

Mirtes Costa (\*\*), Luiz C. Di Stasi (\*\*), Clara R. Figueiredo (\*\*), Débora A. Garcia (\*\*), Neidmar da M. Moura (\*\*), Rosana de A. Ribeiro (\*\*), Cecília Gomes (\*\*\*), Gustaf Trolin (\*\*\*)

## RESUMO

Alguns efeitos farmacológicos da folha, talo e bulbo do alho foram investigados. Os extratos foram preparados por trituração em solução etanólica 50%. Após evaporação a concentração final foi ajustada para 100 mg sólidos/ml. A dose utilizada foi de 1 g sólidos/kg por via oral. Vários efeitos (discretos) foram observados em camundongos, tais como diarreia, ptose e piloereção. Em ratos observou-se efeito hipoglicêmico do bulbo, efeitos analgésicos e hiperalgésicos dos três extratos e em ratos com hipertensão espontânea (mas não em ratos normotensos) um pronunciado efeito antihipertensivo de longa duração.

## INTRODUÇÃO

Ao alho (*Allium sativum*) tem sido atribuído efeito hipolipêmico, hipotensor (Petkov 1979), hipoglicêmico (Jain et al., 1973; Jain & Vyas, 1975) e antimicrobiano (Rich, 1982) além do valioso efeito culinário. Quase todos os estudos tem sido dedicados ao bulbo. Apresentamos neste trabalho uma comparação entre alguns efeitos farmacológicos produzidos por extratos brutos de folha, talo e bulbo do alho.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados ratos Wistar, normais e espontaneamente hipertensos (SHR) e camundongos criados no Biotério da Escola Paulista de Medicina.

(\*) Estudo financiado pela FINEP.

(\*\*) Departamento de Farmacologia, Escola Paulista de Medicina, São Paulo, SP.

(\*\*\*) Bolsistas do CNPq.

## Extratos

Os extratos foram preparados por trituração da folha, talo ou bulbo a 5% (g/g) em solução etanólica a 50% num liquidificador. Após 2-8 dias o extrato foi filtrado, evaporado até 1/10 do volume inicial num rotavapor. O volume foi ajustado para o total final conter 100mg sólidos/ml de água.

O material para a preparação dos extratos procedeu de São Paulo e foi obtido de vendedores de verduras e legumes, em feiras-livres.

Todos os extratos foram administrados por via oral, na dose de 1 g sólidos/kg.

## Pressão Arterial

Foram utilizados ratos SHR e normotensos, de ambos os sexos, 3 a 5 meses de idade com peso entre 170 e 275 g. Os animais foram anestesiados com nembutal numa concentração de 50mg/kg.

O método utilizado foi o da canulação da artéria carótida esquerda, onde a canulação da artéria, passa-se a cânula subcutâneamente para a parte posterior do pescoço. Após o término da cirurgia foi administrado cardiazol numa concentração de 100mg/kg. As cânulas utilizadas foram de polietileno 50.

A pressão arterial foi determinada com os animais acordados no dia seguinte à cirurgia. Registrou-se a pressão basal, administrou-se o extrato e após isso, registrou-se a pressão durante um tempo mínimo de 6 horas.

## Glicemia

Ratos diabéticos foram obtidos por tratamento com aloxana (50 mg/kg i.v.) 48 horas antes da administração dos extratos.

A glicemia foi avaliada pelo método da glicose oxidase (Teuscher & Richterich, Barham & Trinder, 1972) utilizando-se o "kit" GOD-PAP Merck. Em resumo, o seguinte processo foi seguido: 10 µl de sangue foi coletado com micropipeta após punção de uma veia da cauda do animal. O sangue foi desproteínizado com 0,5 ml de ácido tricloroacético 0,3 M, centrifugado, e 200 µl do sobrenadante foi misturado com 2 ml do reagente enzimático. Após incubação à 37°C, 15 minutos, e mais 15 minutos à temperatura ambiente, a absorbância da amostra foi lida contra um branco e um padrão preparados juntamente com a amostra.

O grupo controle para cada extrato foi tratado com uma solução de glicose numa concentração correspondente à concentração de glicose do extrato.

## Comportamento Geral

Camundongos Fêmeas (24-31 g) foram divididos em três grupos com 5 animais cada. Os animais receberam os extratos de folha, talo ou bulbo de alho. Dois animais de cada grupo foram incluídos em cada grupo recebendo o volume equivalente de solução fisiológica 0,9%.

As observações foram feitas 0, 30', 1h, 2h, 3h, 4h e 24h após a administração. A avaliação dos parâmetros foi feita segundo Almeida et al., (1983).

## DL50 em Camundongos

Os efeitos dos extratos de folha, talo e bulbo de alho foram avaliados em camundongos fêmeas (25-33 g), com a administração de doses até 6 g/kg (p.o.), seguida de

servação dos animais por um período de 24h.

Os animais controle receberam volume equivalente de solução fisiológica 0,9%.

### **Analgesia**

A avaliação da atividade analgésica dos extratos de talo, bulbo e folha de alho foi executada em camundongos fêmeas, pesando entre 20 e 30 g, através de método padronizado por Siegmund *et al.*, (1975), que consiste na produção de uma síndrome típica caracterizada por contrações abdominais, torções no corpo e estiramento dos membros posteriores. Esta síndrome é produzida por injeção intraperitoneal (0,1 ml/10 g de peso corporal) de peróxido de benzoila a 10% em benzoato de benzila.

Após a administração deste agente irritante os animais foram colocados em caixas isoladas e procedeu-se a contagem destas contrações no período de 15 minutos, dividido nos intervalos de tempo de 0-2 min, 2-5 min, 5-10 min e 10-15 min, o que facilita a padronização das respostas.

Os extratos de talo, folha e bulbo de alho foram administrados aos 30,60,90 e 120 minutos antes da administração de peróxido de benzoila. Os animais do grupo controle receberam solução fisiológica 0,9% (v.o) em volume equivalente.

### **Estatística**

O teste t de Student foi utilizado para calcular as significâncias. Valores de p menores do que 5% tem sido considerados significantes.

## **RESULTADOS**

### **Pressão Arterial (Fig. 1a, b)**

No grupo de ratos normotensos tratado com o extrato de talo foi observado em um único animal um efeito hipotensor acompanhado de taquicardia. O efeito foi pronunciado e de duração relativamente curta (efeito máximo -37,5 mmHg; +130 bat/min aos 45min). Porém, observando os resultados nos grupos inteiros, nenhum extrato produziu um efeito significativo.

