

Mistieri, M. L. A.; Thomazo, N. M. M.; Mataqueiro, M. I.; Queiroz-Neto, Antonio

Laboratório de Farmacologia e Toxicologia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Câmpus de Jaboticabal. Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane s/n. 14884-900, Jaboticabal, SP. e-mail: aqueiroz@fcav.unesp.br

**RESUMO:** O presente trabalho objetivou avaliar a capacidade analgésica do chá à 15% das folhas e das sumidades floridas, separadamente, da *Achillea millefolium*. Para tanto, realizou-se três testes, nos quais os animais utilizados foram previamente separados em 3 grupos: grupo I (controle) que recebeu água, grupo II que recebeu chá das sumidades floridas e grupo III que recebeu chá das folhas do referido vegetal. No primeiro teste observou-se o efeito dos chás sobre as contorções induzidas por injeção intraperitoneal de ácido acético em camundongos da raça Swiss. O segundo teste consistiu da observação da latência do reflexo na retirada da cauda (LRRC) frente a estímulo doloroso térmico em ratos Wistar, sendo que, os animais receberam os chás ou água, por gavagem, antes da observação ser efetuada. No terceiro teste, os ratos Wistar foram submetidos a uma incisão de aproximadamente 1 cm de comprimento em suas caudas afim de se testar o efeito dos chás sobre a dor inflamatória induzida. Os resultados evidenciaram que, o efeito do chá à 15% das folhas sobre as contorções dos camundongos e sobre a LRRC não foi significativo, enquanto que o chá das sumidades floridas aumentou significativamente o número de contorções dos camundongos e a LRRC de ratos após a sua administração. Com relação ao efeito dos chás sobre a dor inflamatória, a ingestão de ambos levou a um aumento da força necessária para obtenção do reflexo de esquiva, indicando efeito anti hiperalgésico para o chá a 15 % das folhas e das sumidades floridas de *Achillea millefolium*.

**Palavras-chave:** Millefolium, asteraceae, analgésicos não entorpecentes, hiperalgésia.

**ABSTRACT:** Study of the analgesic properties of the *Achillea millefolium* (Asteraceae).

This study was designed to separately evaluate the analgesic capacity of 15% tea from *Achillea millefolium* leaves and florid ends. Three different tests were performed. The animals were separated in 3 groups: group I (control) that received water, group II that received florid end tea, and group III that received leaf tea. The first test was the writhing test induced by intraperitoneal injection of acetic acid in male Swiss mice. The second test consisted of the measurement of tail flick reflex latency (TFRL) in male Wistar rats after receiving a painful thermal stimulus. The groups received the teas or water *per os*, prior to observation. In the third test, the Wistar rats were submitted to an approximately 1 cm long incision in their tails to test the effect of the teas on induced inflammatory pain. The results showed that the effect of the 15% leaf tea on the mice writhing and TFRL test were not statistically significant. The florid ends tea showed a significantly increase in number of writhes in mice and TFRL in rats after administration. With regard to the effect of the teas on inflammatory pain, ingestion of both preparations caused an increase in the force threshold necessary for the avoidance reflex, indicating antihyperalgesic action of both the leaf and florid ends 15% teas of *Achillea millefolium*.

**Key words:** Millefolium, asteraceae, analgesics non-narcotic, hyperalgesia.

## INTRODUÇÃO

A *Achillea millefolium* L. (Asteraceae) é uma planta bastante conhecida em todo hemisfério norte, principalmente devido às suas qualidades medicinais (Schauenberg & Paris, 1977; Font Quer, 1981; Balbach, s.d.). No entanto, segundo Sauker & Länger (1992a,b), a *A. millefolium* representa um grupo de plantas que podem ser dividido em 12 taxas bem definidas e caracterizadas tanto morfológica como anatomicamente.

A planta em estudo possui rizoma rastejante, haste reta e pubescente, folhas longas, estreitas e verde-brilhantes, subdivididas em numerosos segmentos lineares bem finos, sendo esta a razão de ser chamada de mil folhas. Suas flores são pequenas e brancas, reunindo-se em umbelas terminais. É popularmente conhecida no Brasil como, mil folhas, erva-carpinteira, milfolhada, mil em rama, milefólio, erva do bom Deus, erva dos militares, prazer das damas e Aquiléia (Penna, 1946).

