

Atividade antiinflamatória da *Arnica montana*¹

Anti-inflammatory activity of Arnica montana

Fabricio Yui²

Maria Conceição Barbosa Linarelli³

Paulo Mário Zelante⁴

RESUMO

Devido a quase inexistência de estudos com relação a *Arnica* ao nível sistêmico, este estudo visa comprovar a atividade antiinflamatória da *Arnica montana*. A solução de *Arnica montana* utilizada neste experimento foi obtida a partir da tintura de *Arnica*. Foram utilizados 88 ratos Wistar, adultos (150-200g), e foram divididos em três grupos recebendo, por via oral o volume de 0,2ml/100g, para o grupo controle: água destilada com Tween, utilizado na diluição da solução de *Arnica*; no grupo experimental: solução de *Arnica montana* (10mg/ml) na dose de 20mg/kg; no grupo controle positivo: corticóide (Betametazona) na dose 1mg/kg. Após 60 minutos de tratamento foi medido o deslocamento da coluna de mercúrio, provocado pela imersão da pata posterior direita do rato até o maléolo lateral. A formação do edema, provocado pela administração de 0,1ml de formol foi avaliada também por deslocamento da coluna de mercúrio, nos tempos: 30, 60, 120, 180 e 240 minutos após a injeção do agente flogístico. Os resultados foram expressos como as diferenças de volume deslocado entre o tempo zero e os tempos subseqüentes. A *Arnica montana* mostrou atividade antiinflamatória quando provocou redução do edema da pata do rato provocado pelo formol em relação ao grupo controle da ordem de 49,2; 40,6; 37,5; 37,9 e 33,7% aos 30, 60, 120, 180 e 240 minutos respectivamente após a indução do edema. Esta ação foi menor do que a do corticóide, na primeira hora (73%) e praticamente igual nas horas subseqüentes (91, 97 e 90%). Pôde-se observar ainda, que os animais apresentaram um comportamento semelhante ao grupo controle, não demonstrando efeitos tóxicos da *Arnica* na dose utilizada.

Unitermos: arnica montana, antiinflamatórios, extratos vegetais, plantas medicinais.

ABSTRACT

A research was conducted to confirm the anti-inflammatory activity of *Arnica montana*. The *Arnica montana* solution used was obtained from *Arnica* tincture. This study used 88 Wistar rats, male and adults (150-200g), which were separated in three groups. Each group received orally 0.2ml/100g (volume by rat weight); the control group received distilled water with Tween (used to dilute the *Arnica* solution); the experimental group received *Arnica montana* solution (100mg/ml) in the dose of 20mg/kg; the positive control group received corticoid (betamethasone) in the dose of 1mg/kg. The dislocation of the mercury column, caused by the immersion of the right posterior foot of the rat until the lateral malleolus, was measured after 60 minutes of treatment. The edema caused by the administration of 0.1ml of formaldehyde

⁽¹⁾ Trabalho apresentado na III Jornada Paulista de Plantas Mediciniais da UNICAMP, em outubro de 1997.

⁽²⁾ Acadêmico do 4º ano do curso de Medicina, Monitor da Disciplina de Farmacologia da Faculdade de Ciências Médicas, Bolsista da

Coordenadoria de Estudos e Apoio à Pesquisa (CEAP) - PUC-Campinas.

⁽³⁾ Professora Adjunta, Coordenadora do Laboratório de Farmacologia da Faculdade de Ciências Médicas da Puc-Campinas.

⁽⁴⁾ Pesquisador convidado pela Disciplina de Farmacologia.

was evaluated by mercury dislocation at the following times: 30, 60, 120, 180 and 240 minutes after formaldehyde injection. The results were expressed by the difference of volume dislocation between zero time and subsequent times. The *Arnica montana* showed anti-inflammatory activity, causing reduction of the rat foot edema produced by formaldehyde, in relation to control group: 49.2, 40.6, 37.5, 37.9 and 33.7% at 30, 60, 120, 180 and 240 minutes respectively after the edema induction. Comparison after one hour showed that corticoid treatment was better than that with *Arnica montana* (73%), whereas after this period the effect observed was similar (91, 97 and 90%). It was also observed that the animals showed a behavior similar to the control group. No toxic effects of Arnica, in the dose used, were detected.