Nos grupos SHR todos os extratos produziram um efeito antihipertensor (aprox. -30 mmHg para a folha e talo e -20 mmHg para o bulbo). O efeito máximo foi obtido a partir de 4 horas após a administração dos extratos. No caso do talo, o efeito persistiu por 24 horas (o último intervalo de registro de pressão). Nos grupos folha e talo a frequência cardíaca mostrou uma ligeira tendência a aumentar durante as primeiras horas do efeito hipotensor.

### **Glicemia (Fig. 2a, b, c e 3a, b, c)**

A administração de glicose em concentrações equivalentes às encontradas nos extratos, geralmente resultou numa ligeira elevação da glicemia. O extrato da folha não provocou efeitos, o do talo apresentou uma ligeira tendência (n.s.) em aumentar a glicemia em ratos normais e diabéticos enquanto o extrato de bulbo baixou a glicemia em ratos diabéticos. A mesma tendência (n.s.) foi observada em ratos normais.

### **Comportamento Geral**

Folha: Até a primeira hora após a administração os animais apresentaram discreta piloereção e ptosis. Um relativo aumento na diurese e na defecação pode ser observado.

Talo: Pode-se observar uma discreta piloereção que persistiu até a 4ª hora após administração. Ptosis presente até a 2ª hora. Observou-se uma diminuição na micção e defecação.

Bulbo: Um ligeiro aumento na micção pode ser observado, persistente até o final das 24 hs. Discreta piloereção presente até a 4ª hora. Houve pequena diminuição no tônus das patas, e aumento na resposta ao toque.

### **DL50 em Camundongos**

Os extratos de folha, talo e bulbo de alho não provocam mortes até 24 h da administração, com doses até 6 g/kg.

### **Analgesia (Fig. 4a, b, c)**

Na observação dos resultados de atividade analgésica dos extratos de talo, bulbo e folha de alho, verificou-se que todos produziram analgesia e hiperalgesia. Os grupos do talo de alho (administrado 60 min antes do irritante) exibiram atividade analgésica mais pronunciada, diminuindo significativamente o número de contrações abdominais. O grupo da folha de alho (administrado 120 minutos antes do irritante) apresentou atividade hiperalgésica evidente em todos os intervalos de tempo.

De modo geral, ainda observa-se que nos intervalos menores entre a administração do extrato e do irritante, há uma tendência de se verificar efeitos analgésicos, enquanto que nos intervalos maiores há tendência de se promover hiperalgesia nos animais.

### **Efeitos Diversos Observados nos Ratos**

O extrato de bulbo provoca um aumento no volume de fezes e uma diminuição na consistência destas.

O extrato de folhas produziu em ratos SHR um efeito depressor sobre o comportamento.

O extrato de bulbo causou um quadro semelhante a lesões cerebelares ou hemiplegia. Este efeito só foi observado em ratos com cateter arterial implantado. A biópsia mostrou hemorragias no córtex renal e nos pulmões.

## **DISCUSSÃO**

Os resultados mostram que o alho pode produzir um largo espectro de efeitos farmacológicos além dos efeitos mais estudados, mencionados na introdução. Observamos mudanças no comportamento geral, na função intestinal, no sistema cardiovascular e metabólico. Observamos também efeitos que podem significar efeitos analgésicos e hiperalgésicos. Isto porém tem que ser estudado em detalhes para poder ser confirmado. Os efeitos obtidos com o método de "writhing" utilizado no presente estudo não mostra necessariamente só efeitos analgésicos ou hiperalgésicos (Siegmund *et al.*, 1957). De qualquer forma

ma os resultados obtidos com certeza significam uma interferência dos extratos no sistema nervoso e/ou na função da musculatura esquelética.

Dois resultados curiosos queríamos destacar: efeito depressor sobre o camundongo produzido pela folha e só observado em ratos com hipertensão espontânea e o efeito comportamental que parece ser devido a acidentes vasculares (Nagda, 1983) produzido pelo bulbo em ratos com cateter arterial implantado. Esses efeitos parecem-nos merecer estudos mais aprofundados.

O efeito hipoglicêmico relativamente discreto do bulbo aqui observado já é conhecido (Jain et al., 1975; Zacharias, 1980). Porém, o efeito hipoglicêmico produzido pelo bulbo não foi possível reproduzir com os extratos da folha e do talo.

O efeito mais pronunciado entre os aqui observados foi o efeito hipotensor. Curiosamente este efeito só foi possível observar em ratos hipertensos. O efeito parece assim mais um efeito antihipertensor do que hipotensor. Em um rato normotenso observamos um pronunciado efeito hipotensor acompanhado de taquicardia. Este efeito, porém, era mais imediato e de uma duração mais curta do que o efeito observado nos ratos hipertensos. Isto possivelmente pode significar a existência de mais do que um princípio ativo hipotensor no alho. O resultado mais significativo obtido neste estudo, acreditamos, é o efeito antihipertensor da folha e do talo. A eficácia destes extratos é comparável com qualquer outra substância antihipertensora (não hipotensiva) que conhecemos. O extrato do talo manteve a pressão dos ratos hipertensos normalizada durante 24 horas. Isto, junto com o fato de que a dose era de 1 g sólidos/kg e no camundongo doses até 6 g/kg eram ineficazes na tentativa de estabelecer uma  $DL_{50}$ , torna o alho uma planta de interesse para estudos mais aprofundados em busca de medicamentos antihipertensores.

#### AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Srta. Jussara (a Jū) Aparecida Marques Pereira pela valiosa assistência técnica prestada.

#### SUMMARY

Extracts were prepared by trituration in  $H_2O$ /ethanol (50/50 vol.). After evaporation the concentration of solids was adjusted to 100 mg/ml. A dose of 1 g solids/kg was administered p.o. Various discreet effects were observed in the mouse, such as diarrhea, ptose and piloerection. In rats the bulb decreased slightly the blood sugar, all three parts showed analgesic and hyperalgesic properties (dependent on the interval after the administration of the extract). In spontaneously hypertensive rats (but not in normotensive rats) all three extracts showed a pronounced and longlasting anti-hypertensive effect.

