ÁREA DE SUBMISSÃO: PRODUTOS NATURAIS E QUÍMICA MEDICINAL -
PNQM30

ESTUDO DA TOXICIDADE ORAL AGUDA DA FRAÇÃO METANÓLICA DE *Buchenavia tetraphylla* (AUBL.) R.A. HOWARD.

Silva, C.F.O.¹, Silva, M.V.¹, Cunha, M.G.C.¹, Correia, M.T.S.¹, A.A.M.O.S.V., Vicente².

¹Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco, Brasil.

²Departamento de Biologia e Engenharia, Universidade do Minho, Portugal.

E-mail para contato: clarissaclara@gmail.com

RESUMO- O objetivo deste trabalho foi avaliar a toxicidade oral aguda in vivo da fração metanólica de *B. tetraphylla* (BtMeOH). Foi administrado por via oral na dose de 2000 mg/kg em camundongos swiss albinos. Os animais foram observados durante 14 dias após administração para avaliação da toxicidade oral aguda, não sendo encontradas alterações significativas no peso dos animais ou consumo de água e ração. Os órgãos dos animais maniveram-se preservados micro e macroscopicamente. Esses resultados indicam que BtMeOH não tóxico na dose testada.

Palavras-chave: Plantas Medicinais. Caatinga. Toxicidade. Segurança de uso.

ABSTRACT- The purpose of this work was to evaluate the acute oral toxicity in vivo of the metanolic fraction of *B. tetraphylla* (BtMeOH). It was administered orally at the dose of 2000 mg / kg in albino swiss mice. The animals were observed for 14 days after administration to assess acute oral toxicity, with no significant changes in animal weight or feed and water intake. The organs of animals are preserved micro- and macroscopically. These results indicate that nontoxic BtMeOH at the dose tested.

Key words: Medicinal plants. Caatinga. Toxicity. Safety of use.

1. INTRODUÇÃO

A vegetação do semiárido nordestino, em especial a caatinga, compreende formações vegetais altamente ameaçadas, sendo fonte ainda pouco conhecida de recursos naturais. Nesse ambiente encontram-se representantes da família Combretaceae, como a *Buchenavia tetraphylla* que possui distribuição neotropical e no Brasil ocorre naturalmente no Norte, Nordeste, Centro-Oeste e Sudeste (Marquete; Loiola, 2015). A utilização de produtos vegetais deve estar alicerçada em informações sobre a composição química e toxicidade, pois tais produtos não estão isentos de efeitos adversos, podendo ser potencialmente nefrotóxicos, hepatotóxicos, mutagênicos ou genotóxicos. Vários biomarcadores são reconhecidos por agências reguladoras internacionais e utilizados para avaliar a segurança e eficácia de produtos naturais (Bhagat, 2017).

Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a toxicidade oral aguda da fração metanólica de *B. tetraphylla* em camundongos.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Material botânico e obtenção da fração metanólica

Folhas de *B. tetraphylla* foram coletadas no período de novembro de 2013, no Parque Nacional do Catimbau (Pernambuco, Brasil), sendo uma exsicata identificada e depositada no Herbário do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA) como espécime-testemunho de número 84.104. Após desidratado o material foi triturado e o pó armazenado em potes escuros até a utilização. A obtenção do extrato foi realizada segundo Cavalcanti e colaboradores (2017).

Animais

Foram utilizados camundongos machos ou fêmeas swiss albinos, com aproximadamente oito semanas de idade, pesando em torno de 40g. Durante o experimento, os animais foram acondicionados em caixas de polipropileno mantidas a temperatura de $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $50 \pm 5\%$, com ciclo de 12 horas claro/escuro. Os animais receberam água potável e ração a vontade. Todos os procedimentos experimentais obedeceram às normas sugeridas pelo Colégio Brasileiro para Experimentação Animal (COBEA) e foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEUA-UFPE) (protocolo nº 00049/2016).

