

Trabalho premiado em pesquisa clínica ou experimental ou apresentação de casuística
no XIX COMUABC do Prêmio Nylceo Marques de Castro

— 1.º LUGAR —

“CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DOS EFEITOS FARMACOLÓGICOS
DA *Maytenus ilicifolia*, MARTIUS (“ESPINHEIRA SANTA”).” *

“CONTRIBUTION TO THE STUDY OF THE PHARMACOLOGICAL EFFECTS
OF *Maytenus ilicifolia*, MARTIUS (“ESPINHEIRA SANTA”).”

CIOCLER, Elaine **
YMAYO, Marcos Roberto **
MOREIRA, Ronaldo de Colla ***
ANDRADE Jr., Alvaro F. ****
AKISUE, Maria *****
CABRAL, Myriam *****

RESUMO: “Com a finalidade de contribuir ao estudo dos efeitos farmacológicos da “Espinheira Santa”, realizamos os seguintes experimentos com seus respectivos resultados:

Determinação da DL_{50} em camundongos: não foi menor que 80 mg/kg.

Ação sobre o tumor de Erlich em camundongos: não constatada.

Dolorimetria em ratos: a droga possui efeito analgésico.”

UNITERMO: *Maytenus ilicifolia* * — nome científico da planta brasileira “Espinheira Santa”.

1. INTRODUÇÃO

A planta *Maytenus ilicifolia*, Martius, popularmente conhecida pelo nome de “Espinheira Santa”, “Sombra de Toro”, “Cangorosa”, entre outros (4), é encontrada no sul do país e usada na forma de “chá” com as seguintes finalidades (6, 2, 9): analgesia, distúrbios gastrointestinais, ação contraceptiva, diurético e cicatrizante.

Foram descritos (8) casos de redução de tumor de estômago e de linfopitelioma em pacientes, pelo uso de Maitenina, suposto princípio ativo do extrato.

Carlini, E.L.A. e Cols. (3), descreveram várias atividades farmacológicas do abafado de *Maytenus ilicifolia*, Martius.

Devido ao seu intenso uso popular para fins médicos, procuramos complementar o estudo farmacológico da planta.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Determinação da DL_{50}

Trinta e seis camundongos BALB C, isogênicos, machos, de 20 g, foram divididos em grupos de 9. Em seguida foram injetadas, via peritoneal, as seguintes doses do extrato alcoólico das folhas de *Maytenus ilicifolia*, Martius:

- * 7,5 mg/kg de extrato diluído em H_2O ;
- * 15 mg/kg de extrato diluído em H_2O ;
- * 30 mg/kg de extrato diluído em H_2O ;
- * 75 mg/kg de extrato diluído em H_2O ;

Leituras realizadas após uma e vinte e quatro horas da injeção.

2.2. Ação sobre o tumor de Erlich

O trabalho foi realizado usando-se camundongos machos e fêmeas, BALB-C, isogênicos, pesando entre 20 a 30 g.

O tumor de Erlich foi mantido por transplante na forma ascítica. Para a experiência o líquido peritoneal foi retirado assepticamente. Uma alíquota foi corada pelo líquido de Turk e o número de células/ml determinado por leitura na câmara de Neubauer. Preparou-se uma diluição com solução fisiológica, que contivesse 5×10^5 (5) células/0,1 ml.

Utilizamos dois grupos de camundongos inoculados com tumor de Erlich por via peritoneal com 0,1 ml de diluição (5×10^5 células). Ao primeiro grupo aplicou-se 0,1 ml de solução fisiológica por via intramuscular três vezes por semana. O segundo grupo recebeu 7,5 mg/kg de peso de *Maytenus ilicifolia*, M. (extrato alcoólico 30%, o que comprovadamente não influenciou nos resultados) por via intramuscular três vezes por semana. A dose foi escolhida após experiências nas quais se constatou que esse regime de aplicação a camundongos hígidos durante 25 dias ensejava uma proporção de mortos praticamente igual a de um lote de camundongos que recebia solução fisiológica.

Os animais foram observados diariamente por 22 dias, sendo anotado o número de animais mortos em cada dia. A proporção de mortos em cada grupo foi analisada pela Tábua de Sobrevida (Tabela I).

* Trabalho realizado no Laboratório de Farmacologia da Faculdade de Medicina da Fundação do ABC.

