

EFEITOS *in vivo* DE EXTRATOS DE ABACATEIRO (*Persea gratissima*) E MULUNGU (*Erythrina mulungu*) SOBRE ATIVIDADES DE ENZIMAS CITOCROMO P450 HEPÁTICAS DE RATO

Priscila Ribeiro¹, Flávia Aleixo da Silva¹, Bruno Almeida da Silva¹, Ronaldo Figueiró^{2,3}, João Bosco de Salles¹

¹Laboratório de Bioquímica, Fundação Centro Universitário Estadual da Zona Oeste, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

²Laboratório de Biotecnologia Ambiental, Fundação Centro Universitário Estadual da Zona Oeste, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

³Centro Universitário de Volta Redonda, Volta Redonda, RJ, Brasil.

ABSTRACT:

The use of plants for therapeutic purposes is one of the oldest medicinal practices of humanity, being based on historical or personal evidences. There is a tendency to generalize the use of medicinal plants and their derivatives, due to the belief that all that is natural does no harm to health. Medicinal plants are widely used as a therapeutic alternative, however, it is known that many of its components may alter allopathic drugs concentrations on the plasma through cytochrome P450 inhibition or induction. Considering the above, the objective of this study was to evaluate *in vivo* effects of raw extracts of medicinal plants on the activities of the 7-ethoxycoumarin O-deethylase (ECOD), 7-ethoxyresorufin O-deethylase (EROD), 7-methoxyresorufin O-demethylase (MROD) and 7-pentoxiresorufin O-depentylyase (PROD) enzymes from the liver of Wistar rats. Thus, rats were treated with avocado leaf (*Persea gratissima*) and mulungu shell (*Erythrina mulungu*). After receiving the extracts by gavage for four consecutive days, the animals were euthanized, being the enzyme activities determined by spectrofluorimetry in liver microsomes. Our results show that administration of avocado extract promoted a significant increase in the ECOD, MROD and PROD activities, while the EROD activity decreased significantly. The administration of *Erythrina mulungu* extract promoted a significant reduction of ECOD, MROD and PROD activities, whereas the EROD activity did not change significantly. In view of the above, indicate the need for greater knowledge of plant extracts effects on the activities these enzymes in order to promote the rational and safe use of medicines.

Keywords: Avocado, Cytochrome P450, Medicinal plants, Mulungu.

RESUMO:

O uso de plantas com finalidades terapêuticas é uma das mais antigas práticas medicinais da humanidade, sendo baseado em evidências históricas ou pessoais. Verifica-se uma tendência à generalização do consumo de plantas medicinais e de seus derivados, devida à crença de que tudo que é natural não faz mal à saúde. As plantas medicinais são muito usadas como alternativa terapêutica, entretanto, sabe-se que muitos de seus componentes podem alterar as concentrações plasmáticas de fármacos alopáticos através da inibição ou indução de enzimas do citocromo P450. Considerando o descrito acima, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos *in vivo* de extratos brutos de plantas medicinais sobre as atividades das enzimas 7-etoxicumarina O-desetilase (ECOD), 7-etoxirresorufina O-desetilase (EROD), 7-metoxirresorufina O-desmetilase (MROD) e 7-pentoxirresorufina O-despentylyase (PROD) hepáticas de ratos Wistar. Assim, ratos machos foram tratados com extratos de folha de abacateiro (*Persea gratissima*) e de casca de mulungu (*Erythrina mulungu*). Após receberem os extratos por meio de gavagem por quatro dias consecutivos, os animais foram submetidos à eutanásia, sendo as atividades das enzimas determinadas por espectrofluorimetria em microsossoma hepático. Nossos resultados mostram que a administração de extrato de abacateiro promoveu um aumento significativo das atividades da ECOD, MROD e PROD, enquanto a atividade de EROD sofreu uma redução significativa. A administração de extrato de casca de mulungu promoveu redução significativa das atividades da ECOD, MROD e PROD, enquanto a atividade da EROD não sofreu alteração significativa. Diante do exposto, indicamos a necessidade de maior conhecimento dos efeitos de extratos de plantas sobre as atividades destas enzimas, de maneira a promover o uso racional e seguro de medicamentos.

Palavras-chave: Biodiesel, Óxidos metálicos, óleos residuais.

INTRODUÇÃO

Desde o surgimento da humanidade, verifica-se a utilização de produtos naturais, principalmente da flora, para fins medicinais. Há indícios do uso de plantas medicinais nas

mais antigas civilizações, sendo considerada uma das práticas mais remotas utilizadas pelo homem para cura, prevenção e tratamento de afecções, servindo como importante fonte de compostos biologicamente ativos (ANDRADE

et al., 2007).

Atualmente, há uma tendência à generalização do uso de plantas medicinais e de seus derivados devido aos apelos da mídia para o consumo de produtos à base de fontes naturais (CUNHA, 2005). Este crescente interesse é decorrente do aumento da automedicação e da crença de que plantas medicinais e fitoterápicos são sempre seguros e que não apresentam efeitos colaterais (CARRASCO et al., 2009). Dessa forma, em muitos casos, as pessoas subestimam as propriedades medicinais das plantas e fazem uso delas de forma banalizada (FRANÇA et al., 2008). Além disso, o fácil acesso às plantas medicinais é um incentivo à sua busca e utilização, pois geralmente seu custo é mais acessível quando comparado aos medicamentos industrializados.