Recebido para publicação em 20.06.00 e aceito para publicação em 19.02.01.

Considerada desde tempos remotos como uma erva "cura tudo" e atualmente conhecida como "novalgina", possui várias indicações populares, sendo utilizada como adstringente, hemostática, hipotensora, diurética, expectorante, anti-inflamatória, anti-espasmódica, anti-pirética, constipante, antifisética, e para afecções do fígado, intestinos, rins e pele, além de curar insônia, dor de dentes, menstruações abundantes ou escassas, vômitos sangüíneos, tumores, queimaduras, feridas, sarnas, psoríase, eczema e hemorróidas (Balbach, s.d.).

Segundo Martins *et al.* (1994), o sumo das folhas preparado com a planta fresca previamente lavada, é recomendado como anti-inflamatório e cicatrizante e utilizado sobre ferimentos e ulcerações. Estes autores, entretanto, também relatam efeitos tóxicos nos animais domésticos. No mesmo sentido, Guin & Skidmore (1987) descrevem que esta planta pode causar dermatite de contato, em pessoas sensíveis, a qual pode ser confundida com fotossensibilização e eczema atópico.

Em estudo químico e farmacológico da *A. millefolium*, Goldberg *et al.* (1969) relataram o isolamento de frações que possuíam atividades anti-inflamatórias, sendo que a fração mais ativa reduziu, neste estudo, a inflamação em 35%. Evidências físicas e químicas mostraram que tal fração não era homogênea e sim, que consistia em uma mistura complexa.

Müller Jakic *et al.* (1994) comprovaram a inibição "in vitro" da ciclooxigenase e da 5-lipoxigenase por alguns dos alcalóides da planta que atuam inibindo, competitivamente, essas enzimas relacionadas ao processo inflamatório.

Baseando na relatada capacidade da *A. millefolium* L. em inibir a ciclooxigenase "in vitro", este trabalho visou avaliar a ação analgésica do chá das sumidades floridas e das folhas desta planta, cultivada como ornamental, em Jaboticabal, São Paulo.

## MATERIAL E MÉTODO

### 1. Animais e planta

Esse estudo foi desenvolvido no Laboratório de Farmacologia do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da FCAV, UNESP-Jaboticabal, SP. Foram utilizados 45 camundongos Swiss pesando aproximadamente 35g, e 75 ratos Wistar adultos machos com peso aproximado de 200g provenientes do Biotério Central da UNESP em Botucatu/SP.

As amostras das sumidades floridas e das folhas da *Achillea millefolium* L. utilizadas no

experimento foram coletadas e identificadas pelo professor Dr. Manuel G. Crispim Churata-Masca no Setor de Olericultura da FCAV-UNESP, Jaboticabal, SP onde se encontra a exsicata da referida planta. A planta era coletada sempre pela manhã, no período compreendido entre dezembro de 1998 e março de 1999 sendo, imediatamente, feito um chá a 15% das sumidades floridas e das folhas, que era administrado aos animais por gavagem antes do início das avaliações.

### 2. Teste das Contorções

Nestes experimentos, 45 camundongos foram divididos em três grupos de 15 animais para realização do teste das contorções segundo Queiroz-Neto *et al.* (1994). O grupo 1 (controle) recebeu 0,5 ml de água destilada, o grupo 2 recebeu 0,5 ml do chá de sumidade florida de *A. millefolium*, e o grupo 3 recebeu 0,5 ml da chá das folhas de *A. millefolium*.

Após vinte minutos da administração em cada grupo injetou-se ácido acético a 0,6% via intraperitoneal como estímulo doloroso e os animais eram colocados sob funis de vidro para observação. Aguardava-se 10 minutos para o início das observações em cada camundongo. Durante as observações contava-se o número de contorções de cada animal por um período de 20 minutos.

Os dados foram analisados através de análise de variância seguido do teste de Tukey, estabelecendo-se o nível de significância em 5%.

