

## Extratos de *Curcuma longa* L. e *Kalanchoe brasiliensis* Camb. no tratamento local do envenenamento por *Bothrops alternatus*

Fonseca, F. V.<sup>1</sup>; Melo, M. M.\*<sup>1</sup>; Silva J.; Pereira G. P.<sup>1</sup>; Dantas-Barros A.M.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Clínica e Cirurgia, Escola de Veterinária - UFMG

<sup>2</sup>Departamento de Farmacognosia, Faculdade de Farmácia - UFMG

---

### Resumo

Este trabalho teve como objetivo a utilização dos extratos aquosos das plantas *Curcuma longa* e *Kalanchoe brasiliensis* na terapêutica tópica complementar do envenenamento botrópico experimental em camundongos, visando a antagonização dos efeitos locais (edema, hemorragia e necrose) provocados pelo veneno. O experimento mostrou que os melhores resultados foram obtidos com o extrato de *Kalanchoe brasiliensis*.

### Abstract

In this contribution, an aqueous extract from rhizomes of *Curcuma longa* and an aqueous extract from the aerial parts of *Kalanchoe brasiliensis* were investigated for their properties against the local effects (edema, hemorrhage and necrosis) of *Bothrops alternatus* venom in mice. The experiment showed that the best results were obtained with *Kalanchoe brasiliensis* extract.

---

No Brasil, as serpentes do gênero *Bothrops* são responsáveis por 90% dos acidentes ofídicos humanos. Na Medicina Veterinária, os dados epidemiológicos são raros, porém na região de Botucatu, Estado de São Paulo, 149 acidentes foram registrados entre os anos de 1972 a 1989, sendo que 128 deles foram causados por serpentes do gênero *Bothrops*<sup>1</sup>.

O veneno botrópico é constituído de uma mistura complexa de enzimas, proteínas e peptídeos que são responsáveis pelas ações locais (edema, halo hemorrágico e necrose) e sistêmicas (desordens da coagulação sanguínea, alterações cardiovasculares e renais)<sup>2</sup>. A mionecrose é uma lesão que se deve a uma soma de alterações, e é produzida também por danos na circulação, principalmente nos vasos intramusculares, levando à diminuição da perfusão vascular. As hemorragias capilares são causadas pelas metaloproteases, que levam à degradação do colágeno e de constituintes da lâmina basal dos capilares. Estes fatores, somados às alterações hematológicas, acarretam aumento

da pressão intracompartimental, que diminui ainda mais a perfusão muscular, conseqüentemente acarretando necrose isquêmica. A cicatrização lenta das lesões é uma característica marcante do envenenamento botrópico, podendo ser justificada pela isquemia local<sup>3</sup>. Portanto, a necrose constitui a complicação local de maior importância, podendo limitar-se ao subcutâneo ou comprometer estruturas mais profundas, como músculos, tendões e ossos, ocorrendo em cerca de 10% dos acidentados.

O único tratamento disponível para o acidente por venenos botrópicos consiste na administração do soro específico. No entanto, tem-se demonstrado que os efeitos locais provocados por esses venenos são apenas parcialmente neutralizados<sup>4</sup>, sendo necessária a busca de alternativas terapêuticas que minimizem os efeitos diretos da ação do veneno.

Várias espécies de plantas utilizadas na medicina tradicional brasileira possuem substâncias que atuam neutralizando os efeitos de venenos de serpentes. A *Curcuma longa* se encontra neste grupo de plantas, possuindo entre várias substâncias, o ar-turmerone, capaz de abolir a atividade hemorrágica do veneno botrópico. O ar-turmerone age como um inibidor enzimático das enzimas proteolíticas e hemorrágicas de *Bothrops jararaca*, possui ação antitoxinas e promove uma inativação química, estando envolvido também em mecanismos imunológicos<sup>5</sup>.

As folhas do *Kalanchoe brasiliensis* são usadas externamente como um agente antiinflamatório nas artrites, injúrias, abscessos e enfartamento ganglionar<sup>6,7</sup>.