As plantas medicinais e os medicamentos fitoterápicos são amplamente utilizados no Brasil como alternativa terapêutica, principalmente por aqueles que estão em tratamento de doenças crônicas com outros medicamentos (CORDEIRO et al., 2005), o que aumenta a possibilidade de ocorrerem interações medicamentosas, pois sabe-se que muitos fitoquímicos presentes na sua constituição podem, indiretamente, causar alteração das concentrações plasmáticas de medicamentos alopáticos (PARKINSON, 2001).

Provavelmente, o mecanismo mais comum envolvido na farmacocinética das interações entre fármacos alopáticos e fitoterápicos é a indução ou inibição do citocromo P450. A inibição das enzimas do CYP por extratos de plantas medicinais pode resultar no aumento da concentração plasmática de fármacos, levando à toxicidade. A indução pode ocasionar a redução da concentração do fármaco, levando à diminuição da eficácia do mesmo e à consequente falha no tratamento (ALEXANDRE et al., 2008; MUKHERJEE et

al., 2011).

O uso concomitante de medicamentos fitoterápicos e alopáticos deve ter acompanhamento de profissionais da área de saúde, pois os fitoterápicos podem potencializar ou minimizar os efeitos de alguns medicamentos (ARNOUS et al., 2005). As atividades farmacológicas e efeitos das plantas medicinais nem sempre são confirmados por pesquisas científicas, nas quais são avaliadas a eficácia e a segurança destas plantas, além de analisar a qualidade na sua produção. Por esse motivo é necessário que a administração simultânea desses medicamentos seja realizada de forma criteriosa e racional.

O conhecimento dos possíveis efeitos da utilização de plantas medicinais e seus fitoterápicos sobre o metabolismo de drogas alopáticas é de extrema importância com o objetivo de tentar minimizar a ocorrência dos efeitos indesejados e tóxicos que podem ocorrer no indivíduo.

Diversos casos de interações entre drogas alopáticas e extratos de Erva de São João (*Hypericum perforatum*), usada como antidepressivo, foram demonstrados em revisões da literatura (Sparreboom et al., 2004; Borrelli & Angelo, 2009). Muitas destas interações estão diretamente relacionadas com moderação dos citocromo P450.

Outro trabalho descreve que extrato de Ginkgo biloba pode aumentar a concentração plasmática do anti-hipertensivo nifedipina, quando coadministrados, provocando cefaleia intensa, desmaio, rubor intenso e taquicardia (YOSHIOKA, 2004). A inibição da isoforma CYP 3A4 do sistema enzimático citocromo P450 pelos constituintes químicos do ginkgo é o provável mecanismo de ação envolvido (ALEXANDRE et al., 2008).

Portanto, considerando que produtos à base de plantas podem modular as CYP, que são as principais enzimas envolvidas na biotransformação de fármacos alopáticos, é de fundamental importância a compreensão deste

processo, a fim de determinar a possibilidade de interações medicamentosas e garantir o correto tratamento dos pacientes.

Neste sentido, o presente trabalho objetiva investigar os efeitos de duas plantas medicinais, que fazem parte da RENISUS (Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS), sobre atividades de enzimas do citocromo P450 hepáticas de rato.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

Ratos Wistar machos pesando entre 250 e 350 gramas foram mantidos em condições adequadas. Foram alimentados com ração de roedores e água ad libitum. O uso de animais neste projeto foi aprovado pela CEUA da UEZO (referência 005).

Extratos vegetais

Usamos extratos aquosos secos por aspersão para aplicação farmacêutica e nutracêutica, fornecido pela empresa BioTae - Extratos Vegetais.

Tratamento

Os animais foram separados em 4 grupos e receberam, por meio de gavagem, por quatro dias consecutivos, diferentes doses dos extratos (10,100 ou 1000 mg/kg do animal, diluído em água). Aos ratos controles foi fornecida apenas água destilada. Passadas 24h da última dose, os animais foram submetidos à eutanásia por inalação de CO₂.

Preparo de microsomas

Os microsomas hepáticos dos ratos foram preparados basicamente conforme descrito por RIBEIRO PINTO et al. (2001). Para o preparo do microsoma os fígados

foram descongelados, pesados e homogeneizados em homogeneizador Potter-Elvehjem teflon/vidro, numa proporção de 1,0 g de fígado para 4,0 mL de solução tampão gelada (fosfato de potássio 0,1 M, de pH 7,0, contendo 0,25 M de sacarose). Os homogeneizados hepáticos foram centrifugados a 12.000 x g por 30 min a 4°C. Os sobrenadantes desta primeira centrifugação foram transferidos para novos tubos e centrifugados em ultracentrífuga Hitachi, a 100.000 x g por 90 min a 4°C. Os sedimentos obtidos foram ressuspensos no mesmo tampão de homogeneização (1,0 mL de tampão/grama de tecido) e re-homogeneizados manualmente em Potter, aliquotados e congelados em freezer -70°C.

