

# Efeito antibacteriano e anti-inflamatório tópico do extrato metanólico de *Chenopodium ambrosioides* L.

## Antibacterial and topical anti-inflammatory effect of methanol extract of *Chenopodium ambrosioides* L.

<sup>1</sup>Nara L. F. Pereira; <sup>2</sup>Pedro E. A. Aquino; <sup>2</sup>Monalisa R. Silva; <sup>3</sup>Eloiza M. Nascimento; <sup>3</sup>Ana R. S. Grangeiro; <sup>4</sup>Cícera D. M. Oliveira; <sup>4</sup>Saulo R. Tintino; <sup>4</sup>Fernando G. Figueiredo; <sup>4</sup>Helenicy N. H. Veras; <sup>4</sup>Irwin R. A. Menezes

<sup>1</sup> Universidade Estadual do Ceará - UECE

<sup>2</sup> Universidade Federal do Ceará - UFC

<sup>3</sup> Faculdade Leão Sampaio

<sup>4</sup> Universidade Regional do Cariri

Correspondência: n.luana.ferreira@gmail.com

### Resumo

A utilização de plantas medicinais é uma prática comum nos países, fazendo parte da cultura popular como forma de tratamento de diferentes patologias. A planta *Chenopodium ambrosioides* L., conhecida popularmente como mastruz, é utilizada na medicina popular no tratamento de bronquite crônica, tuberculose, contusões, hérnias e fraturas, tendo algumas atividades comprovadas cientificamente como ação vermífuga e antimicrobiana. Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo avaliar o perfil químico e investigar a atividade antibacteriana, moduladora de antibióticos e anti-inflamatória tópica do extrato metanólico obtido das folhas de *Chenopodium ambrosioides* L. Na prospecção fitoquímica do extrato, foram verificados diferentes metabólitos que possuem várias atividades biológicas, e na dosagem dos fenóis totais foram verificados 21,0 mg/g equivalente de ácido gálico, sendo a quantificação de flavonoides encontrado um total de 135,4 mg/g de quercetina. Não houve atividade antibacteriana, porém detectou-se modulação quando o extrato foi associado aos aminoglicosídeos contra cepas de *E. coli* e *Staphylococcus aureus*. Nos testes para inflamação aguda, o extrato apresentou um potencial antiedematogênico nas concentrações de 25 e 50 mg. Diante dos resultados, pode-se correlacionar o conhecimento empírico das pessoas, às propriedades biológicas observadas nessa pesquisa, esta podendo ser importante para futura validação dessas propriedades etnomedicinais.

**Palavras-chave:** *Chenopodium ambrosioides* L.; Concentração Inibitória Mínima; Fenóis; Flavonoides; Inflamação; Modulação.

## Abstract

The use of medicinal plants is a common practice in countries as part of popular culture as a treatment of different pathologies. The *Chenopodium ambrosioides* L. plant, popularly known as Mastruz, is used in folk medicine to treat chronic bronchitis, tuberculosis, bruises, fractures and hernias, and some activities scientifically proven as anthelmintic and antimicrobial action. Thus, this study aimed to evaluate the chemical profile and investigate the antibacterial activity, modulator of antibiotics and topical anti-inflammatory of methanol extract obtained from *Chenopodium ambrosioides* L. leaves. In the phytochemical extract prospecting, they were checked different metabolites that have multiple biological activity, and the dosage of total phenols were checked 21.0 mg / g gallic acid equivalent, and the quantification of flavonoids found a total of 135.4 mg / g quercetin. There was no antibacterial activity, but modulation was detected when the extract was associated with aminoglycosides against strains of *E. coli* and *Staphylococcus aureus*. In tests for acute inflammation, the extract showed an antiedematogenic potential at concentrations of 25 and 50 mg. Given the results, we can correlate the empirical knowledge of people; the biological properties observed in this study, this may be important for future validation of these ethnomedicinal properties.

**Key-words:** *Chenopodium ambrosioides* L.; Minimum Inhibitory Concentration; Phenols; Flavonoids; Inflammation; Modulation.

---

## Introdução

A utilização de plantas medicinais é uma prática comum nos países, fazendo parte da cultura popular como forma de tratamento de diferentes patologias. Segundo a organização Mundial da Saúde (OMS), a usualidade na medicina tradicional é de aproximadamente 65-80% por pessoas nos países subdesenvolvidos para assistência primária de saúde, sendo 85% a partir de extratos de plantas (Gonçalves, Alves Filho e Menezes, 2005).

Assim, pode-se correlacionar o conhecimento empírico quanto às plantas a diferentes aspectos sociais e econômicos, onde o grande avanço científico favorece a realização de estudos químicos e farmacológicos, visando obter novos compostos com possíveis propriedades terapêuticas (Duarte, 2006).

Nesse contexto, entre as plantas medicinais com diferentes finalidades de aplicações descritas na

literatura, destaca-se a espécie *Chenopodium ambrosioides* L., pertencente à Família Chenopodiaceae, popularmente conhecida como erva de santa-maria ou mastruz (Lorenzi e Matos, 2002).