Neste estudo objetivou-se a investigação da eficácia dos extratos de *C. longa* e *K. brasiliensis* na regressão das alterações locais do envenenamento botrópico experimental em camundongos.

Quinze minutos após a inoculação do veneno, notou-se o desconforto de todos os animais, especialmente aqueles dos grupos II e IV (creme Lanete) os quais tentavam lambeo o local de inoculação. Neste mesmo tempo, ocorreu a

formação de edema e halo hemorrágico. A atividade edematogênica dos venenos botrópicos é amplamente evidente nos modelos experimentais e a maioria desses componentes desencadeia um processo inflamatório de maneira indireta, induzindo a liberação de autacóides no organismo. Vários mediadores parecem estar envolvidos, incluindo fator de necrose tumoral, histamina, bradicinina, prostaglandinas, leucotrienos e eicosanóides derivados do ácido araquidônico. A origem multifatorial do edema no envenenamento, a complexidade dos mecanismos que participam deste efeito representa um obstáculo importante para uma abordagem terapêutica adequada.

Os menores valores médios de grau de edema foram observados no grupo III (extrato aquoso de *K. brasiliensis*) (Tabela 1) concordando com Silva Júnior<sup>8</sup> que também observou menores valores médios de grau de edema em cães envenenados com *Bothrops alternatus* e tratados com extrato hidroalcoólico de *K. brasiliensis*. É importante ressaltar que no T8 (oito horas após a inoculação do veneno), nenhum animal apresentava edema. Estes resultados podem ser justificados pela presença de flavonóides no *K. brasiliensis* e pela ação antiinflamatória desta planta<sup>6,7</sup>, capaz de inibir mediadores da inflamação como histamina, serotonina, bradicinina e prostaglandina. O segundo grupo tratado, que também mostrou bons resultados quando comparado ao grupo I (salina), foi o grupo IV (extrato aquoso de *C. longa*). Estes achados confirmam os resultados de Ferreira et al.<sup>5</sup> que demonstraram a ação antiinflamatória do ar-turmerone presente na *C. longa*.

Apesar dos animais tratados com *K. brasiliensis* e *C. longa* incorporados em creme Lanete (grupos II e IV respectivamente) apresentarem maiores valores médios de grau de edema quando comparados com os animais tratados com extratos aquosos de *K. brasiliensis* e *C. longa* (grupos III e V respectivamente), ainda assim mostraram menores valores e regressão mais rápida do edema quando comparados com o Grupo I (salina).

**Tabela 1.** Valores médios da espessura da pele e grau de edema (cm) em camundongos após envenenamento botrópico experimental, submetidos aos tratamentos locais com extratos de *Kalanchoe brasiliensis* e *Curcuma longa* em diferentes tempos.

Grupo	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12	T13	T14	T15	T16	T17	T18	T19	T20	T21	T22
	Zero	15min	30min	1h	1h30'	2h	4h	6h	8h	24h	26h	28h	30h	32h	34h	48h	52h	58h	64h	72h	96h	120h	144h
I	0,10	0,15	0,18	0,18	0,20	0,20	0,22	0,22	0,20	0,19	0,17	0,15	0,15	0,14	0,13	0,13	0,11	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
II	0,10	0,13	0,13	0,15	0,18	0,18	0,15	0,13	0,13	0,13	0,13	0,13	0,13	0,12	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
III	0,10	0,13	0,13	0,13	0,13	0,13	0,12	0,12	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
IV	0,10	0,13	0,13	0,18	0,20	0,20	0,20	0,13	0,13	0,12	0,12	0,11	0,11	0,11	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
V	0,10	0,13	0,13	0,15	0,13	0,14	0,13	0,13	0,12	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10

GRUPO I - salina 0,9%

GRUPO II - extrato aquoso de *K. brasiliensis* (100%) incorporado em Creme Lanete (70%)

GRUPO III - extrato aquoso de *K. brasiliensis* (100%)

GRUPO IV - extrato aquoso de *C. longa* (100%) incorporado em Creme Lanete (70%)

GRUPO V - extrato aquoso de *C. longa* (100%)