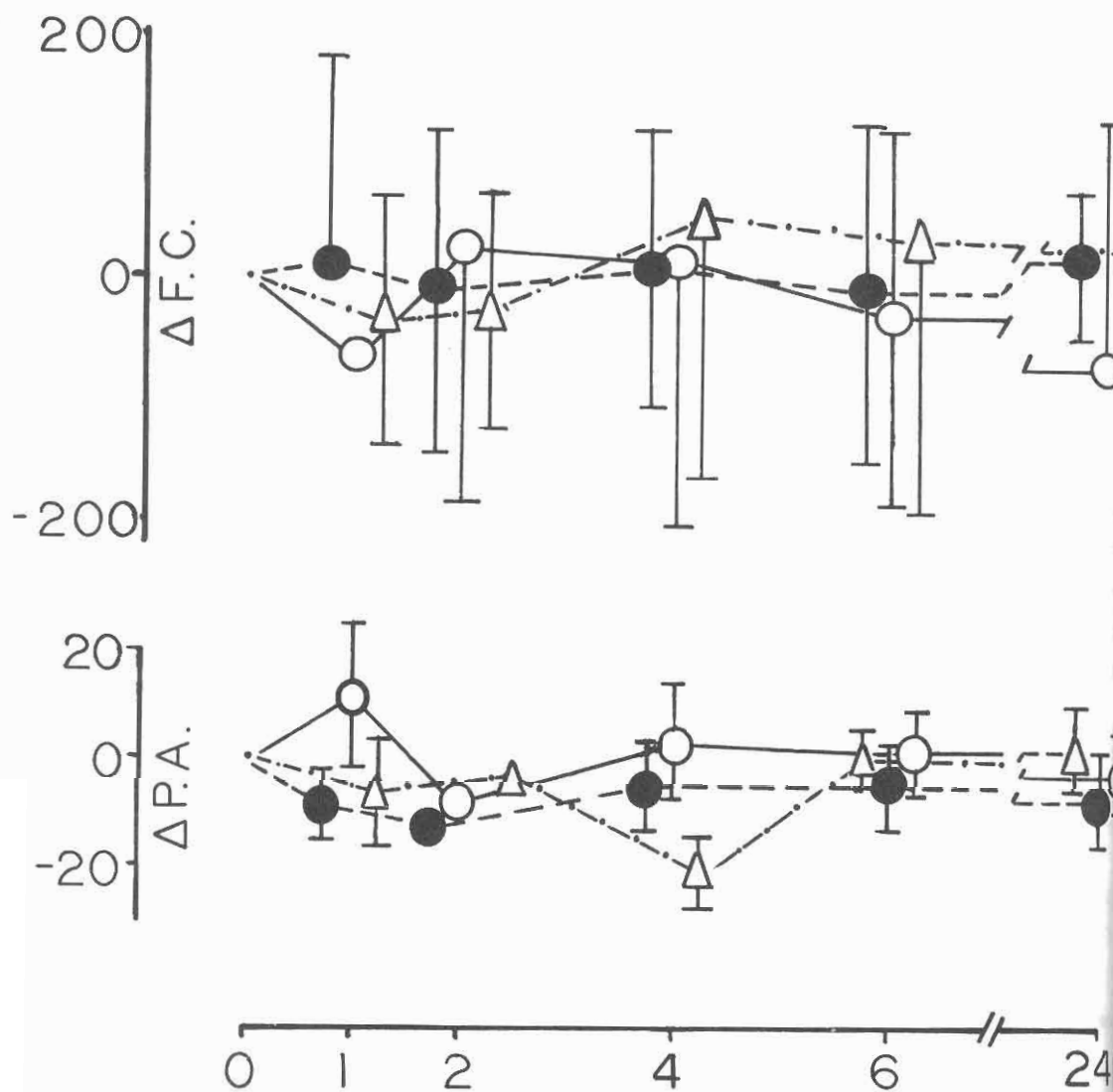


FIG. 1a - Efeitos de extratos de folha (O), talo (●), e bulbo ( $\Delta$ ), de alho (p.o.) sobre a freqüência cardíaca (F.C.) e pressão arterial (P.A.) em ratos acordados. Os valores são médias com s.e.m. indicado. (n=5. a) ratos normais b) ratos espontaneamente hipertensos (SRH).