No Nordeste, o uso desta planta na medicina popular é referente ao látex das folhas, no tratamento de bronquite crônica, tuberculose, contusões, hérnias e fraturas. Tendo algumas atividades comprovadas cientificamente como ação vermífuga e antimicrobiana atribuída ao óleo essencial, que contém ascaridol como um dos princípios ativos (Matos, 2011).

No entanto, ainda se faz necessário o incentivo de pesquisas a fim de descobertas de novas substâncias ativas da planta, ressaltando a importância da propriedade antibacteriana, já que é comum o constante aumento de micro-organismos patogênicos resistentes a alguns dos antimicrobianos atualmente disponíveis (Nader, 2010).

Além disso, é imprescindível a validação da propriedade anti-inflamatória da espécie já que alguns micro-organismos podem provocar traumas que comprometem a barreira cutânea podendo alterar a microbiota, provocando infecções cutâneas e assim gerando processos inflamatórios (Caetano et al., 2002).

Diante do exposto, o presente estudo teve como objetivo verificar o perfil químico através de prospecção fitoquímica e verificação do teor de fenóis e flavonoides totais e avaliar a atividade antibacteriana, moduladora de antibióticos e anti-inflamatória tópica de extrato metanólico de *Chenopodium ambrosioides* L., considerando seus usos na medicina popular, visto que, estudos são necessários no esclarecimento dessas propriedades medicinais.

## **Materiais e Métodos**

### **Material vegetal**

As folhas de *Chenopodium ambrosioides* L., foram coletadas no mês de dezembro no município de Jardim-CE. Uma amostra representativa da espécie foi depositada no Herbário Caririense Dárdano de Andrade-Lima (HCDAL) do Departamento de Ciências Biológicas (URCA) sob registro 10.637.

### **Preparação do extrato metanólico**

Para preparação do extrato metanólico das folhas de *Chenopodium ambrosioides* L. (EMCA), estas permaneceram submersas em metanol separadamente por 72h. Após esse período, o eluente foi filtrado e concentrado em condensador rotativo a vácuo e banho-maria (Brasileiro et al., 2006).

### **Ensaio Químicos**

#### **Prospecção Fitoquímica**

Os testes fitoquímicos para detectar a presença de flavonas, flavonóis, xantonas e flavononas foram

realizados seguindo o método descrito por Matos (1997). Os testes se baseiam na observação visual da alteração de cor ou formação de precipitado após a adição de reagentes específicos.

#### **Determinação de Fenóis totais**

As concentrações para a determinação de fenóis totais foram determinadas a partir da adição de 125µL de cada uma das soluções do EMCA, em que foram inicialmente preparadas obedecendo a uma ordem decrescente de concentrações (5, 3, 1, 0,5, 0,25 mg/mL), sendo posteriormente adicionado 125µL do reagente *Folin-Ciocalteu* a 10%, mais 1,25mL de carbonato de sódio completando o volume de 2mL com água destilada. Posteriormente as soluções permaneceram em temperatura ambiente por aproximadamente 45 minutos sem a presença de luminosidade.

Em seguida foi realizada a leitura dos testes, onde as absorbâncias foram mensuradas através do espectrofotômetro com filtro em 765nm. Como padrão para o teste foi utilizado o ácido gálico afim de que seus valores sirvam de comparação para a determinação dos compostos fenólicos presentes nas soluções, expressas a partir da quantidade de ácido gálico presentes em cada miligrama do extrato em estudo (Singleton, Orthofer e Lamuelaraventos, 1999). A média das leituras dos testes foi utilizada através dos resultados expressos em miligramas de ácido gálico por grama de extrato. A curva de calibração de ácido gálico foi determinada utilizando diferentes concentrações desta substância (400, 300, 200, 100 e 50 µg/mL).

#### **Determinação de Flavonoides**

A determinação de flavonoides seguiu a metodologia proposta por Woisky e Salatino (1998), onde foram pipetados 2mL do EMCA nas diferentes concentrações (1000, 500, 250, 100, 50 µg/mL) em

tubos de ensaios individualmente. Em seguida adicionou-se aos tubos 1mL de cloreto de alumínio 5% m/v, em etanol a 80% e 2mL de metanol. Preparou-se o branco utilizando 4mL de metanol e 1mL de cloreto de alumínio. Para a construção da curva de calibração de quercetina utilizou-se as

concentrações de 100, 50, 25, 15 e 10 µg/mL. Aguardou-se 30 minutos no escuro e procedeu-se a leitura e, a partir da equação da reta obtida, realizou-se o cálculo do teor de flavonoides, expresso em quercetina/g do extrato.