Os maiores valores médios de halo hemorrágico nos grupos tratados foram observados naqueles em que se utilizou o creme Lanete (Tabela 2). Como já salientado anteriormente, os animais ficaram muito agitados, tentando lambem o creme. Hemorragias locais são complicações comumente encontradas por venenos de *Bothrops*, os quais possuem toxinas procoagulantes. A ação das hemorraginas (metaloproteínases) sobre a parede dos vasos contribui potencialmente para estas hemorragias<sup>9</sup>. Portanto, possivelmente, estes valores foram maiores nestes dois grupos (II e IV) devido a uma ação mecânica dos animais sobre a pele, músculo e vasos lesados.

Já os menores valores médios de halo hemorrágico foram observados no grupo III (Tabela 2). Este grupo apresentou excelente recuperação, pois duas horas após a inoculação do veneno, não se observava mais a presença de hemorragia subcutânea.

O efeito satisfatório do extrato aquoso de *C. longa* sobre o halo hemorrágico também pôde ser comprovado neste trabalho, demonstrando que esta planta possui substâncias neutralizadoras das frações hemorrágicas presentes no veneno de *B. alternatus*. Resultados semelhantes com o uso da *C. longa* para o tratamento das lesões locais no envenenamento botrópico foram também constatados por Melo et al.<sup>10,11</sup>.

Da mesma forma, apesar dos grupos tratados com *K. brasiliensis* e *C. longa* incorporados em creme Lanete (grupos II e IV respectivamente) apresentarem maiores valores médios de halo hemorrágico quando comparados com os animais tratados com extratos aquosos de *K. brasiliensis* e *C. longa* (grupos III e V respectivamente), ainda assim mostraram menores valores e regressão mais rápida da hemorragia local quando comparados com o Grupo I (salina) (Tabela 2).

**Tabela 2.** Valores médios de halo hemorrágico (cm) em camundongos após envenenamento botrópico experimental, submetidos aos tratamentos locais com extratos de *Kalanchoe brasiliensis* e *Curcuma longa* em diferentes tempos.

Grupo	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12	T13	T14	T15	T16	T17	T18	T19	T20	T21	T22
	Zero	15min	30min	1h	1h30'	2h	4h	6h	8h	24h	26h	28h	30h	32h	34h	48h	52h	58h	64h	72h	96h	120h	144h
I	0	0,35	0,55	0,55	0,55	0,55	0,35	0,33	0,33	0,33	0,33	0,33	0,23	0,23	0,23	0,23	0,20	0,10	0,10	0,05	0,05	0,04	0
II	0	0,50	0,50	0,48	0,48	0,24	0,20	0,15	0,10	0,10	0,10	0,05	0,02	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
III	0	0,15	0,25	0,13	0,13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
IV	0	0,43	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34	0,33	0,33	0,33	0,33	0,13	0,13	0,13	0,13	0,10	0,05	0,05	0,03	0,02	0	0	0
V	0	0,18	0,13	0,13	0,13	0,13	0,13	0,13	0,08	0,05	0,05	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

GRUPO I - salina 0,9%

GRUPO II - extrato aquoso de *K. brasiliensis* (100%) incorporado em Creme Lanete (70%)

GRUPO III - extrato aquoso de *K. brasiliensis* (100%)

GRUPO IV - extrato aquoso de *C. longa* (100%) incorporado em Creme Lanete (70%)

GRUPO V - extrato aquoso de *C. longa* (100%)

Um animal do grupo I (salina) apresentou necrose cutânea e veio a óbito no terceiro dia após a inoculação do veneno. De todos os 15 animais tratados, somente um, do grupo IV, apresentou pequeno ponto de necrose oito horas após a inoculação do veneno, com regressão total 28 horas após. Estes resultados estão de acordo com os resultados de Santos<sup>12</sup> que demonstrou o efeito benéfico da *Curcuma longa* na prevenção da necrose em cães envenenados com *Bothrops alternatus*. A necrose tecidual é decorrente da atividade proteolítica do veneno e da isquemia conseqüente às alterações circulatórias que se processam descritas anteriormente<sup>3</sup>.

