

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
LABORATÓRIO DE TECNOLOGIA FARMACÊUTICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUTOS NATURAIS E
SINTÉTICOS BIOATIVOS

AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA E CRÔNICA DO
EXTRATO HIDROALCOÓLICO DAS CASCAS DO CAULE DE
***PRADOSIA HUBERI* DUCKE**
(DUCKE)

ALDEÍDE DE OLIVEIRA BATISTA ROCHA

JOÃO PESSOA - PB

2008

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

ALDEÍDE DE OLIVEIRA BATISTA ROCHA

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA E CRÔNICA DO
EXTRATO HIDROALCOÓLICO DAS CASCAS DO CAULE
DE *PRADOSIA HUBERI* DUCKE**

(DUCKE)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Centro de Ciências da Saúde - Laboratório de Tecnologia Farmacêutica da Universidade Federal da Paraíba, em cumprimento às exigências para obtenção do título de Mestre em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos (Farmacologia).

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Margareth de Fátima Formiga Melo Diniz

JOÃO PESSOA - PB

2008

R 672 a Rocha, Aldeíde de Oliveira Batista.
Avaliação da toxicidade aguda e crônica do extrato hidroalcoólico das cascas do caule de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke)/Aldeíde de Oliveira Batista Rocha. João Pessoa, 2008.
95p.
Orientadora: Margareth de Fátima Formiga Melo Diniz
Dissertação (Mestrado) – UFPB/CCS/LTF
1. Produtos naturais. 2. Medicamentos fitoterápicos. 3. *Pradosia huberi* Ducke (Ducke). 4. Toxicidade – estudos.

UFPB/BC

CDU: 547.9 (043)

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA E CRÔNICA DO
EXTRATO HIDROALCOÓLICO DAS CASCAS DO CAULE
DE *PRADOSIA HUBERI* DUCKE
(DUCKE)**

ALDEÍDE DE OLIVEIRA BATISTA ROCHA

Dissertação aprovada em: 10 de março de 2008

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dr^ª. Margareth de Fátima Formiga Melo Diniz
Orientadora

Prof^ª. Dr^ª. Liana Clébia Soares Lima de Moraes
Examinadora interna

Prof^º. Dr^º. Antônio Pedro de Araújo Filho
Examinador externo

“Esforça-te, e tende bom ânimo; não temas, nem te espantes; porque o senhor teu Deus é contigo, por onde quer que andares.”

Josué 1: 9

Dedicatória

A Deus, razão de minha existência, a quem devo não somente tudo que tenho, mas principalmente tudo que sou.

Agradecimentos

A **Antônio Hortêncio R. Neto**, esposo, amigo e companheiro. Obrigada por toda paciência e tolerância, mas, principalmente, pelo exercício diário do amor. Este foi e sempre será o pilar de nossa união. Mais uma vez, obrigada por fazer parte de minha vida.

A **Antônio Hortêncio B. R. de Queiroga**, meu filho, maior benção recebida. Obrigada pela compreensão que lhe foi requisitada em tão tenra idade.

Aos meus queridos pais, **Joserino e Izabel**, exemplos de dedicação e caráter.

Ao meu irmão, **Alan César**, pelo apoio, carinho e sinceridade em momentos tão preciosos.

Aos mais amigos que familiares, **Vicente Queiroga** e **Fernando Viana**, pelo apoio dispensado.

À Prof.^a Dr.^a **Margareth de Fátima Formiga Melo Diniz**. Conhecimento e sabedoria são as suas marcas.

À Prof.^a Dr.^a **Liana Clébia Lima de Moraes**. Disposição e simpatia sempre presentes.

Ao querido casal, **Alessandra e Fernando Medeiros**, pela preparação do extrato, bem como colaboração, esclarecimentos e assistência prestados.

À Prof.^a Dr.^a **Maria Salete Trigueiro de Araújo**, pela competente e segura atuação para com os exames histopatológicos.

Aos valiosos amigos, **João Carlos Pita, Egberto Carmo, Ethiene Casteluci e Clélia Xavier**, pelo companheirismo e apoio em momentos de luta.

À inestimável **Kardilândia Oliveira**, pela feitura das análises hematológicas, mas, principalmente, pela mão amiga.

Aos funcionários do LTF/UFPB, em particular a **José Crispim Duarte**, pelo tratamento dos animais, apoio e atenção; a **Tânia Alves**, pelos esclarecimentos e auxílio doados e a **Hosana Bandeira dos Santos**, pela realização dos exames laboratoriais.

Aos companheiros (**Josué Ramalho, Waleska Viana, Aline Xavier e Marianna Sobral**) do Laboratório de Ensaio Toxicológicos, pela participação ativa na execução desta pesquisa.

A todos que contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	x
LISTA DE TABELAS.....	xi
LISTA DE GRÁFICOS.....	xiv
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xviii
RESUMO.....	xix
ABSTRACT.....	xx
CAPÍTULO I.....	1
1 INTRODUÇÃO.....	2
1.1 Fitoterapia: considerações legais.....	4
1.2 Sob a ótica da toxicologia.....	6
1.3 <i>Pradosia huberi</i> Ducke (Ducke).....	7
1.3.1 Aspectos botânicos.....	7
1.3.2 Constituintes químicos.....	8
1.3.3 Características farmacológicas.....	9
2 OBJETIVOS.....	11
2.1 Geral.....	11
2.2 Específicos.....	11
CAPÍTULO II.....	12
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	13
3.1 Locais da pesquisa.....	13
3.2 Materiais.....	13
3.2.1 Material botânico.....	13
3.2.2 Material animal.....	13
3.2.3 Aparentagem.....	15
3.3 Métodos.....	16
3.3.1 Preparação do Extrato Hidroalcoólico (EHA) de <i>Pradosia huberi</i> Ducke (Ducke) (casca do caule).....	16
3.3.2 Estudo toxicológico pré-clínico agudo.....	16

3.3.2.1 Tratamento dos animais.....	17
3.3.2.2 Acompanhamento toxicológico (Sinais Tóxicos Gerais e Letalidade).....	17
3.3.2.3 Evolução ponderal, consumo de água e alimento.....	17
3.3.2.4 Parâmetros sanguíneos: hematológicos e bioquímicos.....	18
3.3.2.5 Estudo macroscópico.....	19
3.3.3 Estudo toxicológico pré-clínico crônico.....	20
3.3.3.1 Tratamento dos animais.....	20
3.3.3.2 Parâmetros observados.....	21
3.3.3.2.1 Procedimentos experimentais durante o tratamento.....	21
3.3.3.2.2 Procedimentos experimentais após o tratamento.....	23
3.3.4. Análise estatística.....	24
CAPÍTULO III.....	25
4 RESULTADOS.....	26
4.1 Estudo toxicológico pré-clínico agudo.....	26
4.1.1 Sinais tóxicos gerais e letalidade.....	26
4.1.2 Evolução ponderal, consumo de água e alimento.....	26
4.1.3 Análise sanguínea: bioquímica e hematológica.....	29
4.1.3.1 Bioquímica.....	29
4.1.3.2 Hematologia.....	31
4.1.4 Estudo macroscópico.....	33
4.2 Estudo toxicológico pré-clínico crônico.....	34
4.2.1 Sinais tóxicos gerais e de letalidade.....	34
4.2.2 Evolução ponderal, consumo de água e alimentos.....	34
4.2.3 Temperatura corporal.....	43
4.2.4 Avaliação comportamental.....	45
4.2.4.1 Campo aberto.....	45
4.2.4.2 Rota Rod.....	51
4.2.5 Glicemia caudal.....	52
4.3.6 Análise sanguínea.....	55
4.2.6.1 Bioquímica.....	55

4.2.6.2 Hematológica.....	62
4.2.7 Estudo anatomopatológico.....	69
CAPÍTULO IV.....	73
5 DISCUSSÃO.....	74
CAPÍTULO V.....	86
6 CONCLUSÃO.....	87
7 PERSPECTIVAS.....	87
REFERÊNCIAS.....	88
ANEXO.....	94

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	<i>Pradosia huberi</i> Ducke (Ducke) - IEPA.....	7
Figura 2	Constituinte químico de <i>Pradosia huberi</i> Ducke (Ducke).....	9
Figura 3	Rato Wistar (<i>Ratus Norvergicus</i>).....	14
Figura 4	Necrose hepatocelular (lobular) associada a afluxo linfo-histocítico. Hematoxilina-eosina X250 (A-B).....	71
Figura 5	Veia hepática terminal de paredes finas (seta delgada), margeada por traves de hepatócitos (A) e inflamação mononuclear mural – perivenulite (B, seta grossa). Hematoxilina-eosina X100 (A) – X400 (B).....	71
Figura 6	Afluxo de linfócitos para a luz de sinusóides (seta curta), nos quais destacam-se células de Küpffer (seta longa). Hematoxilina-eosina X250 (A) – X400 (B).....	71
Figura 7	Espaços portais pequenos, laxos, apresentando tríades vâsculo-biliares habituais e inflamação linfocítica estromal. Hematoxilina-eosina X100 (A) – X400 (B). VP: Ramo da veia porta; AH: Arteríola hepática.....	72
Figura 8	Fêmea com quadro histológico de broncopneumonia, apresentando proeminente exsudação inflamatória mista com alargamento de septos alveolares e comprometimento da parede bronquial. Hematoxilina-eosina X250 (A-B).....	72

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Variação da evolução ponderal (g) semanal de ratos machos e fêmeas tratados com dose única, 2000mg/kg, do EHA de <i>Pradosia huberi</i> Ducke (Ducke).....	27
Tabela 2	Consumo de água (mL) e ração (g) de ratos, machos e fêmeas, tratados com a dose de 2000 mg/kg do EHA de <i>Pradosia huberi</i> Ducke (Ducke).....	27
Tabela 3	Parâmetros bioquímicos obtidos do soro de ratos machos, tratados com EHA de <i>Pradosia huberi</i> Ducke (Ducke), 2000 mg/kg.....	30
Tabela 4	Parâmetros hematológicos obtidos do soro de ratos machos, tratados com o EHA de <i>Pradosia huberi</i> Ducke (Ducke), 2000 mg/kg	32
Tabela 5	Peso de órgãos de ratos machos e fêmeas (controle e tratado) com o EHA de <i>Pradosia huberi</i> Ducke (Ducke) à dose única (2000 mg/kg).....	33
Tabela 6	Variação da evolução ponderal (g) em ratos machos tratados com diferentes doses do EHA das cascas de <i>Pradosia huberi</i> Ducke (Ducke) durante ensaio de toxicidade crônica.....	36
Tabela 7	Consumo semanal de água (mL) por ratos machos tratados com diferentes doses do EHA das cascas de <i>Pradosia huberi</i> Ducke (Ducke) durante ensaio de toxicidade crônica.....	37
Tabela 8	Consumo semanal de alimentos (g) por ratos machos tratados com diferentes doses do EHA das cascas de <i>Pradosia huberi</i> Ducke (Ducke) durante ensaio de toxicidade crônica.....	40
Tabela 9	Comparação do efeito da administração crônica de diferentes doses do EHA de <i>Pradosia huberi</i> Ducke (Ducke) com os respectivos grupos satélites sobre o consumo de água e ração dos animais.....	41
Tabela 10	Temperatura corporal (°C) de ratos machos tratados com diferentes doses do EHA das cascas de <i>Pradosia huberi</i> Ducke (Ducke) avaliada quinzenalmente durante ensaio de toxicidade crônica.....	44

Tabela 11	Número de ambulações no experimento de campo aberto, em ratos machos tratados com diferentes doses do EHA de <i>Pradosia huberi</i> Ducke (Ducke) durante ensaio de toxicidade crônica.....	46
Tabela 12	Número de manifestações do comportamento de “levantar” no experimento de campo aberto, em ratos machos tratados com diferentes doses do EHA de <i>Pradosia huberi</i> Ducke (Ducke) durante ensaio de toxicidade crônica.....	47
Tabela 13	Número de manifestações do comportamento de “limpeza” no experimento de campo aberto, em ratos machos tratados com diferentes doses do EHA de <i>Pradosia huberi</i> Ducke (Ducke) durante ensaio de toxicidade crônica.....	48
Tabela 14	Número de bolos fecais no experimento de campo aberto, em ratos machos tratados com diferentes doses do EHA de <i>Pradosia huberi</i> Ducke (Ducke) (crônica) durante ensaio de toxicidade crônica.....	49
Tabela 15	Comparação do efeito da administração crônica de diferentes doses do EHA de <i>Pradosia huberi</i> Ducke (Ducke) com os respectivos grupos satélites sobre os parâmetros observados durante avaliação comportamental de campo aberto (ambulação, ato de levantar, ato de limpeza e defecação) dos animais.....	50
Tabela 16	Tempo de permanência (em segundos) na barra giratória do aparelho Rota-Rod, de ratos machos com o EHA de <i>Pradosia huberi</i> Ducke (Ducke) durante ensaio de toxicidade crônica.....	51
Tabela 17	Glicemia caudal mensal (mg/dL) de ratos machos com diferentes doses do EHA de <i>Pradosia huberi</i> Ducke (Ducke) durante ensaio de toxicidade crônica.....	52
Tabela 18	Comparação do efeito da administração crônica de diferentes doses do EHA de <i>Pradosia huberi</i> Ducke (Ducke) com os respectivos grupos satélites sobre a glicemia dos animais.....	53
Tabela 19	Parâmetros bioquímicos obtidos do soro de ratos machos tratados com diferentes doses do EHA de <i>Pradosia huberi</i> Ducke (Ducke) durante o ensaio de toxicidade crônica.....	56

Tabela 20	Parâmetros hematológicos obtidos do soro de ratos machos tratados com diferentes doses do EHA de <i>Pradosia huberi</i> Ducke (Ducke) durante o ensaio de toxicidade crônica.....	63
Tabela 21	Peso dos órgãos dos animais tratados e controle com diferentes doses do EHA de <i>Pradosia huberi</i> Ducke (Ducke) durante o ensaio de toxicidade crônica.....	70

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1	Variação da evolução ponderal (média \pm e.p.m.) de ratos machos, após tratamento com EHA de <i>Pradosia huberi</i> Ducke (Ducke) (2000 mg/kg v.o.).....	27
Gráfico 2	Consumo de água (mL) (machos (A) e fêmeas (C)) e alimento (machos (B) e fêmeas (D)), dos animais tratados com a dose de 2000 mg/kg do EHA de <i>Pradosia huberi</i> Ducke (Ducke).....	28
Gráfico 3	Variação da evolução ponderal (g) em ratos machos tratados com diferentes doses do EHA das cascas de <i>Pradosia huberi</i> Ducke (Ducke) durante ensaio de toxicidade crônica.....	36
Gráfico 4	Consumo semanal de água (mL) por ratos machos tratados com diferentes doses do EHA das cascas de <i>Pradosia huberi</i> Ducke (Ducke) durante ensaio de toxicidade crônica.....	38
Gráfico 5	Consumo semanal de água (mL) por ratas fêmeas tratadas com diferentes doses do EHA das cascas de <i>Pradosia huberi</i> Ducke (Ducke) durante ensaio de toxicidade crônica.....	38
Gráfico 6	Consumo semanal de alimento (ração) por ratas fêmeas tratados com diferentes doses do EHA das cascas de <i>Pradosia huberi</i> Ducke (Ducke) durante ensaio de toxicidade crônica.....	41
Gráfico 7	Comparação do consumo de água (mL) de ratos machos tratados com diferentes doses do EHA das cascas de <i>Pradosia huberi</i> Ducke (Ducke) com os respectivos grupos satélites durante ensaio de toxicidade crônica.....	42
Gráfico 8	Comparação do consumo de água (mL) de ratas fêmeas tratadas com diferentes doses do EHA das cascas de <i>Pradosia huberi</i> Ducke (Ducke) com os respectivos grupos satélites durante ensaio de toxicidade crônica.....	42
Gráfico 9	Frequência de ambulações das ratas fêmeas tratadas com diferentes doses do EHA de <i>Pradosia huberi</i> Ducke (Ducke) na 4ª semana durante ensaio de toxicidade crônica.....	46

Gráfico 10	Frequência no ato de levantar (rearing) das ratas fêmeas tratadas com diferentes doses do EHA de <i>Pradosia huberi</i> Ducke (Ducke) na 2ª semana durante ensaio de toxicidade crônica.....	47
Gráfico 11	Glicemia caudal mensal (mg/dL) de ratas fêmeas tratadas com diferentes doses do EHA de <i>Pradosia huberi</i> Ducke (Ducke) durante ensaio de toxicidade crônica.....	53
Gráfico 12	Comparação da glicemia (mg/dL) de ratos machos tratados com diferentes doses do EHA das cascas de <i>Pradosia huberi</i> Ducke (Ducke) com os respectivos grupos satélites durante ensaio de toxicidade crônica.....	54
Gráfico 13	Comparação da glicemia (mg/dL) de ratas fêmeas tratadas com diferentes doses do EHA das cascas de <i>Pradosia huberi</i> Ducke (Ducke) com os respectivos grupos satélites durante ensaio de toxicidade crônica.....	54
Gráfico 14	Comparação da dosagem de colesterol no soro de ratos machos tratados com diferentes doses do EHA de <i>Pradosia huberi</i> Ducke (Ducke) com os respectivos grupos satélites durante ensaio de toxicidade crônica.....	58
Gráfico 15	Comparação da dosagem de AST no soro de ratos machos tratados com diferentes doses do EHA de <i>Pradosia huberi</i> Ducke (Ducke) com os respectivos grupos satélites durante ensaio de toxicidade crônica.....	58
Gráfico 16	Comparação da dosagem de fosfatase alcalina no soro de ratos machos tratados com diferentes doses do EHA de <i>Pradosia huberi</i> Ducke (Ducke) com os respectivos grupos satélites durante ensaio de toxicidade crônica.....	59
Gráfico 17	Comparação da dosagem de Ca ²⁺ no soro de ratos machos tratados com diferentes doses do EHA de <i>Pradosia huberi</i> Ducke (Ducke) com os respectivos grupos satélites durante ensaio de toxicidade crônica.....	59

Gráfico 18	Comparação da dosagem de triglicérides no soro de ratas fêmeas tratadas com diferentes doses do EHA de <i>Pradosia huberi</i> Ducke (Ducke) com os respectivos grupos satélites durante ensaio de toxicidade cônica.....	60
Gráfico 19	Comparação da dosagem de ácido úrico no soro de ratas fêmeas tratadas com diferentes doses do EHA de <i>Pradosia huberi</i> Ducke (Ducke) com os respectivos grupos satélites durante ensaio de toxicidade cônica.....	60
Gráfico 20	Comparação da dosagem de Ca^{2+} no soro de ratas fêmeas tratadas com diferentes doses do EHA de <i>Pradosia huberi</i> Ducke (Ducke) com os respectivos grupos satélites durante ensaio de toxicidade cônica.....	61
Gráfico 21	Comparação da dosagem de Mg^{2+} no soro de ratas fêmeas tratadas com diferentes doses do EHA de <i>Pradosia huberi</i> Ducke (Ducke) com os respectivos grupos satélites durante ensaio de toxicidade cônica.....	61
Gráfico 22	Comparação da dosagem de hematócrito no plasma de ratos machos tratados com diferentes doses do EHA de <i>Pradosia huberi</i> Ducke (Ducke) com os respectivos grupos satélites durante ensaio de toxicidade cônica.....	65
Gráfico 23	Comparação da dosagem de leucócitos no plasma de ratos machos tratados com diferentes doses do EHA de <i>Pradosia huberi</i> Ducke (Ducke) com os respectivos grupos satélites durante ensaio de toxicidade cônica.....	65
Gráfico 24	Comparação da dosagem de plaquetas no plasma de ratos machos tratados com diferentes doses do EHA de <i>Pradosia huberi</i> Ducke (Ducke) com os respectivos grupos satélites durante ensaio de toxicidade cônica.....	66
Gráfico 25	Comparação da dosagem de hemácias no plasma de ratas fêmeas tratadas com diferentes doses do EHA de <i>Pradosia huberi</i> Ducke (Ducke) com os respectivos grupos satélites durante ensaio de toxicidade cônica.....	66

Gráfico 26	Comparação do hematócrito no plasma de ratas fêmeas tratadas com diferentes doses do EHA de <i>Pradosia huberi</i> Ducke (Ducke) com os respectivos grupos satélites durante ensaio de toxicidade cônica.....	67
Gráfico 27	Comparação da dosagem de HCM no plasma de ratas fêmeas tratadas com diferentes doses do EHA de <i>Pradosia huberi</i> Ducke (Ducke) com os respectivos grupos satélites durante ensaio de toxicidade cônica.....	67
Gráfico 28	Comparação da dosagem de CHCM no plasma de ratas fêmeas tratadas com diferentes doses do EHA de <i>Pradosia huberi</i> Ducke com os respectivos grupos satélites durante ensaio de toxicidade cônica.....	68
Gráfico 29	Comparação da dosagem de plaquetas no plasma de ratas fêmeas tratadas com diferentes doses do EHA de <i>Pradosia huberi</i> Ducke com os respectivos grupos satélites durante ensaio de toxicidade crônica.....	68

LISTA DE ABREVIATURAS

ABIFITO – Associação Brasileira da Indústria Fitoterápica
ALT – Alanina Amino Transferase
ANOVA – Análise de Variância
ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AP – Amapá
AST – Aspartato Amino Transferase
CCS – Centro de Ciências da Saúde
CEPA – Comitê de Ética em Pesquisa Animal
CHCM – Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média
COBEA – Colégio Brasileiro de Experimentação Animal
EDTA – Ácido Etilenodiamino Tetracético
EHA – Extrato Hidroalcoólico
FAL – Fosfatase Alcalina
HCM – Hemoglobina Corpuscular Média
HULW – Hospital Universitário Lauro Wanderley
IEPA – Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Amapá
LABETOX – Laboratório de Ensaio Toxicológicos
LTF – Laboratório de Tecnologia Farmacêutica
OMS – Organização Mundial de Saúde
PNPIC – Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares
RDC – Resolução da Diretoria Colegiada
RE – Resolução Específica
SNA – Sistema Nervoso Autônomo
SNC – Sistema Nervoso Central
SUS – Sistema Único de Saúde
UFPB – Universidade Federal da Paraíba
UNESP – Universidade Estadual de São Paulo
VCM – Volume Corpuscular Médio
WHO – World Health Organization

RESUMO

ROCHA, Aldeíde de Oliveira Batista. **Avaliação da toxicidade aguda e crônica do extrato hidroalcoólico das cascas do caule de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke)**. 2008. Dissertação. Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos – CCS/LTF/UFPB, João Pessoa.