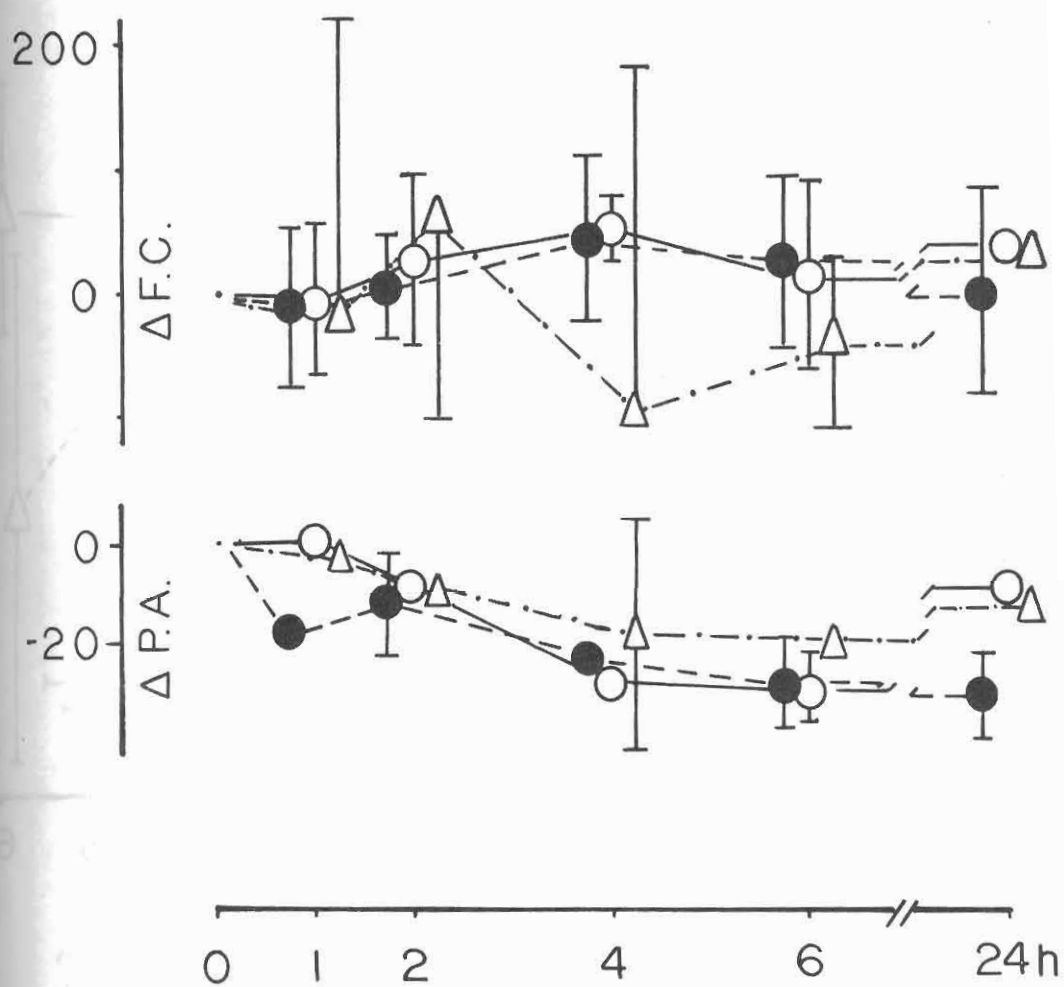


FIG. 1b

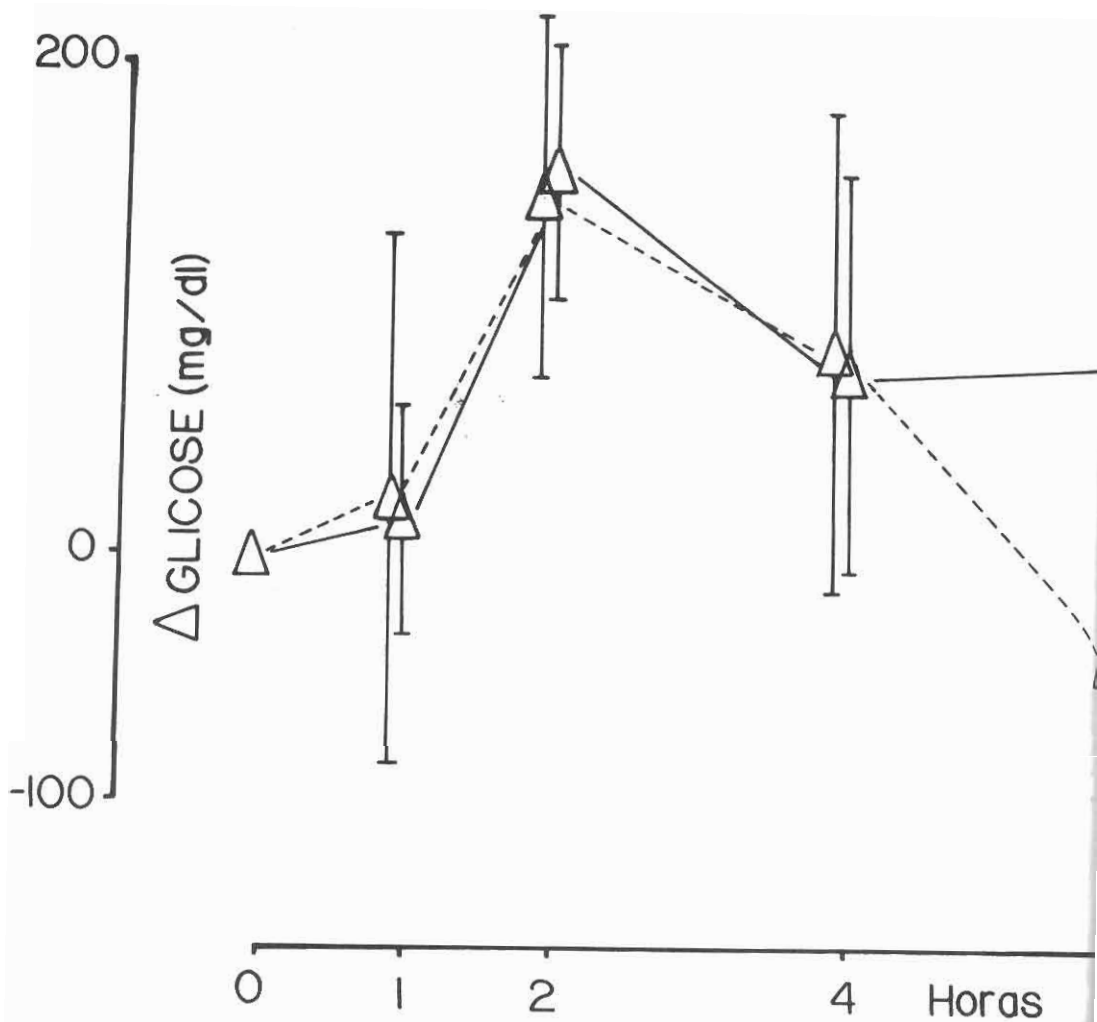


FIG. 2a - Efeitos de extratos de folha (a), talo (b), e bulbo (c) de alho (p.o.) sobre a glicemia em ratos diabéticos por aloxana (50 mg/kg i.p. - 48h). O grupo controle (linha tracejada) recebeu glicose numa concentração correspondente à concentração de glicose no extrato. Os valores são médias com s.e.m. indicado (n=4-6).