Keywords: *arnica montana*, anti-inflammatory agents, plant extracts, medicinal plants.

INTRODUÇÃO

O uso de plantas para curar doenças e alterar a mente data de longo tempo. O papiro de Ebers (1500 a.C.) registrou mais de 700 prescrições para várias doenças e, algumas dessas substâncias, depois de longos estudos, tiveram seus princípios ativos isolados e utilizados na terapêutica. Normalmente estes estudos iniciam-se com base em informações históricas e populares, e é de fundamental importância tanto na descoberta de novos medicamentos (isolando-se os princípios ativos), como também no aspecto que envolve o consumo de "remédios" caseiros. Este consumo é uma realidade e vem crescendo e segundo dados da Organização Mundial de Saúde, 80% da população de países em desenvolvimento se tratam com técnicas de medicina popular, e desse total, 85% usam extrato de plantas medicinais. No Brasil existem mais de 127 mil espécies diferentes de plantas sendo que algumas são utilizadas para fins medicinais na cura de certos males através de chás, pós e raízes. Para evitar o uso irresponsável e sem controle, pois folhas e raízes também têm efeitos colaterais e toxicidade, a pesquisa de plantas com potencial terapêutico pode respaldar ou desaconselhar este uso que poderá apresentar vantagens sobre os fármacos utilizados na terapêutica.

A *Arnica montana* tem sido empregada na terapêutica para distensões, hematomas, inchaço dolorosa, entorses e ferimentos em geral; para estes propósitos os extratos das flores e outras partes da planta tem sido empregada topicamente ou na forma de tintura^{2,9}. Embora considerada um remédio popular, a *Arnica do campo* demonstrou ter maior efeito cicatrizante que outras plantas quando comparada experimentalmente. Uma ação estimulante, que justifica seu emprego no tratamento das paralisias conseqüentes de lesão cerebral ou medular e mesmo para combater a fadiga e a estafa que sobrevêm depois dos exercícios físicos, também já foi descrita^{1,9}.

A *Arnica montana* L. é uma planta herbácea perene, que pertence à Família das Compostas Tunifloras¹⁸. É uma planta vivaz que se constitui de rizoma; haste simples; folhas ovais, de cor verde claro, reunidas em rosetas na base da haste e flores em inflorescência, solitárias, amarelas. Seus

sinônimos científicos são: *Caltha alpina*, *Chrysanthemum latif.*, *Parnica montana*^{4,6,9}.

Em estudos recentes encontram-se referências a composição do extrato preparado a partir de rizomas ou flores, e as ações que estas substâncias possam ter isoladamente^{3,5,8,12}. Como é o caso dos flavonóides que parecem interferir nas propriedades funcionais em células de mamíferos como por exemplo: mastócito, basófilo, linfócito, músculo liso e plaquetas¹¹. Alguns autores crêem que, com base nestas interferências, estes compostos possam apresentar atividades antiinflamatórias, antialérgicas, antivirais e anticarcinogênicas^{13,15,21}.

Devido a quase inexistência de estudos em relação a *arnica* em nível sistêmico, este estudo tem como objetivo avaliar a eficácia antiinflamatória do extrato da *Arnica montana*, por meio de um estudo comparativo com a Betametazona, um corticóide de ação prolongada com capacidade de reduzir acentuadamente ou suprimir os sinais típicos do processo inflamatório, quando administrado por via oral^{10,14,22}.

CONSTITUINTES QUÍMICOS DO EXTRATO DE ARNICA MONTANA

Identificaram-se diversos dos seus constituintes: inulina, glicose, taninos, resinas, ceras, um óleo do qual se isolaram os ácidos linoléico, linolênico, mirístico e palmítico; hidrocarbonetos parafínicos, ácidos diversos (fórmico, angélico, málico, caféico, gálhico); um princípio amargo e acre, cristalino e não azotado, conhecido por arnicina, mais abundante nas flores do que nos rizomas; colona, vários carotenóides: isolaram-se dois dióis triterpenóides do grupo taraxastano, insaturados, isoméricos pela posição das duplas ligações e pela epimeria dos hidroxilos, o arnidiol (ou arnisterina e arnidendiol) e o faradiol (ou isso-arnidendiol), extraídos depois de muitas outras compostas de flores amarelas (*Tussilago farfara* L., *Taraxacum officinale* Weber, *Calendula officinalis* L., e outros); também foi encontrada a sitosterina e uma outra detona-esterina desconhecida.