O uso de medicamentos fitoterápicos com finalidade terapêutica passou a ser oficialmente reconhecido pela Organização Mundial de Saúde desde 1978, que recomendou sua difusão a nível mundial. No âmbito nacional, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), por meio da Resolução Específica de nº 90 de 16 de março de 2004, trouxe publicação da “Guia de estudos de toxicidade pré-clínica de fitoterápicos”. A espécie *Pradosia huberi* Ducke (Ducke), pertencente à família Sapotaceae, trata-se de uma planta de uso medicinal largamente empregada pela população do Amapá (AP) para desordens gástricas (úlceras e gastrites). Estudos fitoquímicos revelaram flavonóides em sua composição. O presente estudo se propôs a avaliar a toxicidade pré-clínica, aguda e crônica, do extrato hidroalcoólico das cascas do caule de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke) sobre ratos Wistar, machos e fêmeas, em idade adulta. Seguindo as recomendações do órgão acima citado (ANVISA), o estudo de toxicidade aguda de dose única, 2000 mg/kg, revelou efeito significativo sobre a diminuição do consumo de água e ração para os machos tratados, refletindo sobre seu desenvolvimento ponderal. A análise hematológica e índices hematimétricos revelaram diminuições do hematócrito, hemoglobina, CHCM e plaquetas, sendo os machos mais sensíveis ao tratamento agudo. Os testes de toxicidade crônica, com utilização das três doses seguintes: 1,22 mg/kg, 6,1 mg/kg e 30,5 mg/kg, mostraram alterações variadas para ambos os sexos, afetando as ratas tratadas quanto ao consumo de água e alimentos (ração). Os ratos, machos e fêmeas, apresentaram intoxicação por *Pradosia Huberi* Ducke (Ducke) ao exame anatopatológico de fígado e pulmões, resultados corroborados pela análise sanguínea (bioquímica), que mostrou elevação considerável das transaminases (alanina e aspartato). De modo geral, esses efeitos já eram esperados em detrimento da alta dosagem responsável pela maioria dos resultados apresentados, uma vez que esta foi equivalente a 25 vezes da dose usual. Os estudos pré-clínicos executados com o extrato hidroalcoólico das cascas de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke) sugerem baixa toxicidade sobre os animais tratados, sem, no entanto, desconsiderar a continuidade de estudos fitoquímicos, farmacológicos e toxicológico pré-clínicos e clínicos.

Palavras-chave: Toxicidade. Aguda e Crônica. *Pradosia huberi* Ducke (Ducke).

ABSTRACT

ROCHA, Aldeíde de Oliveira Batista. **Acute and chronic evaluation of the effect of a hydroalcoholic extract from the *Pradosia huberi* Ducke (Ducke)**. 2008. Dissertation. Post Graduate Program in Natural and Synthetic Bioactive Products – CCS/LTF/UFPB, João Pessoa.

The use of extracts from natural origin as medicines of health-promoting agents (phytotherapy) was recognized by the World Health Organization in 1978, when its official use was started worldwide. In Brazil, the National Agency of Sanitary Control (ANVISA) published in 2004 a guide of studies of pre-clinical toxicity using phytotherapeutic agents. *Pradosia huberi* Ducke (Sapotaceae family) is a medicinal plant widely used in Amapá (AP) for gastric disorders such as gastritis and gastric ulcer. Studies showed the presence of flavonoids in its composition. The present study tried to evaluate the acute and chronic toxicity of a hydroalcoholic extract obtained from *Pradosia huberi* Ducke's stems in males and females Wistar rodents. The acute toxicity was observed by using a single dose of 2000 ml/Kg of Ducke's extract in the rodents, which caused a significant decrease in water and food consumption among the males and was reflected in their weight development. Males were more sensitive to acute treatment when compared to females. Their blood analysis showed a decrease in levels of haematocrit, haemoglobin and platelets. Doses of 1,22 mg/kg, 6,1 mg/kg and 30,5 mg/kg were used in the rodents to evaluate chronic toxicity. It was observed a decreased consumption of water and food in the females. Microscopic analysis of liver and lung tissue in both male and females showed intoxication by *Pradosia huberi* Ducke (Ducke). An elevation of liver function tests (gamma-glutamyl transferase and alkaline phosphatase) was found in their blood tests. These results were expected considering the high doses used in the study. Research suggests that the use of the hydroalcoholic extract of *Pradosia huberi* Ducke in rodents is low-toxic, but more studies are needed to evaluate its toxicity and pharmacological properties.

Key words: Toxicity. Acute and Chronic. *Pradosia huberi* Ducke (Ducke).

Capítulo I

Introdução

1 INTRODUÇÃO

Em épocas remotas, a utilização de uma planta como medicamento era estabelecida empiricamente por tentativas ou a partir da observação da natureza (SÁ, 2003). O uso de plantas no tratamento e na cura de enfermidades é tão antigo quanto a espécie humana. Ainda hoje, nas regiões mais pobres do país e até mesmo nas grandes cidades brasileiras, plantas medicinais são comercializadas em feiras livres, mercados populares e encontradas em quintais residenciais (MACIEL, 2000).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) calcula que 80% da população mundial utilizam remédios caseiros e especula que mais de 70% dos medicamentos derivados de plantas valeram-se dos conhecimentos populares com fortes indícios de reais propriedades medicinais (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1999). Estudos recentes afirmam ainda que cerca de 60% das plantas existentes no planeta já foram catalogadas e que um em cada quatro produtos vendidos nas farmácias é fabricado a partir de materiais extraídos de plantas das florestas tropicais (SANTOS, 2000).

O mercado mundial de medicamentos fitoterápicos vem movimentando US\$ bilhões por ano. Somente nos Estados Unidos da América, este mercado farmacêutico representa 5 bilhões, já a Europa é responsável por 7 bilhões (ASCHWANDEN, 2001).

Atualmente, vem se observando uma redescoberta, em termos de interesse científico, sobre a cultura popular referente às plantas medicinais, sendo este grandemente relacionado ao seu enorme potencial terapêutico. Entretanto, vale a pena considerar a potencialidade tóxica dessas plantas, o que só vem a endossar a necessidade de estudos que fundamentem cientificamente tal prática e, principalmente, com garantia de eficiência, segurança e qualidade do produto, minimizando ao máximo os efeitos considerados indesejáveis à saúde humana.

O que se tem visto, apesar da grande evolução da medicina alopática, a partir da segunda metade do século XX, é a existência de barreiras sócio-econômicas para a sua plena utilização pelas populações de baixo poder aquisitivo, barreiras estas que vão desde o acesso aos centros de atendimento hospitalar à obtenção de exames e medicamentos. Esses fatores, quando somados e racionalizados com o fácil acesso e manipulação das plantas medicinais, mais que justificam a utilização destas pelos países em desenvolvimento (VEIGA JUNIOR; PINTO; MACIEL, 2005).

O Brasil possui grande potencial para o desenvolvimento dessa terapêutica, tendo em vista possuir a maior diversidade vegetal do mundo, ampla sociodiversidade, uso de plantas medicinais vinculado ao conhecimento tradicional e tecnologia para validar cientificamente esse conhecimento.

Não obstante, em levantamento sobre o estudo da farmacologia de plantas medicinais em países em desenvolvimento, como, por exemplo, o Brasil, mostrou-se que, nestes, o investimento em pesquisas é pequeno e frequentemente interrompido, o mesmo acontecendo com programas que envolvem medicinas alternativas. Embora a extraordinária flora brasileira ofereça grande oportunidade para o desenvolvimento de novos produtos de origem natural, ainda assim a pesquisa destes produtos é limitada a pequenos grupos (SOUZA BRITO, 1996).

O estudo de novas plantas para o desenvolvimento de medicamentos fitoterápicos é um processo difícil e de alto custo. Dentre as 250.000 a 500.000 espécies de plantas conhecidas, apenas uma pequena parcela tem sido investigada fitoquimicamente, e uma proporção ainda menor tem sido alvo de estudos farmacológicos e toxicológicos, sejam pré-clínicos e/ou clínicos. Fator importante a ser considerado é a dificuldade de retorno financeiro equivalente a um investimento em torno de US\$ 350 milhões (WINSLOW e KROLL, 1998).

1.1 Fitoterapia: considerações legais

A OMS, na 40ª Conferência Internacional, realizada na Rússia, em Alma Ata, em 1978, recomendou a medicina popular a todos os países do mundo, através da utilização de plantas medicinais. Entre muitos fatores, foi a necessidade dos países em desenvolvimento de suprir, em relação à saúde, o grande contingente populacional e o empobrecimento do estado, sem condições, apesar de ser sua a responsabilidade, de prover e manter os bens e serviços públicos que levaram à tamanha recomendação (BRASÍLIA, 2001).

No Brasil, ultimamente, tem-se percebido certa preocupação pelas entidades governamentais com a normatização dos medicamentos fitoterápicos no tocante a aspectos importantes da sua eficácia e segurança. Na verdade, a regulamentação dos fitoterápicos, de maneira geral, está em processo de construção e implantação na maior parte do mundo.

Desde março de 2004, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) estabeleceu regulamentação para garantia da qualidade dos medicamentos fitoterápicos para o consumidor. Para tanto, exige a reprodutibilidade dos fitoterápicos fabricados com os lotes desses medicamentos produzidos com a mesma quantidade de um conjunto de moléculas denominado marcador. Outro item obrigatório é a comprovação da eficácia e segurança dos medicamentos fitoterápicos (BRASIL, 2004a).

É exigência do órgão supra citado, por meio da RDC nº48, de 16 de março de 2004 (a), que regula e controla o registro de medicamentos, a elaboração de relatório de controle de qualidade, assim como análises qualitativas e quantitativas sobre os princípios ativos e/ou marcadores, quando conhecidos, ou classes de compostos característicos da espécie.

Os estudos de verificação do grau de toxicidade e as etapas clínicas, regulamentadas pela ANVISA, incluem testes de laboratório com animais (Resolução Específica RE 90/04) e, numa fase posterior, experimentação em humanos (clínico) (BRASIL, 2004b). O estudo

toxicológico pré-clínico deve indicar o grau de confiança a ser depositado em uma droga vegetal, sendo classificado em estudo de toxicidade aguda (administração de uma dose única ou espaçada, em curto período de tempo) e estudo de toxicidade crônica (13 semanas) (LARINI, 1999; BARROS e DAVINO, 2003).

Portanto, o estudo toxicológico para fitoterápicos não difere em nada daquele recomendado para os produtos sintéticos ou semi-sintéticos. Desde a definição de fitoterápico como “medicamento de origem vegetal”, pela PORTARIA nº 123/SVS, de 19 de outubro de 1994, eles estão sujeitos à legislação vigente para medicamentos, pelo Decreto n. 79.094, de 5 de janeiro de 1977 (DI STASI, 1996).

De acordo com a OMS (2000), o interesse pelas terapias naturais vem aumentando, e acha-se em expansão o uso de plantas medicinais e medicamentos fitoterápicos nas últimas décadas. Ainda que a medicina moderna esteja bem desenvolvida na maior parte do mundo, grande parcela da população, principalmente dos países em desenvolvimento, faz uso da medicina tradicional (plantas medicinais) e, posteriormente, dos fitoterápicos para com os cuidados à atenção primária à saúde (BRASÍLIA, 2001).

Partindo do princípio de que políticas configuram decisões de caráter geral que apontam os rumos e as linhas estratégicas de atuação de uma determinada época, foi por meio da PORTARIA nº 971, de 3 de maio de 2006, que se aprovou a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde (SUS), neste se encontra inserida a fitoterapia (BRASIL, 2006a). Logo em seguida, o DECRETO nº 5.813, de 22 de junho de 2006, aprovou a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos e deu outras providências (BRASIL, 2006b).

1.2 Sob a ótica da toxicologia

No Brasil, embora haja uma vasta utilização de plantas medicinais por uma parcela considerável da população, ainda são escassos os dados científicos confirmatórios da presença e ausência da ação terapêutica e de toxicidade, respectivamente.

As plantas medicinais da flora brasileira são manipuladas e consumidas com inexpressiva ou nenhuma informação sobre suas propriedades reais farmacológicas, sendo estas propagadas por usuários ou comerciantes. A toxicidade de plantas medicinais e fitoterápicos quando comparada com a dos medicamentos convencionais parece não merecer destaque. Isto na verdade não corresponde à realidade dos fatos, uma vez que os efeitos adversos e colaterais constituem um problema sério de saúde pública (VEIGA JR; PINTO; MACIEL, 2005).

Na verdade, o que se tem percebido sobre a terapêutica em pauta (fitoterapia) é que esta não ocasiona efeitos colaterais, por ser de origem vegetal, não se fazendo, então, necessária a sua avaliação sob o ponto de vista científico (farmacológico e toxicológico). Entretanto, é importante ressaltar que se trata de um xenobiótico, ou seja, produto estranho que é lançado ao organismo humano com finalidades terapêuticas e, portanto, sujeito à biotransformação e posterior liberação de produtos possivelmente tóxicos, desfazendo-se, então, o ditado popular: “se bem não fizer, mal também não fará” (SIMÕES et al., 2002).

Segundo a OMS (2000), o uso contínuo, ou seja, o tratamento sob tempo prolongado de uma planta medicinal sem nenhum relato de qualquer intercorrência, não é justificativa para rotulá-la como não tóxica, até porque muitos problemas toxicológicos crônicos podem ter ocorrido sem a devida documentação. A organização acima citada recomenda, nos casos de inexistência de documentos a respeito do seu histórico de uso, a realização de estudos pré-clínicos e clínicos.

É crescente o número de efeitos danosos à saúde provocados pelo uso de medicamentos fitoterápicos nos últimos anos. Em pesquisa realizada entre 1966 e 1996, não houve publicações sobre reações adversas com fitoterápicos, entretanto, para os anos de 1976, 86 e 96, foram registrados 3, 9 e 68 artigos, respectivamente (KO, 1999).

Sendo assim, muitas plantas medicinais possuem também o poder de afligir os seus usuários por meio de efeitos colaterais e adversos. Para tanto muitos fatores desencadeantes devem ser levados em consideração, seja por seus próprios componentes, pela presença de contaminantes ou adulterantes nas preparações de fitoterápicos, prescindindo um rigoroso controle de qualidade que vai desde o cultivo, coleta, extração dos constituintes, até a elaboração do medicamento fitoterápico propriamente dito (TUROLLA, 2004).

“De fato, não há porque, a priori, considerar inócua uma planta medicinal, se do reino vegetal são obtidas substâncias extremamente tóxicas” (SIMÕES et al., 2002, grifo nosso).

1.3 *Pradosia huberi* Ducke (Ducke)

1.3.1 Aspectos botânicos



Figura 01 – *Pradosia huberi* Ducke (Ducke) – IEPA.

A espécie *Pradosia huberi* Ducke (Ducke), pertencente à família Sapotaceae, constituída por cerca de 1100 espécies e 53 gêneros, é conhecida popularmente no Estado do Amapá como casca doce e pau doce (MEDEIROS et al., 2006). É uma árvore grande, possuindo, freqüentemente, até 30 m de altura, folhas com pecíolo de 0,5 cm de comprimento, oblongas ou oblongo-elípticas, base aguda e ápice retuso ou agudo, um tanto coriáceas, adultas glabérrimas, brilhantes com 15 cm de comprimento e 2,5 - 6 cm de largura; pedúnculos na antese com 1 - 4 mm de comprimento, com as flores externamente densocano ou rufoseríceas; corola Alba, 7 - 8 mm de diâmetro, glabra; ovário cano-seríceo; frutos novos ovais ou subglobosos (CORRÊA, 1984).

Em estudo realizado por Jacquemin et al. (1985), a espécie *Pradosia huberi* Ducke foi encontrada na Guianá Francesa, na região de Saint-Georges de l'Oyapock, recebendo denominação de *Glycoxylon huberi* Ducke (Sapotaceae), conhecida popularmente como Marubika e caracterizada como sendo de grande porte (árvore).

Segundo Dos Santos e Coelho-Ferreira (2005), em inventário de espécies medicinais empregadas pelo IEPA, a espécie em estudo está presente nos municípios de Mazagão e Macapá, pertencentes ao Estado do Amapá, e possui como ambiente natural, em termos de categoria fisionômica, áreas florestadas, ou seja, florestas de terra firme.

1.3.2 Constituintes químicos

Após análise fitoquímica das cascas do tronco de *Pradosia huberi*, encontradas na França, foram identificados quatro di-hidro-flavonóides: **2,3-dihidromiricetin 3- α -L-rhamnoside**, **astilbin**, **engelitin** e **2,3-dihidromirecetin** (JACQUEMIN et al., 1985).

A determinação estrutural realizada por RMN ^1H e ^{13}C 1D e 2D identificou duas estruturas di-hidro-flavonóides, como sendo **2,3-dihidromiricetina-3-O-raminosídeo acetato**

e **2,3-dihidromiricetina-7-O-raminosídeo acetato** (figura 2) , o primeiro já isolado na espécie, e o segundo, inédito na família. O material vegetal coletado foram as cascas do caule de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke) no município de Porto Grande-AP (MEDEIROS et al., 2006).

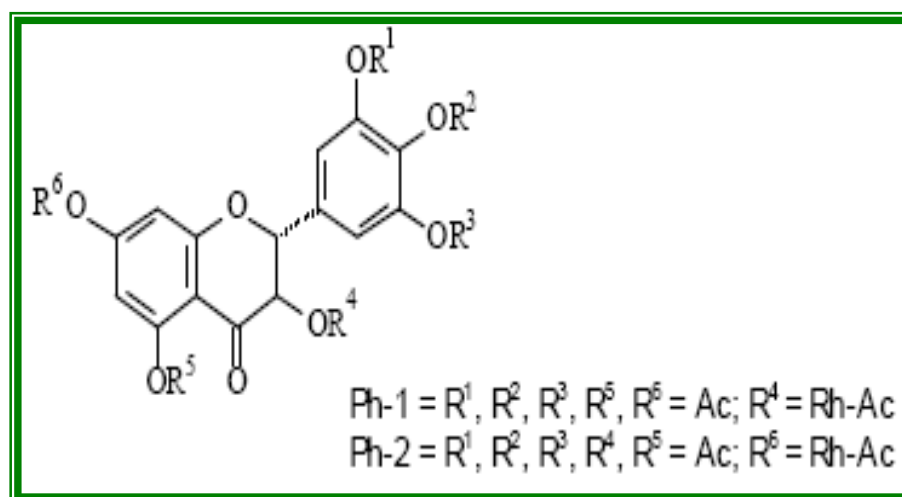


Figura 2 – Constituinte químico de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke)

1.3.3 Características farmacológicas

A *Pradosia huberi* é uma planta que tem sido bastante utilizada pela medicina popular, em particular da Amazônia, como responsável por um grande potencial terapêutico para doenças gástricas: gastrites e úlceras. No intuito de validar tal uso, como também de fornecer o suporte científico para tal utilização, o Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Amapá (Brasil), IEPA, e outras instituições, (UNESP), com apoio de outros pesquisadores, realizaram um estudo sobre a possível atividade farmacológica acima referida, além de viabilizarem a inferência ao seu caráter tóxico em ensaio agudo, do extrato hidroalcoólico (EHA) de *Pradosia huberi*. Os resultados apresentados mostraram ser tal planta eficiente no que diz respeito à prevenção e tratamento de lesões gástricas (KUSHIMA et al., 2005).

Como parte de estudo toxicológico (agudo), uma dose única, 5000mg/kg, do EHA de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke), foi administrada nos camundongos. No que se refere ao ensaio agudo, não houve relato sobre a análise hematológica e bioquímica, assim como o consumo de água e alimentos entre outros parâmetros. Por outro lado, o EHA de *Pradosia huberi*, quando administrado oralmente, provocou diminuição da propulsão intestinal além de ter sido observado efeito anti-diarréico sobre os animais, camundongos tratados (KUSHIMA et al., 2005).

Através de pesquisa bibliográfica, verificou-se a existência de poucos estudos acerca das atividades farmacológicas e da toxicidade de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke), justificando, assim, uma avaliação mais aprofundada quanto a estes aspectos da espécie.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

➤ Avaliar a toxicidade do Extrato Hidroalcoólico das cascas do caule de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke), seguindo às determinações da RE (Resolução Específica) nº 90/04 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

2.2 Específicos

➤ Ampliar conhecimento científico sobre a espécie *Pradosia huberi* Ducke (Ducke);

➤ Realizar investigação da toxicidade aguda do Extrato Hidroalcoólico de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke), em ratos;

➤ Investigar a toxicidade crônica do Extrato Hidroalcoólico de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke) em ratos.

Capítulo II

**Materiais e
Métodos**

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Locais da pesquisa

As atividades de pesquisa foram desenvolvidas:

- Biotério “Prof. Dr. Thomas George” do LTF-UFPB;
- Laboratórios de Análises Clínicas e Patológica do Hospital Universitário “Lauro Wanderley” (HULW) da UFPB;
- Laboratório de Química de Produtos Naturais e Laboratório de Ensaio Toxicológicos (LABETOX) do LTF-UFPB.

3.2 Materiais

3.2.1 Material botânico

As amostras das cascas do caule de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke) foram coletadas no município de Porto Grande-AP, e uma exsicata encontra-se depositada no Herbário Amapaense sob número 12519.

3.2.2 Material animal

Fizeram parte do experimento: ratos Wistar (*Rattus norvegicus*), albinos, adultos, machos e fêmeas (nulíparas e não grávidas), pesando, entre 200 a 300 gramas, fornecidos pelo biotério, Prof. Dr. Thomas George, do LTF-UFPB. Todos foram agrupados em gaiolas de polietileno, contendo de cinco a seis animais em cada, mantidos sob condições controladas

de temperatura de $23 \pm 2^\circ \text{C}$, sem uso de qualquer tipo de medicação, tendo livre acesso à comida (tipo pellets de ração Purina®) e água potável em garrafas graduadas, de polietileno com bicos de metal, colocadas nas grades metálicas destas (gaiolas) em sua parte superior.

A utilização dos animais foi submetida aos princípios éticos (Andersen et al., 2004; Colégio Brasileiro de Experimentação Animal, 2004). O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal (CEPA) do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica (LTF) Prof. Dr. Delby Fernandes Medeiros da UFPB sob número 0203/07.