** Acadêmico do 3.º ano da Faculdade de Medicina da Fundação do ABC.

*** Acadêmico do 6.º ano da Faculdade de Medicina da Fundação do ABC.

**** Técnico de Laboratório de Farmacologia da Faculdade de Medicina da Fundação do ABC.

***** Prof.ª Dra. Assistente da Disciplina de Biofarmacognosia da Universidade de São Paulo.

***** Prof. Assistente da Faculdade de Medicina da Fundação do ABC.

2.3. Dolorimetria (5)

Foi usado um pirógrafo modelo escolar, ajustável para fornecer quatro intensidades de calor.

Dezesseis ratos Wistar, machos, albinos, de 250 g a 300 g cada, divididos ao acaso em um grupo de 10 e outro de 06. Cada rato foi marcado na cauda com tinta nanquim para uniformizar a absorção de calor.

A seguir o animal foi seguro com um pano sobre a cabeça para não ser influenciado pelo ambiente. Sua cauda foi colocada em baixo e a uma distância fixa do filamento do pirógrafo. Ao se ligar o aparelho esperou-se o filamento encandescer, disparou-se um cronômetro e mediu-se o tempo que o animal levou para retirar a cauda do estímulo doloroso (a tolerância do animal em segundos serviu para avaliar a intensidade dolorosa). As medidas foram feitas antes da injeção da droga e após 15 minutos da sua administração. O tempo máximo de exposição da cauda foi de 60 segundos para evitar lesão.

3. RESULTADOS

O valor da DL50 encontrado não foi menor que 80 mg/kg.

A tabela I mostra a tábua de sobrevivência dos camundongos injetados com tumor de Erlich e tratados com extrato de "Espinheira Santa" e com solução fisiológica.

Como todos os animais tratados morreram antes do óbito do primeiro animal do grupo controle podemos concluir que a droga acentuou a letalidade do tumor.

As tabelas II e III mostram que a resposta ao estímulo doloroso dos animais tratados com o extrato de "Espinheira Santa", frente ao grupo controle (solução hidroalcoólica 0,30%), aumentou. Submetidos os resultados ao Teste T de Student, as diferenças entre os dois grupos foram estatisticamente significativas: $T > 1,83$ (tabela IV).

4. DISCUSSÃO

O grande uso popular da "Espinheira Santa" provocou interesse de diversos pesquisadores no estudo de seus efeitos farmacológicos.

Carlini, E.L.A. e Cols. (3) descreveram os efeitos da droga na sua ação anti-úlceras péptica. Por via oral não conseguiu determinar efeitos centrais da droga. Também não evidenciou, por via oral, os efeitos analgésicos usando o método da placa quente.

Santana, C.F. e Cols. (8), baseados na semelhança química entre a maitenina e a pristimerina, a qual apresentou atividade anti-tumoral em camundongos portadores do tumor de Erlich, empregaram a maitenina (princípio ativo supostamente encontrado no extrato) (1-8) em pacientes cancerosos, relatando diminuição da massa tumoral em alguns casos.

Objetivando complementar os estudos anteriormente referidos, determinamos a DL50 do extrato por via parenteral, assim como procuramos quantificar o efeito analgésico e comprovar o efeito do extrato em tumor de Erlich.

A DL50 encontrada não foi menor que 80 mg/kg.

Para o estudo da analgesia verificamos que na dose de 7,5 mg/kg, bem menos que a DL50, obtivemos efeito analgésico.

Não conseguimos demonstrar qualquer efeito anti-tumoral do extrato em tumor de Erlich. No nosso trabalho a administração de extrato, via intramuscular, diminuiu acentuadamente a sobrevivência dos animais portadores de tumor de Erlich.

Todos os animais tratados morreram antes que houvesse óbitos no grupo controle. Por esta experiência não se pode dar qualquer embasamento para o tratamento clínico de tumor por extrato dessa planta.

5. CONCLUSÃO

A DL50 encontrada não foi menor que 80 mg/kg.

Não se demonstrou efeito antitumoral em camundongos com tumor de Ehrlich.

O extrato de *Maytenus ilicifolia*, tem efeito analgésico na dose de 7,5 mg/kg em ratos.

6. AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Profa. Dra. Maria Akisue por ter identificado a planta e nos fornecido o extrato alcoólico de *Maytenus ilicifolia*, Martius.

SUMMARY: With the finality to contribute to the study of pharmacological effects of the "Espinheira Santa", we performed the next experiments with its respective results:

Determination of DL_{50} over mouse: not less than 80 mg/kg.

