduced to 49%, 67% e 68% respectively. In phase 2 the group treated with dexametasona achieved a time of lick reduced by 100%. The results indicate that the extract of *O. basilicum* can constitute target potencial for use in therapies of the pain and inflammation.

Keywords: Basil (*Ocimum basilicum* L), Analgesic Activity, Acute Pain.

1. Introdução

A utilização do uso de plantas medicinais para tratamento, cura e prevenção de doenças é uma das formas de prática medicinal mais antiga da humanidade (Rocha, 2002; López, 2006). A fitoterapia permite ao ser humano ligar-se com o ambiente, tendo o poder da natureza para ajudar o organismo a normalizar funções fisiológicas prejudicadas, restaurar a imunidade enfraquecida, promover a desintoxicação e o rejuvenescimento (França et al., 2008).

O conceito de Fitoterapia vem do grego que significa “terapia com plantas”. Esse conceito foi utilizado pelo médico francês Henri Leclerc (1870-1955), onde a “fitoterapia é a ciência que se ocupa do emprego do medicamento vegetal para a cura das doenças humanas” (Weiss, 1991).

A necessidade da busca do conhecimento foi e continuará sendo, a grande alavanca que impulsiona a humanidade. A dor fez com que o homem buscasse o analgésico; a doença, o remédio. Portanto, é fácil afirmar que o uso de parte de plantas no combate às doenças seja tão antigo quanto a própria humanidade (Oliveira e Akisue, 1993)

A contribuição do reino vegetal à saúde do homem acompanha e acompanhará sua existência. A mais elementar necessidade humana, a alimentação, está sendo intimamente ligada aos vegetais. E não fica muito longe a questão dos medicamentos. Ainda que de maneira rudimentar, o homem primitivo tinha que

utilizar esse recurso terapêutico: a flora medicinal. O modo de tratá-la modificou-se com o passar do tempo, mas a fonte continua a mesma - a natureza. Hoje, as plantas medicinais são utilizadas de diferentes formas (Maranho, 1994).

O estado brasileiro instituiu a Portaria nº22/1967 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária e a Resolução-RDC nº17/2000 que classifica os fitoterápicos como medicamentos (Brasil, 2000).

É sempre prudente alertar a população e os profissionais que lidam com a Fitoterapia, sobre a crença popular que propaga “o que vem das plantas não faz mal”. Vários constituintes desses vegetais, quando isolados com outros compostos, têm ação analgésica, antiinflamatória, antiviral, hipoglicemiante, antiespasmódica e antialérgica (Guerra, 2002).

A cultivar Maria Bonita (*Ocimum basilicum* L.), também conhecida popularmente como manjerição é mais utilizada no Brasil, devido as suas propriedades aromatizantes (Albuquerque e Andrade, 1998). O manjerição é uma planta herbácea, aromática e medicinal, conhecida desde a antiguidade pelos indianos, gregos, egípcios e romanos (Blank, 2004).

Um dos componentes da dor é o estímulo nocivo, que alerta os indivíduos para a ocorrência de alterações na funcionalidade do organismo, permitindo ser adotados mecanismos de defesa (Millan, 1999; Traub, 1997). Nem sempre a intensidade da dor está relacionada com a presença de lesão tecidual (Millan, 1999; Tracey & Mantyh, 2007). Em relação ao tempo de duração da dor, pode ser classificada como aguda ou crônica. A dor aguda é aquela que tem função de alerta, decorrente de uma lesão tecidual e desaparecendo com a resolução do processo que a originou (Bernard et al., 1996; Loeser & Melzack, 1999).

O movimento de fluidos dentro e fora da circulação é regulado pela pressão hidrostática intravascular que força a saída do fluido dos vasos e o efeito oposto da pressão osmótica exercido pelas proteínas tendem a reter o fluido nos vasos, durante a resposta inflamatória aguda a pressão hidrostática aumenta e a passagem dos fluidos torna-se mais permeáveis as proteínas. Quando essas proteínas deixam os vasos a pressão osmótica aumenta provocando a saída de mais fluido para o interstício assim originando o edema e aumenta a viscosidade sanguínea. (Trowbridge et al., 1999)

Um técnica utilizada para a indução de edema chama-se teste de formalina, para avaliar a intensidade dos comportamentos relacionados à dor em animais e da ação de fármacos analgésicos, sendo um modelo confiável de dor tônica, tipo inflamatória (Dubuisson, Dennis SG, 1977). A administração subcutânea de formalina na pata de rato gera comportamentos onde a elevação da pata é um parâmetro confiável de comportamento doloroso (Taylor et al., 1995). A resposta nociceptiva à formalina ocorre de maneira bifásica: há um curto período inicial, onde após esse período inicia-se a fase II, que consiste em um período longo de atividade sustentada (Shibata et al., 1989). Em geral, a resposta inicial é atribuída à ativação direta de nociceptores, enquanto a fase II está associada à liberação de mediadores endógenos locais. (Coderre et al., 1990).

