



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E CULTURA – MEC
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ – UFPI
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO – PRPPG
Coordenadoria Geral de Pesquisa – CGP

Campus Universitário Ministro Petrônio Portela, Bloco 06 – Bairro Ininga
Cep: 64049-550 – Teresina-PI – Brasil – Fone (86) 215-5564 – Fone/Fax (86) 215-5560
E-mail: pesquisa@ufpi.br; pesquisa@ufpi.edu.br

ESTUDO PRÉCLÍNICOS DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE *Citrus limon* EM CAMUNDONGOS ADULTOS

Antonia Amanda Cardoso de Almeida (bolsista do PIBIC/CNPq), Rivelilson Mendes de Freitas (Orientador, Depto de Bioquímica e Farmacologia – UFPI)

Introdução

Citrus limon é popularmente conhecido como limoeiro, cujas folhas e frutos são aproveitados pela medicina popular para fins terapêuticos. O *C. limon* possui várias ações terapêuticas na medicina popular, como adstringente, antianêmico, antibiótico, antisséptico, antiemético, antidepressivo, antiinflamatório, antiespasmódico, bactericida, antirreumático e antidisentérico (VIEIRA, 1992; REZENDE, COCCO, 2002).

A avaliação da toxicidade de plantas medicinais e seus constituintes é extremamente necessária, uma vez que as reações tóxicas são um problema sério de saúde pública, os efeitos adversos dos fitomedicamentos, possíveis adulterações e toxicidade, bem como a ação sinérgica ocorrem comumente (VEIGA, et al, 2005). Devido ao uso popular, foi realizada a extração do óleo essencial das folhas de *C. limon* e sua análise por Cromatografia Gasosa, bem como foram avaliados os seus efeitos após administração subcrônica em parâmetros bioquímicos e hematológicos de camundongos.

Matérias e Métodos

O óleo essencial de *C. limon* foi obtido partindo-se de 1.100 g de folhas frescas trituradas e utilizando-se o sistema de hidrodestilação, em aparelho tipo Clevenger durante quatro horas.

Foram utilizados quarenta camundongos *Swiss* machos adultos correspondendo a quatro grupos (n=10/grupo) foram tratados durante 30 dias consecutivos, por via oral, com o óleo essencial de *C. limon* nas doses de 50, 100 e 150 mg/Kg dissolvido em Tween 80 0,05% (grupos OECL 50, OECL 100 e OECL 150), Tween 80 0,5% dissolvido em solução salina 0,9% (grupo controle). Ao final do tratamento, os animais foram submetidos a um jejum de 12 h e anestesiados com pentorbbital sódico 40mg/kg, via intraperitonal. Em seguida, foi feita à coleta de sangue por rompimento do plexo retro-orbital com auxílio de capilar de vidro (WAYNFORTH, 1980). O sangue foi acondicionado em dois tipos de tubo, um com anticoagulante HB (Laborlab®) para determinação dos parâmetros hematológicos e o outro, sem anticoagulante, para obtenção do soro para avaliação dos parâmetros bioquímicos.

Os valores serão expressos como média \pm erro padrão da média (E.P.M.). As diferenças entre os grupos serão determinadas através da Análise de Variância (ANOVA), seguida, quando detectada diferença, pelo teste *t*-Student-Newman-Keuls. O nível de significância foi de $p < 0,05$.

Resultados e Discussão

O tratamento crônico com OECL em camundongos nas doses de 50 e 100 mg/Kg, de forma geral, não induziu modificações no perfil bioquímico. Entretanto, os camundongos tratados com a dose de 150 mg/Kg do óleo essencial extraído de *C. limon* apresentaram a maioria dos parâmetros dentro da faixa de referência (VIJAYALAKSHMI et al., 2000). No entanto, para o valor da uréia, ácido úrico, triglicerídeos no grupo tratado com a maior dose, os quais diminuíram de forma significativa em 21, 11 e 8% quando comparados ao grupo controle, respectivamente, assim, como a AST que reduziu, respectivamente, em 9%, no grupo tratado com óleo essencial em relação ao grupo controle. A redução nos níveis plasmáticos de uréia e ácido úrico fornecem indícios de uma melhora da função renal, sugerindo uma diminuição do catabolismo proteico (DANTAS et al., 2006).