Isolaram-se, por cromatografia em papel, três heterósidos flavonólicos, a isoquercitrina, o quercetol-3 glucogalacturonídeo e a astragalina (campferol-3-glicósido) e alguns derivados de núcleo cromona ou benzo-g-pirona, como a eugenina (2-metil-5-hidroxi-7-metoxicromona) e outros com estruturas semelhantes.

Finalmente, possuem essência, em proporção diversa, mais abundante nos rizomas (0,5 a 1,5%) do que nas flores (0,04 a 0,14%). A das flores, ainda pouco estudada, contém ésteres metílicos dos ácidos fórmico, butírico, valeriânico, laurico, palmítico, acético e isobutírico e a dimetiltimo-hidroquinona. Lembrando que na flor foram achados também arnicina, glucose, amisterina, arnicafina (alcalóide), fitosterina, ácidos málico e tânico. A essência dos rizomas, melhor conhecida, encerra também o éter dimetílico da timo-hidroquinona, cerca de 80%, e o éster isoburírico do florol, cerca de 20%; ainda em quantidades muito pequenas, o éter metílico do florol. Também formam constituintes como a inulina, ácido acético, málico e tânico e matérias resinosas.

Do rizoma da arnica isolaram, há pouco, por cromatografia em colunas de óxido de alumínio, o timol e alguns dos seus éteres, como o metil-timol, o éter dimetílico do 6-hidroxitimol e o seu D₈₍₉₎-desidroderivado; ainda, o 3-etil-fenol e um outro fenol desconhecido. E entre os compostos característicos da Compostas referem-se: trideca-1-eno-3,5,7,9,11-penta-ino, trideca-3,5,7,9,11,-penta-ino-2-ona e trideca-1,11-dieno-3,5,7,9-tetra-ino^{6,18,20}.

MATERIAL E MÉTODOS

Preparação da *Arnica montana*

a) Obtenção da tintura de *Arnica*

Arnica, flores, em pó (I) (200g)

Álcool diluído (Q.S.)

Para obter 1000cm³.

Umedeça a planta com 500cm³ do álcool diluído, introduza-a num percolador e, sem comprimir, bem tampado, deixe em repouso, durante 24 horas; comprima então moderadamente e proceda vagarosamente à percolação, adicionando mais álcool diluído; quando o percolato medir 250cm³ suspenda o escoamento, faça macerar a planta mais 12 horas e depois recolha mais 250cm³ de percolato; faça mais uma vez macerar a planta durante 12 horas e continue vagarosamente a percolação adicionado mais álcool diluído, até obter 1000cm³ de tintura⁶.

b) Preparação da solução experimental

A solução de *Arnica montana* utilizada neste experimento foi obtida a partir da tintura de Arnica (Laboratório Catarinense S.A.). Após pesar um bécker seco, pipetou-se 40ml da tintura de arnica (descrição acima) sem tocar no bécker, sendo este deixado por 12 horas em estufa 40°C para secagem. O extrato seco, cuja massa foi avaliada através de nova pesagem do bécker, foi diluído com água destilada e 4 gotas de Twenn (solvente) em solução contendo 10mg/ml.

Procedimento experimental

Para este ensaio foram utilizados 88 ratos Wistar, adultos, pesando entre 150 e 200g, obtidos nos biotérios da Puc-Campinas e da USP.