O teste de formalina é um dos modelos mais utilizados para explicar os mecanismos de dor e analgesia, com melhores resultados do que os testes que utilizam estímulos mecânicos ou térmicos (Di Rosa et al., 1971). O Modelo é constituído por duas fases distintas. A primeira fase representa o efeito irritante da formalina nas fibras sensoriais, que é indicativa de dor. A segunda é uma resposta de dor inflamatória, onde são produzidos mediadores da inflamação (Tjolsen et al., 1992). Esses mediadores são inibidos por fármacos antiinflamatórios como a dexametasona, que apresenta atividade inibitória direta sobre a ciclooxigenase. Drogas de ação periférica inibem somente a segunda fase. (Harvey; Champe, 2002).

O presente trabalho tem como objetivo avaliar o efeito agudo do *Ocimum basilicum*, no teste de edema de pata induzido por formalina, onde existem estudos científicos que comprovem o efeito terapêutico das plantas através de metodologias com animais, sendo este teste utilizado para avaliar a ação de fármacos analgésicos, sendo considerado um modelo confiável de dor do tipo inflamatória.

2.0 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 MATERIAL BOTÂNICO E MATERIA-PRIMA

Foram adquiridas folhas de manjeriço (*Ocimum basilicum L.*) no mercado municipal de Curitiba/PR. O material foi armazenado em local arejado.

2.2 ANIMAIS

Para o presente estudo experimental foram utilizados 36 camundongos, machos (25-35g), *Mus musculus* da linhagem *Swiss albino*, provenientes da UTP/Curitiba/Paraná.

Os animais foram mantidos, durante todo o experimento, em caixas de polipropileno e em condições de temperatura controlada ($22\pm 2^{\circ}\text{C}$), respeitando uma fase claro-escuro de 12 horas e com água e ração “ad libitum”.

2.3 OBTENÇÃO DO EXTRATO DE MANJERICÃO

Em um béquer pesou-se 140,4g de manjeriço. Após, fixou-se no aparelho de Soxhlet e adicionado em um balão volumétrico com álcool 70%, depois de colocado na manta de aquecimento, assim havendo a condensação obtém-se o extrato hidroalcolico, que foi seco no rotaevaporador. Após seco foi ressuscitado em água e liofilizado, o rendimento obtido foi de 8,85%.

2.4 Teste da formalina

Injeção de 20 μL de formalina (em salina estéril) foram aplicadas no espaço intraplantar da pata direita dos camundongos e a duração do tempo de reação será determinada de 0 a 5 min e 15 a 30 min. O extrato hidroalcolico de *Ocimum basilicum* será administrado nas doses de 150 mg, 300 mg e 600 mg/kg intraperitoneal meia hora antes da aplicação da formalina. Os animais que receberam 10 mL/kg de salina será o controle negativo. Dexametasona foi usada como controle positivo do teste e serviu para validar o método.

2.5 Análise estatística

Os resultados foram expressos em média \pm erro padrão da média. O teste ANOVA foi utilizado para analisar a diferença entre os grupos, seguido do teste de Dunnett para determinar a diferença estatística com o grupo controle, sendo considerado significativo quando * $p < 0,05$ ou ** $p < 0,01$.

3. Resultados

No edema de pata induzido por formalina, em relação ao grupo controle, tratado com salina ($97 \pm 19,36$), o grupo tratado com dexametasona teve na fase aguda em um tempo de 0-5 minutos uma redução de 3,78 % do tempo de lambedura, os grupos tratados com *Ocimum basilicum* nas doses 150, 300 e 600 mg/kg reduziram o tempo de lambedura entre 49%, 67% e 68% respectivamente, como mostra o gráfico 1.