Avaliação da toxicidade oral aguda

Para a avaliação da toxicidade da fração BtMeOH foi utilizada a metodologia recomendada pela Organisation for Economic Cooperation and Development (OECD, 2001). O método permite a classificação do material que está sendo testado em diversas classes de toxicidade definidas por valores de corte fixos de DL50 (dose letal média) (Reddy, 2015). O teste de toxicidade aguda consistiu na administração da dose de 2000 mg/kg do produto em estudo por gavagem. Foram utilizados 2 grupos, cada um contendo três animais (fêmeas), totalizando 6 animais para o experimento. Este procedimento foi realizado em duplicata. A fração MeOH foi solubilizada em NaCl 0,9% (p/v) e 1% de DMSO e um grupo recebeu apenas o veículo. Após a administração os animais foram observados continuamente nas primeiras duas horas e depois a cada 24 horas diariamente durante 14 dias, para a verificação de qualquer alteração comportamental ou nas atividades fisiológicas. Os animais foram avaliados pelo método de screening hipocrático. Também foram observados o consumo de água, ração e o peso dos órgãos após o término do período de experimentação (fígado e rim). O sangue dos animais também foi coletado para verificação dos parâmetros bioquímicos. As análises histológicas do fígado e rim dos animais do grupo controle e fração foram realizadas por microscopia óptica. Secções histológicas de 5 μm foram cortadas em micrótomo, coradas com hematoxilina-eosina e montadas com lâmina de cobertura com resina Entellan (Merk- German). As lâminas foram observadas em microscópio óptico acoplado a uma câmera digitam Moticam 1000 1.3 MP (Motic Incorporation Ltd, Causeway Bay, Hong Kong).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados deste teste estão representados na tabela 1. Na primeira hora de observação, os animais que receberam tratamento apresentaram piloereção e sonolência, entretanto nenhum veio a óbito em 24 horas. Não houve nenhuma variação significativa no peso ou consumo de

água e ração em relação aos animais do grupo controle. Os resultados obtidos indicam que o produto BtMeOH apresentou baixa toxicidade com DL_{50} estimada em 2500 mg/kg. Em relação aos parâmetros bioquímicos avaliados, houve diferença estatística quanto aos valores da enzima TGO (AST) dos animais tratados com BtMeOH em relação ao controle. Nenhum outro parâmetro bioquímico avaliado variou de forma significativa (tabela 2).

Tabela . Evolução do peso corporal, consumo de ração, água e peso dos órgãos (média $\pm$ desvio padrão), dos animais tratados com a fração metanólica de *B. tetraphyla* em relação ao grupo controle.

Grupos	Consumo de ração (g)	Consumo de água (mL)	Peso dos animais Inicial/Final (g)	Índice dos órgãos	
				Fígado	Rim
BtMeOH	13,7 $\pm$ 2,0	15,7 $\pm$ 4,9	37,8 – 38,6	1.596	0.344
Controle	15,5 $\pm$ 3,8	19,6 $\pm$ 4,7	37,4 – 36,3	1.696	0.367

Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão. *p < 0,05. Significativos após análise de variância (ANOVA) de uma via seguida pelo teste de Newman-Keuls com intervalo de confiança de 95%, quando comparados ao grupo controle.

Trabalhos realizados com a família Combretaceae mostram que alguns extratos ou compostos de representantes do grupo apresentam baixam toxicidade. Em análise da toxicidade oral aguda da espécie *Conocarpus erectus* todos os animais submetidos à dose de 2000 mg/kg sobreviveram (Nascimento et al, 2016). Jayesh e colaboradores (2017) investigaram a toxicidade aguda oral de *Terminalia bellirica* e na dose máxima de 2000 mg/kg não houve mudanças significativas no consumo de água, ração, no peso corporal, nem alterações histológicas ou nas funções hepática e renal em relação ao grupo controle.