**TABELA 1.** Origem bacteriana e perfil de resistência a antibióticos.

Bacteria	Origem	Resistência a antibióticos
<i>Staphylococcus aureus</i> (SA 358)	Ferida cirúrgica	Oxa, Gen, Tob, Ami, Ca, Neo, Para, But, Sis, Net
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	Sensível
<i>Escherichia coli</i> (EC 27)	Ferida cirúrgica	Ast, Ax, Amp, Ami, Amox, Ca, Cfc, Cf, Caz, Cip, Clo, Im, Can, Szt, Tet, Tob
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 10536	Sensível
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (PA 03)	Catéter	Cpm, Ctz, Im, Cip, Ptz, Lev, Mer, Ami
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 15442	Sensível

Ast-Azitromicina; Ax-Amoxicilina; Amp-Ampicilina; Ami-Amicacina; Amox-Amoxilina; Ca-Cefalexina; Cfc-Cefaclor; Cf-Cefalotina; Caz-Ceftazidima; Cip-Ciprofloxacino; Clo-Clorafenicol; Im-Imipenem; Can-Canamicina; Szt-Sulfametoxazol; Tet-Tetraciclina; Tob- Tobramicina; Oxa-Oxacilina; Gen-Gentamicina; Neo-Neomicina; Para-Paramomicina; But-Butirosina; Sis-Sisomicina; Net-Netilmicina.

### Atividade antibacteriana

#### Bactérias utilizadas

Os micro-organismos utilizados nos testes foram obtidos através do Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular (LMBM) da Universidade Regional do Cariri (URCA). Foram utilizadas linhagens padrão de bactérias *Escherichia coli* ATCC 10536, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 e multirresistentes da espécie *Escherichia coli* 27, *Staphylococcus aureus* 358 e *Pseudomonas aeruginosa* 03. Antes dos ensaios, as linhagens foram cultivadas a 37°C por 24 horas em *Brain Heart Infusionbroth* – BHI (concentração indicada pelo fabricante).

#### CIM - Concentração Inibitória Mínima

A Concentração Inibitória Mínima ou CIM é a menor concentração do produto testado capaz de inibir o crescimento da cepa. Inicialmente fez-se o inóculo dos micro-organismos, transferindo-os para suspensões em tubos contendo 3mL de solução estéril de NaCl a 0,9%, correspondendo a um inóculo de aproximadamente 10<sup>5</sup> Unidades Formadoras de Colônias/mL-UFC/mL.

Para os testes foram utilizadas soluções preparadas a partir do EMCA sob uma concentração de 10 mg/mL, dissolvidos em DMSO (dimetilsulfóxido), em seguida diluídos com água destilada (estéreo) para uma concentração de 1024 µg/mL. A CIM foi determinada em ensaio de micro diluição em caldo

(NCCLS, 2003), utilizando-se um inóculo de 100 µL de cada linhagem, suspensas em caldo BHI em placas de micro diluição com 96 poços, com diluições em série 1:1.

Em cada poço foi adicionado 100µL de solução de cada extrato. As concentrações finais dos extratos variaram entre 512-8 µg/mL. Para os controles foram utilizados os antibióticos padrões amicacina e gentamicina, cujas concentrações finais variaram entre 2500 µg/mL-2,44 µg/mL. As placas preenchidas foram incubadas a 37 °C por 24 horas.

Preparou-se uma solução indicadora de resazurina sódica (Sigma) em água destilada estéril na concentração de 0,01% (p/v). Após a incubação, 20 µL da solução indicadora foram adicionados em cada cavidade e as placas passaram por um período de incubação de 1 hora em temperatura ambiente. A mudança de coloração azul para rosa, devido à redução da resazurina, indica o crescimento bacteriano (Javadpour, et al., 1996), auxiliando a visualização da CIM.

#### Modulação do extrato com aminoglicosídeos

Para avaliar o efeito modulador da ação antibiótica, a CIM de antibióticos da classe dos aminoglicosídeos, foi testada na presença e ausência do extrato em microplacas estéreis. Os antibióticos foram avaliados nas concentrações variando de 2500 µg/mL-2,4 µg/mL. As amostras foram misturadas em caldo BHI 10% em concentrações sub inibitórias determinadas após a realização de teste de avaliação da CIM, onde a concentração do extrato foi reduzida 8 (oito) vezes (CIM/8).

A preparação das soluções de antibióticos foi realizada com a adição de água destilada estéril em concentração dobrada (5000 µg/mL) em relação à concentração inicial definida, sendo volumes de 100µL diluídos seriadamente 1:1 em caldo BHI 10%. Em cada

cavidade com 100µL do meio de cultura continha a suspensão bacteriana diluída a 10<sup>5</sup> UFC/mL. Os mesmos controles utilizados na avaliação da CIM para o extrato foram utilizados durante a modulação (Coutinho et al., 2009). As placas foram preenchidas e incubadas a 37° C por 24 horas e, após esse período, a leitura foi evidenciada pelo uso de rezazurina, como citado anteriormente no teste de determinação da CIM.

#### Análise estatística dos testes microbiológicos

Os ensaios foram feitos em triplicata, e expressos como a média geométrica. A análise estatística foi aplicada à análise de variância de duas vias, seguido pelo teste Tukey, utilizando o software *GraphPad Prism 6.0*.