Os animais foram divididos em três grupos: o grupo controle recebeu por via oral (V.O.) o volume de 0,2ml/100g de rato do veículo (água destilada com Tween) utilizado na diluição da solução de *Arnica*; o grupo controle positivo recebeu, por V.O., o mesmo volume/peso de Betametazona (solução de 0,5mg/ml) na dose de 1mg/kg; e o grupo experimental recebeu, também por V.O., o mesmo volume/peso da solução de *Arnica montana* (10mg/ml) na dose de 20mg/kg. Após 60 minutos do tratamento, foi medido o deslocamento da coluna de mercúrio, provocado pela imersão da pata posterior direita do rato até o maléolo lateral, em um recipiente maior com graduação por ml, contendo mercúrio, conectado por um sistema de vasos comunicantes a um outro recipiente menor com graduação de 0,1ml. Depois de adequado o volume de mercúrio do recipiente maior, na mesma graduação anterior a imersão, foi medido o deslocamento no menor, registrando o volume exato da pata do rato. Após esta medição foi injetado na região subplantar da pata posterior direita 0,1ml de formalina 5% (um agente flogístico) e medido o deslocamento imediatamente após esta administração (tempo zero). A formação do edema provocado foi avaliada também por deslocamento da coluna de mercúrio, registrando as variações de volume mediante a imersão das patas dos animais no recipiente maior nos seguintes tempos: 30; 60; 120; 180 e 240 minutos após a injeção do agente flogístico. Os resultados foram expressos com as diferenças de volume deslocado, pela pata, entre o tempo zero (imediatamente após a administração de formalina na região subplantar da pata) e os tempos subsequentes¹⁹.

RESULTADOS

O sistema de deslocamento da coluna de mercúrio, registrou as variações do volume ocupado pela imersão da pata do animal (sempre a mesma). No experimento, o tempo zero foi considerado imediatamente após a injeção subplantar de formalina, já que a diferença obtida antes da administração de formol e após a administração de formol foi de 0,1ml (volume injetado), considerando, portanto, a ausência de reações ao agente neste tempo.

Os deslocamentos provocados pela pata nos tempos subseqüentes: 30; 60; 120; 180 e 240, foram considerados como o edema resultante, na pata do animal, pela agressão

do agente flogístico: na presença (experimental e controle positivo) ou não (controle) das substâncias administradas previamente (60 minutos antes). Portanto, considerou-se os resultados obtidos nos animais controles como uma reação inflamatória normal à formalina (diferença entre a pata normal e a pata com inflamação em diferentes tempos), e os resultados apresentados com os animais do controle positivo (Betametasona) e experimental (*Arnica*) como o resultado entre a agressão, do agente flogístico, e a ação das substâncias administrada previamente.

Os resultados apresentados na Tabela 1 e na Figura 1 abaixo, demonstram que este edema foi menor na presença do

Tabela 1. Médias de deslocamento da coluna de mercúrio em cm³, obtidas a partir do deslocamento provocado pelo edema formado na pata do rato. (diferenças de volume deslocado, pela pata, entre o tempo zero: imediatamente após a administração de formalina na região subplantar da pata, e os tempos subseqüentes).

Tempo (em minutos)	Zero	30	60	120	180	240
Controle	0	0,4426	0,6796	0,9185	1,0259	1,0519
Arnica	0	0,2250	0,4039	0,5737	0,6368	0,6974
Corticóide	0	0,1478	0,3065	0,5435	0,6261	0,6522

Tabela 2. Porcentagem de redução do edema da pata de rato em relação ao grupo controle.

Tempo (em minutos)	Zero	30	60	120	180	240
Arnica	0	49,16	40,56	37,54	37,92	33,70
Corticóide	0	66,60	54,89	40,82	38,97	37,99