Figura 03 – Rato Wistar (*Ratus Norvegicus*).

3.2.3 Aparelhagem

- Analisador bioquímico automático – Cobas Mira Plus[®] - Roche Diagnostic System, para determinações bioquímicas no soro.
- Analisador de íons seletivos, Iselab[®], para determinações dos íons sódio, potássio e cálcio.
- Analisador hematológico celular automático de uso veterinário – SCIL Vet abx- Homba ABX[®], para obtenção do hemograma e contagem de plaquetas. Os esfregaços sanguíneos foram corados pelo Giemsa.
- Balança analítica marca AID – HR – 120g – Japão.
- Balança eletrônica BG – GEHAKA.
- Centrífuga BIO ENG[®] BE 4000, para separação do soro em dez minutos, a 3500 rpm.
- Glicosímetro ADVENTAGE[®] Boehringer Mannheim: monitor de glicemia com fitas reativas.
- Microscópio Olympus[®] para confirmação e controle da contagem diferencial de células sanguíneas.
- Microscópio RML5[®] Askmania-Germany, utilizado nas análises histopatológicas.
- Open-field ou Campo aberto: fabricado no LTF/UFPB, semelhante ao descrito por Broadhurst (1960), com adaptações, Morais et al. (1998), para avaliação da capacidade exploratória dos animais.
- Rota-rod: originalmente descrito por Dunham e Miya, (1957), fabricado pela Ugo Brasil e (Itália), modelo 7750[®], para avaliação da capacidade motora dos animais.
- Sistema automático (HEMATEL 200[®]) para corar células sanguíneas.
- Termômetro digital, modelo MC – 3BC[®], OMRON/China, para avaliação da temperatura colônica dos animais.

3.3 Métodos

3.3.1 Preparação do Extrato Hidroalcoólico (EHA) de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke) (casca do caule)

O material vegetal, casca do caule, foi preparado no Laboratório de Química de Produtos Naturais do LTF-UFPB e coletado no município de Porto Grande-AP, para obtenção do extrato hidroalcoólico (EHA). Realizada a secagem em estufa sob temperatura controlada, com posterior trituração em moinho mecânico, seguida de maceração com EtOH (30%):H₂O à temperatura ambiente por 72 horas. Posteriormente, filtrado e concentrado a vácuo em rotaevaporador, para obtenção do (EHA) (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 1988).

O extrato hidroalcoólico (EHA), foi diluído em água de modo a obter soluções em concentrações adequadas à administração correta das doses, de acordo com Matos (1997).

3.3.2 Estudo toxicológico pré-clínico agudo

Este se fundamentou em protocolos experimentais apoiados legalmente pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária, em sua Resolução Específica (RE) de nº 90/2004, como também por obras de referência e pela padronização prévia realizada pelo Biotério Profº Dr. Thomas George do LTF-UFPB (LARINI, 1993; BRITO, 1994; DINIZ, 2000; FAUSTMAN E OMENN, 2001, BARROS E DAVINO, 2003; BRASIL, 2004b ; JACOBSON-KRAM E KELLER, 2001).

3.3.2.1 Tratamento dos animais

Primeiramente, os animais foram tratados por via oral (gavagem) com dose de 2000mg/kg do Extrato Hidroalcoólico (EHA) de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke), sendo estes (animais) distribuídos em 2 grupos de ambos os sexos (n=6). O grupo correspondente ao controle recebeu tratamento com água, veículo de ressuspensão do extrato.

3.3.2.2 Acompanhamento toxicológico (Sinais Tóxicos Gerais e Letalidade)

As possíveis alterações comportamentais foram registradas com o intuito de avaliar com maior fidedignidade as reações sobre o Sistema Nervoso Central (SNC) e Sistema Nervoso Autônomo (SNA), para tanto, seguiu-se protocolo (Anexo I) pré-determinado pelo setor de psicofarmacologia do LTF/UFPB (ALMEIDA et al., 1999).

Durante os 14 dias de experimentação, correspondentes à fase aguda dos ensaios, os animais foram observados em busca de sinais tóxicos gerais. Estes foram executados aos 30, 60, 120, 180 e 240 minutos no primeiro dia e nos demais, treze dias, totalizando os 14 dias de experimentação, uma vez por dia, sempre no mesmo horário.

3.3.2.3 Evolução ponderal , consumo de água e alimento

Para o processamento da avaliação ponderal, foi registrado um total de 3 pesagens dos animais, correspondendo a primeira ao 1º dia, antes das administrações, e as duas restantes, após administração de dose única (2000 mg/kg) a cada sete dias concernentes ao período experimental (14 dias). Para formação da curva de variação da evolução ponderal, foram calculadas as médias semanais dos pesos dos animais de cada grupo (n=6 por dose e sexo).

O consumo de água foi registrado por meio de mamadeiras graduadas. Estas foram disponibilizadas aos animais, com volume líquido mensurado em 500 ml. O consumo foi avaliado a partir do primeiro dia após o tratamento, e os registros deste consumo foram efetuados no dia consecutivo, para obtenção do volume de água ingerido pelo animal. Os alimentos (250 g) foram fornecidos na forma de pellets, também sendo o seu consumo avaliado após o primeiro dia de tratamento. A ração oferecida aos animais foi então pesada para que fosse feita a devida contabilização, no dia posterior, ao consumo de ração. O registro do consumo de água e alimentos foi feito diariamente.

3.3.2.4 Parâmetros sanguíneos: hematológicos e bioquímicos

Decorridos 14 dias de experimentação, os animais foram submetidos a jejum de 12 horas. Ao 15º após o tratamento, foi realizada sangria do plexo braquial, cuja amostra abrangeu a totalidade dos animais sobreviventes à experimentação. O sangue coletado sofreu, então, análise sanguínea para processamento hematológico e bioquímico. Na primeira, o material coletado (sangue) foi colocado em tubos devidamente identificados, contendo anti-coagulante (EDTA); já para a segunda, o material acima mencionado foi posto em tubos, contendo gel separador (Microtiner Becton Dickson) para obtenção de amostras de soro, com o intuito de proceder às determinações bioquímicas.

a) Hematológicos

A análise hematológica consistiu em estudo da série vermelha (eritograma), que envolveu a contagem de hemácias, a determinação da massa sanguínea (hematócrito), a hemoglobina, o Volume Corpuscular Médio (VCM), a Hemoglobina Corpuscular Média

(HCM), e a Concentração da Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM). Já para a análise da série branca (leucograma), foi realizada a contagem geral de leucócitos, assim como a contagem da diferenciação celular e de plaquetas. Estas determinações foram feitas pelo. Analisador hematológico celular automático (SCIL Vet abx- Homba ABX®), para obtenção do hemograma e contagem de plaquetas. Os esfregaços sanguíneos foram corados automaticamente no HEMATEL 200 e analisados em microscópio Olympus, para confirmação e controle da contagem das células.

b) Bioquímicos

Os parâmetros bioquímicos foram avaliados por métodos diferentes (enzimático cinético, biureto, e eletrodo íon seletivo), com utilização de amostras do soro, respectivamente:

- Enzimático – glicose, uréia, ácido úrico, colesterol total, creatinina e triglicerídeos;
- Cinético – AST, ALT;
- Biureto – proteínas totais e albumina;
- Eletrodo íon seletivo – Na⁺, K⁺ e Ca²⁺.

3.3.2.5 Estudo macroscópico

Ao término do tratamento agudo, no 15º dia, os animais (3 de cada grupo) foram sacrificados por tração cervical. Em seguida, as vísceras: coração, fígado, rins, sofreram secção por incisão sagital e foram analisadas macroscopicamente, com subsequente pesagem. Já os pulmões em particular foram perfundidos com formol (10%) para submeterem-se à investigação (macroscópica) descrita anteriormente. Para todos os animais, controle e tratado,

as secções teciduais referentes aos já citados órgãos foram fixadas em formalina (formol a 10%) e tamponada.

3.3.3 Estudo toxicológico pré-clínico crônico

Todos os experimentos foram regidos pelas determinações da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) em sua Resolução Específica RE 90/2004, como também respaldados por obras de referência citadas, quando dos procedimentos adotados para o ensaio pré-clínico agudo (3.3.2).

3.3.3.1 Tratamento dos animais

Os animais em experimentação foram distribuídos em 5 grupos, contendo 20 animais cada (10 machos e 10 fêmeas), sendo 3 tratados, 1 controle e 1 satélite (tratado).

Aos três grupos tratados foram administradas, diariamente, por gavagem, durante o período de 13 semanas, correspondente a 90 dias, no mesmo horário, as seguintes doses do EHA de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke), sendo uma para cada grupo: 1,22 mg/kg (D1), 6,1 mg/kg (D2) e 30,5 mg/kg (D3).

Ao grupo chamado controle, foi administrada água, veículo de ressuspensão do extrato, por igual período.

Passados os referidos 90 dias, foram sacrificados 50% dos animais desses quatro grupos.

Já o grupo satélite foi dividido em dois subgrupos de 10 animais (5 machos e 5 fêmeas). Estes dois receberam, naquele mesmo período (90 dias), uma para cada subgrupo, a intermediária (D2) e a maior dose (D3) do EHA de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke). Depois

dos 90 dias, foram mantidos vivos por mais 30 dias, sem administração do extrato, com a finalidade de averiguar a reversibilidade de possível quadro toxicológico e surgimento de efeitos tardios apresentados durante o experimento, após o que foram sacrificados 100% dos animais.

3.3.3.2 Parâmetros observados

Foram avaliados os efeitos em termos da toxicidade à administração do EHA de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke), no que diz respeito aos sinais tóxicos gerais, conforme descrito para o ensaio agudo, assim como: consumo de água e alimentos, evolução ponderal, parâmetros hematológicos e bioquímicos e realização de estudos anatomopatológicos dos órgãos (coração, pulmões, fígado e rins). Além destes, outros parâmetros foram analisados, entre eles: temperatura, glicemia caudal, atividade exploratória (teste de campo aberto) e motora (Rota Rod) dos ratos (machos e fêmeas) em experimentação.

3.3.3.2.1 Procedimentos experimentais durante o tratamento

a) Avaliação diária

➤ **Sinais tóxicos gerais e de letalidade** – Como descrito anteriormente para os ensaios agudos (3.3.2.2) e apresentado no anexo (ALMEIDA, 2006) com a finalidade de observar, analisar e registrar possíveis efeitos sobre o Sistema Nervoso Central e Autônomo, segundo metodologia descrita por Almeida et al., (1999).

➤ **Consumo de água e alimento** – a) Água: a avaliação foi feita através da colocação de mamadeiras, sendo estas graduadas, e com registro, no dia consecutivo, do volume de água ingerido pelos animais. b) Alimentos: pesou-se a ração colocada, na forma de pellets, e, mais uma vez, no dia posterior, contabilizou-se o peso consumido. Este procedimento foi realizado diariamente, em todos os animais por todo o período de tratamento crônico.

b) Avaliação semanal

➤ **Peso corporal** – A pesagem dos animais foi realizada semanalmente, para as administrações do EHA de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke), como proposto para o tratamento agudo (3.3.2.3). Porém, quanto aos cálculos da curva de evolução ponderal dos animais, foram utilizadas as variações: V1 (2ª semana – 1ª semana) e V2 (3ª semana – 2ª semana) semanais, para cada grupo (N=10 por dose e sexo).

c) Avaliação quinzenal

➤ **Temperatura** – Foi avaliada pela utilização de termômetro digital (MC – 3BC – ORON/China), introduzido 5 cm por via retal, com aplicação de vaselina líquida. Este procedimento foi realizado quinzenalmente em todos os animais por todo o período de tratamento.

➤ **Teste do campo aberto** – Através do uso de um aparelho de campo aberto de acordo com Carline et al. (1986), foram investigadas as atividades exploratórias dos animais, como: movimentação espontânea (ambulação), verificada pelo número de cruzamentos executados com as quatro patas entre as divisões do campo, o número de comportamento de autolimpeza,

de levantar os membros anteriores e a sua defecação (número de bolos fecais), como índice emocional. Este procedimento foi realizado quinzenalmente, uma hora após a administração do EHA, em todos os animais, tratados e controle, sendo submetidos a tal procedimento por tempo equivalente a 3 minutos para cada animal (MANSUR et al., 1971).

➤ **Teste de Rota-Rod** – Foi registrado o tempo de permanência dos animais, tratados e controle, em barra giratória do aparelho (Rota-rod) com velocidade constante (9,0 rpm), onde foram feitas três reconduções ao teste. Este experimento foi realizado quinzenalmente, para avaliação das alterações motoras e iniciado uma hora após o tratamento dos animais com o referido extrato (DUNHAM e MIYA, 1957; MORAIS et al., 1998).

c) Avaliação mensal

➤ **Glicemia** – Seguiu o seguinte procedimento: com os ratos imobilizados, em contêntores de plástico, uma gota de sangue da veia caudal foi coletada e colocada sobre uma fita para a devida dosagem da glicemia, sendo a leitura feita em monitor de marca Advantage Mannheim. Este procedimento foi realizado mensalmente por todo o período de tratamento, não havendo, todavia, coincidência com a semana em que foi medida a temperatura.

3.3.3.2.2 Procedimentos experimentais após o tratamento

➤ **Avaliação laboratorial do sangue** - Quando do término do tratamento, 13 semanas, para avaliação da toxicidade crônica, foram coletadas amostras de sangue, através da sangria do plexo braquial, como já relatado anteriormente para o ensaio agudo, correspondente ao item 4.3.2.4, de 50% dos animais (machos e fêmeas) dos grupos tratados (EHA) e controle (água

veículo de ressuspensão). Os animais referentes ao grupo satélite tiveram seu sangue coletado 30 dias após o término do tratamento crônico, para dar procedimento às determinações relatadas para os grupos anteriores.

➤ **Estudo anatomopatológico** - Os animais, 30% de cada grupo tratado (EHA), como também o controle, foram sacrificados por tração cervical e submetidos a exame macroscópico. Em seguida, as vísceras, coração, fígado, pulmões e rins, sofreram secção por incisão sagital e, posteriormente, foram analisadas macroscopicamente. Os pulmões, em particular, foram perfundidos com formol (10%). Para os animais controle e os tratados com a maior dose, processadas às secções teciduais, referentes aos já citados órgãos, foram fixadas em formalina (formol a 10%) tamponada, e, após 24 horas, resseccionadas para processamento histopatológico: desidratação com séries crescentes de álcool (70 a 100%) seguida de diafanização em xilol, impregnação e inclusão em parafina, obedecendo aos métodos de uso (MICHALANY, 1998). Posteriormente, em micrótomo, os fragmentos tissulares foram seccionados em espessura de 3,0 μm com consecutiva coloração com hematoxilina-eosina e tricômico de Masson e, então, examinados ao microscópio óptico.

3.3.4 Análise estatística

Os resultados numéricos foram expressos em média aritmética (\pm erro padrão da média). As diferenças foram determinadas por meio dos testes “t” de Student, análise de variância (ANOVA) e pós-testes do tipo Dunnetts. As análises foram feitas com o auxílio do programa GraphPad Prism 4.0. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos quando $p < 0,05$ (GRAPHPAD PRISM, 2007).

Capítulo III

Resultados

4 RESULTADOS

4.1 Estudo toxicológico pré-clínico agudo

A seguir, apresentam-se os resultados dos parâmetros avaliados durante 14 dias após o tratamento de machos e fêmeas com o EHA de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke) com dose única de 2000 mg/kg de peso corporal, além do grupo controle.

4.1.1 Sinais tóxicos gerais e letalidade

Em todos os animais, de ambos os sexos, tratados com dose única, 2000mg/kg, assim como o grupo controle, não foram evidenciadas alterações, em termos de sinais clínicos de toxicidade, quanto aos parâmetros designados à observação sobre o SNC e SNA, como também não foi verificada a ocorrência de mortes.

4.1.2 Evolução ponderal, consumo de água e alimento

Houve diminuição significativa no que se refere ao peso corporal dos ratos, machos, tratados (tabela 1 e gráfico 1), fator este corroborado com a diminuição no consumo da água e ração (tabela 2 e gráficos 2A e 2B). As fêmeas tratadas obtiveram resultados significantes em termos do aumento quanto ao consumo de água (tabela 2 e gráfico 2C), já em relação aos demais parâmetros como alimentos (gráfico 2D) e peso corporal não foram demonstradas significâncias.

Tabela 1 – Variação da evolução ponderal (g) semanal de ratos machos e fêmeas tratados com dose única, 2000mg/kg, do EHA de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke).

Evolução Ponderal			
Machos			
Controle		EHA	
V1	V2	V1	V2
48,8 ± 2,3	34,6 ± 2,4	35,8 ± 1,8*	22,9 ± 1,5*
Fêmeas			
Controle		EHA	
V1	V2	V1	V2
17,9 ± 4,3	7,7 ± 5,6	22,1 ± 2,3	8,5 ± 2,8

Os valores estão expressos em média ± e.p.m. (n=6) animais por sexo. Teste “t” de Student p< 0,05.

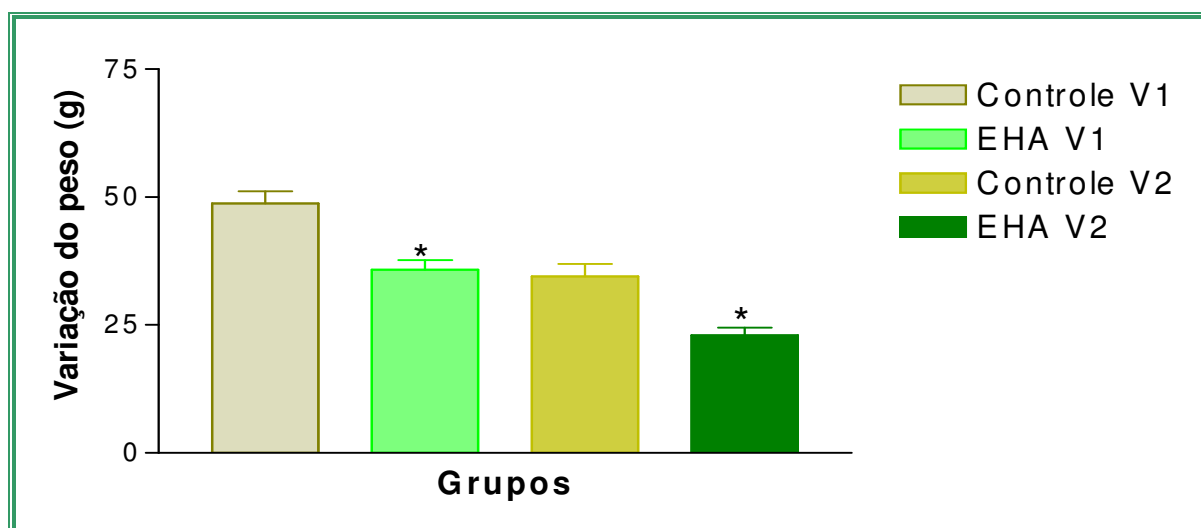


Gráfico 1 – Variação da evolução ponderal (média ± e.p.m.) de ratos machos, após tratamento com EHA de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke) (2000 mg/kg v.o.).

Tabela 2 – Consumo de água (mL) e ração (g) de ratos, machos e fêmeas, tratados com a dose de 2000 mg/kg do EHA de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke).

GRUPO	CONSUMO DE ÁGUA		CONSUMO DE RAÇÃO	
	Machos		Machos	
Controle	259,2 ± 8,8		167,3 ± 8,4	
EHA	216,2 ± 8,4*		139,1 ± 3,3*	
GRUPO	CONSUMO DE ÁGUA		CONSUMO DE RAÇÃO	
	Fêmeas		Fêmeas	
Controle	172,3 ± 6,4		97,7 ± 2,1	
EHA	203,1 ± 7,1*		96,9 ± 2,3	

Os valores estão expressos em média ± e.p.m. (n=6) animais por sexo. Teste “t” de Student p< 0,05.

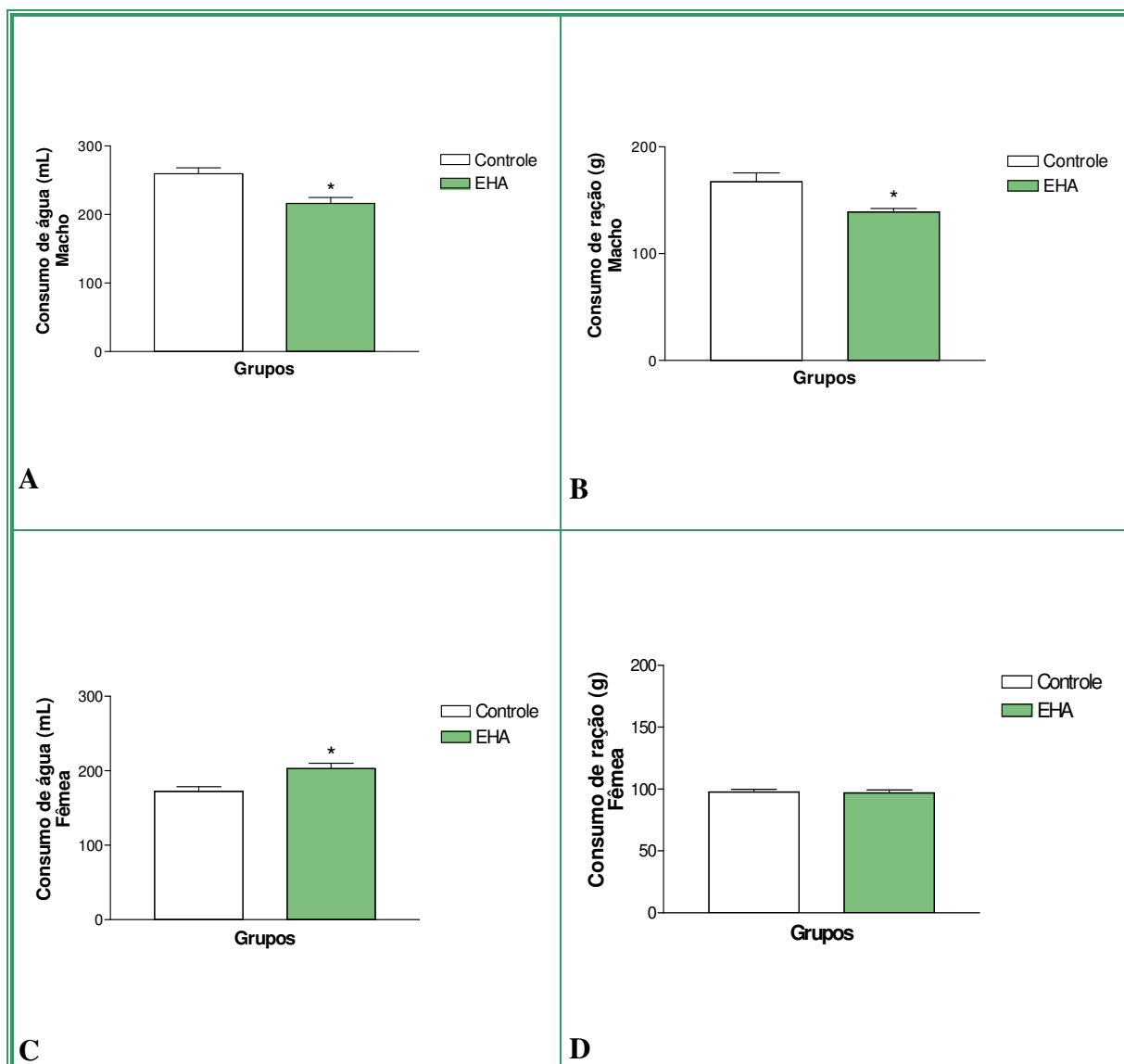


Gráfico 2 – Consumo de água (mL) (machos (A) e fêmeas (C)) e alimento (machos (B) e fêmeas (D)), dos animais tratados com a dose de 2000 mg/kg do EHA de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke).