Determinação de atividades das enzimas citocromo P-450: EROD, MROD, PROD e ECOD

As condições de ensaio (pH, temperatura e concentração de substratos) de todas as atividades enzimáticas foram previamente padronizadas para microsoma hepático de rato no Laboratório de Bioquímica da UEZO.

A atividade da 7-etoxirresorufina O-desetilase (EROD), da 7-metoxirresorufina O-desmetilase (MROD) e da 7-pentoxirresorufina O-despentilase (PROD) foram determinadas basicamente como descritas por BURKE et al. (1985). Em resumo: em cubeta de quartzo, posicionada dentro do espectrofluorímetro (com temperatura controlada a 37°C por um banho-maria com circulação de água), foram pipetados o tampão fosfato de K⁺ 0,1M de pH 7,8 (q.s.p. 2,0 mL) de MgCl₂ 1,0 M em água destilada, 7-etoxirresorufina dissolvida em DMSO da Merck (5,0 µM final) e 400µg de microsoma hepático (diluído na hora do uso em tampão de homogeneização). Após 3 min de pré-incubação, a reação foi disparada com a

adição de 20 µL de NADPH 25 mM em água (0,25 mM final). A velocidade da reação foi determinada em tempo real pelo aumento da fluorescência causada pelo acúmulo de resorufina. A fluorescência foi lida continuamente por 60 segundos em um espectrofluorímetro, com excitação a 550 nm e emissão a 582 nm, com fendas 1/1.

A atividade de 7-etoxicumarina O-desetilase (ECOD) foi determinada basicamente conforme descrito por GREENLEE & POLAND (1978), com pequenas modificações. Sendo adicionados em tubos eppendorfs, em banho de gelo, o tampão fosfato de K⁺ 0,1 M pH 7,8 (q.s.p. 500 µL), 5,0 µL de cloreto de magnésio (MgCl₂) 1,0 M em H₂O (10 mM final), 5,0 µL de etoxicumarina 100 mM em dimetilsulfóxido (DMSO) da Merck (1,0 mM final), e 100µg de microsossoma hepático (diluído na hora do uso em tampão de homogeneização). Após 1 minuto de pré-incubação a 37°C, a reação foi disparada pela adição 20 µL de NADPH 25 mM em água (1,0 mM final) e paralisada 10 minutos depois pela adição 500 µL de uma solução de ácido tricloroacético (TCA) 5% (2,5 % final). Em seguida, os tubos foram centrifugados a 1000 rpm por 8 minutos a 5 °C e 500 µL de sobrenadante foram retirados e adicionados a tubos de vidro. Imediatamente, antes da leitura da fluorescência, adicionou-se aos tubos 2,0 mL de tampão glicina/hidróxido de sódio (NaOH) 1,6 M pH 10,3 para alcalinizar o meio. A fluorescência foi avaliada com excitação a 390 nm e emissão a 440 nm. Os brancos da reação foram feitos basicamente da mesma maneira que os ensaios, exceto pelo fato do microsossoma ter sido incluído apenas após o acréscimo do TCA.

Estatística empregada

Neste trabalho foram aplicados os testes de Kruskal-Wallis, Dunnett e Tukey para analisar a significância dos resultados obtidos.

O teste de Kruskal-Wallis foi o teste não paramétrico utilizado na comparação de três ou mais amostras independentes, indicando se houve diferença entre pelo menos duas delas. Dunnett foi o teste utilizado para comparar simultaneamente a média de tratamentos em teste com a média de um tratamento controle. Enquanto que o Teste de Tukey foi utilizado para testar todo e qualquer contraste entre duas médias.

RESULTADOS

Como pode ser observado na figura 1A, a administração do extrato de abacateiro (*Persea gratissima*) promoveu uma elevação significativa da atividade da ECOD microsossomal hepática de ratos. Estes efeitos foram observados com o uso do extrato nas doses de 10mg/kg (elevação de 27%) e 100 mg/kg (elevação de 37%). Por outro lado, a maior dose não causou efeito significativo sobre a atividade da enzima.

A atividade da EROD microsossomal hepática sofreu efeito contrário nos ratos tratados com o mesmo extrato. Como pode ser observado na figura 1B, neste caso houve uma redução da atividade da enzima, de maneira dose-dependente. Contudo, a análise estatística confirmou diferença significativa, com redução em torno de 60% da atividade, exclusivamente entre o grupo controle e o grupo de maior dose do extrato.

O extrato de abacateiro (Figura 1C) provocou um aumento de 90% na atividade da MROD no grupo de ratos que receberam 100 mg/Kg. A realização do teste estatístico Kruskal-Wallis permitiu encontrar valor de $p < 0,05$, confirmando uma diferença significativa entre a atividade de MROD do grupo que recebeu a dose de 100 mg/kg em relação ao grupo controle.

A administração do mesmo extrato causou um resultado semelhante sobre a atividade da enzima PROD, como pode ser observado na figura 1D. Após análise

estatística ficou comprovado um aumento na atividade da PROD, de forma significativa, apenas no grupo 100 mg/Kg, cujo aumento foi de 89%, embora também tenha havido aumento não significativo desta atividade no grupo que recebeu o extrato de abacateiro na dose 1000 mg/Kg, quando comparado com o grupo controle.