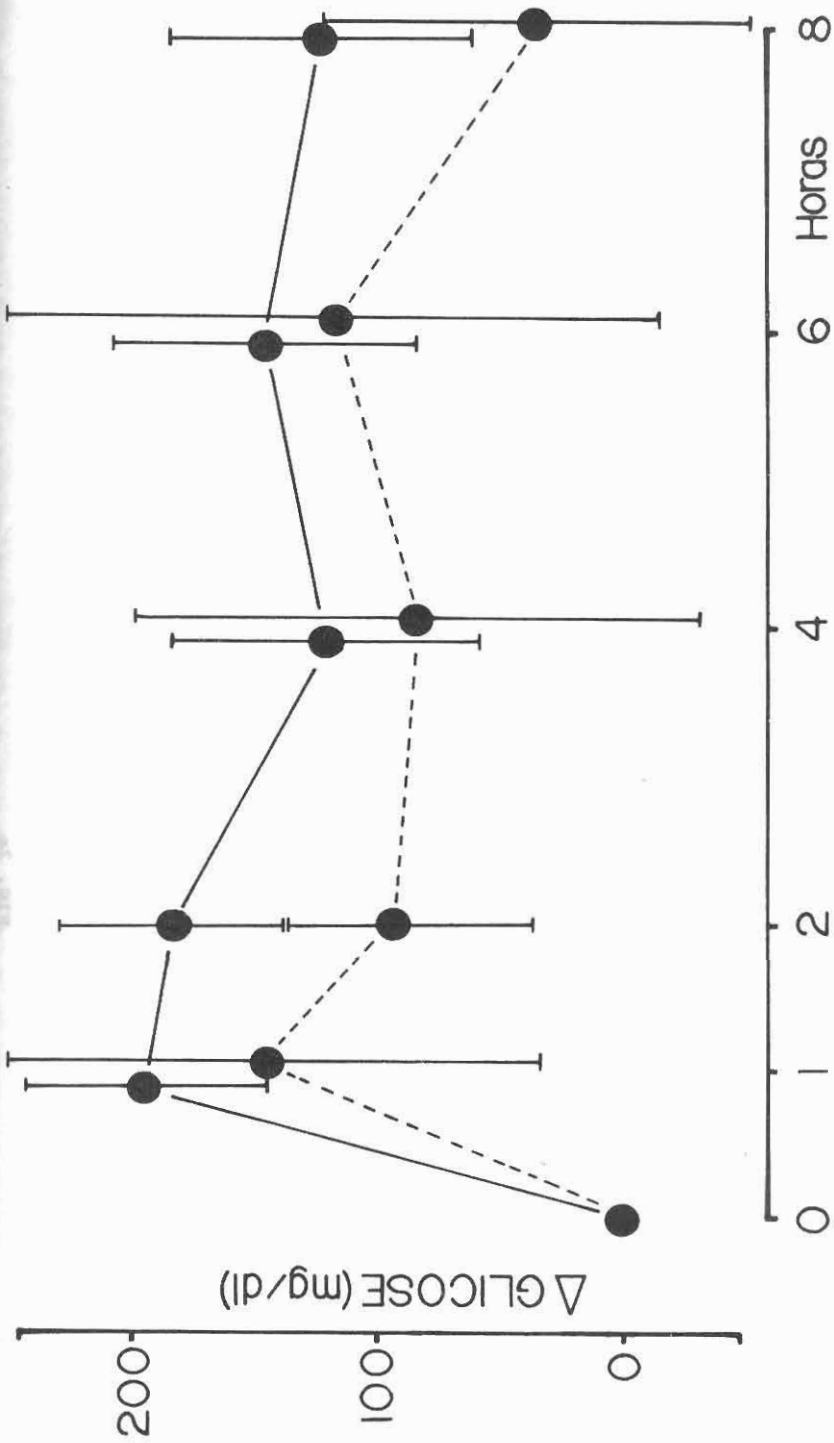
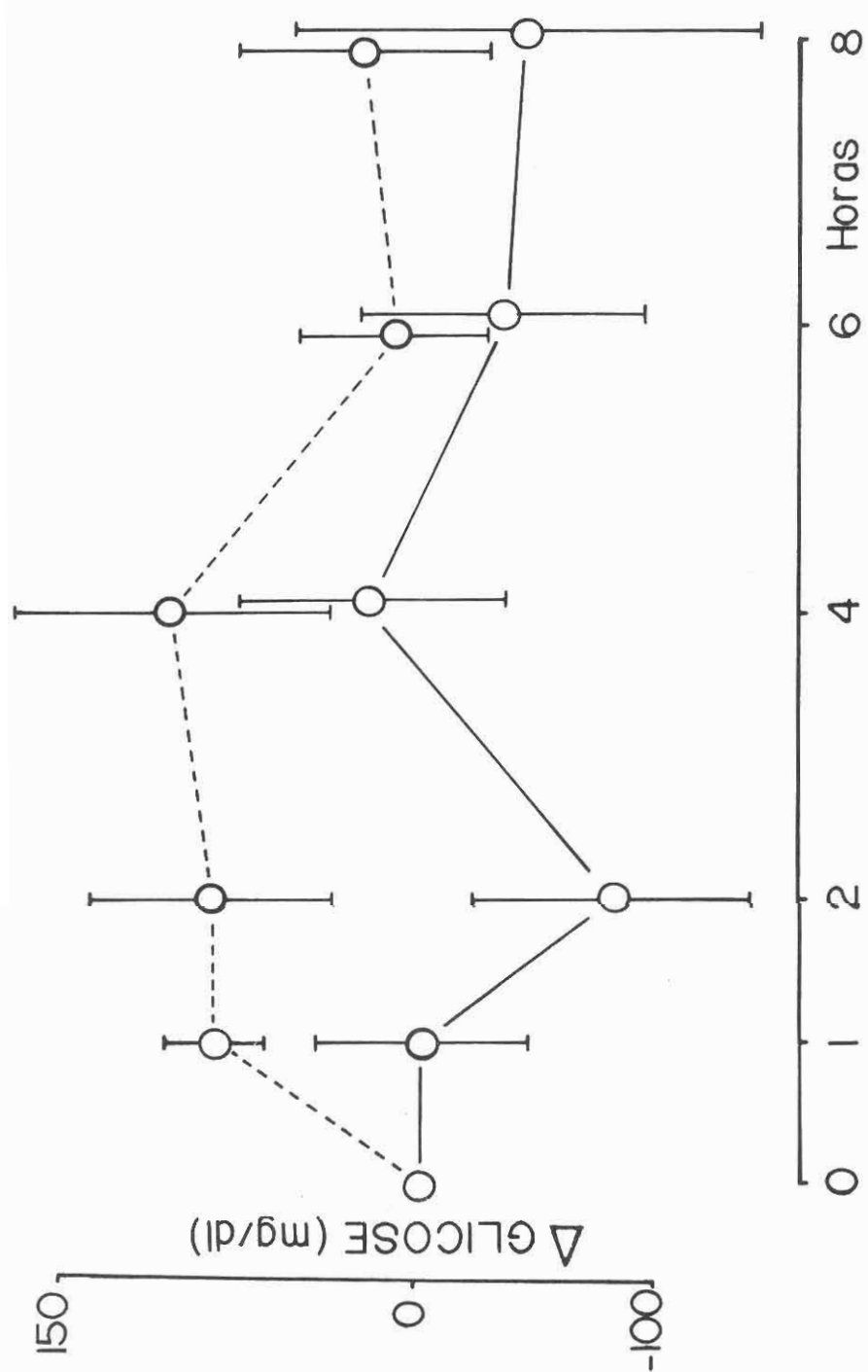