### 3. Teste da Latência para o Reflexo de Retirada da Cauda (LRR) utilizando-se estímulo térmico e animais íntegros.

Foram usados 45 ratos Wistar que foram divididos em três grupos de 15 animais controle e experimentais. O grupo 1 (controle) recebeu 2 ml de água destilada, o grupo 2 recebeu 2 ml de chá das sumidades floridas de *A. millefolium*, e o grupo 3 recebeu 2 ml de chá das folhas de *A. millefolium*, sempre por gavagem. A avaliação da analgesia foi determinada com o auxílio de uma lâmpada de projeção de calor adaptada à partir da descrição de Kamerling *et al.* (1985a,b). O teste para avaliação da LRR utilizado foi desenvolvido em trabalho descrito por Mataqueiro (1998). A LRR foi medida em intervalos de tempo de 30, 60, e 90 minutos após a administração dos chás.

As análises estatísticas foram feitas através da comparação das médias por análise de variância seguidas da aplicação do teste de Tukey, estabelecendo-se o nível de significância em 5%.

#### 4. Teste da Latência para o Reflexo de Retirada da Cauda (LRRC) utilizando-se estímulo táctil e animais com dor inflamatória induzida.

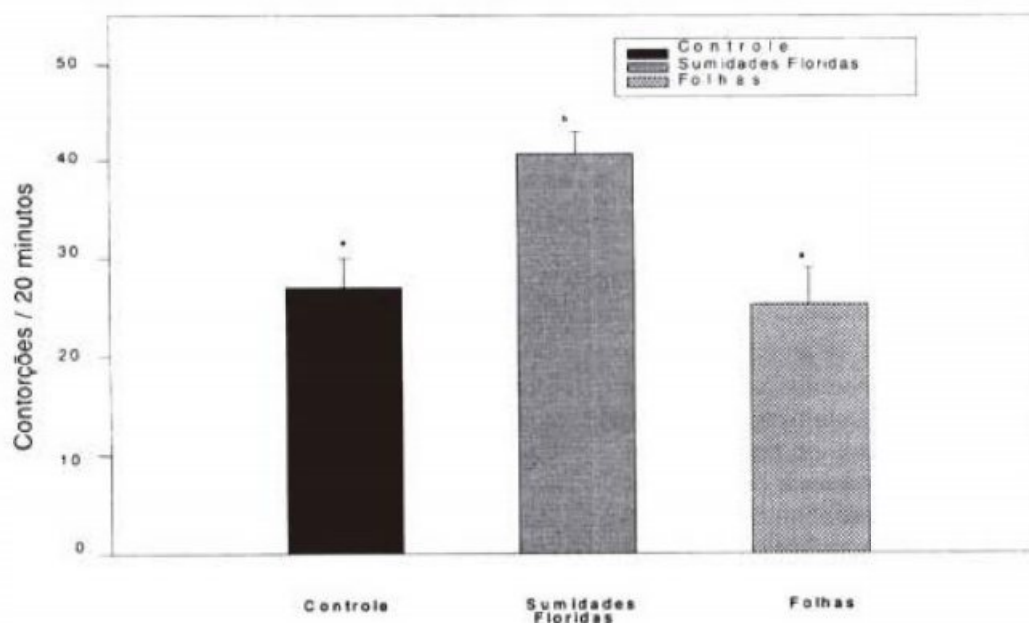
Neste teste, foram utilizados três grupos de 10 ratos Wistar, adultos e machos para avaliação da dor induzida. Foi realizada uma incisão de 1cm de comprimento na base da cauda de cada animal previamente anestesiado. Os ratos eram colocados, então em caixas com ração e água até a manhã seguinte, quando administrou-se por gavagem, 2ml de água destilada aos ratos controle, 2mL de chá da sumidade florida nos animais do grupo II, e a mesma quantidade de chá das folhas da *A. millefolium* nos animais do grupo III. Decorridos 30 minutos da administração colocava-se um rato de cada vez na caixa de contenção, de maneira que sua cauda ficava do lado de fora, esse animal era coberto com jornal no intuito de escurecer o local e diminuir o estresse.

Com um aparelho de von Frey eletrônico (IITC Inc. Woodland Hills, Califórnia, EEUU) modelo 1601 C que registrava, em gramas, a pressão exercida sobre a cauda dos ratos que levava os mesmos a retirarem a cauda, fugindo do estímulo nociceptivo, caracterizado pela compressão exercida pela ponteira do aparelho ao redor da área incisada. Essa leitura era

padronizada e repetida três vezes, a fim de que se obtivesse uma média.