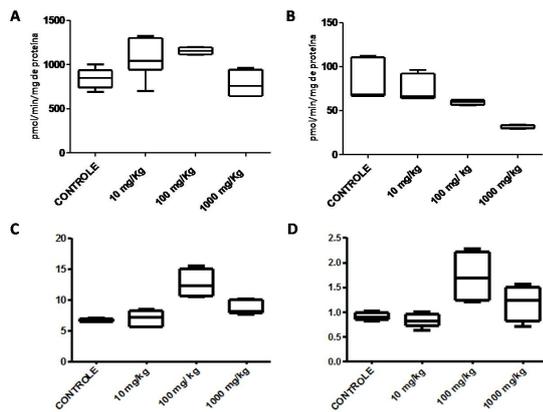


Figura 1: (A) Efeito in vivo do extrato de folhas de abacateiro sobre a atividade da enzima 7-etoxicumarina O-desetilase (ECOD) microsossomal hepática de ratos Wistar. Os dados foram analisados pelo teste de Dunnett – ANOVA. (B) Efeito in vivo do extrato de folhas de abacateiro sobre a atividade da enzima 7-etoxirresorufina O-desetilase (EROD) microsossomal hepática de ratos Wistar. Os dados foram analisados pelo teste de Dunnett – ANOVA. (C) Efeito in vivo do extrato de folhas de abacateiro sobre a atividade da enzima 7-metoxirresorufina O-desmetilase (MROD) microsossomal hepática de ratos Wistar. Os dados foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis. (D) Efeito in vivo do extrato de folhas de abacateiro sobre a atividade da enzima 7-pentoxirresorufina O-despentilase (PROD) microsossomal hepática de ratos Wistar. Os dados foram analisados pelo teste de Dunnett - ANOVA. Os gráficos ilustram a mediana (linha dentro da caixa), os quartis 75% e 25% (bordas superior e inferior da caixa) e os valores mínimo e máximo dos dados (extremidades da linha vertical).

O extrato de casca mulungu (*Erythrina mulungu*) promoveu significativa redução (cerca de 23%) da atividade da enzima ECOD microsossomal hepática de ratos apenas quando administrado na maior dose (1000 mg/kg), conforme apresentado pela figura 2A.

Por outro lado, quando foi avaliado os efeitos deste extrato sobre a atividade de EROD (figura 2B) observou-se um aumento da atividade desta enzima, em torno de 55%, quando administrado na dose de 10 mg/kg, enquanto 1000 mg/kg causou sua redução da atividade na ordem de 26%. Entretanto, a análise estatística não comprovou nenhum efeito significativo em ambos os casos.

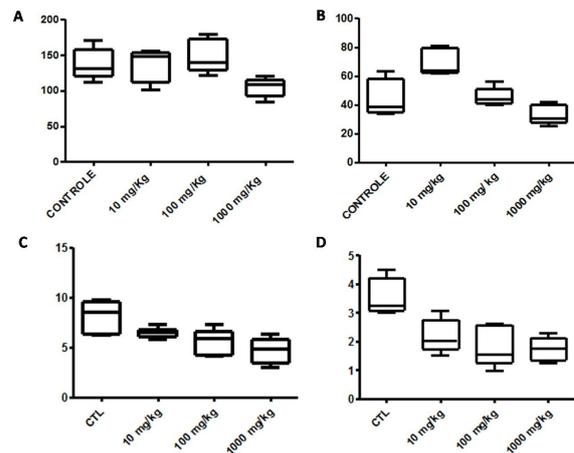


Figura 2: (A) Efeito in vivo do extrato de casca de mulungu sobre a atividade da enzima 7-etoxicumarina O-desetilase (ECOD) microsossomal hepática de ratos Wistar. Os dados foram analisados pelo teste de Dunnett – ANOVA. (B) Efeito in vivo do extrato de casca de mulungu sobre a atividade da enzima 7-etoxirresorufina O-desetilase (EROD) microsossomal hepática de ratos Wistar. Os dados foram analisados pelo teste de Dunnett - ANOVA. (C) Efeito in vivo do extrato de casca de mulungu sobre a atividade da enzima 7-metoxirresorufina O-desmetilase (MROD) microsossomal hepática de ratos Wistar. Os dados foram analisados pelo teste de Dunnett - ANOVA. (D) Efeito in vivo do extrato de casca de mulungu sobre a atividade da enzima 7-pentoxirresorufina O-despentilase (PROD)

microssomal hepática de ratos Wistar. Os dados foram analisados pelo teste de Dunnett - ANOVA. Os gráficos ilustram a mediana (linha dentro da caixa), os quartis 75% e 25% (bordas superior e inferior da caixa) e os valores mínimo e máximo dos dados (extremidades da linha vertical).

A administração do extrato da casca do mulungu resultou na redução da atividade da enzima MROD microssomal hepática de rato com as duas maiores doses testadas (Figura 2C). As reduções nas atividades foram de 31% no grupo que recebeu 100 mg/kg e de 42% no grupo que recebeu 1000 mg/kg.