#### **Atividade anti-inflamatória tópica através do modelo de edema de orelha induzido por óleo de cróton**

##### Drogas, reagentes e soluções

As drogas e reagentes utilizados durante os procedimentos experimentais farmacológicos foram: acetona P.A (Dinâmica, Brasil), indometacina (Merck Sharp e Dohme, Brasil), óleo de cróton (Sigma, EUA) e solução fisiológica de NaCl 0,9% (Farmace, Brasil).

##### Animais

Os animais utilizados foram camundongos albinos (*Mus musculus*) variedade *Swiss*, adultos, machos, pesando entre 20-30g, provenientes do Biotério da Universidade de Fortaleza-UNIFOR, mantidos em caixas de propileno, a temperatura média de 26 ± 2° C, com ciclos claro/escuro de 12/12 h, recebendo ração (Labina, Purina®) e água *ad libitum*.

##### Aspectos éticos da pesquisa

O projeto com protocolos referentes a este estudo foi submetido à Comissão de Ética no uso de animais da

Universidade Regional do Cariri, e aprovado com parecer de número 00099/2014.1.

Edema de orelha induzido pela aplicação única de óleo de cróton

Para avaliar a atividade tópica por tratamento agudo do EMCA neste modelo, grupos de camundongos *Swiss* (n = 6) tiveram suas orelhas direitas tratadas topicamente, com 20 µL de acetona, indometacina 100 mg/mL (2 mg/orelha), EMCA na concentração 25 e 50 mg/mL, esperando 15 minutos para absorção. Em seguida, 20 µL de óleo de cróton 5% (v/v) em acetona, foram aplicados topicamente na orelha direita e 20 µL do veículo acetona na orelha esquerda. Após 4 horas, os animais foram sacrificados por deslocamento cervical e discos de 6 mm de diâmetro foram obtidos das orelhas através de um *punch* (perfurador metálico) para avaliação do edema. A massa dos discos das orelhas foi mensurada a partir da balança analítica e o edema

de orelha calculado a partir do percentual de aumento de massa (Tubaro et al., 1985).

Análise estatística dos dados

Os dados apresentados foram expressos em média ± erro padrão da média (EPM). As diferenças obtidas entre os grupos foram submetidas à análise de variância (ANOVA) de uma via, seguindo-se do teste de Student-Newman-Keuls, utilizando o software *GraphPad Prism* 6.0.

## Resultados e Discussão

### Perfil químico

Na prospecção fitoquímica do extrato metanólico foram identificados os compostos: taninos pirogálicos, taninos flobabênicos, flavonas, flavonóis, xantonas, chalconas, auronas, flavonóis, leucoantocianidinas, catequinas, flavononas (TABELA 2).

TABELA 2. Prospecção fitoquímica do extrato metanólico de *Chenopodium ambrosioides* L.

METABÓLITOS															
EXTRATO	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
EMCA	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

1 – Fenóis; 2 – Taninos Pirogálicos; 3 – Taninos Flobabênicos; 4 – Antocianinas; 5 – Antocianidinas; 6 – Flavonas; 7 – Flavonóis; 8 – Xantonas; 9 – Chalconas; 10 – Auronas; 11 – Flavononóis; 12 – Leucoantocianidinas; 13 – Catequinas; 14 – Flavononas; 15 – Alcalóides. (+) presença; (-) ausência. EMCA – Extrato Metanólico *Chenopodium ambrosioides* L.

De acordo com estudos realizados por Marins e colaboradores (2011), entre os constituintes químicos avaliados a partir das folhas, a espécie também apresentou compostos fenólicos, taninos, catequinas e flavononas.

A partir da análise semi-qualitativa, foi determinado o teor de fenóis totais a quantidade de 21,0 mg/g

equivalentes de ácido gálico (EAG) por grama de extrato bruto, a partir da curva de calibração construída pelas determinações das leituras de absorbâncias de diferentes concentrações de ácido gálico.

Na determinação de flavonoides o EMCA, foram obtidas concentração de 135,4 mg/g equivalente a quercetina por grama de extrato. Onde a curva de

calibração para determinação dos flavonoides foi obtida após a leitura das diversas soluções de quercetina com concentração determinada.

De acordo com Sá e colaboradores (2012), na quantificação de flavonoides totais das folhas de *Chenopodium ambrosioides* L. foi calculado um teor de  $1,61 \pm 0,02$  (1,51 mg/g) evidenciando assim a presença de flavonoides as folhas. No estudo de Azevedo (2011), teve concentração de composto fenólicos de 0,39 mg equivalentes de ácido gálico por grama de extrato.

Segundo Sousa e colaboradores (2007), a presença de compostos fenólicos totais é atribuída à atividade antioxidante. Sadik, Sies e Schewe (2003), também citam que esta atividade é a principal relacionada aos flavonoides justificada pela propriedade redutora importante no sequestro de radicais livres, agindo na etapa de iniciação e propagação de processo oxidativo.

Aos flavonoides é associada também a resposta à infecção microbiana, com capacidade de formar complexos com proteínas solúveis extracelulares que se ligam na parede celular da bactéria (Rauh, 2008). Diversas análises comprovam que compostos flavonoides: flavononas, flavononóis, flavonóis e também os bioflavonóides (xantonas), exercem atividade antimicrobiana e anti-inflamatória (Silva, 2009; Sá et al., 2012; Zuanazzi e Montanha, 2004).