FIG. 2b



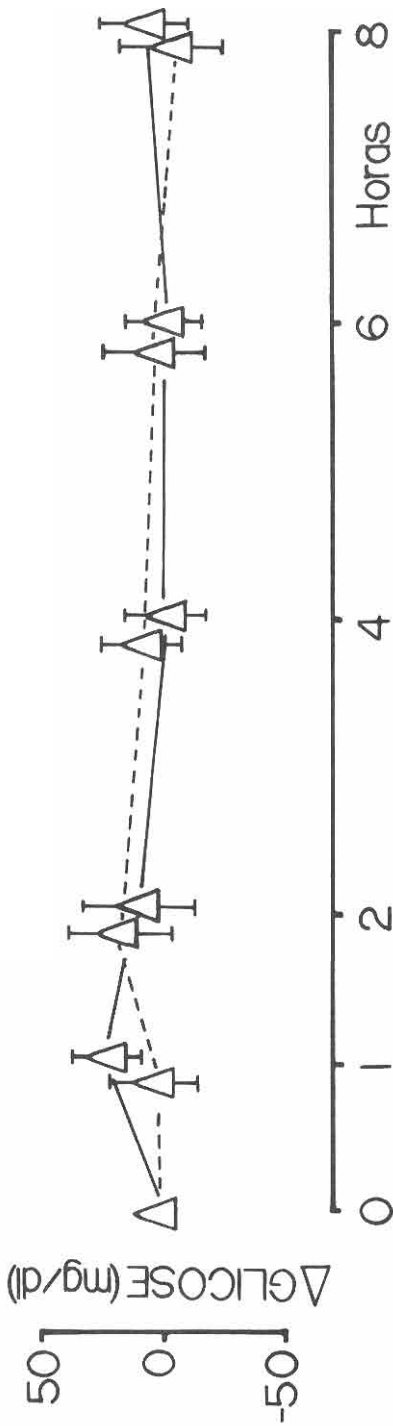


FIG. 3a - Efeitos de extratos de folha (a), talo (b), e bulbo (c) de alho (p.o.) sobre a glicemia em ratos diabéticos por aloxana (50 mg/kg i.p. - 48 h). O grupo controle (linha tracejada) recebeu glicose numa concentração correspondente à concentração de glicose no extrato. Os valores são médias com s.e.m. indicado (n=4-6). Ratos normais.