Finalmente, a administração do extrato da casca do mulungu resultou na redução significativa da atividade da enzima PROD microssomal hepática de rato com todas as doses testadas (Figura 2D). As reduções nas atividades foram de 38% no grupo que recebeu 10 mg/kg, de 50% no grupo que recebeu 100 mg/kg e 51% no grupo que recebeu 1000 mg/kg.

DISCUSSÃO

A utilização de plantas medicinais é uma das práticas mais antigas utilizadas para tratamento de patologias humanas. Apesar da evolução do conhecimento científico, a utilização de métodos alternativos de cura pelo uso das plantas ainda é muito frequente e provém do conhecimento popular, fato ocorrido principalmente devido ao alto custo dos medicamentos sintéticos e à facilidade de obtenção das plantas medicinais. Contudo, as informações técnicas ainda são insuficientes para a maioria das plantas, de modo a garantir qualidade, eficácia e segurança do seu uso (NICOLLETI et al., 2007). Nesse sentido, quanto aos riscos da administração, as plantas medicinais não se diferenciam de qualquer xenobiótico sintético.

A *Persea gratissima*, conhecida como abacateiro, possui propriedades digestivas, antioxidantes, antibacterianas, antifúngicas,

antiulcerativas, anti-helmínticas e antidiarreicas. Por isso, o extrato é indicado para o tratamento de várias patologias como anemia, cansaço, hipercolesterolemia, hipertensão, gastrite e úlceras duodenais. Sua composição química é de taninos, mucilagens, ácido málico e acético, flavonoides (destacando-se a apigenina), óleo essencial, sais minerais, entre outros (LORENZI & MATOS, 2008). O abacateiro é uma planta medicinal muito utilizada pela população, por esta razão é sempre importante ter cuidado com o seu uso concomitante com outros medicamentos que sejam metabolizados pelo citocromo P450.

Conforme pode ser observado na tabela 1, nossos resultados mostram que a administração de extrato de abacateiro promoveu um aumento significativo das atividades da ECOD, MROD e PROD microssomais hepáticas de ratos. Por outro lado, o extrato desta planta promoveu uma redução significativa da atividade da EROD hepática destes animais.

Tabela 1: Efeitos dos extratos vegetais sobre atividades de enzimas citocromo P450 microssomais hepáticas de rato Wistar.

EXTRATOS	ECOD	EROD	MROD	PROD
Abacateiro	+ 27% (10 mg/kg)	NS (10 mg/kg)	NS (10 mg/kg)	NS (10 mg/kg)
	+ 37% (100 mg/kg)	NS (100 mg/kg)	+ 90% (100 mg/kg)	+ 89% (100 mg/kg)
	NS (1000 mg/kg)	- 60% (1000 mg/kg)	NS (1000 mg/kg)	NS (1000 mg/kg)
Mulungu	NS (10 mg/kg)	NS (10 mg/kg)	NS (10 mg/kg)	- 38% (10 mg/kg)
	NS (100 mg/kg)	NS (100 mg/kg)	- 31% (100 mg/kg)	- 50% (100 mg/kg)
	- 23% (1000 mg/kg)	NS (1000 mg/kg)	- 42% (1000 mg/kg)	- 51% (1000 mg/kg)

NS – estatisticamente não significativo

As alterações na atividade da EROD observadas no presente estudo podem estar relacionadas com a presença de apigenina na constituição química da *P. gratissima*, uma vez que este metabólito é capaz de inibir a atividade de diversas isoenzimas do citocromo P-450 (MASTER et al., 2012). Segundo Yao et al. (2008), alguns taninos presentes em plantas medicinais podem exercer um efeito inibitório não seletivo na MROD (CYP 1A2) e na EROD

(CYP 1A1) detectados em experimentos in vivo. Já que o extrato de abacateiro possui taninos em sua composição química, a inibição pode ser exercida por este metabólito secundário. Já na década de 1990, foi descrito que extrato de abacate inibe os efeitos do anticoagulante warfarin (BLICKSTEIN et al., 1991; WELLS et al., 1994), embora ainda hoje não seja conhecida a causa desta inibição. Todavia já está bem estabelecido que este fármaco seja metabolizado principalmente por enzimas do citocromo P450, destacando-se as CYP 3A4, 2C9 e 1A2, que podem ser induzidas por extrato de abacateiro (ULBRICHT et al., 2006), justificando a diminuição da ação da warfarina no organismo, pois esta seria então eliminada de forma mais rápida.

Nossos achados mostram que a administração de 100 mg/kg de extrato de folhas de abacateiro resultou não só na elevação da atividade da MROD, como também da PROD. Não há relatos na literatura sobre a indução destas enzimas por extrato de *P. gratissima*. Entretanto, Agbonon et al. (2010) reportaram o efeito inibitório da *Persea americana* sobre a CYP3A4, a isoforma responsável por metabolizar a maioria dos medicamentos conhecidos. O aumento das atividades das enzimas MROD e PROD, verificado no presente trabalho, pode ser atribuído à presença da quercetina, um dos constituintes da *P. gratissima*. Rahden-Staron et al. (2001) reportaram os efeitos indutores deste flavonoide sobre a subfamília CYP1A e, mais intensamente, sobre a CYP2B. Em estudo realizado por Yu et al. (2011) foi verificado que a quercetina reduziu a biodisponibilidade do imunossupressor ciclosporina através da indução da CYP3A4. Conforme dados apresentados, o uso de extrato de abacateiro pode interferir na meia vida de fármacos metabolizados por isoformas de citocromo P450, através da indução destas enzimas, uma vez que pode antecipar sua

metabolização e/ou eliminação.