4.1.3 Análise sangüínea: bioquímica e hematológica

4.1.3.1 Bioquímica

Os parâmetros bioquímicos (tabela 3) do sangue que apresentaram resultados demonstrativos de alterações nas fêmeas tratadas foram a diminuição dos níveis sangüíneos de triglicerídeos, AST e ácido úrico; já para os machos tratados, não foram encontradas significâncias.

Tabela 3 – Parâmetros bioquímicos obtidos do soro de ratos machos, tratados com EHA de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke), 2000 mg/kg.

Parâmetros	Fêmeas		Machos	
	Controle	EHA	Controle	EHA
Glicose (mg/dl)	70,6 ± 3,0	70 ± 3,0	86 ± 10	84,8 ± 9,8
Uréia (mg/dl)	38,5 ± 3,0	39 ± 2,6	34 ± 1,3	35 ± 2,1
Creatinina (mg/dl)	0,4 ± 0,07	0,6 ± 0,1	0,6 ± 0,08	0,5 ± 0,05
Colesterol (mg/dl)	44 ± 3,1	51 ± 5,0	44,7 ± 2,8	45,6 ± 2,9
Triglicerídeos (mg/dl)	80 ± 4,7	64 ± 3,8*	115,5 ± 7,9	103 ± 19
AST (U/l)	147 ± 6,7	120 ± 4,7*	149,5 ± 8,2	137,6 ± 7,8
ALT (U/l)	54,3 ± 4,2	56,3 ± 4,5	55,2 ± 2,0	58,2 ± 3,0
Ácido úrico (mg/dl)	1,35 ± 0,01	0,69 ± 0,09*	1,17 ± 0,11	1,10 ± 0,05
Proteínas totais (g/dl)	6,6 ± 0,11	6,7 ± 0,10	6,6 ± 0,11	6,3 ± 0,08
Albumina (g/dl)	3,7 ± 0,09	3,6 ± 0,06	3,7 ± 0,03	3,6 ± 0,07
Sódio (mEq/l)	141 ± 0,0	141,3 ± 0,3	144,3 ± 1,2	144 ± 1,0
Potássio (mEq/l)	6,1 ± 0,1	5,8 ± 0,1	6,5 ± 0,05	6,1 ± 0,2
Magnésio (mEq/l)	2,7 ± 0,2	2,5 ± 0,1	3,2 ± 0,3	2,8 ± 0,1

Os valores estão expressos em média ± e.p.m. (n=6) animais por sexo. Teste “t” de Student p< 0,05

4.1.3.2 Hematologia

A análise hematológica (tabela 4) apresentou alterações referentes à diminuição da CHCM e Linfócitos, sendo estas consideradas expressivas estatisticamente para as fêmeas tratadas. Quanto à análise dos machos tratados ocorreram diminuições para os seguintes parâmetros: hemácias, hemoglobina, hematócrito e plaquetas, sendo estas também dignas de ressalva.

Tabela 4 – Parâmetros hematológicos obtidos do soro de ratos machos, tratados com o EHA de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke), 2000 mg/kg.

Parâmetros	Fêmeas		Machos	
	Controle	EHA	Controle	EHA
Hemácias ($10^6/\text{mm}^3$)	7,1 ± 0,1	7,2 ± 0,2	8,1 ± 0,21	7,4 ± 0,1*
Hemoglobina (g/dl)	15,8 ± 0,2	15,3 ± 0,2	16,9 ± 0,3	15,2 ± 0,2*
Hematócrito (%)	33,3 ± 0,4	33,9 ± 0,6	37,7 ± 0,8	35,4 ± 0,4*
VCM (μ^3)	46,8 ± 0,4	46,6 ± 1,0	46,5 ± 0,6	47,8 ± 0,3
HCM ($\mu\mu\text{g}$)	21 ± 0,5	22,2 ± 0,3	20,8 ± 0,4	20,6 ± 0,2
CHCM (%)	47,4 ± 0,6	45 ± 0,4*	44,7 ± 0,4	43,0 ± 0,7
Leucócitos ($10^3/\text{mm}^3$)	4,5 ± 0,8	4,8 ± 0,9	4,9 ± 0,4	5,0 ± 0,6
Neutrófilos (%)	23 ± 2,6	29 ± 2,3	27 ± 2,4	24 ± 1,5
Eosinófilos (%)	1,3 ± 0,3	1,3 ± 0,2	1,5 ± 0,5	1,7 ± 0,7
Linfócitos (%)	70,4 ± 2,1	63 ± 2,1*	69,8 ± 1,9	69,6 ± 1,8
Monócitos (%)	5,6 ± 1,2	5,8 ± 0,7	8,0 ± 0,8	7,5 ± 1,0
Plaquetas ($10^3/\text{mm}^3$)	1117 ± 149	1183 ± 68	1207 ± 39,3	995 ± 79*

Os valores estão expressos em média ± e.p.m. (n=6) animais por sexo. Teste “t” de Student $p < 0,05$.

4.1.4 Estudo macroscópico

Ao realizar análises macroscópicas das vísceras (fígado, rins e coração e pulmões), e subsequente pesagem (tabela 5), não se detectaram alterações relevantes, destas.

Tabela 5 – Peso de órgãos de ratos machos e fêmeas (controle e tratado) com o EHA de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke) à dose única (2000 mg/kg).

Animais	Órgãos	Peso			
		Machos		Fêmeas	
		Controle	EHA	Controle	EHA
1	Fígado	9,42 ± 0,26	9,07 ± 0,03	6,01 ± 0,27	5,68 ± 0,02
2	Coração	1,14 ± 0,02	1,20 ± 0,06	0,86 ± 0,03	0,89 ± 0,04
3	Rins	2,21 ± 0,03	2,20 ± 0,01	1,33 ± 0,05	1,37 ± 0,05

Os valores estão expressos em média ± e.p.m. (n=3) animais por sexo. Teste “t” de Student p< 0,05.

4.2 Estudo toxicológico pré-clínico crônico

Os resultados demonstrados a seguir referem-se a administração do EHA das cascas do caule de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke), nas doses de 1,22 mg/kg (dose de uso popular), 6,1 mg/kg (5X a dose de uso popular) e 30,5 mg/kg (25X a dose de uso popular), administradas diariamente durante 90 dias, por via oral (gavagem), em ratos de ambos os sexos, além dos grupos controles e satélites.

4.2.1 Sinais tóxicos gerais e de letalidade

Durante o tratamento não foram observados nenhum sinal indicativo de toxicidade tampouco de letalidade em quaisquer dos grupos de ambos os sexos e doses, controle e tratado, submetidos à experimentação, resultados estes que se estendem aos grupos satélites.

4.2.2 Evolução ponderal, consumo de água e alimentos

A tabela 6 e o gráfico 3 apresentam resultados significativos quanto à diminuição do peso corporal dos animais, machos, tratados. Referente às seguintes semanas e doses respectivamente: 2ª semana (D3), 9ª semana (D2 e D3) e um aumento isolado na 8ª semana (D2). De modo geral, o tratamento com as doses maiores refletiu na diminuição do desenvolvimento ponderal dos machos tratados por estas, porém em relação às fêmeas tratadas não ocorreu nenhum resultado significativo.

Tabela 6 – Variação da evolução ponderal (g) em ratos machos tratados com diferentes doses do EHA das cascas de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke) durante ensaio de toxicidade crônica.

Grupos	Semanas											
	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	7 ^a	8 ^a	9 ^a	10 ^a	11 ^a	12 ^a	13 ^a
Machos												
Controle	47,5 ±2,0	31,9 ±2,8	23,3 ±1,7	15,8 ±1,2	18,6 ±2,3	8,2 ±1,5	13,5 ±1,8	18,8 ±1,3	2,0 ±1,1	5,6 ±1,1	8,3 ±1,8	3,2 ±1,4
1,22mg/kg	46,2 ±2,1	30,5 ±2,3	22,5 ±2,1	14,7 ±2,3	14,2 ±2,1	12,8 ±1,1	12,6 ±2,0	13,9 ±1,5	5,1 ±1,3	4,7 ±1,3	9,3 ±2,1	6,5 ±0,8
6,1 mg/kg	47,5 ±1,0	30,0 ±5,8	22,9 ±6,4	14,4 ±1,4	10,0 ±12,2	12,5 ±13,1	20,2* ±1,0	12,8* ±1,2*	5,0 ±1,2	2,9 ±1,2	9,4 ±1,4	3,5 ±1,2
30,5mg/kg	38,6* ±2,1	27,1 ±1,4	22,8 ±4,0	18,9 ±3,6	17,4 ±1,2	18,3 ±9,8	16,0 ±2,3	11,2* ±1,8	4,0 ±1,2	7,6 ±1,7	3,9 ±1,8	5,6 ±1,6
Fêmeas												
Controle	23,6 ±2,14	10,7 ±2,6	6,9 ±3,3	3,2 ±1,9	2,4 ±2,6	1,7 ±1,6	7,7 ±1,4	3,3 ±1,1	2,8 ±1,6	5,5 ±2,5	2,0 ±1,9	-0,2 ±2,5
1,22mg/kg	29,8 ±2,8	12,1 ±4,8	9,6 ±4,1	7,4 ±1,5	7,5 ±1,7	3,9 ±0,9	4,6 ±1,4	6,5 ±1,2	-2,0 ±2,4	4,5 ±2,0	2,1 ±2,0	-1,0 ±1,5
6,1 mg/kg	24,5 ±1,9	9,3 ±1,4	7,9 ±1,7	4,7 ±1,6	3,3 ±2,8	1,1 ±1,7	8,9 ±1,1	1,6 ±1,7	-0,2 ±1,1	5,3 ±1,9	5,0 ±1,5	0,5 ±2,3
30,5 g/kg	23,6 ±6,9	2,6 ±1,8	7,9 ±2,7	6,8 ±0,9	6,5 ±1,8	3,3 ±1,8	6,5 ±1,5	4,6 ±2,1	-1,4 ±1,9	4,7 ±2,0	3,2 ±2,5	2,0 ±2,2

Os valores estão expressos em média ± e.p.m. (n=10). One-way ANOVA/ Dunnett *p<0,05

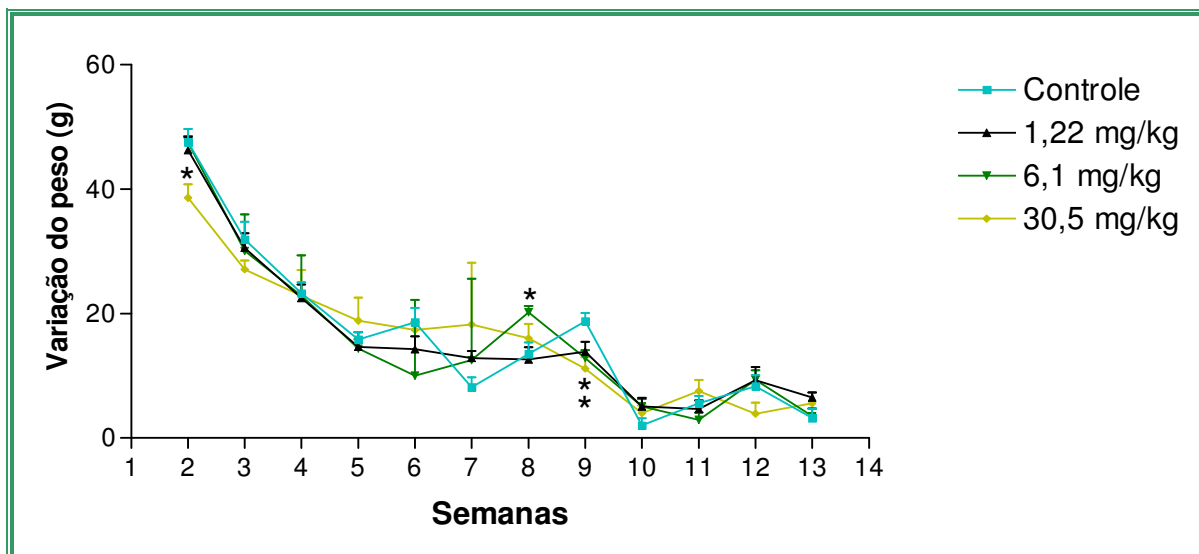


Gráfico 3 – Variação da evolução ponderal em ratos machos tratados com diferentes doses do EHA das cascas de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke) durante ensaio de toxicidade crônica.

Quanto ao consumo de água, os resultados (tabela 7) obtidos demonstraram variações para os machos tratados (gráfico 4) durante administração prolongada, em particular na 9^a, 10^a, 11^a e 12^a semanas, correspondentes às suas diminuições. As fêmeas (gráfico 5) compartilharam destes resultados (diminuições), porém por período inferior correspondente a 9^a e 10^a semanas apenas. Vale ressaltar que todos os dados mostram alterações concernentes à maior dose (D3) do extrato.

Tabela 7 – Consumo semanal de água (mL) por ratos machos tratados com diferentes doses do EHA das cascas de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke) durante ensaio de toxicidade crônica.

Grupos	Semanas												
	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	7 ^a	8 ^a	9 ^a	10 ^a	11 ^a	12 ^a	13 ^a
Machos													
Controle	205,7 ±4,94	189,3 ±6,93	185,7 ±7,74	175,4 ±7,20	178,2 ±7,55	173,2 ±7,39	180,4 ±6,03	190,40 ±5,36	205,40 ±5,41	216,4 ±6,74	210,7 ±13,48	198,2 ±10,52	207,5 ±14,74
1,22mg/kg	191,8 ±4,01	182,9 ±5,13	178,9 ±6,12	173,4 ±7,49	178,9 ±8,74	175,7 ±4,74	181,1 ±3,2	186,8 ±4,76	192,9 ±4,15	188,2 ±7,57	181,8 ±8,01	183,6 ±6,9	182,5 ±11,31
6,1 mg/kg	203,2 ±4,31	186,4 ±5,15	176,4 ±6,1	172,9 ±7,07	190,7 ±11,1	172,5 ±6,08	189,3 ±5,81	189,3 ±6,77	188,9 ±6,65	193,9 ±10,08	193,9 ±9,71	197,5 ±9,33	197,0 ±13,59
30,5mg/kg	205,0 ±4,69	188,6 ±5,99	184,6 ±4,99	172,5 ±6,37	173,6 ±6,94	163,9 ±6,12	186,4 ±5,09	183,60 ±4,96	179,6* ±4,27	181,1* ±8,39	172,5* ±7,26	167,1* ±5,44	174,5 ±10,29
Fêmeas													
Controle	158,2 ±3,04	153,9 ±5,17	156,8 ±17,32	139,6 ±5,89	132,1 ±6,79	137,9 ±3,66	139,3 ±2,77	138,9 ±3,60	146,1 ±4,33	156,4 ±4,34	145,0 ±7,41	144,6 ±5,68	145,0 ±6,75
1,22mg/kg	155,7 ±3,99	149,3 ±5,86	146,8 ±6,95	139,3 ±7,26	145,0 ±6,61	137,9 ±3,54	148,2 ±5,04	143,6 ±3,87	137,5 ±4,38	148,2 ±4,59	136,4 ±6,47	133,6 ±4,37	141,0 ±10,46
6,1 mg/kg	161,4 ±4,3	144,3 ±5,88	142,5 ±6,08	132,9 ±7,54	137,1 ±8,72	127,9 ±5,47	138,6 ±5,36	132,9 ±4,99	137,9 ±4,31	147,3 ±4,69	141,1 ±6,18	130,4 ±5,38	129,0 ±8,94
30,5 g/kg	146,1 ±3,93	135,0 ±6,48	141,4 ±9,27	136,8 ±8,13	137,9 ±7,28	130,4 ±3,94	142,9 ±5,39	135,7 ±4,68	129,6* ±3,03	137,5* ±3,77	142,5 ±7,07	127,5 ±4,83	133,0 ±8,34

Os valores estão expressos em média ± e.p.m. (n=10). One-way ANOVA/ Dunnett *p<0,05.

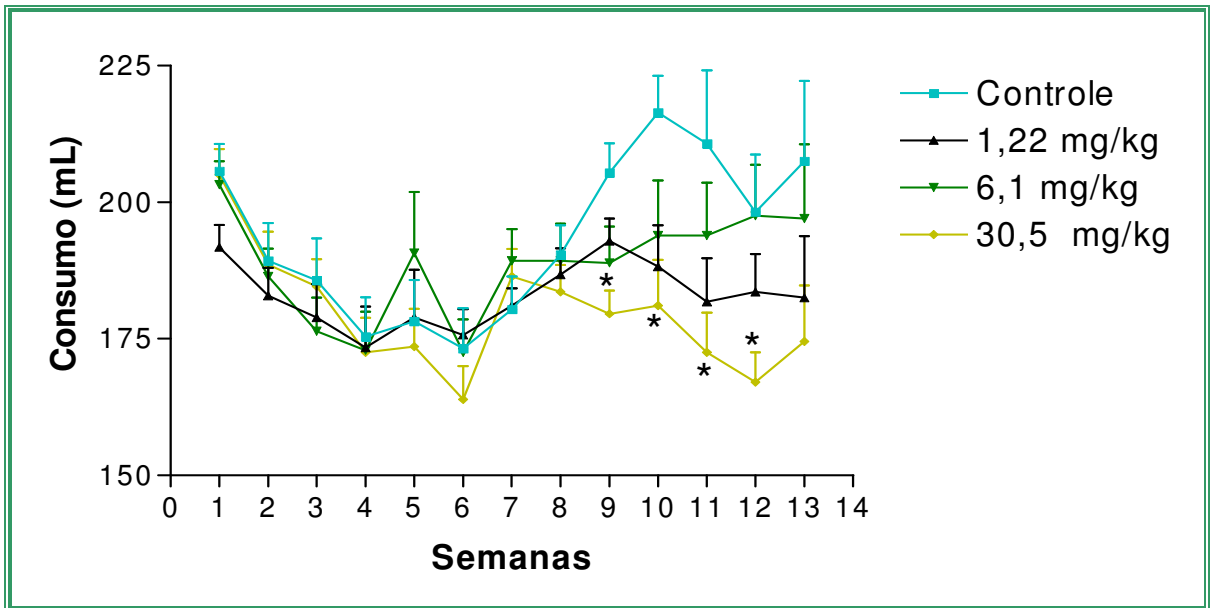


Gráfico 4 – Consumo semanal de água (mL) por ratos machos tratados com diferentes doses do EHA das cascas de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke) durante ensaio de toxicidade crônica.

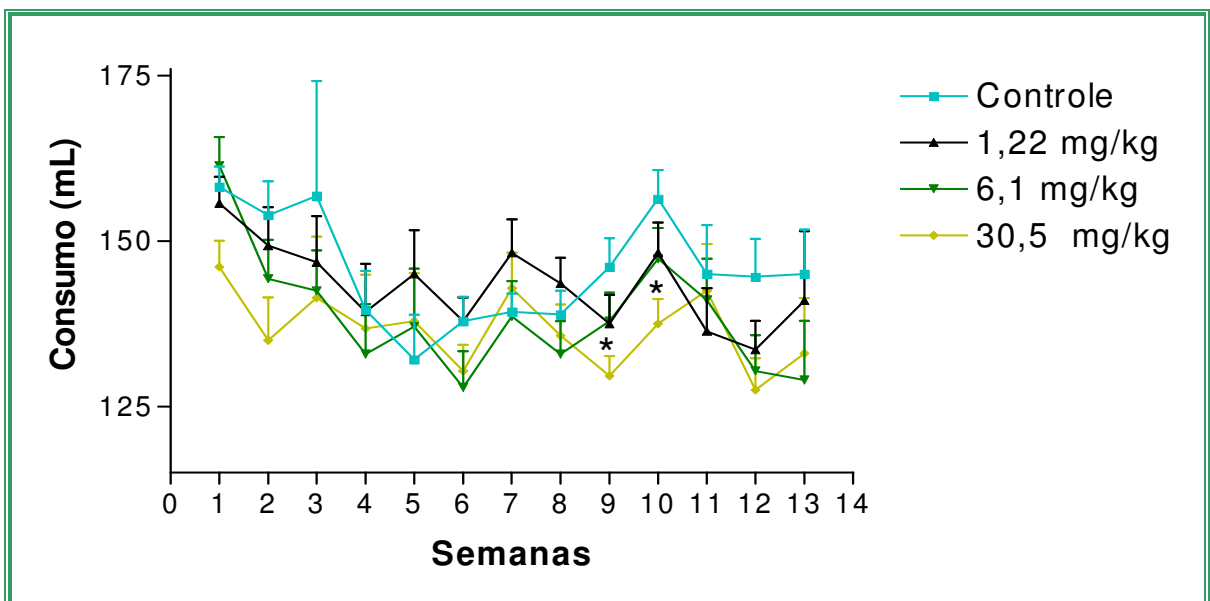


Gráfico 5 – Consumo semanal de água (mL) por ratas fêmeas tratadas com diferentes doses do EHA das cascas de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke) durante ensaio de toxicidade crônica.