#### RESULTADO E DISCUSSÃO

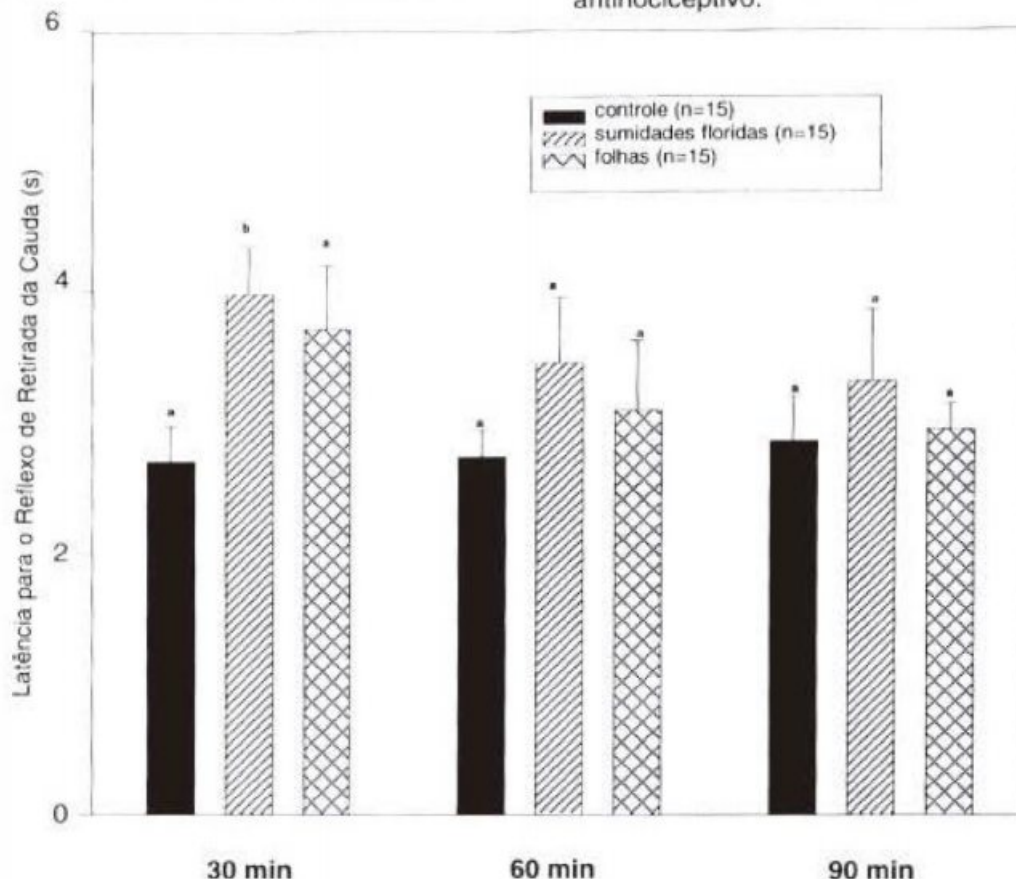
Conforme pode ser observado na Figura 1, relacionada com o teste das contorções em camundongos, é possível observar um aumento significativo no número de contorções dos animais que receberam o chá a 15% das sumidades floridas, mas não no número de contorções dos camundongos que receberam o chá das folhas da *A. millefolium*, comparando-se ambos os grupos acima citados com o grupo controle, o qual recebeu água. Este resultado, aparentemente surpreendente, não aponta para o uso desta planta, seja na forma de chá a 15% das folhas ou mesmo das sumidades floridas como analgésico. Por outro lado foi observado, também, que os animais do grupo que recebeu chá das sumidades floridas apresentaram fezes amolecidas, evidenciando um aumento no trânsito intestinal. Este fato, caso se deva a um aumento da contratilidade do músculo liso intestinal, poderia explicar o aumento do número das contorções, observado neste grupo, pois o desconforto abdominal causado pelo aumento da contratilidade poderia influenciar o resultado do teste das contorções.