Com relação aos níveis séricos dos triglicerídeos foi detectada uma diminuição significativa nos camundongos tratados com a dose de 150 mg/Kg. Diante dos efeitos na redução sérica dos triglicerídeos pode ser sugerido o uso do o OECL no tratamento das dislipidemias (Tabela 1).

TABELA 1. Parâmetros bioquímicos obtidos do soro de camundongos *Swiss*, tratados com óleo essencial de *C. limon* por via oral durante 30 dias.

Parâmetros	Controle (n=10)	OECL 50 (n=10)	OECL 100 (n=10)	OECL 150 (n=10)
Glicose (mg/dL)	88,74 \pm 8,10	88,03 \pm 8,06	88,25 \pm 8,05	88,32 \pm 8,04
Uréia (mg/dL)	54,67 \pm 0,22	54,37 \pm 0,19	54,23 \pm 0,03	43,32 \pm 0,04 ^a
Creatinina (mg/dL)	0,36 \pm 0,01	0,37 \pm 0,02	0,35 \pm 0,01	0,33 \pm 0,02
Ácido úrico (mg/dL)	2,61 \pm 0,04	2,68 \pm 0,17	2,69 \pm 0,02	2,32 \pm 0,04 ^a
Triglicerídeos (mg/dL)	106,7 \pm 0,05	105,10 \pm 0,13	105,67 \pm 1,28	98,12 \pm 0,49 ^a
CT (mg/dL)	86,07 \pm 0,57	86,09 \pm 0,24	86,05 \pm 0,68	86,02 \pm 0,82
Proteínas totais (mg/dL)	6,64 \pm 1,03	6,28 \pm 0,92	6,23 \pm 0,94	6,32 \pm 0,84
AST (U/mL)	91,40 \pm 1,81	91,71 \pm 0,73	92,91 \pm 0,21	82,82 \pm 0,38 ^a
ALT (U/mL)	57,83 \pm 0,81	58,27 \pm 0,11	57,29 \pm 0,07	58,35 \pm 0,04
Fosfatase alcalina (U/l)	157,6 \pm 0,97	158,2 \pm 0,09	157,4 \pm 0,17	158,3 \pm 0,04
Bilirrubina total (mg/dL)	0,16 \pm 0,02	0,16 \pm 0,04	0,16 \pm 0,01	0,16 \pm 0,03
Bilirrubina direta (mg/dL)	0,12 \pm 0,02	0,12 \pm 0,01	0,12 \pm 0,01	0,12 \pm 0,02

Os valores representam a média \pm E.P.M. do número de animais usados nos experimentos. n – representa o número de animais em cada grupo. ^a $p < 0,05$, quando comparados ao grupo controle (ANOVA e teste *t* de Student–Newman–Keuls como *post hoc* teste).

De maneira semelhante, observou-se que o tratamento oral dos animais com o óleo essencial não alterou significativamente o perfil hematológico, embora tenham sido observadas mudanças nos leucócitos totais, neutrófilos, eosinófilos, linfócitos e monócitos. A contagem diferencial de neutrófilos, linfócitos, eosinófilos e monócitos revelaram pequenas flutuações, embora, dentro dos limites de referência (HARKNESS, WAGNER, 1993) e sem indicativo de importância clínica (Tabela 2).

Tabela 2. Parâmetros hematológicos de camundongos *Swiss*, tratados com óleo essencial de *C. limon* por via oral durante 30 dias.