Na fase tardia, em um tempo de 15-30 minutos, em relação ao grupo tratado com salina ($33 \pm 19,65$), o grupo tratado com dexametasona teve uma redução de 100 % no tempo de lambedura, os grupos tratados com *Ocimum basilicum* nas doses de 150, 300 e 600 mg/kg reduziram o tempo de lambedura em aproximadamente 96%, 99% e 100 % respectivamente, como mostra o gráfico 2.

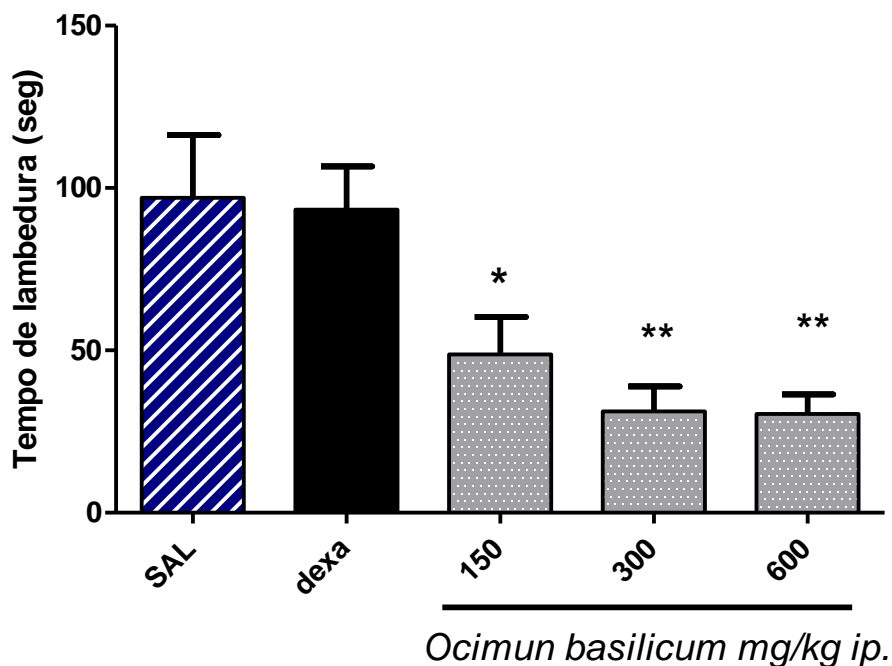


Gráfico 01: Avaliação do efeito de *O.basilicum* no tempo de lambedura da pata induzida pela administração ipl de formalina 2,5%, avaliação de 0-5 mim apos a administração da formalina, onde a barra listrada representa os animais tratados com salina (10mg/kg, via ip), a barra em negrito representa os animais que foram tratados com dexametasona (0.5mg/kg, ip) e as barras em cinza representam os grupos tratados com OB.Os resultados do tempo de lambedura de 0-5 minutos estão expressos em média ± erro padrão da média *p< 0,05 e **p< 0,01.