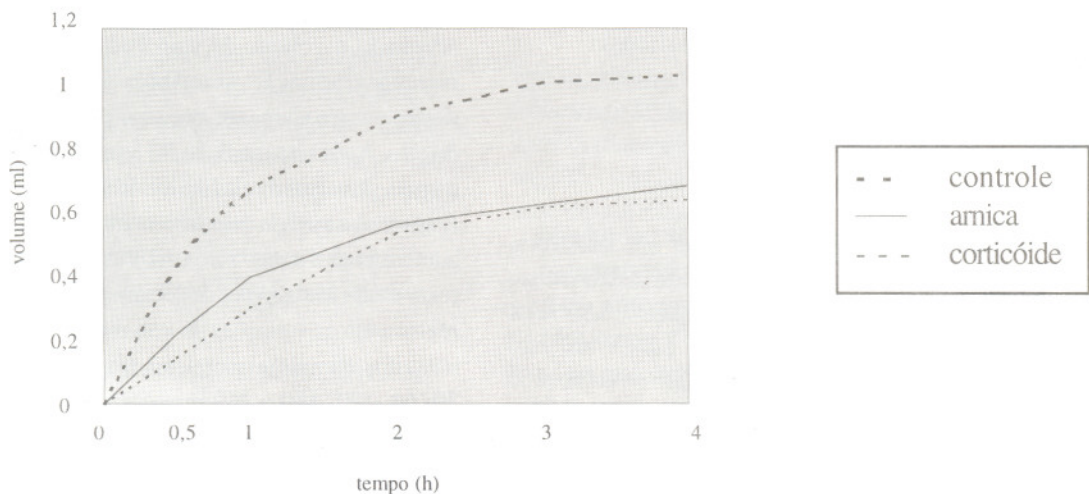


Figura 1. Curva comparativa do grupo *Arnica montana* com os grupos controle e corticóide (dados da tabela 1).

corticóide e na presença da *Arnica montana*, em relação ao controle, ou seja, o edema formado no animal controle foi significativamente maior que nos grupos controle positivo e experimental. Na Tabela 2, observou-se a porcentagem de redução do edema provocados pela *Arnica* e pela Betametazona em relação ao grupo controle, ou seja, quanto menor foi (em porcentagem) o edema formado nos animais controle positivo e experimental em relação aos animais controle.

Observou-se ainda que estes animais, administrados com *Arnica*, apresentaram, durante todo o experimento, um comportamento semelhante ao apresentado pelo grupo controle e controle positivo, não demonstrando alterações comportamentais, e macroscopicamente não foram observadas alterações fisiológicas que não as provocadas pelo estresse (manipulação) e que foram semelhante às observadas nos dois grupos controles.

DISCUSSÃO

O processo inflamatório envolve um grande número de mediadores químicos e cada aspecto da resposta (vasodilatação, aumento da permeabilidade, acúmulo de células, etc.) pode ser produzido por um mecanismo diferente. Os corticóides inibem as manifestações tanto iniciais quanto tardias do processo, reduzindo todos os tipos de resposta à inflamação, inclusive por estímulos químico^{10,22}, sendo portanto um bom padrão de comparação para os estudos iniciais sobre a atividade antiinflamatória da *Arnica montana*.

A *Arnica* tem na sua composição química flavonóides como demonstrado por cromatografia em papel. Flavonóides podem alterar as propriedades funcionais de certas células como: mastócitos, basófilos, músculo liso ou plaquetas⁷. Estas alterações ocorrem através da interferência com um grande número de sistemas enzimáticos, principalmente nas enzimas que participam da formação dos mediadores do processo inflamatório, como é o caso da Fosfolipase A2, Fosfolipase C, lipo e ciclooxigenase^{16,17}.

Estes resultados sugerem para o extrato de *Arnica* uma atividade antiinflamatória e nos permite as seguintes conclusões:

- O uso da *Arnica montana* mostrou eficácia antiinflamatória, reduzindo o edema de pata de rato provocado pela administração de formalina em relação ao grupo controle. Este efeito comparado ao do corticóide (betametazona) foi menor, mas não significativamente diferente.

- O efeito supressor da *Arnica* se manteve durante todo o experimento (semelhante à ação do corticóide) o que

sugere que a ação antiinflamatória possa estar relacionada a diferentes mecanismos ou mesmo a diferentes mediadores.

- As substâncias responsáveis pelas ações antiinflamatórias foram eficientemente absorvidas por via oral, já que na dose administrada observou-se eficácia antiinflamatória inclusive nos tempos iniciais.