Já em relação ao parâmetro consumo de alimento (ração), a tabela 8 mostra que as fêmeas tratadas (gráfico 6) mostraram variações por quase todo o período experimental (1^a, 4^a, 6^a, 8^a, 9^a, 10^a e 12^a semanas) em termos de sua diminuição, apresentando oscilações entre as doses responsáveis por estas (D2 e D3). Apenas ocorrendo discreto aumento correspondente à 5^a semana (D1). Enquanto que os machos, mantiveram-se inalterados, quanto a estes valores (ração).

Tabela 8 - Consumo semanal de alimentos (g) por ratos machos tratados com diferentes doses do EHA das cascas de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke) durante ensaio de toxicidade crônica.

Grupos	Semanas												
	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	7 ^a	8 ^a	9 ^a	10 ^a	11 ^a	12 ^a	13 ^a
Machos													
Controle	126,7 ±2,32	120,1 ±5,30	124,3 ±4,74	121,6 ±3,13	127,3 ±3,08	117,2 ±1,65	120,4 ±3,63	129,1 ±4,57	119,9 ±3,46	125,9 ±3,39	116,5 ±2,80	115,2 ±2,35	113,8 ±5,51
1,22mg/kg	121,4 ±1,99	118,1 ±3,71	119,3 ±5,91	116,9 ±2,86	121,1 ±3,73	113,0 ±1,91	116,0 ±3,40	119,6 ±2,91	116,2 ±2,65	119,6 ±2,47	110,6 ±2,78	110,6 ±3,07	108,6 ±6,26
6,1 mg/kg	130,5 ±2,94	121,7 ±3,70	117,0 ±2,94	109,1 ±8,00	123,9 ±3,12	114,0 ±0,84	119,8 ±2,77	122,3 ±2,75	116,9 ±3,03	123,1 ±2,83	114,2 ±2,05	115,1 ±2,45	111,7 ±6,14
30,5mg/kg	128,9 ±1,99	120,2 ±2,73	122,2 ±2,48	121,6 ±2,67	124,6 ±2,9	116,6 ±1,13	117,2 ±2,22	126,7 ±2,83	126,4 ±5,80	124,9 ±2,87	113,3 ±2,9	111,5 ±2,32	111,6 ±5,42
Fêmeas													
Controle	86,64 ±0,70	86,26 ±3,04	80,26 ±5,47	81,39 ±3,29	81,39 ±3,29	78,65 ±2,18	81,50 ±2,05	86,99 ±4,07	81,82 ±3,02	90,98 ±1,84	79,68 ±2,85	79,91 ±2,08	81,39 ±4,36
1,22mg/kg	91,21 ±2,13	84,65 ±3,42	86,84 ±2,99	84,22 ±2,49	91,60* ±3,51	82,10 ±2,19	85,50 ±4,18	84,50 ±1,56	78,14 ±2,72	85,14 ±2,36	76,2 7±2,23	74,32 ±2,25	78,61 ±5,32
6,1 mg/kg	81,59 ±1,46	77,64 ±5,58	70,96 ±2,76	70,69* ±2,83	75,55 ±3,06	67,73* ±1,50	72,17 ±2,42	71,41* ±2,34	71,55* ±2,82	81,84* ±2,32	72,14 ±2,61	65,56* ±1,69	66,65 ±4,82
30,5 g/kg	80,54 ±2,08*	75,91 ±3,42	75,02 ±3,38	77,35 ±3,32	83,51 ±2,54	75,76 ±2,46	79,13 ±3,91	77,15 ±3,40	71,34* ±2,65	80,47* ±2,23	77,12 ±2,47	72,42* ±1,9	72,1 ±4,36

Os valores estão expressos em média ± e.p.m. (n=10). One-way ANOVA/ Dunnett *p<0,05.

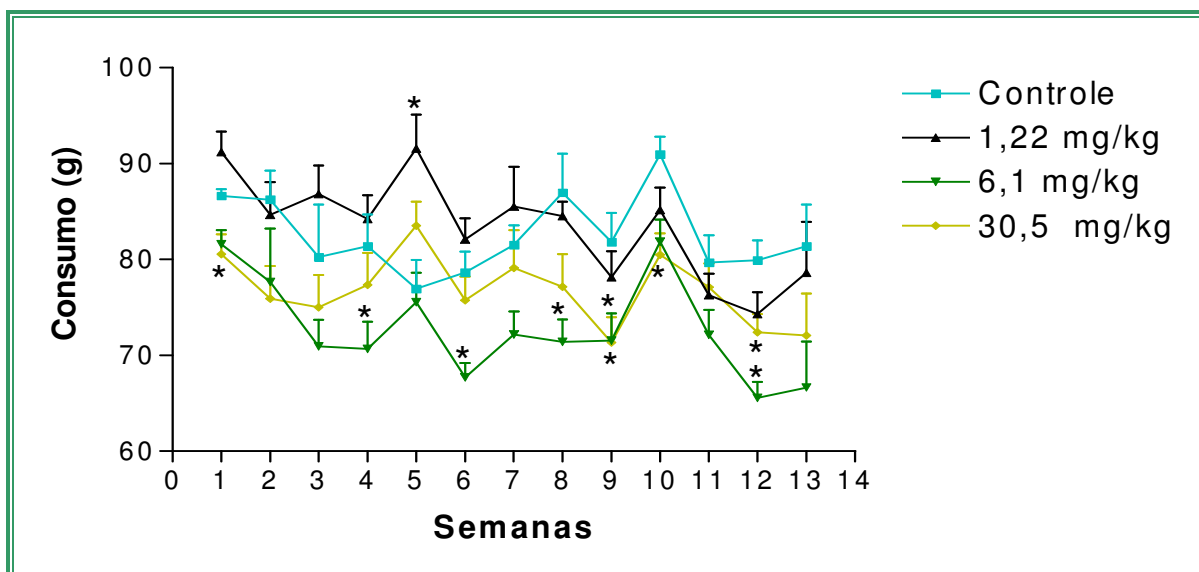


Gráfico 6 – Consumo semanal de alimento (ração) por ratas fêmeas tratadas com diferentes doses do EHA das cascas de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke) durante ensaio de toxicidade crônica.

Para efeito de análise comparativa entre os grupos tratados com as maiores doses (D2 e D3) e os satélites de suas respectivas doses, ocorreu diminuição quanto ao consumo de água por parte dos machos e aumento deste mesmo parâmetro para as fêmeas, resultados estes expressos pela tabela 9 e gráficos 7 e 8. Embora tenham sido analisadas as duas maiores todos resultados foram referentes a dose intermediária (D2).

Tabela 9 – Comparação do efeito da administração crônica de diferentes doses do EHA de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke) com os respectivos grupos satélites sobre o consumo de água e ração dos animais.

GRUPOS	ÁGUA (mL)		RAÇÃO (g)	
	Macho	Fêmea	Macho	Fêmea
6,1 mg/kg	197,0±13,6	129,0±8,9	113,8±5,5	66,7±4,8
6,1 mg/kg (Satélite)	172,9±2,7*	155,5±3,4*	111,3±2,0	74,4±2,0
30,5 mg/kg	174,5±10,3	133,0±8,3	111,6±5,4	72,1±4,4
30,5 mg/kg (Satélite)	179,5±4,0	142,2±2,7	109,8±1,9	79,0±1,4

Os valores estão expressos em média ± e.p.m. (n=5). Teste “t” de Student.*p<0,05

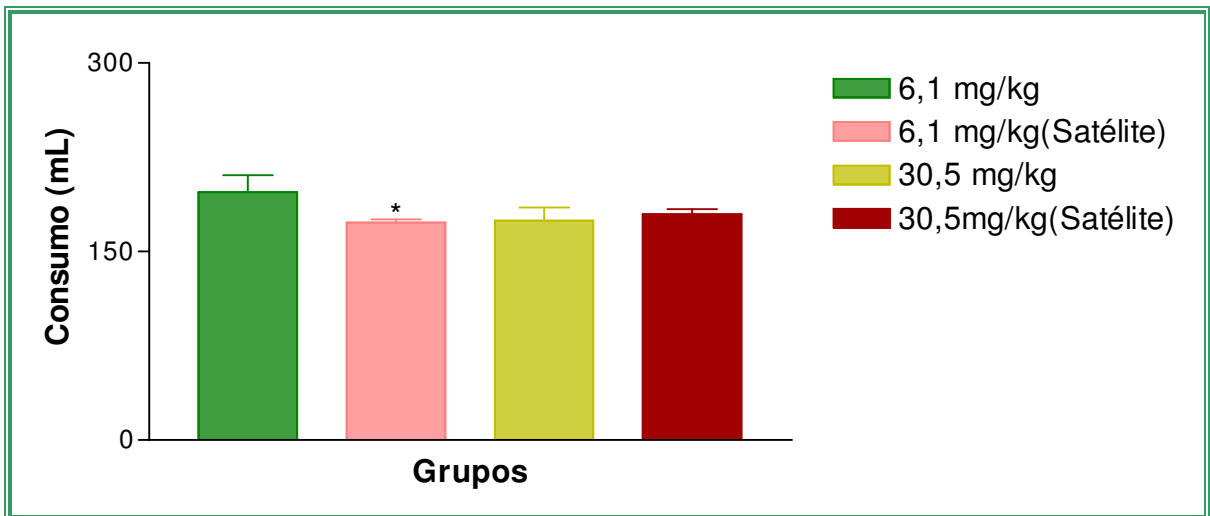


Gráfico 7 – Comparação do consumo de água (mL) de ratos machos tratados com diferentes doses do EHA das cascas de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke) com os respectivos grupos satélites durante ensaio de toxicidade crônica.

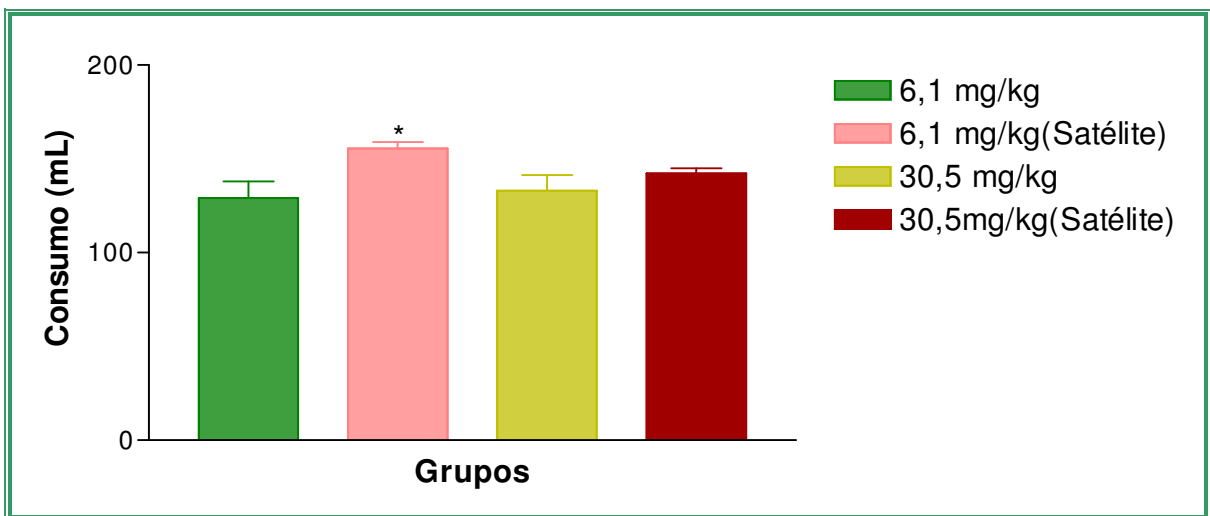


Gráfico 8 – Comparação do consumo de água (mL) de ratas fêmeas tratadas com diferentes doses do EHA das cascas de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke) com os respectivos grupos satélites durante ensaio de toxicidade crônica.

4.2.3 Temperatura corporal

Não foram verificadas alterações durante o tempo de experimentação, quanto à temperatura corporal (tabela 10) para as diferentes doses em ambos os sexos (tratados), assim como para com o controle.

Tabela 10 – Temperatura corporal (°C) de ratos machos tratados com diferentes doses do EHA das cascas de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke) avaliada quinzenalmente durante ensaio de toxicidade crônica.

Grupos	Temperatura (°C)					
	2 ^a	4 ^a	6 ^a	8 ^a	10 ^a	12 ^a
Machos						
Controle	36,60 ± 0,32	36,48 ± 0,19	37,02 ± 0,26	36,86 ± 0,30	37,12 ± 0,26	37,27 ± 0,29
1,22 mg/kg	36,60 ± 0,31	36,46 ± 0,32	36,82 ± 0,31	37,64 ± 0,19	37,22 ± 0,14	37,71 ± 0,10
6,1 mg/kg	36,63 ± 0,37	37,02 ± 0,25	36,53 ± 0,18	37,29 ± 0,23	37,46 ± 0,20	37,31 ± 0,17
30,5 mg/kg	36,70 ± 0,23	36,47 ± 0,24	36,74 ± 0,16	36,92 ± 0,19	37,04 ± 0,20	36,77 ± 0,32
Fêmeas						
Controle	37,88 ± 0,23	37,03 ± 0,32	37,25 ± 0,18	37,84 ± 0,27	37,81 ± 0,24	38,09 ± 0,19
1,22 mg/kg	37,54 ± 0,24	37,90 ± 0,26	37,88 ± 0,15	38,14 ± 0,11	37,93 ± 0,16	37,97 ± 0,20
6,1 mg/kg	37,17 ± 0,30	37,89 ± 0,21	37,62 ± 0,26	38,26 ± 0,11	38,02 ± 0,11	38,19 ± 0,17
30,5 mg/kg	37,44 ± 0,27	37,90 ± 0,24	37,61 ± 0,19	37,88 ± 0,14	37,88 ± 0,19	37,85 ± 0,17

Os valores estão expressos em média ± e.p.m. (n=10). One-way ANOVA/ Dunnett *p<0,05.

4.2.4 Avaliação comportamental

4.2.4.1 Campo aberto

Como mostrado pelas tabelas 11 e 12 e gráficos 9 e 10, a administração crônica do extrato expressou aumento para o número de ambulações e o levantar nas ratas tratadas com a maior dose (30,5 mg/kg) do EHA de *Pradosia huberi* Ducke. A contagem dos bolos fecais (tabela 13), como também a auto-limpeza (tabela 14) não foram significativas, para este grupo. Os machos tratados não demonstraram nenhuma alteração comportamental.

Tabela 11 – Número de ambulações no experimento de campo aberto, em ratos machos tratados com diferentes doses do EHA de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke) durante ensaio de toxicidade crônica.

Grupos	Semanas					
	2 ^a	4 ^a	6 ^a	8 ^a	10 ^a	12 ^a
Machos						
Controle	31,2±4,3	21,4±2,5	25,6±3,4	16,2±3,5	12,8±2,0	16,4±1,7
1,22 mg/kg	24,8±4,0	16,0±3,3	18,4±4,3	15,4±4,2	10,2±1,9	18,4±1,6
6,1 mg/kg	31,0±4,7	21,6±4,0	24,2±4,3	22,4±3,8	18,2±2,2	18,6±1,7
30,5 mg/kg	35,2±3,1	20,8±2,3	22,0±5,7	21,6±4,0	15,0±1,8	15,6±3,6
Fêmeas						
Controle	40,2±4,0	26,4±4,1	30,0±7,4	26,2±5,0	22,6±3,6	22,0±3,5
1,22 mg/kg	37,8±5,2	29,2±1,8	25,6±2,3	22,4±2,9	25,4±3,9	20,2±4,1
6,1 mg/kg	32,4±2,9	24,4±3,5	17,2±4,3	20,4±5,5	20,0±4,6	20,0±3,3
30,5 mg/kg	51,4±7,4	40,6±4,8*	35,0±4,6	31,0±3,6	27,4±2,6	25,2±1,7

Os valores estão expressos em média ± e.p.m. (n=5). One-way ANOVA/ Dunnett p<0,05.

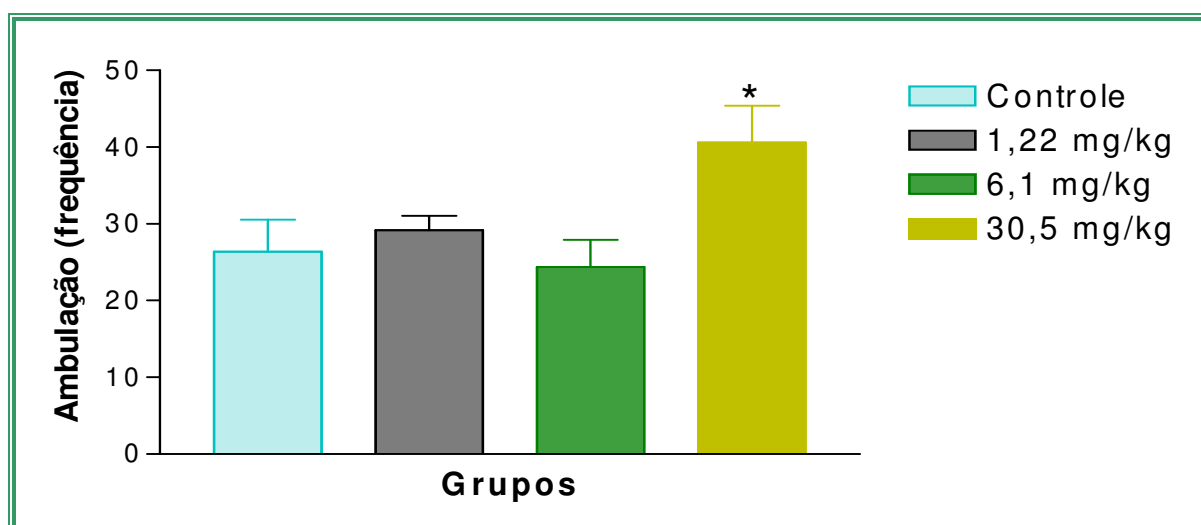


Gráfico 9 – Frequência de ambulações das ratas fêmeas tratadas com diferentes doses do EHA de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke) na 4^a semana durante ensaio de toxicidade crônica.

Tabela 12 – Número de manifestações do comportamento de “levantar” no experimento de campo aberto, em ratos machos tratados com diferentes doses do EHA de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke) durante ensaio de toxicidade crônica.

Grupos	Semanas					
	2 ^a	4 ^a	6 ^a	8 ^a	10 ^a	12 ^a
Machos						
Controle	6,6±1,4	4,6±1,3	8,8±2,2	4,8±1,0	3,8±1,3	8,2±1,8
1,22 mg/kg	11,6±3,4	8,8±2,5	12,8±3,1	9,0±2,5	6,6±1,6	8,0±1,8
6,1 mg/kg	13,8±2,4	8,8±3,3	8,2±4,4	11,6±2,2	12,0±4,0	7,2±1,2
30,5 mg/kg	13,6±3,2	11,0±3,0	7,8±2,8	12,8±3,9	7,2±1,7	8,4±3,3
Fêmeas						
Controle	13,4±2,1	14,8±5,3	10,8±3,2	12,6±5,1	14,4±5,7	10,6±4,1
1,22 mg/kg	15,8±1,5	18,4±2,5	12,2±3,2	8,0±2,9	11,4±2,3	8,0±3,4
6,1 mg/kg	17,2±1,2	10,0±1,3	4,0±1,5	9,0±2,7	7,0±1,9	11,2±1,1
30,5 mg/kg	21,4±2,0*	20,4±7,3	18,0±7,2	22,0±7,8	13,6±2,0	14,0±1,8

Os valores estão expressos em média ± e.p.m. (n=5). One-way ANOVA/Dunnett. *p<0,05.

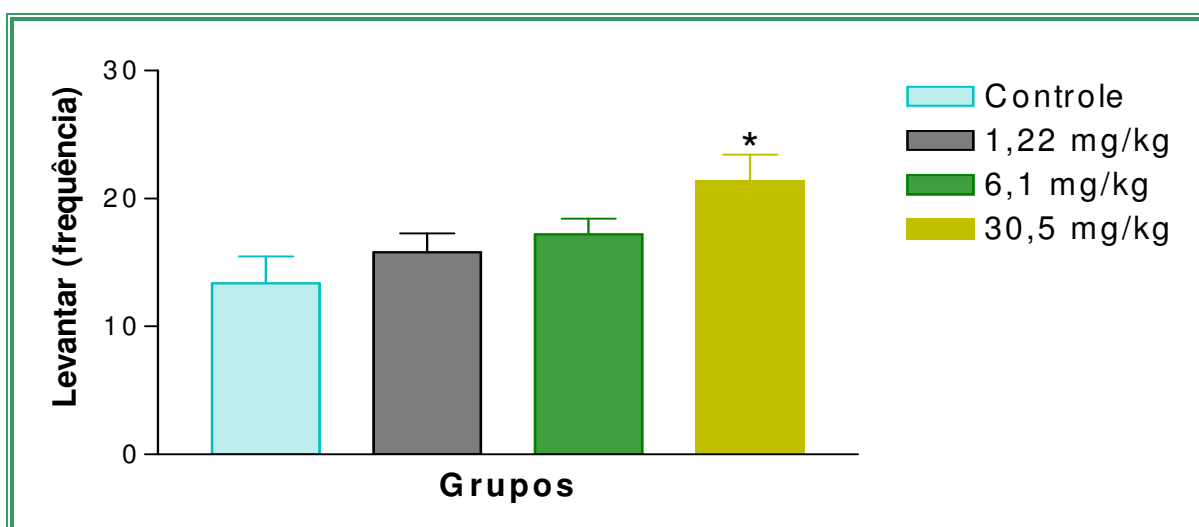


Gráfico 10 – Frequência no ato de levantar (rearing) das ratas fêmeas tratadas com diferentes doses do EHA de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke) na 2^a semana durante ensaio de toxicidade crônica.

Tabela 13 – Número de manifestações do comportamento de “limpeza” no experimento de campo aberto, em ratos machos tratados com diferentes doses do EHA de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke) durante ensaio de toxicidade crônica.