Action over the Erlich's tumor over mouse: without results.

Dolorimetry over mice: the extract has analgesic effect.

KEYWORD: *Maytenus ilicifolia* *.

TABELA I

Solução Fisiológica.

Per.	Número de Camundongos	Número de óbitos	Probabilidade de óbitos	Probabilidade de sobrevida	Probabilidade de sobrevida até o período
01	26	0	0	1	1
02	26	0	0	1	1
03	26	0	0	1	1
04	26	0	0	1	1
05	26	0	0	1	1
06	26	0	0	1	1
07	26	1	0,038	0,961	1
08	25	12	0,480	0,320	0,961
09	13	12	0,923	0,077	0,500
10	01	1	1	0	0,038
11	0				

Extrato de *Maytenus ilicifolia*, M.

Per.	Número de Camundongos	Número de óbitos	Probabilidade de óbitos	Probabilidade de sobrevida	Probabilidade de sobrevida até o período
01	25	1	0,040	0,960	1
02	24	0	0	1	0,960
03	24	2	0,083	0,917	0,960
04	22	7	0,318	0,682	0,88
05	15	12	0,800	0,200	0,60
06	03	3	1	0	0,12
07	0				

TABELA II

Dados originais do experimento.

1 — 10: extrato de *Maytenus ilicifolia*, M (7,5 mg/kg)
11 — 16: solução hidroalcoólica a 0,3%

Tempo de resposta medido em segundos.

Animal	Antes	Após 15 minutos
01	4	40
02	7	30
03	9	60
04	31	60
05	3	40
06	4	60
07	17	30
08	6	8
09	4	60
10	23	32
11	5	4
12	5	19
13	13	13
14	3	11
15	8	4
16	21	10

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BERNARDI, H.H.; WASICKY, M. A propósito da alegada existência da cafeína na *Maytenus ilicifolia*, Martius. *Trib. Farm.* 2:38-9, 1963.
- BERQUO, E.; MURILLO, M.R. *Análise de variância*. São Paulo, Departamento de Estatística aplicada da Faculdade de Higiene e Saúde Pública da Universidade de São Paulo, 1963. (Apostila)
- CARLINI, E.L.A. *Estudo de Ação antiúlcera gástrica de plantas brasileiras* (*Maytenus ilicifolia*, *Espinheira Santa* e outras). Brasília, 1988. (Mimeografado)
- CORREA, M.P. *Dicionário das plantas úteis do Brasil e das plantas exóticas cultivadas*. Rio de Janeiro, Imprensa Nacional, 1984, v. 4, pp. 138-9.

TABELA III

Médias dos dados obtidos.

Limiar da resposta dolorosa de ratos tratados com extrato de "Espinheira Santa" (animais de 1 a 10) na concentração de 7,5 mg/kg e com solução hidroalcoólica 0,3% (animais de 11 a 16), injetados, intraperitonealmente — tempo de resposta medido em segundos.

Drogas	Tempo Antes	Após 15 minutos
Extrato	10,8	42,0
Solução Hidroalcoólica	10,8	10,2

TABELA IV

Teste T de Student.

Teste	Média	Se.	Sem.
Extrato	31,2	19,51	6,7
Solução Hidroalcoólica	— 3,666	7,96	3,25

T crítico = 1,83

T obtido = 4,99 (significativo)

- DZIK, A.; BAIOSCHI, E.; REIS, G.C.; BIGONHA, J.G.; NEY-MANN, R.E. Dolorimetria: um equipamento alternativo. *Arq. Med. ABC*, 8(1-2):19-21, 1985.
- MANDICH, L.; BITTNER, M.; SILVA, M.; BARROS, C. Phytochemical screening of medicinal plants studies of flavonoids. *Rev. Latinoam. Quím.* 15(2):90-2, 1984.
- PEREIRA, M.V. Contribuição ao estudo do princípio ativo e outros constituintes básicos do *Maytenus ilicifolia*. *Rev. Bras. Quím.* 34(322):416-7, 1962.
- SANTANA, C.F.; ASFORA, J.; COTIAI, C.T. Primeiras observações sobre o emprego da maitenina em pacientes cancerosos. *Rev. Inst. Antibiot. (Recife)*, 11(22):37-49, 1971.
- STELLFELD, C. A *Espinheira Santa*. Contribuição ao estudo farmacognóstico. *Bel. assoc. brasil. pharm.*, 15:551-70, 1934.