A propriedade antimicrobiana também pode ser associada aos taninos devido à hidrólise de uma ligação éster do ácido gálico, servindo como um mecanismo de defesa natural contra infecções (Matias et al., 2010). Outros testes *in vitro* realizados

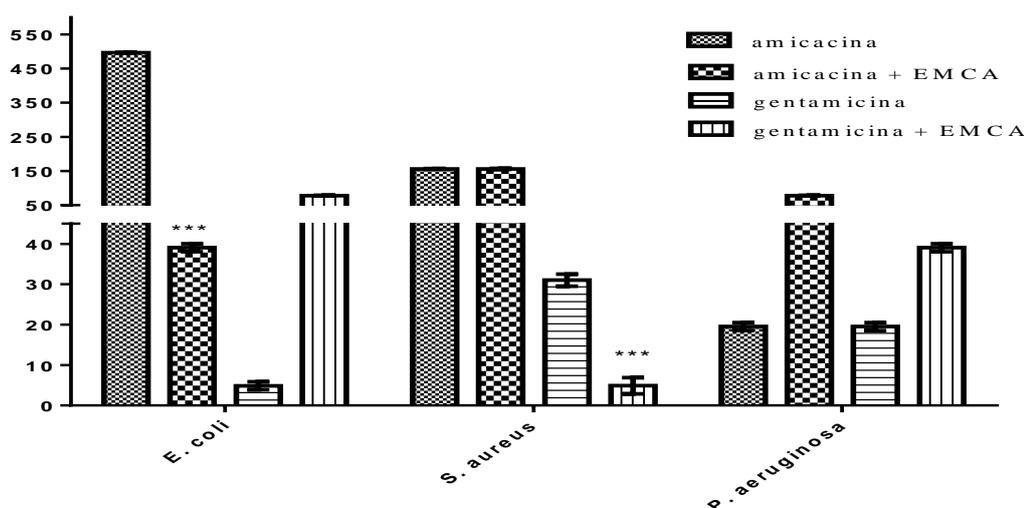
com extratos ricos em taninos ou com taninos puros têm identificado diversas atividades biológicas dessa classe de substâncias, dentre essas, a confirmação da atividade antibacteriana (Simões et al., 2007).

#### **Atividade antibacteriana**

A concentração inibitória mínima (CIM) pode ser compreendida como a menor concentração capaz de inibir completamente o crescimento microbiano nos poços de micro diluição (Murari et al., 2008). Na realização deste procedimento onde se avaliou a ação do EMCA contra bactérias *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, obteve-se resultados  $\geq 1024 \mu\text{g/mL}$ , compreendendo um valor irrelevante clinicamente.

Em ensaio microbiológico realizado por Jesus e colaboradores (2012), utilizando extratos etanólico, hexânico, clorofórmico e acetaônico de *Chenopodium ambrosioides*, através da técnica de cilindros de aço inoxidável em placas, demonstrou não haver atividade microbiana para *P. aeruginosa* e *S. aureus*, corroborando com os resultados de presente estudo.

A **FIGURA 1** representa os resultados da avaliação da atividade moduladora da amostra quando associadas aos aminoglicosídeos. Os resultados apresentam que as combinações do extrato com a amicacina teve sinergismo com a linhagem *E. coli* e antagonismo frente a *P. aeruginosa*. Quando se combinou o extrato com a gentamicina, observou-se sinergismo frente a linhagem *S. aureus* e antagonismo frente às linhagens de *E. coli* e *P. aeruginosa*.



Two Way ANOVA, seguida do teste Tukey: \*\*\* =  $p < 0.001$  vs antibiótico.

**FIGURA 1.** Atividade moduladora extrato metanólico de *Chenopodium ambrosioides* L. (EMCA) sobre antibióticos aminoglicosídeos, frente a *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*.

Produtos naturais de origem vegetal e animal podem aumentar ou reduzir o efeito dos antibióticos, sendo caracterizados como Modificadores da Atividade Antibiótica, e assim, atuar sinergicamente com o efeito antimicrobiano devido aos constituintes presentes em sua composição. Esta atividade é demonstrada pela associação de drogas sintéticas e produtos naturais, que podem reverter à resistência microbiana eliminando plasmídeos e inibindo a bomba de efluxo (Coutinho et al., 2009).

No entanto, quando ocorre a quelação dos constituintes do antibiótico pelo extrato ou a ligação destes em locais específicos dos antibióticos, o efeito do fármaco pode ser reduzido caracterizando a resposta como antagonismo (Wagner e Ulrich-Merzenich, 2009).

A atividade sinérgica do EMCA observada pode ser associada à presença de taninos e flavonoides indicados como sendo capazes de alterar a parede

celular ou destruir a membrana plasmática facilitando absorção das drogas (Matias et al., 2010).