Grupos	Semanas					
	2 ^a	4 ^a	6 ^a	8 ^a	10 ^a	12 ^a
Machos						
Controle	1,4±0,9	2,4±1,9	6,0±3,0	1,4±1,4	6,4±3,2	7,0±3,1
1,22 mg/kg	6,8±3,3	12,4±7,4	9,4±5,9	0,0±0,0	0,0±0,0	0,2±0,2
6,1 mg/kg	0,2±0,2	7,0±4,3	4,6±4,6	0,0±0,0	8,6±3,8	0,8±0,5
30,5 mg/kg	3,8±3,5	6,0±3,4	6,8±3,5	1,6±1,0	9,0±5,6	3,8±3,5
Fêmeas						
Controle	4,8±2,9	10,2±4,5	11,8±8,9	9,2±6,0	2,2±1,6	2,8±2,8
1,22 mg/kg	17,4±6,6	8,0±3,4	7,0±2,8	14,6±10,1	7,2±3,2	9,2±2,7
6,1 mg/kg	6,4±4,3	16,2±6,8	11,0±3,5	1,8±1,2	3,6±2,5	4,8±4,0
30,5 mg/kg	5,4±4,9	10,0±2,3	8,0±4,1	3,8±2,0	8,0±3,5	10,4±2,7

Os valores estão expressos em média ± e.p.m. (n=5). One-way ANOVA/Dunnett. *p<0,05.

Tabela 14 – Número de bolos fecais no experimento de campo aberto, em ratos machos tratados com diferentes doses do EHA de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke) (crônica) durante ensaio de toxicidade crônica.

Grupos	Semanas					
	2 ^a	4 ^a	6 ^a	8 ^a	10 ^a	12 ^a
Machos						
Controle	3,6±1,4	1,6±0,4	1,8±1,3	1,2±1,2	0,8±0,8	1,6±1,6
1,22 mg/kg	5,2±1,0	5,2±1,3	2,6±1,1	1,8±1,0	1,8±1,3	1,0±0,6
6,1 mg/kg	5,2±1,5	3,4±1,6	3,6±0,9	3,4±0,9	2,2±0,9	1,6±0,9
30,5 mg/kg	3,4±1,0	2,6±1,2	2,4±1,0	1,8±1,3	2,0±1,1	2,2±1,2
Fêmeas						
Controle	5,0±1,3	2,4±1,2	3,4±1,7	3,4±1,2	2,2±1,0	0,4±0,4
1,22 mg/kg	3,4±1,1	4,4±0,9	4,0±1,8	6,2±1,2	4,2±0,9	1,0±0,5
6,1 mg/kg	5,2±0,9	2,2±1,3	1,2±0,5	0,4±0,4	0,4±0,4	1,4±0,9
30,5 mg/kg	2,2±0,8	2,0±0,8	3,0±1,1	2,8±1,0	3,2±1,4	0,6±0,6

Os valores estão expressos em média ± e.p.m. (n=5). One-way ANOVA/Dunnett.*p<0,05.

A tabela 15 corresponde aos resultados dos satélites e suas doses correspondentes (D2 e D3), em que ocorreram diminuições dos seguintes parâmetros quando da análise comportamental: fêmeas (ambulação e limpeza) e machos (limpeza).

Tabela 15 – Comparação do efeito da administração crônica de diferentes doses do EHA de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke) com os respectivos grupos satélites sobre os parâmetros observados durante avaliação comportamental de campo aberto (ambulação, ato de levantar, ato de limpeza e defecação) dos animais.

GRUPOS	Ambulação (frequência)		Levantar (frequência)		Limpeza (segundos)		Bolos fecais (frequência)	
	Macho	Fêmea	Macho	Fêmea	Macho	Fêmea	Macho	Fêmea
6,1 mg/kg	18,60±1,75	20,00±3,35	7,20±1,247	11,20±1,16	0,80±0,49	4,8±4,0	1,60±0,9	1,40±0,8
6,1 mg/kg (Satélite)	15,30±1,83	15,00±1,89	6,60±1,15	5,50±1,77	0,07±0,02*	0,12±0,0	3,30±0,6	4,10±0,9
30,5 mg/kg	15,60±3,64	25,20±1,74	8,40±3,30	14,00±1,82	3,80±3,56	10,4±2,6	2,20±1,2	0,60±0,6
30,5 mg/kg (Satélite)	21,60±3,23	15,90±2,60*	7,50±2,27	7,20±2,10	0,15±0,05	0,04±0,03*	1,60±0,6	1,80±0,8

Os valores estão expressos em média ± e.p.m. (n=5). Teste “t” de Student.*p<0,05

4.2.4.2 Rota Rod

Quanto à avaliação motora analisada por meio do aparelho de Rota Rod, nenhum dos grupos (machos e fêmeas tratados) observados registraram interferências do extrato para com suas habilidades motoras. Resultados estes expressos pela tabela 16.

Tabela 16 – Tempo de permanência (em segundos) na barra giratória do aparelho Rota–Rod, de ratos machos com o EHA de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke) durante ensaio de toxicidade crônica.

Grupos	Semanas					
	2 ^a	4 ^a	6 ^a	8 ^a	10 ^a	12 ^a
Machos						
Controle	180,0±0,0	180,0±0,0	180,0±0,0	180,0±0,0	180,0±0,0	180,0±0,0
1,22mg/kg	174,6±5,4	180,0±0,0	165,0±15,0	162,8±17,2	155,8±24,2	158,6±21,4
6,1 mg/kg	180,0±0,0	180,0±0,0	180,0±0,0	180,0±0,0	180,0±0,0	180,0±0,0
30,5mg/kg	180,0±0,0	180,0±0,0	180,0±0,0	180,0±0,0	180,0±0,0	180,0±0,0
Fêmeas						
Controle	180,0±0,0	180,0±0,0	180,0±0,0	180,0±0,0	180,0±0,0	180,0±0,0
1,22mg/kg	180,0±0,0	164,6±15,4	180,0±0,0	180,0±0,0	180,0±0,0	180,0±0,0
6,1 mg/kg	180,0±0,0	158,4±13,3	153,8±26,2	156,2±23,8	166,2±13,8	169,6±6,5
30,5mg/kg	160,8±14,5	166,8±13,2	166,2±13,8	180,0±0,0	160,6±19,4	180,0±0,0

Os valores estão expressos em média ± e.p.m. (n=5). One-way ANOVA/Dunnett. *p<0,05.

4.2.5 Glicemia caudal

O EHA de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke) produziu efeito hiperglicemiante aos 30 dias de tratamento, para as fêmeas tratadas (tabela 17 e gráfico 11) com a dose de 1,22 mg/kg, retornando aos valores próximos ao controle, quando do registro de sua última avaliação, quanto aos machos tratados (tabela 17) não foram registrados resultados de importância estatística.

Tabela 17 – Glicemia caudal mensal (mg/dL) de ratos machos com diferentes doses do EHA de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke) durante ensaio de toxicidade crônica.

Grupos	Glicemia (dias)	
	30°	60°
	Machos	
Controle	91,3 ±4,6	80,3±3,1
1,22 mg/kg	89,5±3,1	87,8±2,2
6,1 mg/kg	87,8±2,4	83,3±5,3
30,5 mg/kg	84,3±3,2	75,0±3,1
	Fêmeas	
Controle	88,0±1,8	85,5±2,7
1,22 mg/kg	103,±5,8*	88,8±6,1
6,1 mg/kg	90,0±0,4	83,8±5,2
30,5 mg/kg	94,5±4,1	77,5±2,8

Os valores estão expressos em média ± e.p.m. (n=4). One-way ANOVA/ Dunnett *p<0,05.

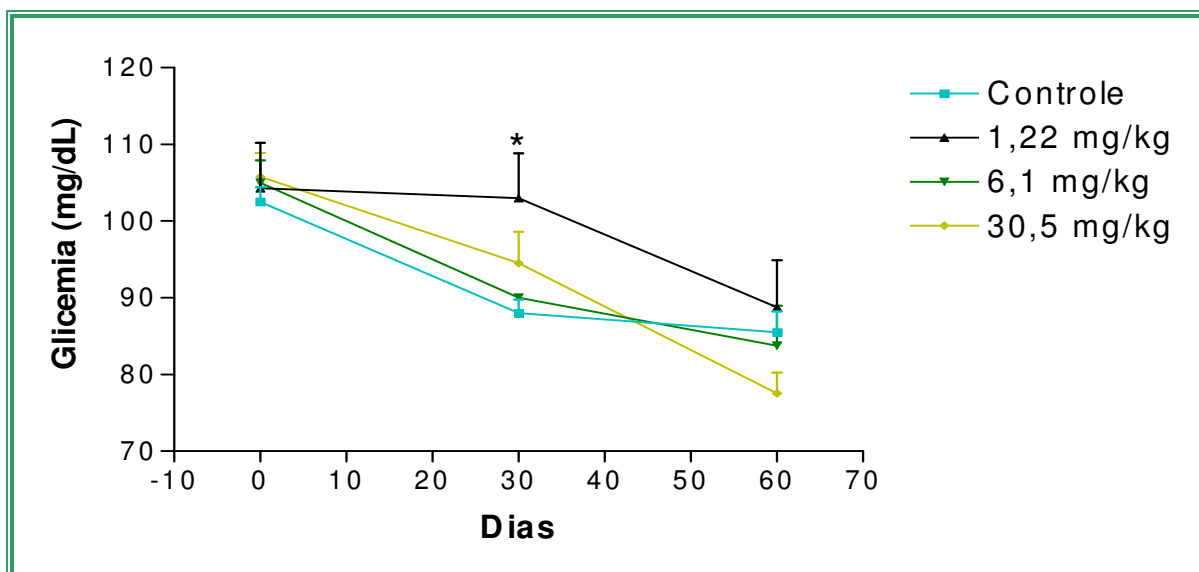


Gráfico 11 – Glicemia caudal mensal (mg/dL) de ratas fêmeas tratadas com diferentes doses do EHA de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke) durante ensaio de toxicidade crônica.

A tabela 18, assim como os gráficos 12 e 13 mostram uma elevação significativa do nível da glicose, quando realizada a comparação dos grupos satélites para com suas respectivas doses (D2 e D3), tanto para os machos quanto para as fêmeas.

Tabela 18 – Comparação do efeito da administração crônica de diferentes doses do EHA de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke) com os respectivos grupos satélites sobre a glicemia dos animais.

Grupos	Glicemia (dias)	
	Macho	Fêmea
6,1 mg/kg	83,2±5,3	83,7±5,2
6,1 mg/kg (Satélite)	107,0±3,0*	115,0±5,0*
30,5 mg/kg	75,0±3,1	77,5±2,7
30,5 mg/kg (Satélite)	115,5±12,5*	112,0±4,0*

Os valores estão expressos em média ± e.p.m. (n=4). Teste “t” de Student.*p<0,05.

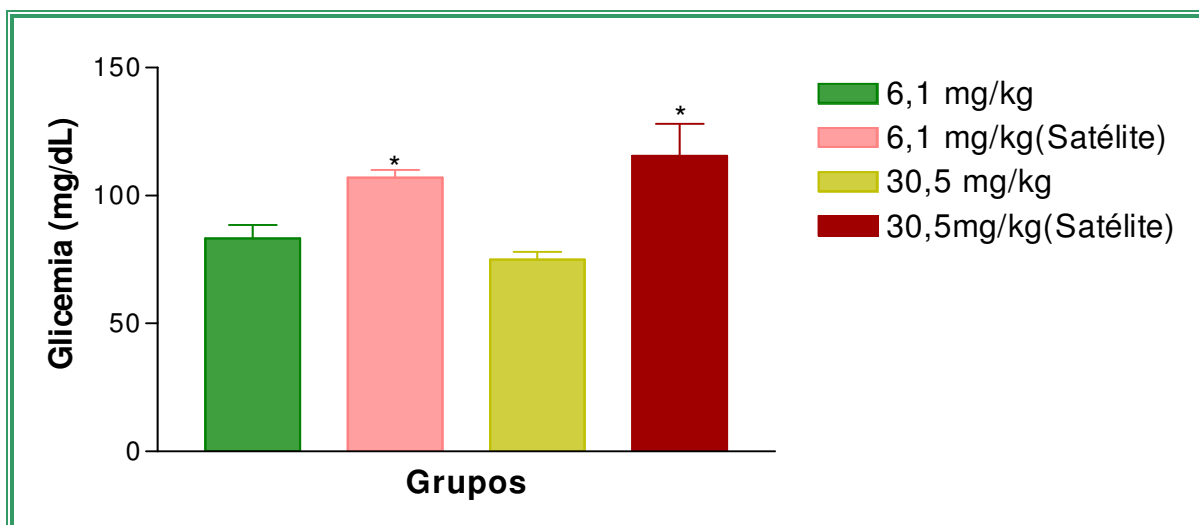


Gráfico 12 – Comparação da glicemia (mg/dL) de ratos machos tratados com diferentes doses do EHA das cascas de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke) com os respectivos grupos satélites durante ensaio de toxicidade crônica.

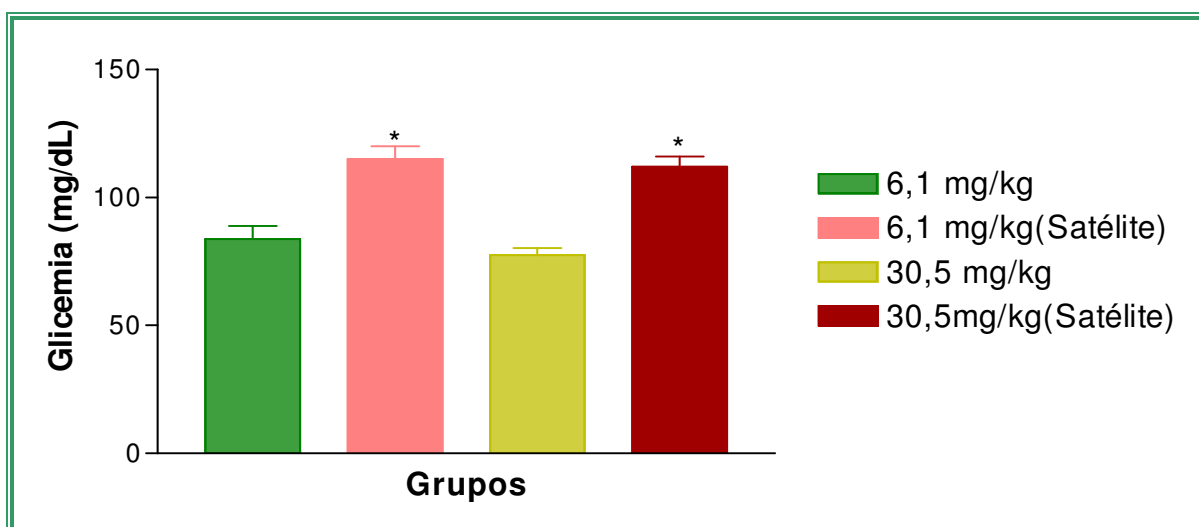


Gráfico 13 – Comparação da glicemia (mg/dL) de ratas fêmeas tratadas com diferentes doses do EHA das cascas de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke) com os respectivos grupos satélites durante ensaio de toxicidade crônica.

4.2.6 Análise sangüínea

4.2.6.1 Bioquímica

As alterações assinaladas (tabela 19) mostram que durante tratamento prolongado o extrato repercutiu efeito quanto ao aumento de glicose no soro de ambos os sexos. Apenas nas fêmeas as transaminases, AST e ALT, mostraram-se elevadas. As variações continuaram a se processar, agora apenas nos machos, em relação ao aumento da albumina, bem como a diminuição do cálcio e magnésio. Todos os achados acima explicitados foram expressivos para a maior dose dada (D3). Apenas o cálcio apresentou variação referente também a dose usual (D1).

Os resultados apresentados pela tabela acima referenciada inclui efeito comparativo dos satélites. Sendo assim após avaliação destes, foram diversificados os resultados para as doses D2 e D3. No que concerne aos machos ocorreu diminuição do colesterol total (gráfico 14), AST (gráfico 15), FAL (gráfico 16) e do cálcio (gráfico 17). Já para as fêmeas sucederam-se os seguintes resultados: diminuição dos triglicérides (gráfico 18), ácido úrico (gráfico 19), cálcio (gráfico 20) e magnésio (gráfico 21).

Tabela 19 – Parâmetros bioquímicos obtidos do soro de ratos machos tratados com diferentes doses do EHA de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke) durante o ensaio de toxicidade crônica.

Grupos	Parâmetros								
	Glicose (mg/dL)	Uréia (mg/dL)	Creatinina (mg/dL)	Colesterol (mg/dL)	Triglicerídeos (mg/dL)	Ácido úrico (mg/dL)	AST (UI/L)	ALT (UI/L)	FAL (UI/L)
Machos									
Controle	111,3±6,9	39,8±1,1	0,5±0,02	46,8±2,0	125,8±8,8	0,8±0,2	162,2±6,3	95,5±22,1	102,5±10,6
1,22 mg/kg	109,8±1,7	44,3±4,6	0,5±0,03	48,5±6,4	143,2±20,5	0,7±0,2	142,8±9,6	89,8±18,2	96,5±8,3
6,1 mg/kg	125,0±9,3	34,2±0,9	0,5±0,00	60,5±3,4	112,7±12,4	0,6±0,1	312,7±104,0	215,7±117,1	104,8±7,9
30,5 mg/kg	142,7±7,5*	38,3±1,2	0,4±0,02	61,8±6,3	143,2±21,5	0,8±0,1	204,5±13,5	77,7±3,7	105,2±7,4
6,1 mg/kg (Satélite)	91,2±24,1	29,8±7,5	0,4±0,09	38,4±9,8*	103,8±27,3	0,5±0,14	143,0±37,0	59,2±15,5	54,0±22,1*
30,5mg/kg (Satélite)	122,0±8,8	39,0±6,1	0,4±0,04	53,4±8,8	148,8±17,3	0,8±0,15	157,6±14,0*	112,4±37,7	92,4±5,1
Fêmeas									
Controle	98,7±8,7	39,3±2,7	0,4±0,04	49,8±4,4	113,3±17,6	0,7±0,1	170,2±15,3	57,5±8,5	84,3±9,3
1,22 mg/kg	103,0±5,0	40,3±2,1	0,4±0,02	56,8±4,4	80,0±19,1	0,8±0,1	293,8±92,5	82,3±13,6	87,3±10,1
6,1 mg/kg	112,8±6,8	38,2±2,6	0,4±0,02	51,7±10,8	119,0±3,0	1,2±0,2	309,3±92,4	105,7±19,5	74,3±4,6
30,5 mg/kg	132,8±7,6*	37,8±3,5	0,4±0,01	63,7±11,8	95,3±29,9	1,0±0,1	601,0±190,0*	174,2±59,3*	114,2±31,3
6,1 mg/kg (Satélite)	101,0±3,9	36,6±3,1	0,4±0,00	49,8±5,1	74,4±5,3*	0,60±0,11*	197,8±26,5	106,6±18,1	79,6±12,0
30,5mg/kg (Satélite)	130,2±2,2	35,2±1,4	0,4±0,02	65,6±1,5	123,8±22,2	0,64±0,04*	190,2±34,1	72,2±10,6	78,6±6,8

Os valores estão expressos em média ± e.p.m. (n=5). Teste “t” de Student.*p<0,05.

Tabela 19 – Parâmetros bioquímicos obtidos do soro de ratos machos tratados com diferentes doses do EHA de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke) durante o ensaio de toxicidade crônica. (continuação)

Grupos	Parâmetros							
	Globulina (g/dL)	Amilase (UI/L)	Proteínas totais (g/dL)	Albumina (g/dL)	Ca ⁺² (mEq/L)	Mg ⁺² (mEq/L)	Na ⁺ (mEq/L)	K ⁺ (mEq/L)
Machos								
Controle	3,6±0,1	766,7±36,5	6,4±0,1	2,8±0,1	12,4±0,4	2,6±0,1	141,3±0,5	6,3±0,4
1,22 mg/kg	3,5±0,1	822,3±37,8	6,4±0,1	2,8±0,1	10,3±0,6*	2,2±0,1	140,8±0,8	6,7±0,3
6,1 mg/kg	3,7±0,1	841,5±59,9	6,7±0,1	3,0±0,1	11,5±0,4	2,4±0,1	142,8±0,2	6,5±0,2
30,5 mg/kg	3,7±0,1	861,8±37,2	6,9±0,2	3,2±0,1*	10,5±0,3*	2,1±0,1*	141,7±0,4	6,7±0,3
6,1 mg/kg (Satélite)	3,2±0,8	567,4±151,2	5,4±1,4	2,1±0,5	7,5±1,8*	1,6±0,43	113,2±28,3	4,8±1,2
30,5 mg/kg (Satélite)	3,7±0,1	869,2±75,8	6,7±0,2	2,9±0,1	9,5±0,2	2,0±0,09	139,4±1,6	6,9±0,3
Fêmeas								
Controle	3,5±0,1	528,3±26,8	6,7±0,2	3,3±0,1	11,0±0,4	2,2±0,1	139,0±0,7	6,1±0,2
1,22 mg/kg	3,7±0,1	513,2±29,2	6,9±0,2	3,2±0,1	10,1±0,4	4,6±2,5	140,4±0,2	5,8±0,3
6,1 mg/kg	3,6±0,1	657,0±64,6	6,8±0,2	3,1±0,04	10,7±0,3	2,2±0,1	139,5±0,9	6,4±0,3
30,5 mg/kg	4,0±0,6	631,7±59,7	7,2±0,5	3,2±0,2	9,7±0,5	1,9±0,04	139,8±1,1	6,5±0,3
6,1 mg/kg (Satélite)	3,5±0,1	526,2±22,2	6,8±0,06	3,26±0,1	8,6±0,1*	1,7±0,09*	110,4±28	4,3±1,1
30,5 mg/kg (Satélite)	3,8±0,1	537,4±41,1	7,1±0,2	3,32±0,1	8,8±0,1	2,1±0,28	139,2±0,7	6,2±0,1

Os valores estão expressos em média ± e.p.m. (n=5). One-way ANOVA/ Dunnett's. *p<0,05. (Continuação)

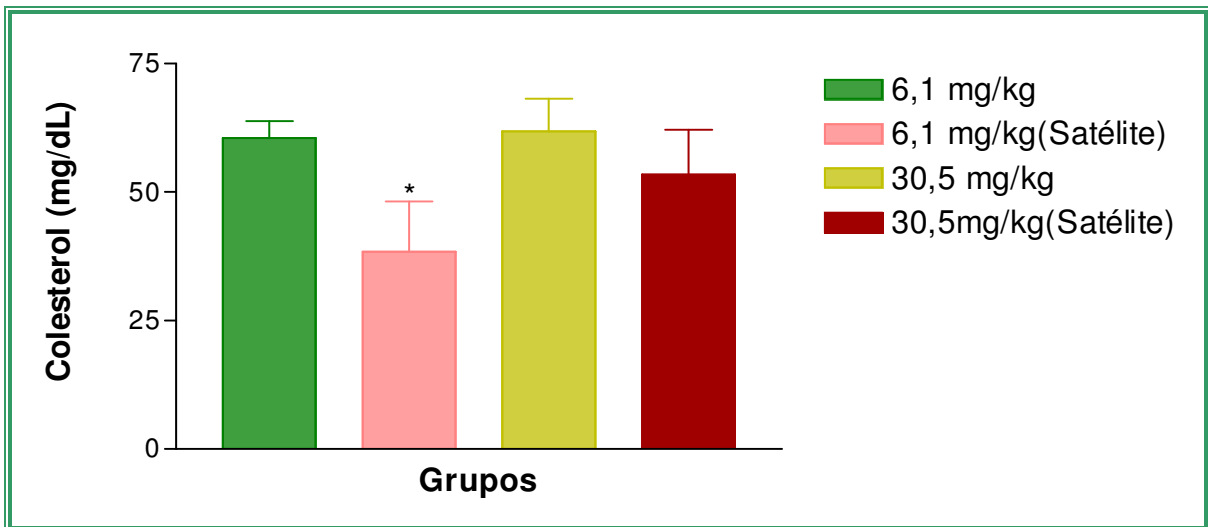


Gráfico 14 – Comparação da dosagem de colesterol no soro de ratos machos tratados com diferentes doses do EHA de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke) com os respectivos grupos satélites durante ensaio de toxicidade cônica. Teste “t” de Student * $p < 0,05$.