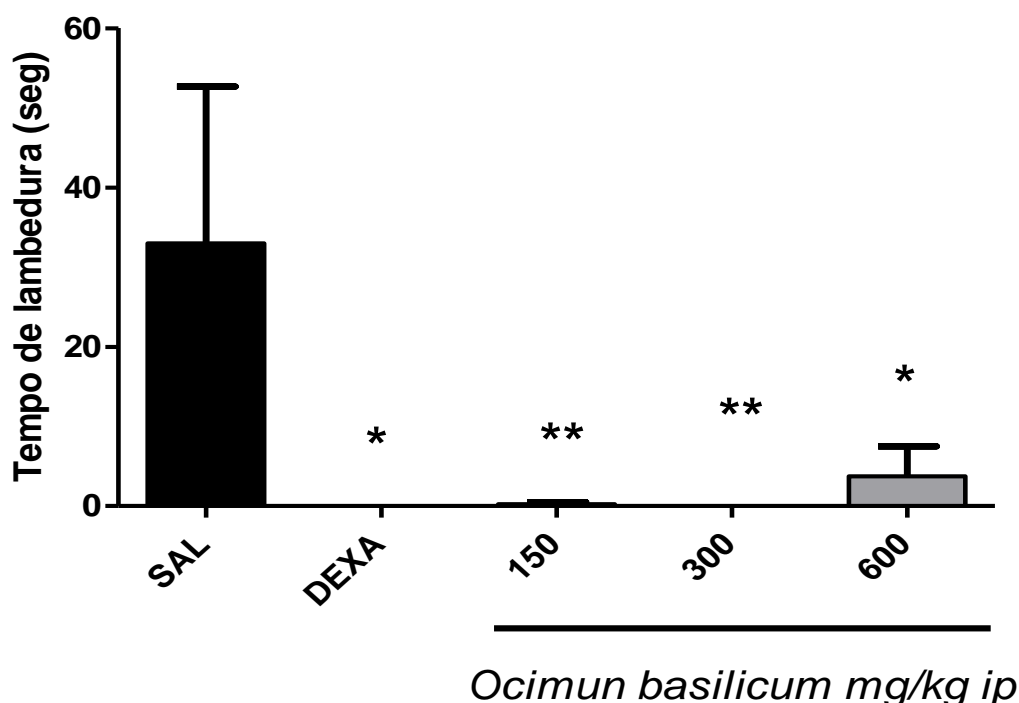


Gráfico 2: avaliação do efeito de ob no tempo de lambedura da pata induzida pela administração ipl de formalina 2,5%, avaliação de 15-30 mim apos a administração da formalina, onde a barra em negrito representa os animais tratados com salina (10mg/kg, via ip), e as barras em cinza representam os animais que foram tratados com OB.Os resultados do tempo de lambedura de 15-30 minutos estão expressos em média ± erro padrão da média *p< 0,05 e **p< 0,01.

4.DISCUSSÃO

O presente estudo mostrou que o extrato hidroalcolico do manjeriçao possui propriedades analgésicas. As atividades analgésicas foram demonstradas pela diminuicao no tempo de lambadura de pata no teste de edema induzido por formalina.(Ver graf.)

O teste de formalina na pata mostrou que o *Ocimum basilicum* atuou nas duas fases do teste significativamente,diminuindo o tempo de lambadura da pata,inclusive em relaçao a dexametasona.(Hunskaar e Hole,1987).

Os modelos de nocicepçao empregados envolvem diferentes mecanismos de dor,tais como o sistema simpático com liberaçao de aminas bioativas,os metabólitos da via do ácido araquidônico(Duarte et al.,1992) e o sistema opióide (Collier et al.,1968). A atividade do extrato hidroalcolico de *O.basilicum* observada na 1ª fase do tempo da lambida da pata,é típico de uma açao em nível de sistema nervoso central,como demonstrada pela dexametasona,embora esta possua efeitos em ambas as fases (Shibata et al.,1989). No entanto a 2ª fase,é caracterizada pelo surgimento de um processo inflamatório local,onde são produzidos mediadores da inflamaçao.Esses mediadores são inibidos por fármacos antiinflamatórios,tais como ácido acetilsalicílico,indometacina e dexametaxona. Como o extrato produziu efeito significativo na 2ª fase,provavelmente,a diminuicao do tempo da lambida da pata induzida por formalina se deve à inibiçao da biossíntese de mediadores responsáveis pela inflamaçao,como por exemplo a inibiçao da cicloxigenase e das prostaglandinas.(Farsam et al.,2000)

O número de elevaçoes de pata tem correlaçao importante com o teste da formalina e com as respostas cardiovasculares causadas pela formalina na pata (Taylor et al,1995). Dentre os vários comportamentos estereotipados observados no teste da formalina o número de elevaçoes da pata é de simples observaçao e quantificaçao,sendo proporcional à concentraçao de formalina utilizada.(Shibata M et al.,1989).

O efeito analgésico local do *Ocimum basilicum*,foi mostrado nesse modelo de dor com formalina em ratos.Alguns autores atribuem o efeito analgésico ao anestésico local.(Tsai YC et al.,2001; Mert P., et al.,2006.)

5.CONCLUSÃO:

Portanto, os resultados obtidos no presente estudo corroboram para o emprego de *O.basilicum* na medicina popular visto que o extrato hidroalcoólico das folhas possui componentes ativos com atividades antinociceptivo e anti-dematogênico, podendo constituir um potencial para fins terapêuticos. Entretanto, novos estudos necessitam ser realizados para garantir seu uso seguro, bem como a determinação dos fitoquímicos responsáveis por estes efeitos e seu mecanismo celular.