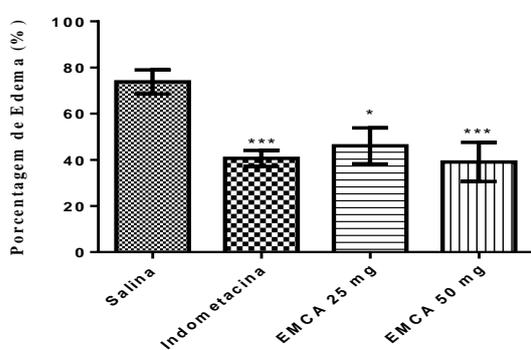
De acordo com Holley e Pattel (2005), as bactérias Gram-negativas possuem maior resistência à ação de produtos naturais como extratos, justificada pela membrana externa capaz de formar um envelope complexo, protegendo-as contra a ação desses agentes antimicrobianos. No entanto, nesse estudo, a presença do produto natural modulou a ação da ampicilina contra a linhagem de *E. coli* multirresistente.

Matias e colaboradores (2010) confirmou uma maior potencialização do antibiótico na modulação, com extrato hexânico quando comparado com o extrato metanólico, considerando o caráter lipofílico da membrana plasmática que tem uma maior afinidade com solventes apolares, apesar de que a utilização de solventes polares não deixa de ser viável demonstrado através dos resultados positivamente relevantes do presente estudo.

### Atividade anti-inflamatória tópica

A utilização do modelo de edema de orelha induzido pelo óleo de cróton é responsável pela triagem de substâncias que atuam na fase aguda da inflamação, bem como em processos hiperproliferativos (Gàbor, 2003).

Na **FIGURA 2** estão representados os resultados obtidos no ensaio de edema agudo de orelha induzido por óleo de cróton. Em relação ao grupo salina, o edema de orelha foi reduzido em 37,62% e 47,03% pelo extrato, nas concentrações de 25 e 50 mg/Kg respectivamente.



**One Way ANOVA, seguida do Teste de Student-Newman-Keuls: Os valores representam a média  $\pm$  E.P.M. (Erro Padrão da Média) para 6 animais.**  
\*\*\* =  $p < 0,001$  vs salina; \* =  $p < 0,05$  vs salina.

**FIGURA 2.** Efeito tópico do EMCA sobre o edema de orelha induzido por aplicação única de óleo de cróton.

Resultado semelhante foi obtido em outro ensaio farmacológico descrito por Grassi (2011), com a utilização do extrato etanólico das folhas de *C. ambrosioides* L., que demonstrou atividade antiedematogênica a partir de modelos de indução tópica e sistêmica.

De acordo com Gàbor (2000), a administração tópica direta no sítio de inflamação permite maior resposta dos compostos responsáveis pela atividade anti-

inflamatória, tendo uma absorção cutânea mais adequada, atingindo locais específicos da pele e obtendo melhores efeitos farmacológicos.

A partir do modelo de inflamação cutânea, é possível identificar alguns inibidores da biossíntese das prostaglandinas e leucotrienos, que atuam em enzimas como ciclo-oxigenase (COX) e lipoxigenase (LOX) (Terraciano et al., 2006).

Dessa forma, com aplicação tópica do óleo de cróton (composto 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato, conhecido como TPA), nas primeiras duas horas é possível verificar a formação do edema induzido por processo inflamatório agudo, tendo como resposta uma vasodilatação, infiltração de leucócitos no tecido, com pico máximo de resposta após seis horas de indução do processo inflamatório retornando aos valores basais após 24 horas de indução (Andújar et al., 2010).

Segundo Murakawa e colaboradores (2006), o óleo de cróton ativa a proteína quinase C e em seguida MAP quinase, fosfolipase A2, indução da COX-2 e LOX. E assim, as citocinas e eicosanoides são sintetizados e liberados, sendo a formação do edema ocasionada principalmente pela liberação de prostaglandinas E2, interleucina-1 $\beta$  e fatores de necrose tumoral  $\alpha$ , ocorrendo uma hiperproliferação celular.

A efetividade do extrato sugere que seus fitoconstituintes presentes possam estar inibindo a formação de mediadores do processo inflamatório, estimuladas pela via da PKC ou vias adjacentes envolvidas na inflamação. Essa ação pode estar associada aos flavonoides que agem nos estágios iniciais do processo inflamatório, inibindo a infiltração de leucócitos e diminuição da permeabilidade capilar (Alcaraz e Carvalho, 2004). Segundo Zheng e colaboradores (2005), alguns flavonoides podem inibir a atividade da enzima lipoxigenase (LOX), devido a uma ação antioxidante, já que a 5-LOX converte o ácido araquidônico em

leucotrienos através de uma reação de oxidação (lipoxigenação).

No EMCA identificou-se a presença de flavononas, este grupo também pode ser considerado como inibidor de alguns mediadores inflamatórios como prostaglandina e óxido nítrico através da diminuição a expressão da Ciclooxygenase-2 (COX-2) e Óxido Nítrico Sintetase induzida (Calixto, Otuki e Santos, 2003).