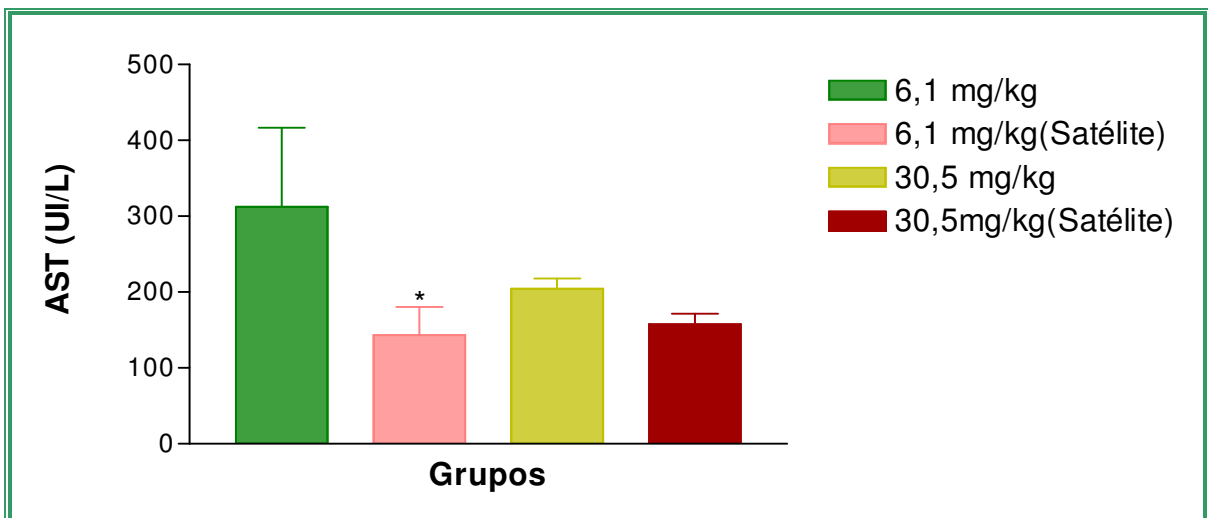


Gráfico 15 – Comparação da dosagem de AST no soro de ratos machos tratados com diferentes doses do EHA de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke) com os respectivos grupos satélites durante ensaio de toxicidade cônica. Teste “t” de Student * $p < 0,05$.

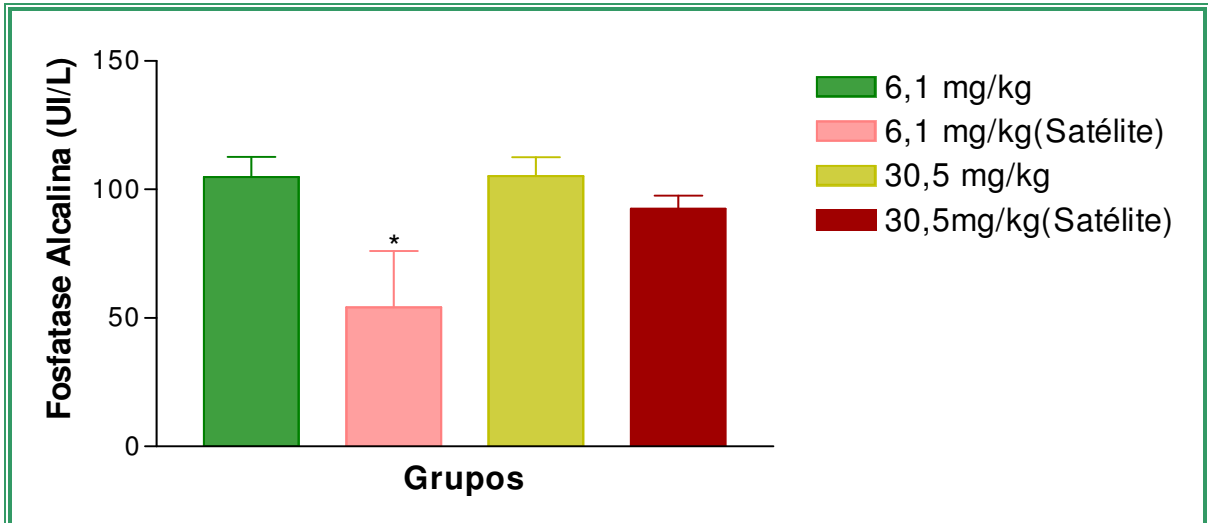


Gráfico 16 – Comparação da dosagem de fosfatase alcalina no soro de ratos machos tratados com diferentes doses do EHA de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke) com os respectivos grupos satélites durante ensaio de toxicidade cônica. Teste “t” de Student * $p < 0,05$.

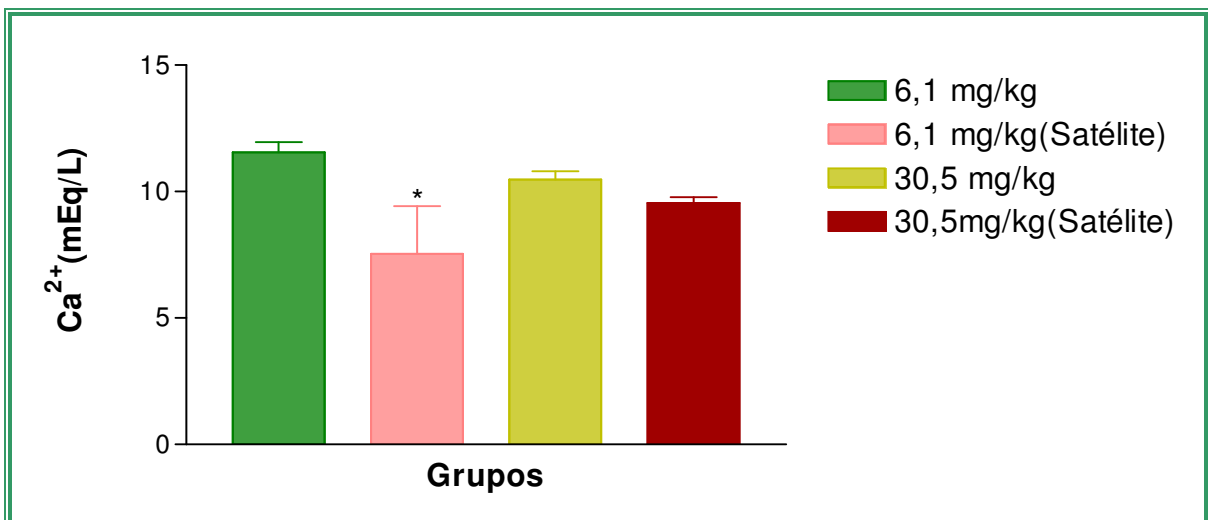


Gráfico 17 – Comparação da dosagem de Ca^{2+} no soro de ratos machos tratados com diferentes doses do EHA de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke) com os respectivos grupos satélites durante ensaio de toxicidade cônica. Teste “t” de Student * $p < 0,05$.

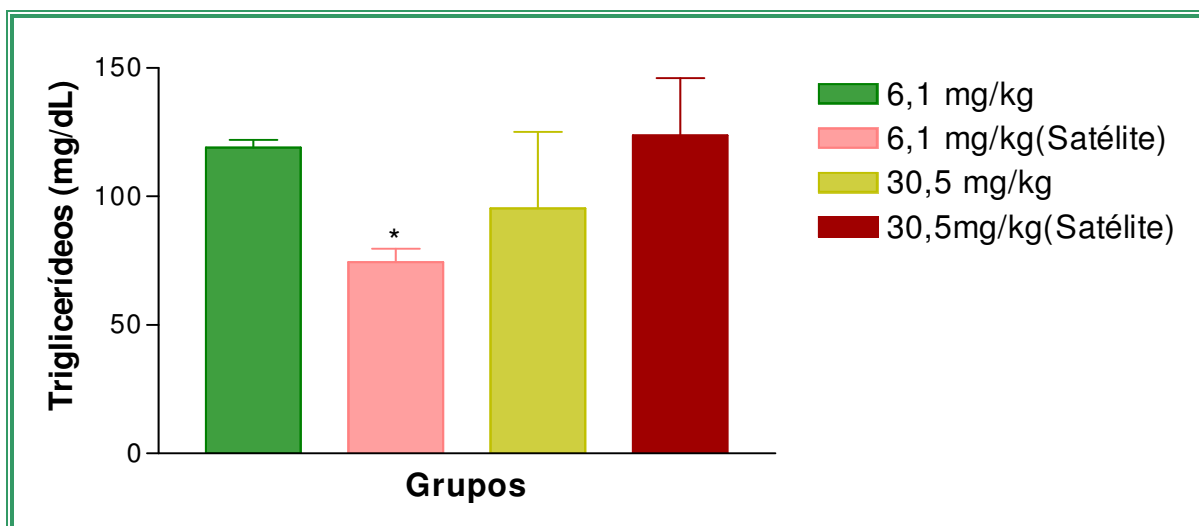


Gráfico 18 – Comparação da dosagem de triglicerídeos no soro de ratas fêmeas tratadas com diferentes doses do EHA de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke) com os respectivos grupos satélites durante ensaio de toxicidade crônica. Os valores estão expressos em média \pm e.p.m. (n=5). Teste “t” de Student *p<0,05.

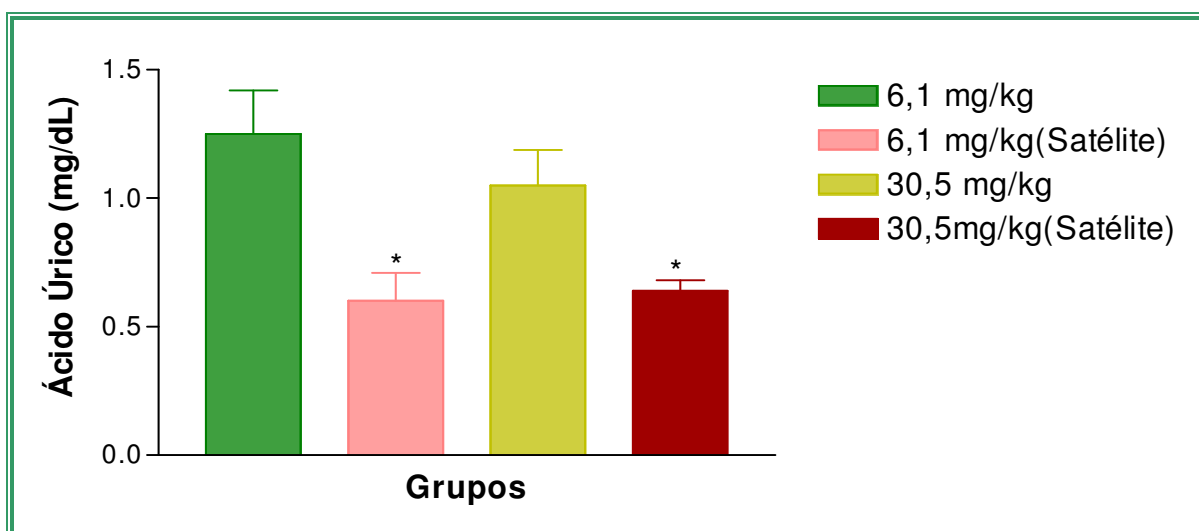


Gráfico 19 – Comparação da dosagem de ácido úrico no soro de ratas fêmeas tratadas com diferentes doses do EHA de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke) com os respectivos grupos satélites durante ensaio de toxicidade crônica. Os valores estão expressos em média \pm e.p.m. (n=5). Teste “t” de Student *p<0,05.

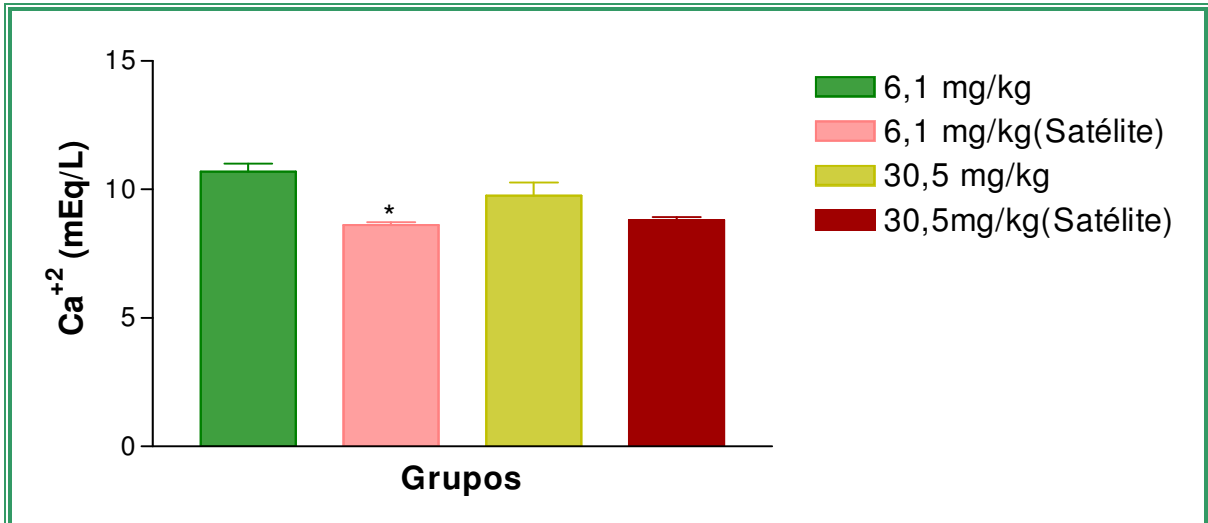


Gráfico 20 – Comparação da dosagem de Ca²⁺ no soro de ratas fêmeas tratadas com diferentes doses do EHA de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke) com os respectivos grupos satélites durante ensaio de toxicidade cônica. Os valores estão expressos em média ± e.p.m. (n=5). Teste “t” de Student *p<0,05.

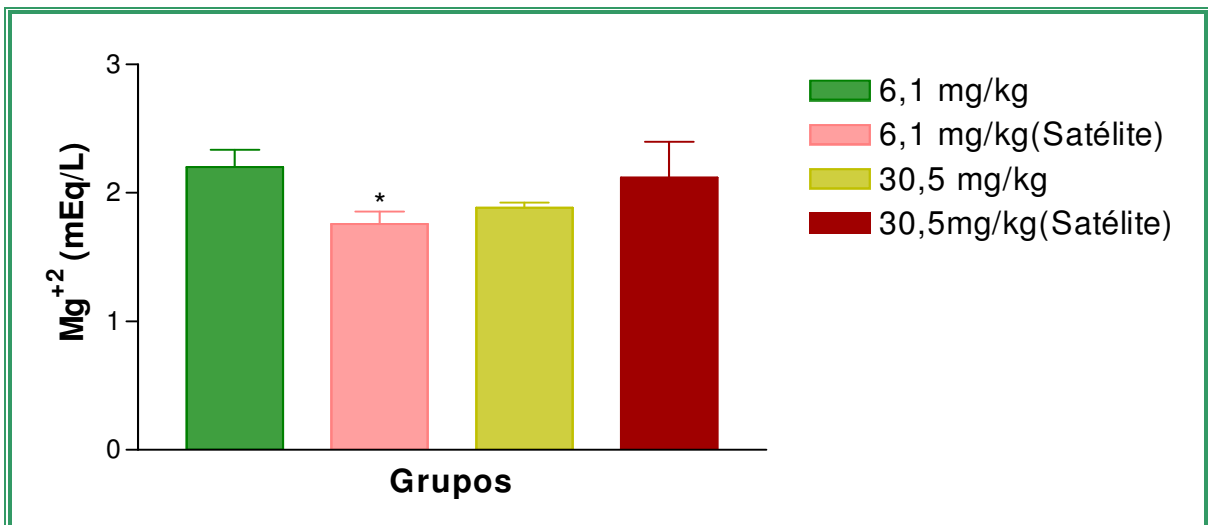


Gráfico 21 – Comparação da dosagem de Mg²⁺ no soro de ratas fêmeas tratadas com diferentes doses do EHA de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke) com os respectivos grupos satélites durante ensaio de toxicidade cônica. Os valores estão expressos em média ± e.p.m. (n=5). Teste “t” de Student *p<0,05.

4.2.6.2 Hematológica

Aos exames hematológicos (tabela 20) representados pelo hemograma e contagem de plaquetas, o tratamento com o extrato em diferentes doses, só repercutiu significância para o grupo das fêmeas tratadas com as doses D2 e D1 respectivamente, alterando os seguintes parâmetros analisados: hemoglobina e monócitos. Em todo o restante dos animais, não produziu diferenças consideradas, significativas.

Dando continuidade aos exames acima referidos, porém quanto a análise dos grupos satélites foram verificadas as seguintes alterações quanto ao hemograma: diminuição do hematócrito (gráfico 22), aumento dos leucócitos (gráfico 23) e plaquetas (gráfico 24) para os machos. Já as fêmeas trouxeram diminuições na contagem de hemácias (gráfico 25), hematócrito (gráfico 26) e aumento dos seguintes índices hematimétricos: HCM (gráfico 27), CHCM (gráfico 28) e plaquetas (gráfico 29).

Tabela 20 – Parâmetros hematológicos obtidos do soro de ratos machos tratados com diferentes doses do EHA de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke) durante o ensaio de toxicidade crônica.

Grupos	Parâmetros					
	Hemácias (10 ⁶ /mm ³)	Hemoglobina (g/dL)	Hematócrito (%)	VCM (μ ³)	HCM (μμg)	CHCM (%)
Machos						
Controle	7,8±0,2	14,6±0,4	35,0±1,2	44,5±0,7	18,7±0,3	42,0±0,5
1,22mg/kg	7,6±0,5	13,6±0,8	33,0 ±2,2	43,1± 0,6	18,0± 0,3	41,5±0,6
6,1 mg/kg	8,5±0,2	15,6±0,2	37,2 ±0,5	43,9 ±0,7	18,4 ±0,4	41,9±0,5
30,5mg/kg	8,3±0,2	15,1±0,5	38,0±0,6	45,3±0,7	18,3±0,3	40,5±1,0
6,1 mg/kg (Satélite)	8,0±0,2	15,1±0,5	35,4±1,2	44,4±0,6	18,9±0,3	42,8±0,4
30,5 mg/kg (Satélite)	8,0±0,3	14,4±0,5	36,4±0,3*	43,2±1,1	18,3±0,4	41,3±0,6
Fêmeas						
Controle	7,6±0,2	7,6±0,2	34,5±1,0	45,8±0,6	19,2±0,3	42,1±0,4
1,22mg/kg	8,1±0,2	8,1±0,2	37,6±1,5	46,5±1,0	19,0±0,4	40,9±0,3
6,1 mg/kg	8,3±0,3	8,3±0,3*	38,0±1,1	46,0±0,7	19,7±0,4	42,7±0,4
30,5mg/kg	7,8±0,1	7,8±0,1	35,4±0,4	45,2±0,5	18,7±0,2	41,4±0,5
6,1 mg/kg (Satélite)	7,8±0,2	15,5±0,1	35,4±0,5	45,4±0,8	19,9±0,5	43,8±0,5
30,5 mg/kg (Satélite)	7,1±0,1*	14,8±0,2	32,6±0,6*	46,2±0,2	20,9±0,2*	45,4±0,2*

Os valores estão expressos em média ± e.p.m. (n=5). One-way ANOVA/ Dunnett's.*p<0,05.