Levando-se em consideração todos os resultados de grau de edema, halo hemorrágico, presença de necrose no local de aplicação do veneno e número de animais vivos no final do experimento, percebe-se uma ação satisfatória dos tratamentos utilizados, quando comparados com o grupo I (salina).

Os extratos aquosos de *K. brasiliensis* e *C. longa* mostraram bons resultados na redução de edema, halo hemorrágico e prevenção de necrose causada pelo veneno de *Bothrops alternatus*.

## Materiais e Métodos

**Animais:** Foram utilizados 20 camundongos adultos, com peso médio de 20 gramas, oriundos do Biotério do Instituto de Ciências Biológicas - UFMG, divididos aleatoriamente em cinco grupos com quatro animais cada colocados em gaiolas plásticas, na temperatura ambiente de 25° a 28°C com acesso livre à água e ração específica para roedores.

**Extratos vegetais:** Uma exsicata de referência de *Kalanchoe brasiliensis* está depositada no Herbário da Fundação Zoobotânica em Belo Horizonte (MG), sob o n BHZB 5294. Os extratos foram realizados baseado na metodologia descrita por Santos<sup>12</sup> (2003).

As partes aéreas frescas de *Kalanchoe brasiliensis* foram coletadas no município de Brumadinho, Minas Gerais, durante a fase vegetativa de desenvolvimento, lavadas e picadas com auxílio de uma faca de metal inoxidável. Foram pesados 100g deste material e triturados com 100ml de água destilada com auxílio de um triturador mecânico industrial. O material triturado foi transferido para um béquer e deixado em contato durante 24 horas na temperatura ambiente. Após este período filtrou-se o material e o filtrado foi concentrado

em rotaevaporador a 40°C e posteriormente mantido refrigerado à temperatura de 4°C.

Uma excisada de referência de *Curcuma longa* está depositada no Herbário da Fundação Zoobotânica em Belo Horizonte (MG) (S/N°).

Rizomas frescos de *Curcuma longa* foram coletados nos canteiros de plantas tóxicas e medicinais da Escola de Medicina Veterinária da UFMG; durante a fase vegetativa de desenvolvimento, lavados exaustivamente e picados com auxílio de uma faca de metal inoxidável. Foram pesados 100 gramas deste material e triturados com 100ml de água destilada com auxílio de um triturador mecânico industrial. O material triturado foi transferido para um béquer e deixado em contato por 24 horas na temperatura ambiente. Após este período filtrou-se o material e o filtrado foi concentrado em rotaevaporador a 40°C e posteriormente mantido refrigerado à temperatura de 4°C.

Os extratos concentrados acima de *K. brasiliensis* e *C. longa* foram empregados diretamente (extrato concentrado) ou foram incorporados numa base. A base selecionada foi o "creme Lanete", uma formulação clássica farmacêutica, na proporção de (3:7), ou seja, três partes do extrato concentrado em sete partes de creme.

**Veneno:** Veneno liofilizado (5µg) de *Bothrops alternatus* foi diluído em 0,1ml de solução salina (0,9%) estéril.

**Teste:** Após depilação e assepsia da região dorsal dos camundongos, foram inoculados 5µg de veneno via intradérmica e os animais foram divididos aleatoriamente e tratados como: GRUPO I - salina 0,9%; GRUPO II - *K. brasiliensis* (extrato concentrado incorporado no creme); GRUPO III - *K. brasiliensis* (extrato concentrado); GRUPO IV - *C. longa* (extrato concentrado incorporado no creme); GRUPO V - *C. longa* (extrato concentrado), durante uma semana nos seguintes tempos: 15 minutos, 30 minutos, 1 hora e 30 minutos, 2, 4, 6, 8, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 48, 52, 58, 64, 72, 96, 120, e 144 horas.

Empregou-se algodão para a aplicação dos extratos (concentrado e incorporado na base), no local da ferida. E, avaliou-se o comportamento e postura de todos os animais, além das medidas de alterações locais: edema (com paquímetro), diâmetro do halo hemorrágico (com régua de gabaritos circulares) e presença de úlcera dérmica (necrose).