## Conclusão

Foi demonstrado que a espécie *Chenopodium ambrosioides* L., apresentou atividade moduladora e anti-edematogênica tópica, podendo correlacionar o conhecimento empírico às propriedades biológicas observadas nessa pesquisa, esta podendo ser importante para futura validação dessas propriedades medicinais. Assim, outros estudos que elucidem os mecanismos de ação envolvidos e o isolem os constituintes ativos são imprescindíveis para colaborar com o desenvolvimento de novas formas de tratamento farmacológico e isolamento dos constituintes ativos.

## Referências

ALCARAZ, M.J.; CARVALHO, J.C.T. 2004. Flavonóides como agentes anti-inflamatórios. In: CARVALHO, J.C.T., Fitoterápicos anti-inflamatórios: Aspectos químicos, farmacológicos e aplicações terapêuticas, p. 79-100. Editora Tecmedd. São Paulo.

ANDÚJAR, I.; RECIO, M.C.; BACELLI, T.; GINER, R.M.; RÍOS, J.L. 2010. Shikonin reduces edema induced by phorbol ester by interfering with I $\kappa$ B $\alpha$  degradation thus inhibiting translocation of NF- $\kappa$ B to the nucleus. *British Journal of Pharmacology*. v.160.n. 2. p. 376-388.

AZEVEDO, M.L. 2011. Perfil fitoquímico, atividades antioxidante e antimicrobiana de amora-preta (*Rubus fruticosus*) cv. Tupy em diferentes estádios de maturação cultivada em clima temperado. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Pelotas.

BRASILEIRO, B.G.; PIZZOLO, V.R.; RASLAN, D.S.; JAMAL, C.M.; SILVEIRA, D. 2006. Antimicrobial and cytotoxic activities screen in some Brazilian medicinal plants used in Governador Valadares district. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 42, n. 2, p. 195-202.

CAETANO, N.; SARAIVA, A.; PEREIRA, R.; CARVALHO, D.; PIMENTEL, M.C.B., MAIA, M.B.S. 2002. Determinação de atividade antimicrobiana de extratos de plantas de uso popular como anti-inflamatório. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. v.12. n.1. p. 132-135.

CALIXTO, J.B.; OTUKI, M.F.; SANTOS, A.R.S. 2003. Anti-inflammatory compounds of plant origin. Part I. action on arachidonic acid pathway, nitric oxide and nuclear factor  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B). *Planta Médica*. p. v.69.p.973-983.

COUTINHO, H.D.M.; COSTA, J.G.M.; LIMA, E.O.; FALCÃO-SILVA, V.S.; SIQUEIRA-JUNIOR, J.P. 2009. *In vitro* interference of *Momordica charantia* and chlorpromazine in the resistance to aminoglycosides. *Pharmaceutical Biology*, v. 47, n. 11, p. 1056-1059.

DUARTE, M.C.T. 2006. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais e aromáticas utilizadas no Brasil. *Revista MultiCiência*. v. 7, p. 17.

GÂBOR, M. 2000. Mouse Ear Inflammation Models and their Pharmacological Applications. Akadémiai Kiadó. Budapeste.

GÂBOR, M. 2003. *Models of acute inflammation in the ear*. In: WINYARD, P.G.; WILLOUGHBY, D.A.

*Inflammation protocols*, p. 129-131. Humana Press. New Jersey.

GONÇALVES, A.; ALVES FILHO, A.; MENEZES, H. 2005. Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 72, n. 3, p. 353-358.

GRASSI, L.T. 2011. *Chenopodium ambrosioides* L. - Erva de Santa Maria (Amaranthaceae): estudo do potencial anti-inflamatório, antinociceptivo e cicatrizante. Dissertação (Mestrado). Universidade do Vale do Itajaí.

HOLLEY, R.A.; PATEL, D. 2005. Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. *Food Microbiology*, v. 22, n. 4, p. 273-292.

JAVADPOUR, M.M.; JUBAN, M.M.; LO, W.C.; BISHOP, S.M.; ALBERTY, J.B.; COWELL, S.M.; BECKER, C.L.; MCLAUGHLIN, M.L. 1996. New antimicrobial peptides with low mammalian cell toxicity. *Journal of Medicinal Chemistry*, v.39, n.16, p. 3107-3113.

JESUS, R.S.; SANTOS, M.R.; RIGO, C.M.; SANTOS, T.S.S.; PAZ, M.B.; BRUM, T.F.; ZADRA, M.; BOLIGON, A. 2012. Avaliação da Atividade Antimicrobiana in vitro de Extratos da Planta *Chenopodium ambrosioides* L. técnica de cilindros em placas. 26º Simpósio de Ensino, Pesquisa e Extensão, Santa Maria.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A.; 2002. *Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas*, Editora Instituto Plantarum. p. 512. Nova Odessa, São Paulo.

MARINS, A.K.; VIEIRA, D.F.; QUADROS, I.P.S.; PINHEIRO, P.F.; QUEIROZ, V.T.; COSTA, A.V. 2011. Prospecção fitoquímica das Partes Aéreas da erva-de-santa-maria (*Chenopodium ambrosioides* L).