- A dose de *Arnica* empregada não provocou efeitos tóxicos (nem excitação, nem depressão do Sistema Nervoso Central) já que os animais apresentaram, durante todo o experimento, um comportamento normal, semelhante ao do grupo controle.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ACCORSI, W.R., BARROS, M.A.A., ROCHELLE, L.A. *Apontamentos sobre plantas tóxicas e medicinais*. Piracicaba, 1982. p.96. Promovido pelo Departamento de Botânica/ESALQ/USP.
2. *ARNICA montana* dans les traumat de la face. *Anuário Oto-Laryng*, Paris, n.1-2, p.94. 1976. (Seance Du).
3. BUSSE, W.W., KOPP, D.E., MIDDLETON JR, E. Flavonoid modulation of human neurotrophil function. *J Allergy Clin Immunol*, St. Louis, v.73, p.801-809, 1984.
4. CAIRO, N. *Guia de medicina homeopática*. 21.ed. São Paulo : Livraria Teixeira, 1988. p.168-172.
5. COCHET, C. et al. Selective inhibition of a cyclic nucleotide independent protein kinase (G type casein kinase) by quercetin and related polyphenols. *Biochem Pharmacol*, Oxford, v.31, p.1357-1361, 1982.
6. COSTA, A.F. *Farmacognosia*. 5.ed. Lisboa : Fundação Calouste Gulbknian, 1994. v.1, p.752-755.
7. CRAKER, L., SIMON, E., LANES E. *Herbs, spices, and medicinal plants: recent advances in botany, horticulture, and pharmacology*. New York : Orix Press, 1988. v.3, p.103-144.
8. DAVIS, F.B., MIDDLETON JR., E., DAVIS, P.J., BLAS, S.D. Inhibition by quercetin of thyroid hormone stimulation *in vitro* of human red blood cell Ca²⁺- ATPase activity. *Cell Calcium*, Edinburg, v.4, p.71-81, 1983.
9. DOMINGO NETO, A.L. *Efeitos cicatrizantes e antimicrobianos das plantas medicinais*. Piracicaba: UNICAMP, 1991. p.31,80. Dissertação (Mestrado em Odontologia)-Unicamp, 1991.

10. GOODMAN, L.S., GILMAM, A.G. *As bases farmacológicas da terapêutica*. São Paulo : McGraw-Hill do Brasil, 1997. p.1086-1099.
11. GRYGLEWSKI, R.J., ROBAK, J., SWIES, J. Flavonoids lipoxigenases: platelet aggregation. *NATO Advanced Studies Institutes*. v.95, p.149-166, 1985. (Serie A).
12. HACKETT, A.M. Plant flavonoids in biology and medicine: biochemical, pharmacological, and structure-activity relationships. New York : Alan R. Liss 1986. p.177-194.
13. KATO, R. et al. Inhibition of 2-O tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced tumor promotion and ornithine decarboxylase activity by quercetin: possible involvement of lipoxigenase inhibition. *Carcinogenesis*, New York, v.4, p.1301-1305, 1983.
14. KATZUNG-BERTTRAN, G. *Farmacologia básica e clínica*. 5.ed. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 1994. p.198-208.
15. KAZIRO, G.S.N. Metromidazolie (flagyl) and arnica montana is the prevention of post-surgical complications a comparative placebo controlled clinical trial. *Br J Oral Maxil-Fa Surg*, Edinburg, v.22, p.42-49, 1984.
16. LANNI, C., BECKER, E.L. Inhibition of neutrophil phospholipase A2 by p-bromophenylacetyl bromide, nordihydroguaiaretic acid, 5,8,11,14-eicosatetraenoic acid and quercetin. *Inter Arch Allergy Appl Immunol*, Basel, v.76, p.214-217, 1985.
17. LEE, T.P., MATTELIANO, M.L., MIDDLETON JR. E. Effect of quercetin on human polymorphonuclear leukocyte lysosomal enzyme release and phospholipid metabolism. *Life Sci*, Oxford, v.20, p.2765-2774, 1982.
18. MORGAN, R. *Enciclopédia das ervas e plantas medicinais*. São Paulo : Hemus, 1995. p.47.
19. PELEGATTI, I. et al. Novo método para ensaio da atividade de drogas com ação anti-inflamatória. *Rev Farm Bioquim USP*, São Paulo, v.8, n.2, p.177-182, 1970.
20. SCHRODER, H. et al. Helenalin and 11 α , 13-Dihydrohelenalin, two constituents from Arnica Montana L., Inhibit Human Platelet Function Via Thiol: dependent path ways. *Thrombosis Research*, Elmsford, v.57, p.838-845, 1990.
21. WELTON, A.F. et al. Effect of flavonoids on arachidonic acid metabolism. In: CODY, V.E., MIDDLETON JR., E., HARBORNE, J.B. (Eds.). *Plant flavonoids in biology and medicine: biochemical, pharmacological, and structure-activity relationships*, New York : Alan R. Liss, 1986. p.231-242.
22. ZANINI, O. *Guia de medicamento*. São Paulo : Atheneu, 1995. p.104-108.

Recebido para publicação em 31 de outubro de 1997 e
aceito em 5 de maio de 1998.