**FIGURA 1** - Medida do número de contorções em camundongos por 20 minutos de observação, após administração do Chá à 15% das Sumidades Floridas e Folhas de *A. Millefolium* L. As barras verticais indicam o erro padrão das médias. Letras diferentes indicam diferença significativa entre as médias (Teste de Tukey,  $p < 0,05$ )

A Figura 2 demonstra que, os ratos que receberam o chá a 15% das sumidades floridas tiveram aumento na LRRC após os primeiros 30 minutos da administração do chá, em relação ao grupo controle, o que viria a comprovar o efeito antinoci-

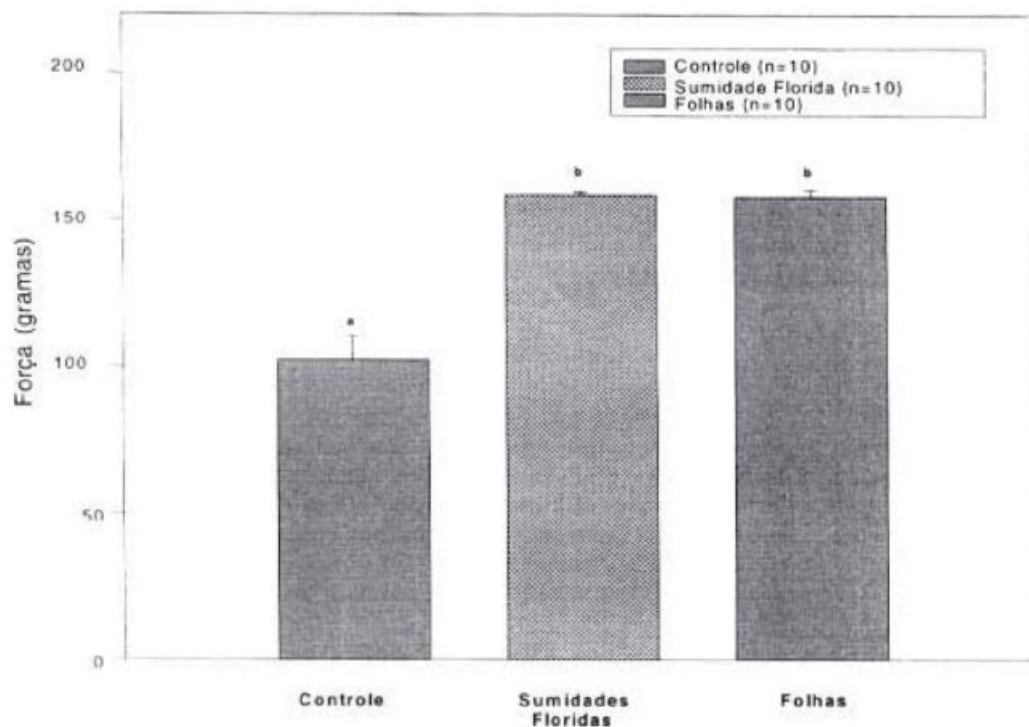
ceptivo da planta. De maneira diferente, quando se administrou aos animais o chá das folhas observou-se que este chá não foi capaz de aumentar de maneira significativa a LRRC, não sendo possível comprovar, para as folhas, efeito antinociceptivo.



**FIGURA 2-** Medida da Latência para o Reflexo da Retirada da Cauda (LRRC) de ratos nos tempos de 30, 60 e 90 minutos após a administração do chá à 15%. As barras verticais indicam o erro padrão das médias. Letras diferentes, no mesmo tempo indicam diferença significativa entre as médias. Teste de Tukey ( $p < 0,05$ )

Conforme descreve Spinosa *et al.* (1996), a dor periférica é iniciada pelos mediadores químicos da inflamação: bradicinina e histamina, sendo que as prostaglandinas amplificam os processos de estímulo doloroso, por diminuírem o limiar dos nociceptores periféricos. A análise da Figura 3 mostra a capacidade antihiperálgica dos chás de *A. millefolium*. Nesses experimentos, em que desencadeávamos o processo inflamatório, por meio da injúria prévia na cauda dos ratos, ficou claro o efeito de ambos os chás, aumentando o limiar doloroso, caracterizado pela necessidade de aumento da força necessária para o desencadeamento do reflexo de esquiva (retirada da cauda). Esses resultados são concordantes

com os de Müller Jakic *et al.* (1994) que comprovaram a inibição "in vitro" da cicloxigenase e da 5-lipoxigenase por alguns dos alcâmidos da planta que atuam inibindo, competitivamente, essas enzimas relacionadas ao processo inflamatório. A cicloxigenase e a 5-lipoxigenase são as enzimas-chave de duas vias metabólicas clássicas do metabolismo do ácido araquidônico, que levam à formação de prostaglandinas e leucotrienos, respectivamente. As prostaglandinas PGI<sub>2</sub> e PGE<sub>2</sub> estão estreitamente relacionadas com os processos hiperálgicos, uma vez que a dor periférica, iniciada pela bradicinina e histamina, é amplificada pelas prostaglandinas conforme anteriormente explicado.