15º Encontro Latino Americano de Iniciação Científica, 6º Encontro Latino Americano de Pós Graduação, 5º Encontro Latino Americano de Iniciação Científica Jr. São José dos Campos.

MATIAS, E.E.F.; SANTOS, K.K.A.; ALMEIDA, T.S.; COSTA, J.G.M.; COUTINHO, H.D.M. 2010. Enhancement of Antibiotic Activity by *Cordia verbenacea* DC. *Latin American Journal of Pharmacy*, v. 29, n. 6, p. 1049-1052.

MATOS, F.J.A. 1997. *Introdução à Fitoquímica Experimental*. 2ª Ed. Edições UFC. Fortaleza.

MATOS, J.A. 2011. *Potencial biológico de Chenopodium ambrosioides* L. (erva-de-santa-maria). Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa.

MURAKAWA, M.; YAMAOKA, K.; TANAKA, Y.; FUKUDA, Y. 2006. Involvement of tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$  in phorbol ester 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) - induced skin edema in mice. *Biochemical Pharmacology*, v. 71. n. 9, p. 1331-1336.

MURARI, A.L.; CARVALHO, F.H.; HEINZMANN, B.M.; MICHELOT T.M.; HÖRNER, R.; MALLMANN, C.A. 2008. Composição e atividade antibacteriana dos essenciais de *Senecio crassiflorus* var. *crassiflorus*. *Química Nova*, v. 31, n.5. p. 1081-1084.

NADER, T.T. 2010. *Potencial de atividade antimicrobiana in vitro de extratos vegetais do cerrado frente estirpes de Staphylococcus aureus*. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista.

NCCLS. 2003. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that grow aerobically. 6 ed. Wayne, Pennsylvania.

- RAUH, L.K. 2008. Avaliação da atividade anti-inflamatória tópica da Vernonia scorpioides (Lam) Persons em modelos de inflamação cutânea em camundongos. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Paraná.
- SÁ, R.D.; FERREIRA, M.R.A.; SANTANA, A.S.C.O.; SOARES, L.A.L.; RANDAU, K. P. 2012. Histoquímica e quantificação espectrofotométrica de flavonoides totais em folhas de *Chenopodium ambrosioides* L. 22º Simpósio de Plantas Medicinais no Brasil, Bento Gonçalves.
- SADIK, C.D.; SIES, H.; SCHEWE, T. Inhibition of 15-lipoxygenases by flavonoids: structure-activity relations and mode of action. *Biochemical Pharmacology*, v. 65, p. 773-781, 2003.
- SILVA, M. F. 2009. Escherichia coli e a resistência antibiótica: uma análise do padrão de evolução da resistência da Escherichia coli aos antibióticos no distrito de Castelo Branco. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade da Beira Interior, Covilhã.
- SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. 2007. *Farmacognosia da planta ao medicamento*. Editora UFRGS, Porto Alegre.
- SINGLETON, V.L.; ORTHOFER, R.; LAMUELARAVENTÓS, R.M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol*, v. 299, p. 152-178.
- SOUSA, C.M.M.; SILVA, H.R.; VIEIRA-JR, G.M.; AYRES, M.C.C.; COSTA, C.L.S.; ARAUJO, D.S.; CAVALCANTE, L.C.D.; BARROS, E.D.S.; ARAUJO, P.B.M.; BRANDÃO, M.S.; CHAVES, M.H. 2007. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Química Nova*, v. 30, n. 2. p. 351-355.
- TERRACIANO, S.; AQUINO, M.; RODRIGUEZ, M.; MONTI, M.C.; CASAPULLO, A.; RICCIO, R.; GOMEZ-PALOMA, L. 2006. Chemistry and biology of anti-inflammatory marine natural products: molecules interfering with cyclooxygenase, NF-kappa B and other unidentified targets. *Current Medicinal Chemistry*, v. 13, n. 16. p. 1947-1969.
- TUBARO, A.; DRI, P.; DELBELLO, G.; ZILLI, C.; DELLA-LOGGIA, R. 1985. The croton oil test revisited. *Agents Actions*, v. 17, p. 347-349.
- WAGNER, H.; ULRICH-MERZENICH, G. 2009. Synergy research: approaching a new generation of phytopharmaceuticals. *Phytomedicine*, v. 16, n. 2, p. 97-110.
- WOISKY, R.G.; SALATINO, A. 1998. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. *Journal Apicultural Research*, v. 37, n. 2, p. 99-105.
- ZHENG, Y.N.; ZHANG, J.; HAN, L.K.; SEKIYA, K.; KIMURA, Y.; OKUDA, H. 2005. Effects of compounds in leaves of *Salix matsudana* on arachidonic acid metabolism. *Yakugaku Zasshi*. v.125.n.12.p. 1005-1008.
- ZUANAZZI, J.A.S.; MONTANHA, J.A. 2004. Flavonoides. In: SIMÕES, C.M.O. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 5.ed. p. 577-614. Editora da UFRGS. Porto Alegre.