A população utiliza as folhas e a casca de mulungu (*Erithrina mulungu*) no tratamento de insônia e desordens do sistema nervoso central (RODRIGUES & CRAVALHO, 2001). Na medicina tradicional esta planta é considerada um excelente sedativo para tratar ansiedade, tosses nervosas e outros problemas do sistema nervoso, incluindo agitação psicomotora e insônia, além de asma, bronquite, hepatite, gengivite, inflamações hepáticas e esplênicas e febres (ALMEIDA, 1993). Há relatos que as atividades hipotensoras e reguladoras dos batimentos cardíacos foram atribuídas a um grupo de alcaloides contidos nos tecidos da planta (LOURENZI & MATOS, 2008). A constituição química da *E. mulungu* é basicamente representada por açúcares redutores, fenóis, taninos, proteínas, aminoácidos, flavonoides, depsídeos e depsídonas, derivados de cumarina, esteroides, triterpenoides e, principalmente, alcaloides expressos em eritrina (DE BONA et al., 2012). Segundo Teske et al. (1997), esses alcaloides agem no sistema nervoso central, levando a um bloqueio neuromuscular e um relaxamento da musculatura lisa, promovendo a ação neurológica esperada. São lentamente absorvidos no trato intestinal e rapidamente eliminados na urina.

Nossos resultados, resumidos no Quadro 1, mostram que a administração de extrato de casca de mulungu promoveu redução significativa das atividades da ECOD, MROD e PROD microssomais hepáticas de ratos Wister. Por outro lado, o extrato desta planta não promoveu efeito significativo sobre a atividade da EROD hepática deste animal.

Embora nenhum estudo tenha ainda apontado esta redução de atividades de citocromo P450 por extratos de casca de *E. mulungu*, essa diminuição pode estar relacionada com a presença de diversos metabólitos expressos nesta planta, que

promoveram o mesmo efeito quando extratos de outras plantas contendo estes metabólitos foram administrados. Estudos indicam que alguns flavonoides tem potencial inibitório sobre enzimas do citocromo P450 (KARABIN et al. 2015). São encontrados no extrato de *E. mulungu* alguns flavonoides como flavonas, flavonóis, catequinas e xantonas (OLIVEIRA, 2009). Dentre os flavonoides, alguns promovem efeitos inibitórios de enzimas do citocromo P450, como os flavonóis, destacando-se a quercetina. Segundo Oliveira & Costa (2004), este metabólito demonstrou ser um potente inibidor in vitro da CYP 3A4. Em contrapartida, Hsui (2002) alega que estudos realizados em animais detectaram uma diminuição na biodisponibilidade da ciclosporina (antineoplásico imunossupressor) quando utilizada concomitantemente com extrato de *E. mulungu*, promovendo um aumento do clearance do antineoplásico, provavelmente devido a uma indução enzimática. Outros estudos verificam o potencial inibitório da quercetina, como por exemplo, Master et al. (2012), que relatam que esta substância atua sobre a CYP1A1. Enquanto que Tiong et al. (2010) alegam que este efeito se manifesta sobre a CYP 2A6 quando avaliado in vitro.

As cumarinas também são metabólitos ativos presentes na *E. mulungu*. De acordo com Cai et al. (1997), várias cumarinas encontradas na dieta e em plantas medicinais demonstraram ser fortes inibidores da EROD e PROD quando avaliados in vitro. Não há relatos na literatura quanto a testes in vivo. Os alcaloides presentes no extrato de *mulungu* são os principais componentes responsáveis pelos efeitos neurológicos associados ao tratamento. O alcaloide eritralina, principal metabólito presente no *mulungu*, foi comprovado ser metabolizado por enzimas da CYP (MARQUES et al. 2015), porém não se sabe se o próprio alcaloide age sobre estas enzimas. Tendo em vista isso, sabe-se que alcaloides

isoquinolínicos promovem inibições de diversas enzimas do citocromo P450, tais como CYP3A4 e 2D6, com maior intensidade, além das CYPs 1A2, 2C9 e 2B6 com intensidade moderada (SALMINEN et al. 2011).

No presente estudo, o tratamento com extrato de casca de *mulungu* promoveu reduções das atividades da ECOD, MROD E PROD microsossomais hepáticas de rato Wistar. Não foi encontrado na literatura nenhum estudo sobre a modulação das enzimas do citocromo P450 pelos metabólitos desta espécie. Entretanto, vários autores relataram os efeitos inibitórios de citocromo P450 pela quercetina, um dos flavonoides presentes no *mulungu*. Em 2004, Oliveira & Costa relataram potente inibição in vitro da CYP3A4 por este metabólito, enquanto que e Tiong et al. (2010), verificaram mesmo efeito observado sobre a CYP2A6 e Master et al. (2012), sobre a CYP 1A1.