No nosso estudo não foram encontradas modificações histológicas no rim ou fígado do grupo tratado com BtMeOH na dose de 2000 mg/kg. Os tecidos renais não apresentaram quaisquer sinais de degeneração da cápsula de Bowman, dos glomérulos, dos túbulos contorcidos proximais ou distais. Também não foram encontradas evidências de hepatotoxicidade, como vacúolos, lesões ou necrose. Nos testes para toxicidade oral aguda foram empregados camundongos fêmeas, pois estas vêm sendo utilizadas frequentemente para determinação da DL_{50} devido à sua maior sensibilidade (Jayesh, 2017). A DL_{50} encontrada neste estudo para a fração BtMeOH segundo as diretrizes estabelecidas pelo guia OECD 423 (OECD, 2001) foi estimada acima de 2000 mg/kg. O protocolo citado não recomenda a realização de testes de toxicidade para a dose de 5000 mg/kg, devido à dificuldade de solubilização e administração, exceto nos casos de necessidade de estudo para garantir a qualidade da saúde humana.

Tabela . Parâmetros bioquímicos do sangue dos animais tratados por via oral com BtMeOH.

Tratamentos	Parâmetros					
	AST (U/L)	ALT (U/L)	FA (U/L)	ALB (g/dL)	PT (mg/dL)	UREIA (mg/dL)
Controle	77,05 $\pm$ 4,04	58,79 $\pm$ 8,63	30,47 $\pm$ 19,38	2,76 $\pm$ 0,39	4,36 $\pm$ 0,28	0,41 $\pm$ 0,06
BtMEOH			37,41 $\pm$ 16,17	2,59 $\pm$ 0,40	4,34 $\pm$ 0,2	0,60 $\pm$ 0,04

(2000 mg/kg)	120,90 ± 21,99*	127,74 ± 38,33
--------------	--------------------	-------------------

Resultados expressos em média ± desvio padrão. *p < 0,05. Significativos após análise de variância (ANOVA) de uma via seguida pelo teste de Newman-Keuls.

4. CONCLUSÃO

Mediante os resultados obtidos, podemos concluir que a fração metanólica de *B. tetraphylla* não causou alterações significativas de toxicidade quando administrado por via oral. *B. tetraphylla* é uma importante fonte de metabólitos cuja bioatividade são relatados na literatura com frequência. Os resultados obtidos neste estudo contribuem para a determinação da segurança do uso medicinal das folhas de *B. tetraphylla* pela população.

5. REFERÊNCIAS

- BHAGAT, J. Combinations of genotoxic tests for the evaluation of group 1 IARC carcinogens. **Journal of Applied Toxicology**, 2017.
- CAVALCANTI FILHO, J. R. N.; SILVA, T. F.; NOBRE, W. Q.; OLIVEIRA DE SOUZA; L. I., SILVA E SILVA FIGUEIREDO, C. S.; FIGUEIREDO, R. C. B. Q. D.; GUSMÃO, N. B.; SILVA, M.V.; DA SILVA, L.C.N.; CORREIA, M. T. D. S. Antimicrobial activity of *Buchenavia tetraphylla* against *Candida albicans* strains isolated from vaginal secretions. **Pharmaceutical Biology**, v. 55, n. 1, p. 1521-1527, 2017.
- JAYESH, K.; HELEN, L. R.; VYSAKH, A.; BINIL, E.; LATHA, M. S. In vivo toxicity evaluation of aqueous acetone extract of *Terminalia bellirica* (Gaertn.) Roxb. fruit. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 86, p. 349-355, 2017.
- MARQUETE, N.; LOIOLA, M.I.B. **Combretaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB90>. 2015.
- OCDE. Test No. 474: Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test, OECD. **Guidelines for the Testing of Chemicals**. Paris, 2014. Disponível em: < <http://www.oecd-ilibrary.org/docserver/download/9714541e.pdf?expires=1455135783&id=id&accname=guest&checksum=FAA3E240036470DE7F48522BC3B7FFFA> >.
- NASCIMENTO, D. K.; SOUZA, I. A.; OLIVEIRA, A. F. D.; BARBOSA, M. O.; SANTANA, M. A.; PEREIRA JUNIOR, D. F.; LIRA, E.C.; VIEIRA, J. R. Phytochemical Screening and Acute Toxicity of Aqueous Extract of Leaves of *Conocarpus erectus* Linnaeus in Swiss Albino Mice. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 88, n. 3, p. 1431-1437, 2016.