6.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

ALBUQUERQUE, U. P; ANDRADE, L. H. C. **Etnobotánica del género *Ocimum* L. (Lamiaceae) en las comunidades afrobrasileñas. Anales del Jardim Botánico de Madrid**, v.56, n.1, p.107-118, 1998.

BERNARD, J. F.; BESTER, H.; BESSON, J. M. **Involvement of the spinobarabrachio-amygdaloid and hypothalamic pathways in the autonomic and effective emotional aspects of pain.** Prog Brain Res. 107:243-255, 1996.

BLANK, A.F. *et al.* **Caracterização morfológica e agrônômica de acessos de manjeriço e alfavaca. Horticultura Brasileira**, v.22, p.113-116, 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 17** de 24 de fevereiro de 2000.

Coderre TJ, Vacarino AL, Melzack R - Central nervous system plasticity in the tonic pain response to subcutaneous formalin injection. Brain Res,;535:155-158,1990.

Collier HO, Dinneen LC, Johnson CA, Schneider C 1968. **The abdominal constriction response and its suppression by analgesic drugs in the mouse.** *Br J Pharmacol Chemother* 32: 295-310,1968.

Di Rosa,M.;Giroud,J.P;Willoughby,D.a.**Studies of the mediators of the acute inflammatory response induced in rats in different sites by carrageenan and turpentine.***Journal of Pathology*,v.104,p.15-29,1971.

Duarte IDG, Ferreira-Alves DL, Nakamura-Craig M.**Possible participation of endogenous opioid peptides on the mechanism involved in analgesia by vouacapan.***Life Sci* 50: 891-897,1992.

Dubuisson D, Dennis SG - **The formalin test: A quantitative study of analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats.** *Pain*;4:161-17,1977

Farsam H, Amanlou M, Dehpour AR, Jahani F. **Antiinflammatory and analgesic activity of *Biebersteinia multifida* DC. root extract.** *J Ethnopharmacol* 71: 443-447,2000.

FRANÇA, I.S.X.; SOUZA, J.A.; BAPTISTA, R.S.; BRITTO, V.R.S. Medicina popular: benefícios e malefícios das plantas medicinais. **Revista Brasileira de Enfermagem**, Brasília, v. 61, n. 2, abr. 2008.

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

Harvey,R.A;Champep.C.**Farmacologia Ilustrada.**Editora Artmed,2ªEd.,2002.

Hunskar S, Hole K. **The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain.***Pain* 30: 103-114,1987.

LOESER, J. D. & MELZACK, R. **Pain, an overview.** *Lancet*. 353:1607-1609, 1999.

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

MARANHO, L.T. **Princípios ativos de *Persea major* (Nees) Koop. (Lauraceae)**. Monografia (Bacharelado em Biologia) – Setor de Ciências Biológicas, Pontifícia Universidade Católica do Paraná.1994

Mert P, Gunes Y, Ozcengiz, Gunay I et al. - **Comparative effects of lidocaine and tramadol on injured peripheral nerves**. Eur J Pharmacol;543:54-62,2006.

MILLAN, M. J. **The induction of pain: an integrative review**. Progr Neurobiol. 57:1-164, 1999.

OLIVEIRA, F.; AKISUE, G. **Fundamentos de Farmacobotânica**. São Paulo: Atheneu. 216p,1993.

ROCHA, R.P. **Avaliação do processo de secagem e produção de óleo essencial do guaco**,Dissertação (Mestrado) - UFV-MG, 2002.

Shibata M, Ohkubo T, Takahashi H, Inoki R. **Modified formalin test: characteristic biphasic pain response**.*Pain* 38: 347-352,1989.

Taylor BK, Peterson MA, Basbaum AI - **Persistent cardiovascular and behavioural nociceptive responses to subcutaneous formalin require peripheral nerve input**. *J Neurosci*,;15: 7575-7584, 1995

Tjolsen A.;Berge O.G;Huskaar J.H;Hole K.**The formalin test: an evolution of the method**.*Pain*,vol 51,p.5-17,1992.

TRACEY, I. & MANTYH, P. W. **The cerebral signature for pain perception and its modulation**. *Neuron*. 55: 377-391, 2007.

TRAUB, R. J. The **Spinal Contribution Of The Induction Of Central Sensibilization**.Brain Res. 778:34-42, 1997.

Trowbridge,H.O.;Emling,R.C.**Inflamação.Uma revisão do processo**.4.ed.São Paulo:Quintessence,172p,1996.

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