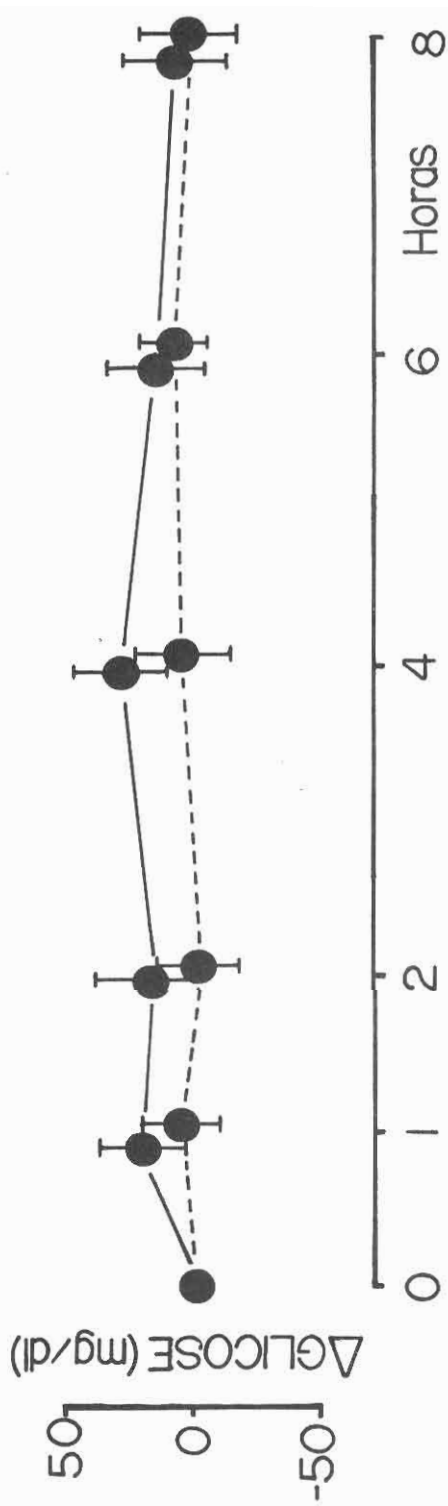


FIG. 3b

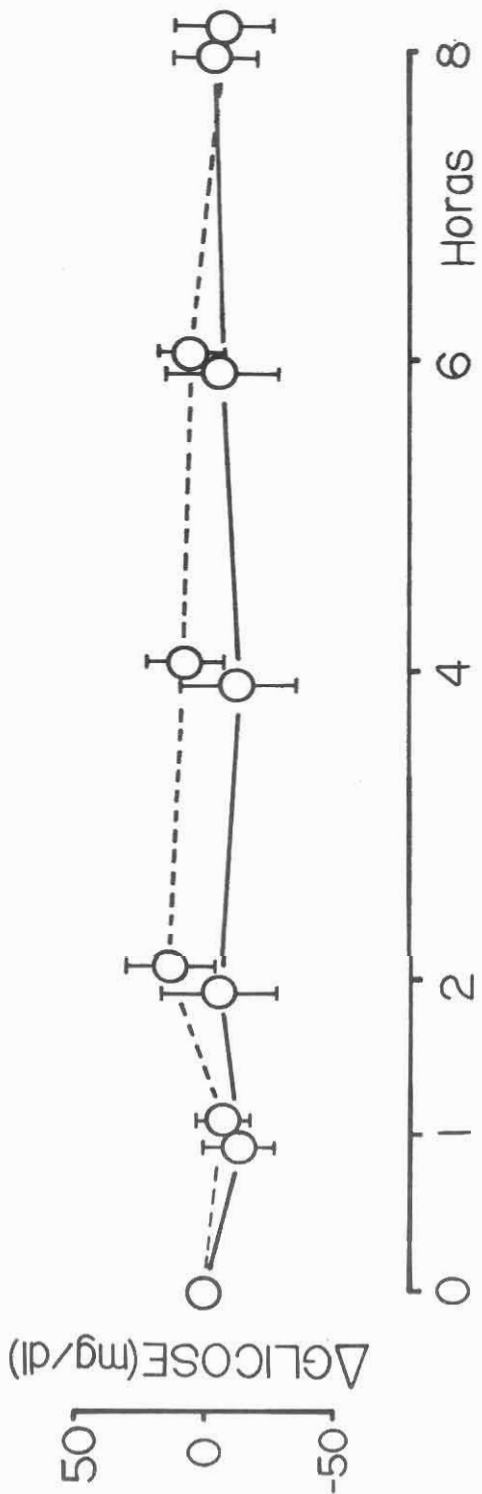


FIG. 3c

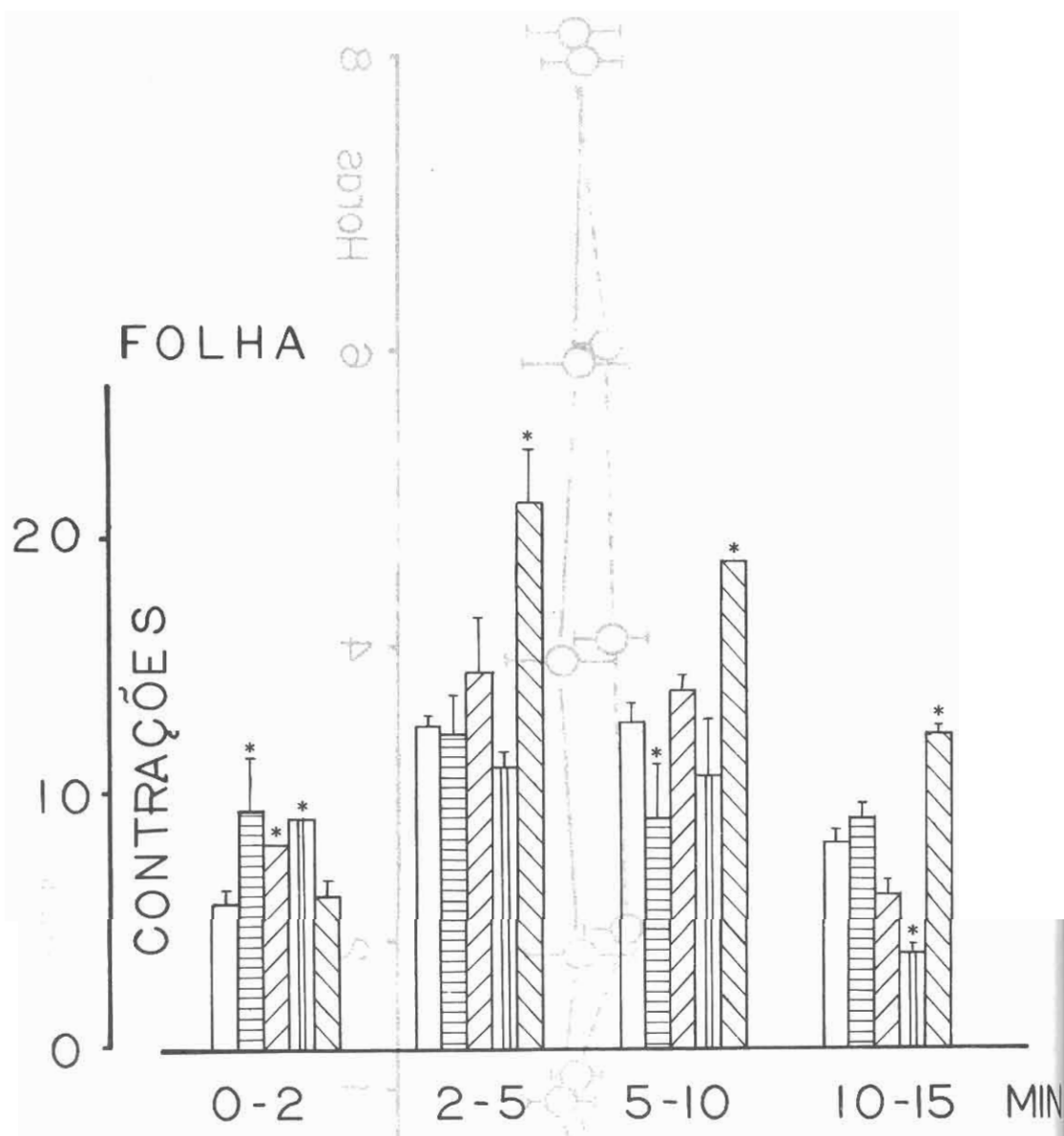


FIG. 4a - Efeitos de extrato de folha (a), talo (b) e bulbo (c) de alho sobre o número de contrações abdominais provocado por peróxido de benzoíla (1 g/kg i.p.) em camundongos. Os extratos foram administrados 30 (▨), 60 (▧), 90 (▩) ou 120 (▪) min antes do peróxido de benzoíla. Os controles foram tratados com alina fisiológica (□). Os valores são médias com s.e.m. indicado (n=3-7).