**FIGURA 3** - Força em gramas, exercida com auxílio de um aparelho de von Frey eletrônico, necessária para induzir esquiva, através da retirada da cauda de ratos com injúria prévia, pré-tratados ou não com sumidades floridas ou folhas de *A. millefolium*. As barras verticais indicam o erro padrão das médias. Letras diferentes indicam diferenças estatísticas significativas entre as médias. Teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

## CONCLUSÃO

Pode-se concluir neste trabalho que o chá a 15% das sumidades floridas de *A. millefolium* possui efeito analgésico sobre a dor inflamatória. Além disso, o chá das sumidades floridas apresenta, entre seus componentes, substância capaz de causar aumento da quantidade de água nas fezes, provavelmente devido a um aumento do trânsito intestinal.

## AGRADECIMENTO

Agradecemos ao Sr. Wanderley Alves e a Sra. Flora Helena Freitas D'Angelis pela colaboração durante os experimentos.

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- BALBACH, A. **A Flora Nacional na Medicina Doméstica volumes I e II**. 5. ed. São Paulo: A Edificação do Lar, s/d, v.1, p.1027-9.
- FONT QUER, P. **Plantas Medicinales**. 9. ed. Barcelona: Editorial Labor, 1985. p.1033.

- GUIN, J.D., SKIDMORE, G. Compositae dermatitis in childhood. **Archives of Dermatology**, v.123, p.500-2, 1987.
- GOLDBERG, A.S., MUELLER, E.C., EIGEN, E., DESALVA, S.J. Isolation of the anti-inflammatory principles from *Achillea millefolium* (compositae). **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 58, p.938-41, 1969.
- KARMEILING, S.G., DEQUICK, D.J. WECKMAN, T.J., TOBIN, T. Dose-related effects of fentanil on autonomic and behavioral responses in performance horse. **General Pharmacology**, v. 16, p 253-258, 1985a.
- KARMEILING, S.G., WECKMAN, T.J., DEQUICK, D.J., TOBIN, T. A method for studying cutaneous pain perception and analgesia in horse. **Journal of Pharmacological Methods**, v. 13, p. 267-274, 1985b.
- MARTINS, E.R., CASTRO, D.M., CASTELLANI, D.C., DIAS, J.E. **Plantas medicinais**. Viçosa: Imprensa Universitária, 1994, p. 218.
- MATAQUEIRO, M.I. **Estudo comparativo dos efeitos sedativos e/ou antinociceptivos de várias drogas em animais de laboratório**. Botucatu, 1998. 49p. Dissertação (Mestrado em Toxicologia) Universidade Estadual Paulista.

- MÜLLER JAKIC, B., BREU, W., PRÖBSTLE, A., REDL, K., GREGER, H., BAUER, R. "In vitro" inhibition of cyclooxygenase and 5-lipoxygenase by alkaloids from *Echinacea* and *Achillea* species. **Planta Medica**, v. 60, p.37-40, 1994.
- PENNA, M. **Dicionário brasileiro de plantas medicinais**. 3. ed. São Paulo: Livraria Kosmos, 1946. p.409.
- QUEIROZ-NETO, A., JUANG, S. J., SOUZA, K.R., AKAMATSU, A. Antinociceptive effect of amitraz in mice and rats. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 27, p.1407-11, 1994.
- SAUKEL, J., LÄNGER, R. Die *Achillea millefolium* Gruppe (Asteraceae) in Mitteleuropa, 1. **Phyton**, v. 31, p. 185-207, 1992a.
- SAUKEL, J., LÄNGER, R. Die *Achillea millefolium* Gruppe (Asteraceae) in Mitteleuropa, 2. **Phyton**, v. 32, p. 47-78, 1992b.
- SCHAUENBERG, P., PARIS, F. **Guía de las plantas medicinales**. 2. ed. Barcelona: Ediciones Omega, 1977. p.420.
- SPINOSA, H.S., GÓRNIK, S.L., BERNARDI, M.M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. p. 646.