CONCLUSÃO

Nossos achados, corroborados por dados descritos na literatura, indicam fortemente que o consumo de plantas medicinais e fitoterápicos pode afetar a segurança de outros fármacos. Portanto, é necessário maior atenção e cautela no uso concomitante de fármacos alopáticos e fitoterápicos, objetivando evitar interações medicamentosas que possam interferir na efetividade de um determinado fármaco ou causar intoxicação do usuário.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGBONON A, Eklu-Gadegbeku K, Aklikokou K, Gbeassor M, Akpagana K, Tam TW, Arnason JT AND FOSTER BC. 2010. In vitro inhibitory effect of West African medicinal and food plants on human cytochrome P450 3A subfamily. *Journal of Ethnopharmacology*, Ottawa, n.128, p. 390–394.

- ALMEIDA ER. 1993. Plantas medicinais brasileiras: conhecimentos populares e científicos. Hemus editora Ltda. São Paulo. p.54-68.
- ANDRADE SF, CARDOSO LG AND BASTOS JK. 2007 Anti-inflammatory and antinociceptive activities of extract, fractions and populonic acid from bark wood of *Austroplenckia populnea*. *Journal of hnopharmacology*, v.109, n. 3, p. 464-471.
- ARNOUS AH, SANTOS AS AND BEINNER RPC. 2005. Plantas medicinais de uso caseiro - conhecimento popular e interesse por cultivo comunitário. *Revista Espaço para a Saúde, Meladão*, v.6, n.2, p.1-6.
- BLICKSTEIN D, SHAKLAI M AND INBAL A. 1991. Warfarin antagonism by avocado. *Lancet* 337:914–15.
- BORRELLI F AND IZZO AA. 2009. Herb–Drug Interactions with St John’s Wort (*Hypericum perforatum*): an Update on Clinical Observations. *The AAPS Journal*, Vol. 11, No. 4.
- BURKE MD, THOMPSON S, ELCOMBE CR, HALPERT J, HAAPARANTA T AND MAYER RT. 1985. Ethoxy-, pentoxy- and benziloxypheoxazones and homologues: a series of substrates to distinguish between differents induced cytochromes P-450. *Biochemical Pharmacology*, p. 3337-3345.
- CARRASCO MC, VALLEJO JOSÉ-RAMÓN, PARDO-DE-SANTAYANA M, PERAL D, MARTÍN MA AND ALTIMIRAS J. 2009. Interactions of *Valeriana officinalis* L. and *Passiflora incarnata* L. in a Patient Treated with Lorazepam. *Phytotherapy Research*, n. 23, p. 1795-1796.
- CORDEIRO CHG, CHUNG MC AND SACRAMENTO LVS. 2005. Interações medicamentosas de fitoterápicos e fármacos: *Hypericum perforatum* e *Piper methysticum*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, João Pessoa, v. 15, n.3, p. 272-278.
- CUNHA AP. 2005. *Farmacognosia e Fotoquímica*. 1. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 670 p.
- DE BONA AP, BATITUCCI MCP, ANDRADE MA, RIVA JAR AND PERDIGÃO TL. 2012. Estudo fitoquímico e análise mutagênica das folhas e inflorescências de *Erythrina mulungu* (Mart. ex Benth.) através do Teste de Micronúcleo em roedores. *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*, Botucatu, v.14, n.2, p.344-351.
- FRANÇA ISX, SOUZA JA, BAPTISTA RS AND BRITO VSS. 2008. Medicina popular: benefícios e malefícios das plantas medicinais. *Revista Brasileira de Enfermagem*, Brasília, v. 61, n. 2, p. 201-208.
- GREENLEE WF AND POLAND A. 1978. In improved assay of 7-ethoxycoumarin O-deethylase activity: induction of hepatic enzyme activity in C57BL/6J and DBA/2J mice by phenobarbital, 3-methylcholanthrene and 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *J Pharmacol Exp Ther*. v.205, nº 3, p. 596-605.
- HSIU SL, HOU YC, WANG YH, TSAO CW, Su SF AND CHAO PD. 2002. Quercetin significantly decreased cyclosporin oral bioavailability in pigs and rats, *Life Sciences*, Taiwan, v.72, p. 227–235.
- KARABIN M, HUDCOVA T, JELINEK L AND DOSTALEK P. 2015. Biotransformations and biological activities of hop flavonoids. *Biotechnology Advances*, Prague.