TALO

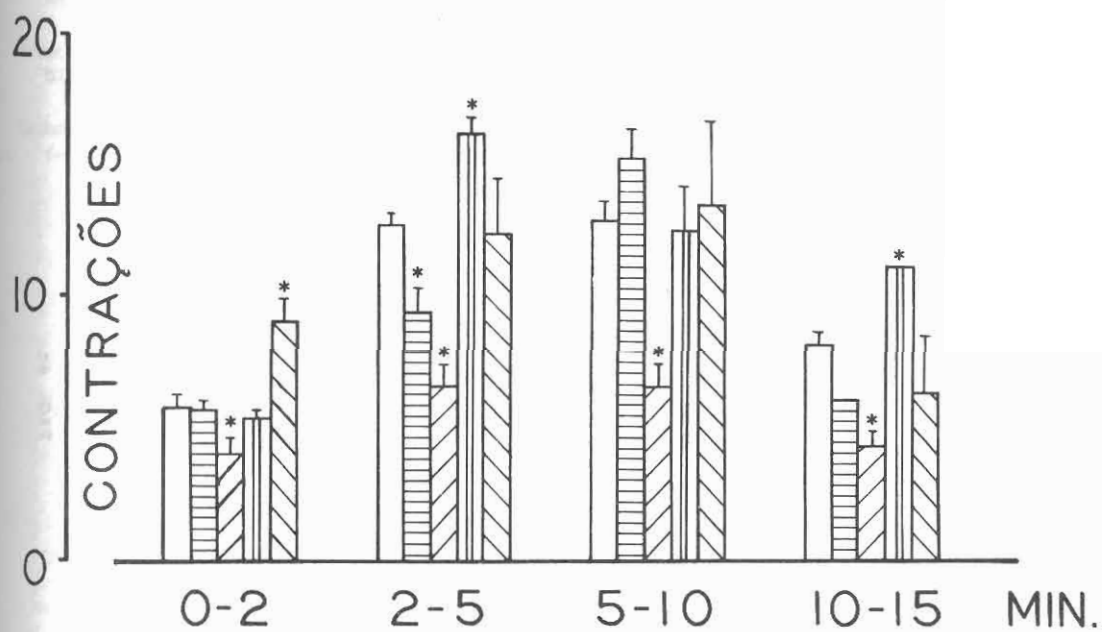


FIG. 4b

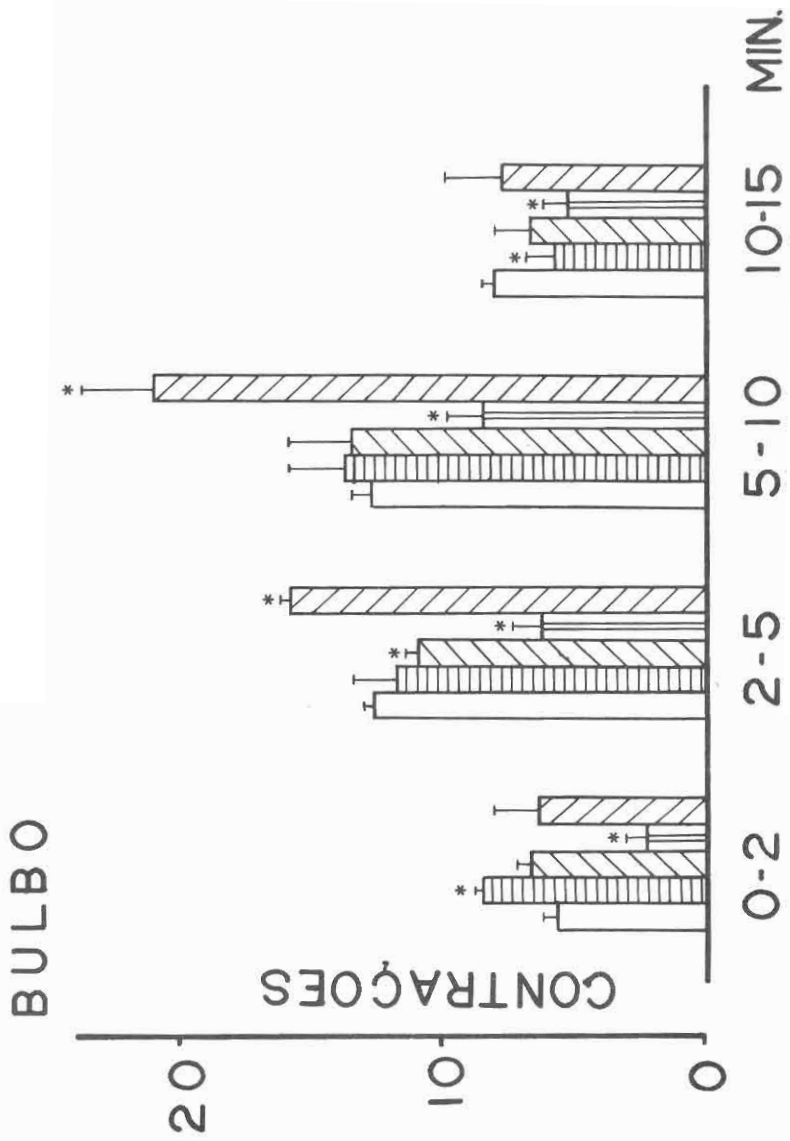


FIG.



## References

- Almeida, R. N. de; Almeida, J. A. de; Lacet, M. A. B.; Thomas, G. - 1983. Triagem farmacológica de plantas do Nordeste Brasileiro. Anais 29 Sinpronat. Editora Universitária UFPb. p. 345-356.
- Barham, D.; Trinder, P. - 1972. An improved colour reagent for the determination of blood glucose by the oxidase system. **Analyst** 97: 142-5.
- Jain, R. C.; Vyas, C. R.; Mahatma, O. P. - 1973. Hypoglycaemic action of onion and garlic. **Lancet** 2:1491.
- Jain, R. C. & Vyas, C. R. - 1975. Garlic in alloxan-induced diabetic rabbits. **Am. J. Clin. Nut.** 28: 684-5.
- Nagda, K. - 1983. Effect of onion and garlic on blood coagulation and fibrinolysis in vitro. **Ind. J. Physiol. Pharmacol.** 27, 141-145.
- Petkov, V. - 1979. Plants with hypotensive, antiatheromatous and coronarodilatating action. **Am. J. Chin. Med.** 7, 197-236.
- Rich, G. E. - 1982. Garlic an antibiotic? **Med. J. Aust.** 1, 60.
- Siegmund, E.; Cadmus, R.; Lu, G. - 1957. A method for evaluating both non-narcotic and narcotic analgesics. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.** 95: 729-731.
- Teuscher, A.; Richterich, R. - 1971. Neue schweizerisch Richtlinien zur Diagnose des Diabetes mellitus. **Schweiz. Med. Wochenschr.** 101:345-52, condit, 13.
- Zacharias, N. T. - 1980. Hypoglycemic and hypolipidaemic effects of garlic in sucrose fed rabbits. **Indian J. Physiol. Pharmacol.** 24, 151-4.