## Referências

- <sup>1</sup>Bicudo, P.L. Acidentes ofídicos em medicina veterinária. In: Barraviera, B. Venenos animais: uma visão integrada. Rio de Janeiro: Científica, 1994. cap. 29, p. 375-387.
- <sup>2</sup>Gutiérrez, J.M.; Lomonte, B. Local tissue damage induced by *Bothrops* snake venoms: A Review. Mem. Inst. Butantan. v.51, n.4, p.211-223, 1989.
- <sup>3</sup>Roodt, A.R.; Vidal, J.C.; Dolab, J.A.; Segre, L. Terapeutica em el envenenamiento por serpientes: generalidades y tratamientos. Revista de Medicina Veterinária, v.78, n.1, p.64-71, 1996.

<sup>4</sup>Wen, F.R. Ineficácia do antiveneno na reversão do edema e necrose em pacientes picados por serpentes do gênero *Bothrops*. In: Simpósio da Sociedade Brasileira de Toxicologia, 6, 2000. São Pedro. Anais...São Pedro: Cruzeiro, 2000. p.78-81.

<sup>5</sup>Ferreira, L.A. F., Henrinque, O.B. Andreoni, A.A.S., Vital, G.R.F., Campos, M.M.C., Habermehl, G.G., Moraes, V.L.G. Antivenom and biological effects of ar-turmerone isolated from *Curcuma longa* (Zingiberaceae). Toxicon, v.30, n.10, p.1211-1218, 1992

<sup>6</sup>Rossi-Bergmann, B., Costa, S.S., Moraes, V.L.G. Brazilian medicinal plants: A rich source of immunomodulatory substances. Journal of the Brazilian Association for the Advancement of Science, v.49, p.395-401, 1997.

<sup>7</sup>Mourão, R.H.V., Santos, F.O., Franzotti, E.M., Moreno, M.P.N. E Antonioli, A.R. Antiinflammatory activity and acute toxicity (LD50) of the juice of *Kalanchoe brasiliensis* (Comb.) leaves picked before and during blooming. Phytotherapy Research, v.13, p.352-354, 1999.

<sup>8</sup>Silva Junior, P.G.P. Avaliação clínica e laboratorial de cães tratados com salina tópica, *Kalanchoe brasiliensis* e soro antibotrópico após o envenenamento botrópico experimental (*Bothrops alternatus* Duméril, 1854). 2003. 103f. Tese (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Minas Gerais, 2003.

<sup>9</sup>Kamiguti, A.S. Hay, C.Rm., Theakston, R.D.G., Zuzel, M. Review Article. Insights into the mechanism of haemorrhage caused by snake venom metalloproteinases. Toxicon, v.34, p.327-642, 1996.

<sup>10</sup>Melo, M.M.; Habermehl, G.G.; Oliveira, N.J.F. Drugs against snake bite. In: Simpósio da Sociedade Brasileira de Toxinologia, 6, 2000. São Paulo. Resumos...São Paulo: Cruzeiro, 2000a. p.130.

<sup>11</sup>Melo, M.M.; Habermehl, G.G.; Oliveira, N.J.F. et al. Extracts plants against *Bothrops alternatus* bite. In: World Congress on Animal Plant and Microbial Toxins, 13, 2000. Anais...Paris: 2000b. p.239.

<sup>12</sup>Santos, M.M.B. Avaliação clínica e laboratorial de cães tratados com flunixin meglumina, *Curcuma longa* L. e soro antibotrópico após o envenenamento botrópico experimental (*Bothrops alternatus* Duméril, 1854). 86f. Tese (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Minas Gerais, 2002.

## \*Autora para correspondência:

Marília Martins Melo  
Professora, Dra., Depto. de Clínica e Cirurgia Veterinárias  
Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais  
Av. Antônio Carlos, 6627, Pampulha, CEP: 31.270-901  
Belo Horizonte, MG  
marilia@vet.ufmg.br