- LORENZI H AND MATOS FJA. 2008. Plantas Mediciniais no Brasil Nativas e Exóticas. Instituto Plantarum, 2ª Edição, Nova Odessa – SP - Brasil.
- MARQUES LMM, Armani Aguiar FA, Silva DB, Oliveira ARM, Lopes NP, LopesJLC AND Guaratini T. 2015. Microsomal metabolism of erythraline: an anxiolytic spiroalkaloid. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, Ribeirão Preto, v. 25, p. 529–532.
- Master Z, Chaudhary A, Thomas R, Sutter TR AND Willett KL. 2012. Effects of flavonoids on CYP1 expression in RL95-2 endometrial carcinoma cells. *Food Chemistry*, Memphis, n.133, p.912–922.
- NICOLETTI MA, OLIVEIRA-JÚNIOR MA, BERTASSO CC, CAPOROSI PY AND TAVARESAPL. 2007. Principais interações no uso de medicamentos fitoterápicos. *Infarma*, Guarulhos, v.19, nº 1/2.
- OLIVEIRA AE AND COSTA T.D. 2004. Interações Farmacocinéticas entre as Plantas Mediciniais *Hypericum perforatum*, *Ginkgo biloba* e *Panax ginseng* e Fármacos Tradicionais. *Acta farmacêutica bonaerense*, Porto Alegre, v. 23, n. 4, p. 567-78.
- OLIVEIRA MSG. 2009. Estudo Fitoquímico e Avaliação Antinociceptiva e Anti-inflamatória de *Erythrina mulungu* (Fabaceae). 167fl. Mestre em Química e Biotecnologia - Universidade Federal de Alagoas. Maceió.
- PARKINSON A. 2001. Biotransformation of xenobiotics. In: Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons, (C. D., KLAASSEN, org), pp. 113 – 186, 9 edition, New York, McGraw Hill, Inc. p.71-84.
- RAHDEN-STARON I, CZECZOT H. AND SZUMILO, M. 2001. Induction of rat liver cytochrome P450 isoenzymes CYP 1A and CYP 2B by different fungicides, nitrofurans, and quercetin. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, S.l., v. 498, n. 1, p. 57-66.
- RIBEIRO PINTO LF, MORAES E, ALBANO RM, SILVA CC, GODOY W, G LOSOVIC T AND LANG MA. 2001. The rat oesophageal cytochrome P450 (CYP) monooxygenase system: comparison to the liver and relevance to N-nitrosodiethylamine carcinogenics. *Carcinogenesis*, S.l., v. 22, n. 11 p. 1877-1883.
- RODRIGO FA, FABÍOLA B AND CLÁUDIA MOS. 2008. Interações entre fármacos e medicamentos fitoterápicos à base de ginkgo ou ginseng. *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 18(1): 117-126.
- RODRIGUES VE AND CARVALHO DA. 2001. Plantas medicinais no domínio dos cerrados. 180fl. Universidade Federal de Lavras: Lavras.
- Salminen KA, Meyer A, Jerabkova L, Korhonen LE, Rahnasto M, Juvonen RO, Imming P AND Raunio H. 2011. Inhibition of human drug metabolizing cytochrome P450 enzymes by plant isoquinoline alkaloids, *Phytomedicine*, Kuopio, n.18, p. 533–538.
- SPARREBOOM A, COX MC, ACHARYA MR AND FIGG WD 2004. Herbal remedies in the United States: potential adverse interactions with anticancer agents. *J Clin Oncol* 22: 2489-2503.
- SUBRATA P, SIVASANKARAN P, ARUN B, SARDA O AND PULOK K. M. 2011. Exploring the Possible Metabolism Mediated Interaction of *Glycyrrhiza glabra* Extract with CYP3A4 and CYP2D6. *Phytother. Res.* 25: 1429–1434.

- TESKE M AND TRENTINI AMM. 1997. *Compêndio de Fitoterapia*. Curitiba: Herbarium Laboratório Botânico Ltda. Ed. 04. P. 317-323.
- Tiong KH, Yiap BC, Tan EL, Ismail R AND Ong CE. 2010. In vitro modulation of naturally occurring flavonoids on cytochrome P450 2A6 (CYP2A6) activity. *Xenobiotica*, Bukit Jalil, n.40, v.7, p. 458–466.
- Ulbricht C, Basch E, Weissner W AND Hackman D. 2006. An evidence-based systematic review of herb and supplement interactions by the Natural Standard Research Collaboration. *Expert Opinion on Drug Safety*, Cambridge, v. 5, n.5.
- WELLS PS, HOLBROOK AM, CROWTHER NR AND HIRSH J. 1994. Interactions of warfarin with drugs and food. *Ann Intern Med* 121:676–83.
- Yao HT, Chang YW, Lan SJ AND Yeh TK. 2008. The inhibitory effect of tannic acid on cytochrome P450 enzymes and NADPH-CYP reductase in rat and human liver microsomes. *Food and Chemical Toxicology*, Taiwan, n. 46, p.645–653.
- YINGNA C, WANDA BD, MIKE AS AND JOHN D. 1997. Inhibitory effects of naturally occurring coumarins on the metabolic activation of benzo[a]pyrene and 7,12-dimethylbenz[a]anthracene in cultured mouse keratinocytes. *Carcinogenesis*, Smithville, v.18, pp. 215–222.
- YOSHIOKA M, OHNISHI N, SONE N, EGAMI S, TAKARA K, YOKOYAMA K AND KURODA K. 2004. Studies on Interactions between Functional Foods or Dietary Supplements and Medicines. III. Effects of Ginkgo biloba Leaf Extract on the Pharmacokinetics of Nifedipine in Rats. *Biol. Pharm. Bull.* 27(12) 2042—2045.
- YU P, WU PP, HOU YC, LIN SP, TSAI SY, CHEN CT AND CHAO PDL. 2011. Quercetin and Rutin Reduced the Bioavailability of Cyclosporine from Neoral, an Immunosuppressant, through Activating P-Glycoprotein and CYP 3A4. *Journal of agricultural and food chemistry*, Maioli, v. 59, n. 9, p.4644-4648.