Parâmetros	Controle (n=10)	OECL 50 (n=10)	OECL 100 (n=10)	OECL 150 (n=10)
Hemácias (mm ³)	8,64 ± 0,03	8,68 ± 0,02	8,60 ± 0,01	8,61 ± 0,04
Hemoglobina (g/dL)	14,37 ± 0,15	14,36 ± 0,09	14,33 ± 0,03	14,35 ± 0,04
Hematócrito (%)	44,15 ± 0,30	44,11 ± 0,13	44,16 ± 0,33	44,32 ± 0,04
VCM (fL)	49,67 ± 0,04	49,61 ± 0,51	49,55 ± 0,05	49,62 ± 0,04
HCM (pg)	16,64 ± 0,03	16,68 ± 0,11	16,63 ± 0,32	16,62 ± 0,49
CHCM (g dL ⁻¹)	36,50 ± 0,14	36,86 ± 0,36	36,17 ± 0,45	36,12 ± 0,45
RDW (%)	13,67 ± 0,04	13,29 ± 0,11	13,51 ± 0,02	13,52 ± 0,04
Plaquetas (mm ³)	292,40 ± 0,83	294,7 ± 2,28	292,90 ± 0,21	291,8 ± 1,75
Leucócitos totais (mm ³)	8,63 ± 0,03	8,60 ± 0,08	8,69 ± 0,06	8,44 ± 0,04 ^a
Neutrófilos (%)	18,66 ± 0,04	18,67 ± 0,09	18,63 ± 0,09	18,15 ± 0,04 ^a
Eosinófilos (%)	0,36 ± 0,02	0,37 ± 0,04	0,38 ± 0,05	0,31 ± 0,03 ^a
Linfócitos (%)	78,12 ± 0,31	78,41 ± 0,28	78,17 ± 0,15	74,33 ± 0,26 ^a

Os valores representam a média ± E.P.M. do número de animais usados nos experimentos. n – representa o número de animais em cada grupo. ^ap<0,05, quando comparados ao grupo controle (ANOVA e teste *t* de Student–Newman–Keuls como *post hoc* teste).

Conclusão

Através dos resultados conclui-se que a administração crônica do óleo essencial de *C. limon* não produz efeitos tóxicos sobre a maioria dos parâmetros bioquímicos e hematológicos estudados de camundongos *Swiss* adultos. Entretanto, diminuição dos níveis séricos de uréia e ácido úrico em camundongos tratados com OECL150 apontam para uma possível melhora da função renal, bem como a redução dos níveis de triglicerídeos sugerem seu uso no tratamento das dislipidemias. No entanto, aumento dos níveis de AST em camundongos tratados com o OECL na mesma dose sugere para possível sobrecarga da função hepática. Dessa forma, os efeitos farmacológicos e toxicológicos do OECL precisam ser investigados de forma mais detalhada.

Referências

- HARKNESS, S.E.; WAGNER, J.E. **Biologia e clínica de coelhos roedores**. São Paulo: Livraria Roca, 1993. 238 p.
- MATOS, F.J.A.; MACHADO, M.I.L.; CRAVEIRO, A.A.; ALENCAR, J.W. Essential oil of *Mentha x villosa* Huds. from Northeastern Brazil. **Journal of Essential Oil Research**, v.11, p. 41-4, 1999.
- REZENDE, H.A.; COCCO, M.I.M. A utilização de fitoterapia no cotidiano de uma população rural. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 36, n. 3, p. 282-8, 2002.
- VIEIRA, L.S. **Fitoterapia da Amazônia. Manual de plantas medicinais**. A farmácia de Deus. 2.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1992. 347 p.
- WAYNFORTH, B.H. **Injection techniques**. In: experimental and Surgical Techniques in the Rat. London: Academic Press, 1980.
- VIJAYALAKSHMI, T.; MUTHULAKSHMI, V.; Sachdanandam, P. Toxic studies on biochemical parameters carried out in rats with Serankottai nei, a siddha drug-milk extract of *Semecarpus anacardium* nut. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 69, n. 1, p. 9-15, 2000
- VEIGA, V.F.J. Estudo do consumo de plantas medicinais na Região Centro-Norte do Estado do Rio de Janeiro: aceitação pelos profissionais de saúde e modo de uso pela população. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, n. 2, p. 308-313, 2008.

Palavras-chaves: *C. limon*. Ensaios pré-clínicos. Toxicidade subcrônica.