Tabela 20 – Parâmetros hematológicos obtidos do soro de ratos machos tratados com diferentes doses do EHA de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke) durante o ensaio de toxicidade crônica. (continuação)

Grupos	Parâmetros					
	Leucócitos (10 ³ /μL)	Neutrófilos (%)	Eosinófilos (%)	Linfócitos (%)	Monócitos (%)	Plaquetas (10 ³ /μL)
Machos						
Controle	5,7±0,7	32,2±3,8	1,7±0,3	60,8±3,5	5,2±1,1	962,2±60,6
1,22mg/kg	4,7±0,6	33,0±3,6	1,8±0,5	61,3±3,0	3,8±0,7	951,7±77,6
6,1 mg/kg	5,4±0,6	34,0±3,6	1,2±0,3	59,2±3,5	5,5±1,0	932,7±51,4
30,5mg/kg	6,0±0,5	38,5±3,8	1,3±0,3	57,1±4,0	2,5±0,6	1121,0±79,3
6,1mg/kg (Satélite)	8,1±1,0*	38,4±2,7	1,6±0,2	55,4±2,5	4,0±0,8	1163,0±51,33*
30,5mg/kg (Satélite)	5,31±0,6	32,4±2,4	2,2±0,5	62,4±2,9	4,0±1,0	1199,0±89,85
Fêmeas						
Controle	3,7±0,4	28,3±3,4	1,0±0,2	67,8±2,8	2,8±0,7	832,7±42,8
1,22mg/kg	4,1±0,5	32,7±3,2	1,2±0,5	60,0±3,1	6,2±1,1*	790,0±63,5
6,1 mg/kg	4,5±0,4	32,5±1,7	1,7±0,7	60,7±1,7	5,2±0,9	730,8±74,6
30,5mg/kg	5,8±1,3	32,2±2,7	1,2±0,2	62,0±2,6	4,7±0,6	844,7±74,2
6,1mg/kg (Satélite)	4,9±0,4	30,5±2,9	0,8±0,4	63,2±2,6	6,0±1,0	1076,0±63,5*
30,5mg/kg (Satélite)	8,8±2,3	36,7±3,4	1,8±0,6	55,4±4,6	5,6±1,0	1250,0±68,4*

Os valores estão expressos em média ± e.p.m. (n=5). One-way ANOVA/ Dunnett's. *p<0,05.

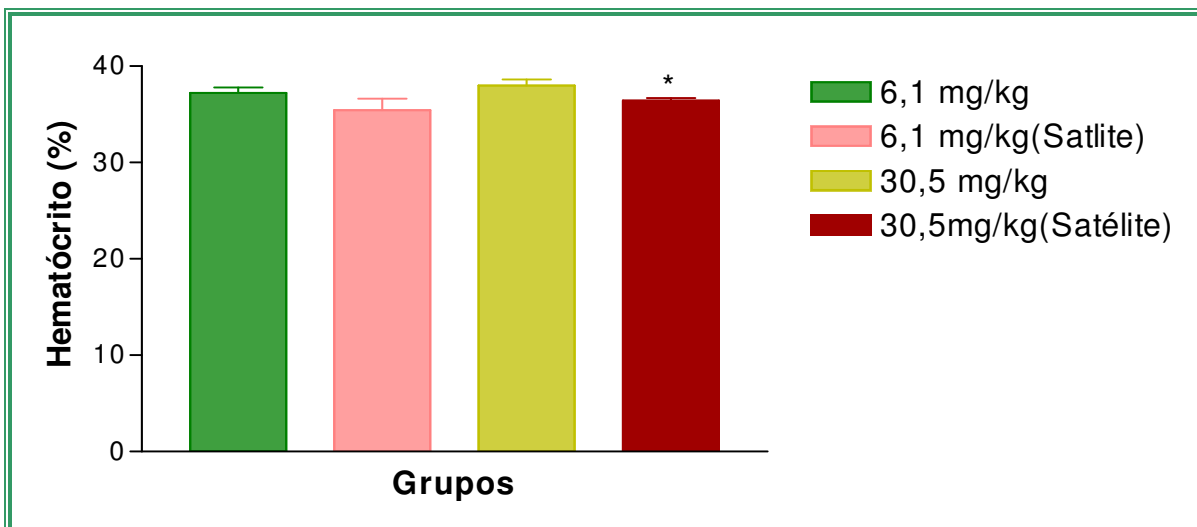


Gráfico 22 – Comparação da dosagem de hematócrito no plasma de ratos machos tratados com diferentes doses do EHA de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke) com os respectivos grupos satélites durante ensaio de toxicidade crônica. Os valores estão expressos em média \pm e.p.m. (n=5). Teste “t” de Student *p<0,05.

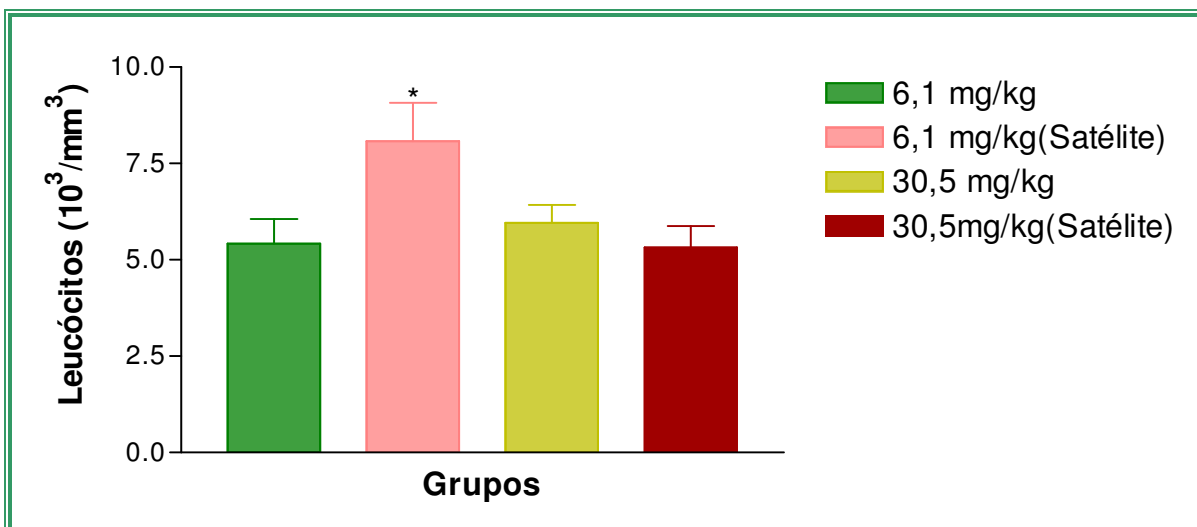


Gráfico 23 – Comparação da dosagem de leucócitos no plasma de ratos machos tratados com diferentes doses do EHA de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke) com os respectivos grupos satélites durante ensaio de toxicidade crônica. Os valores estão expressos em média \pm e.p.m. (n=5). Teste “t” de Student *p<0,05.

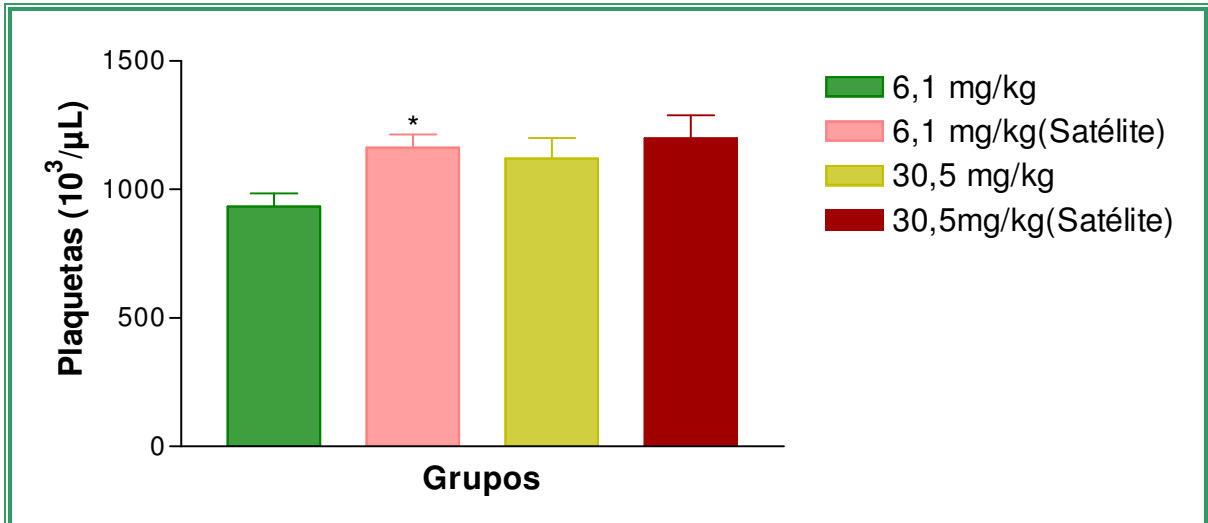


Gráfico 24 – Comparação da dosagem de plaquetas no plasma de ratos machos tratados com diferentes doses do EHA de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke) com os respectivos grupos satélites durante ensaio de toxicidade cônica. Os valores estão expressos em média \pm e.p.m. (n=5). Teste “t” de Student *p<0,05.

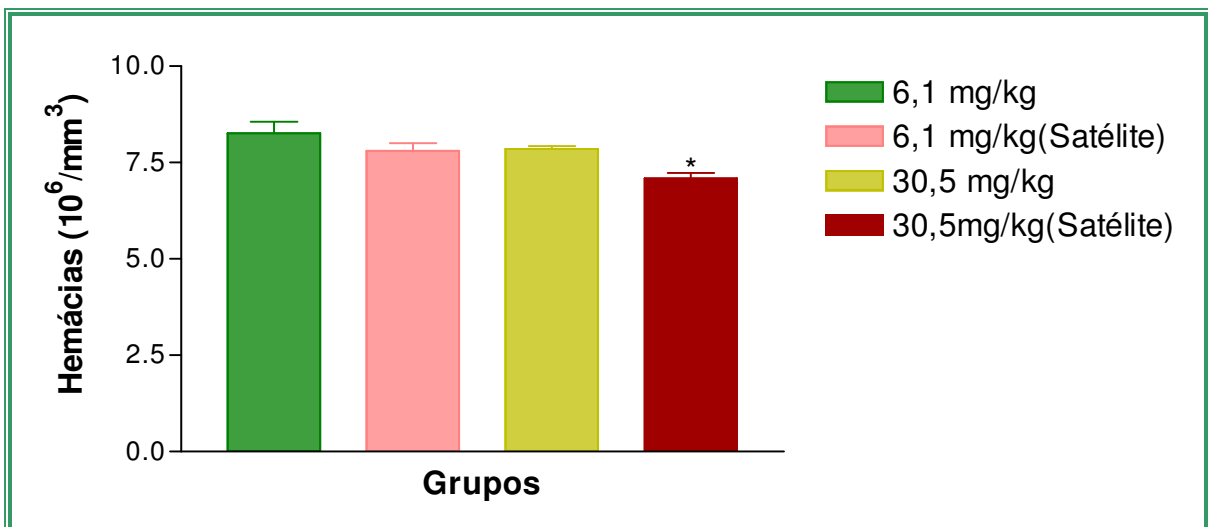


Gráfico 25 – Comparação da dosagem de hemácias no plasma de ratas fêmeas tratadas com diferentes doses do EHA de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke) com os respectivos grupos satélites durante ensaio de toxicidade cônica. Os valores estão expressos em média \pm e.p.m. (n=5). Teste “t” de Student *p<0,05.

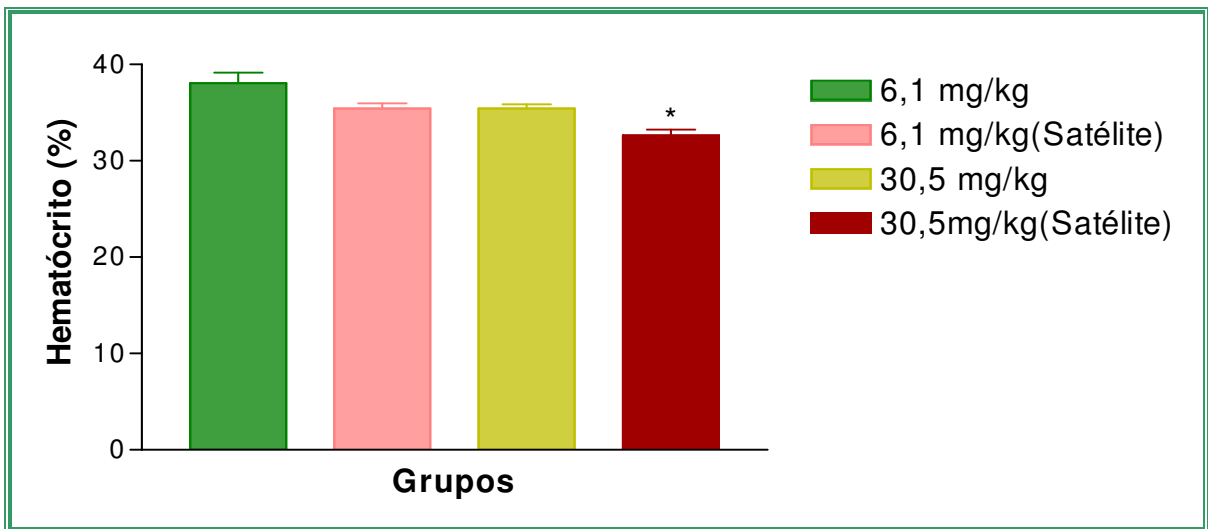


Gráfico 26 – Comparação do hematócrito no plasma de ratas fêmeas tratadas com diferentes doses do EHA de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke) com os respectivos grupos satélites durante ensaio de toxicidade cônica. Os valores estão expressos em média \pm e.p.m. (n=5). Teste “t” de Student *p<0,05.

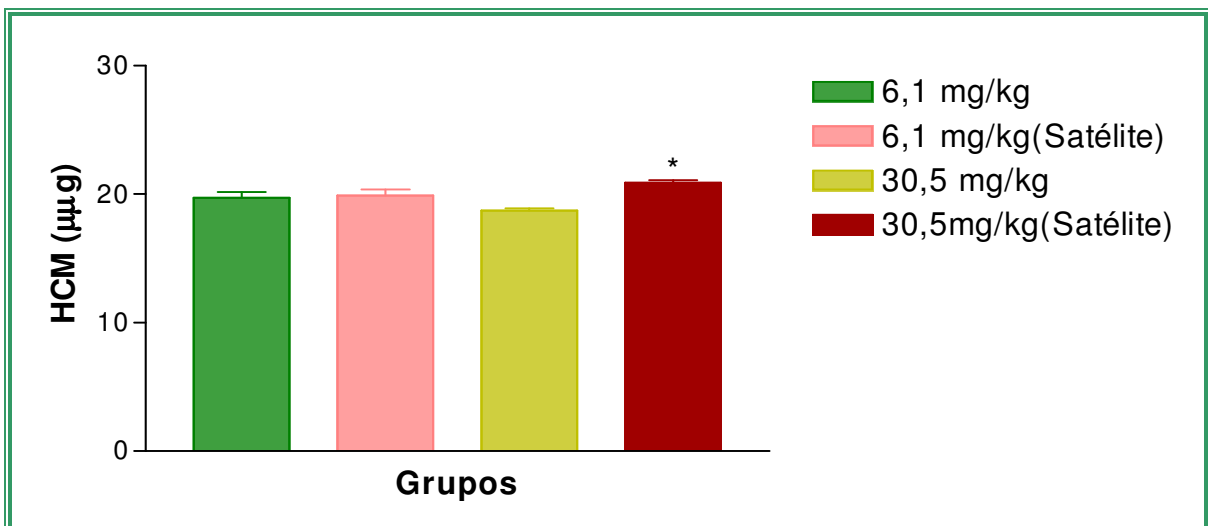


Gráfico 27 – Comparação da dosagem de HCM no plasma de ratas fêmeas tratadas com diferentes doses do EHA de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke) com os respectivos grupos satélites durante ensaio de toxicidade cônica. Os valores estão expressos em média \pm e.p.m. (n=5). Teste “t” de Student *p<0,05.

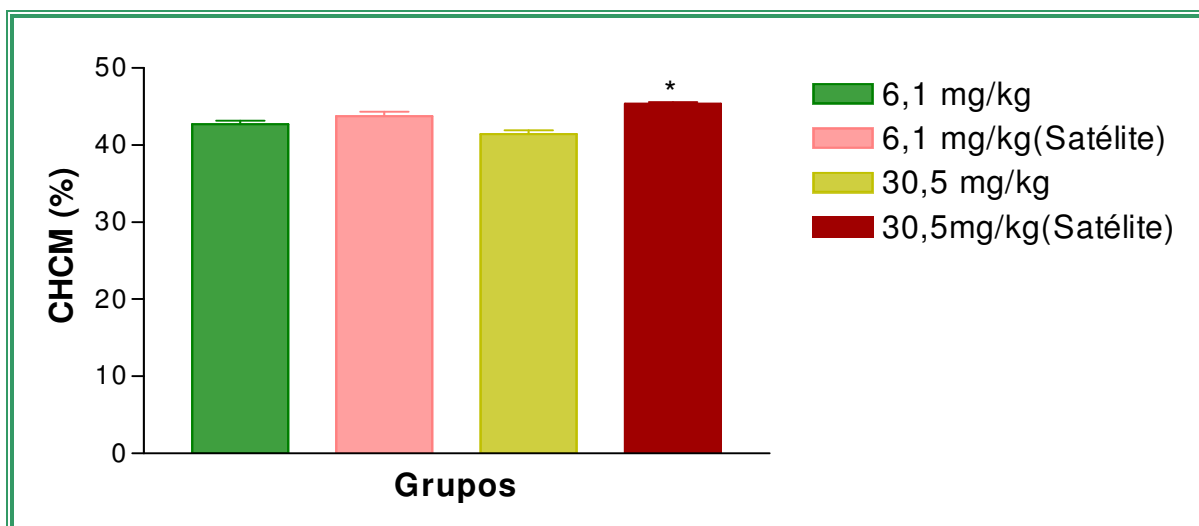


Gráfico 28 – Comparação da dosagem de CHCM no plasma de ratas fêmeas tratadas com diferentes doses do EHA de *Pradosia huberi* Ducke com os respectivos grupos satélites durante ensaio de toxicidade cônica. Os valores estão expressos em média \pm e.p.m. (n=5). Teste “t” de Student *p<0,05.

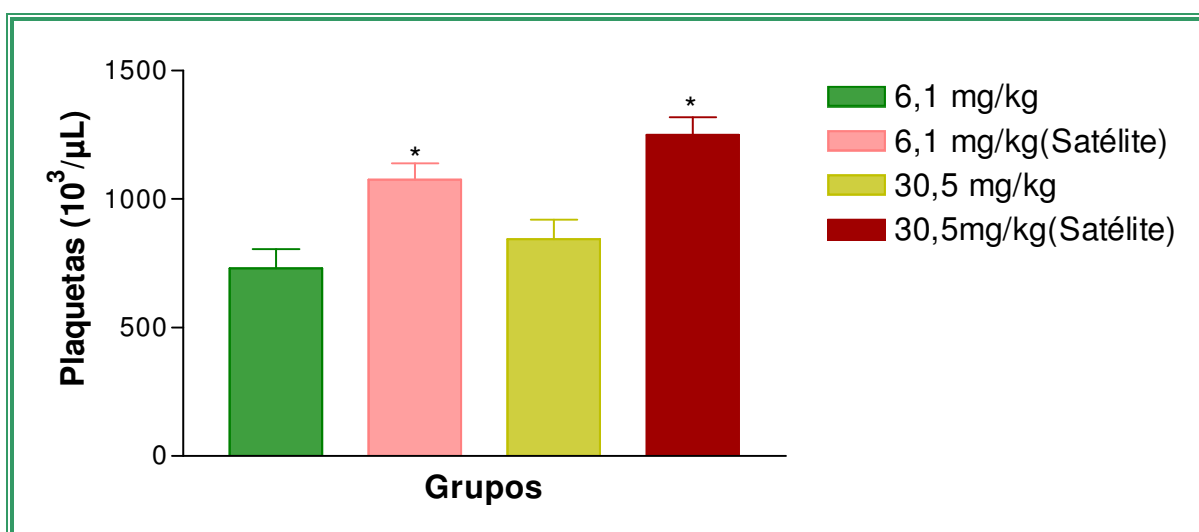


Gráfico 29 – Comparação da dosagem de plaquetas no plasma de ratas fêmeas tratadas com diferentes doses do EHA de *Pradosia huberi* Ducke com os respectivos grupos satélites durante ensaio de toxicidade crônica. Os valores estão expressos em média \pm e.p.m. (n=5). Teste “t” de Student *p<0,05.

4.2.7 Estudo anatomopatológico

O estudo anatomopatológico incluiu análise macroscópica das vísceras (coração, fígado, rins e pulmões) de todos os animais tratados e controle de ambos os sexos e doses utilizadas. Quando do momento de suas pesagens (coração, fígado e rins), resultados estes apresentados pela tabela 21, nenhum efeito foi registrado pela administração por tempo prolongado do EHA de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke), o mesmo entendimento no tocante à avaliação feita quanto aos tamanhos, formas e colorações daqueles. No que diz respeito ao exame histopatológico, de todos os órgãos analisados somente o fígado e os pulmões submetidos a tratamento crônico com a maior dose, 30,5 mg/kg, apresentaram alterações, mesmo assim consideradas discretas e focais. Como a seguir se mostram: no fígado de machos e fêmeas foi observada necrose lobular focal (figura 4 A e B) acompanhada de perivenulite (figura 5 A e B) e leve inflamação linfocitária sinusoidal com hiperplasia das células de Küpffer (figura 6 A e B) com os espaços portais apresentando-se pequenos e laxos como habitual, porém com discreta inflamação linfocítica (figura 7 A e B). Nos pulmões, ambos os sexos, mais uma vez compartilharam dos mesmos resultados, como: congestão de pequena intensidade e importância clínica em vasos septais nas bases de ambos os pulmões. Achado isolado foi verificado em fêmea tratada em que os pulmões além das informações acima referidas, em lobo foi observada broncopneumonia aguda inespecífica, bilateral (figura 8 A e B)) seguida de atelectasia parenquimatosa focal.

Tabela 21 – Peso dos órgãos dos animais tratados e controle com diferentes doses do EHA de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke) durante o ensaio de toxicidade crônica.

Doses	Vísceras	Coração	Fígado	Rins
	Machos			
Controle		1,6±0,05	10,7±0,3	2,6±0,07
1,22 mg/kg		1,4±0,1	10,04±0,9	2,7±0,2
6,1 mg/kg		1,3±0,1	9,3±1,03	2,3±0,2
30,5 mg/kg		1,3±0,04	8,9±0,5	2,2±0,2
Fêmeas				
Controle		1,0±0,02	6,4±0,3	1,8±0,1
1,22 mg/kg		1,03±0,1	6,3±0,5	1,6±0,1
6,1 mg/kg		0,9±0,03	6,8±0,4	1,7±0,1
30,5 mg/kg		0,9±0,01	5,7±0,5	1,4±0,05

Os valores estão expressos em média ± e.p.m. (n=3). One-way ANOVA/ Dunnett's. *p<0,05.

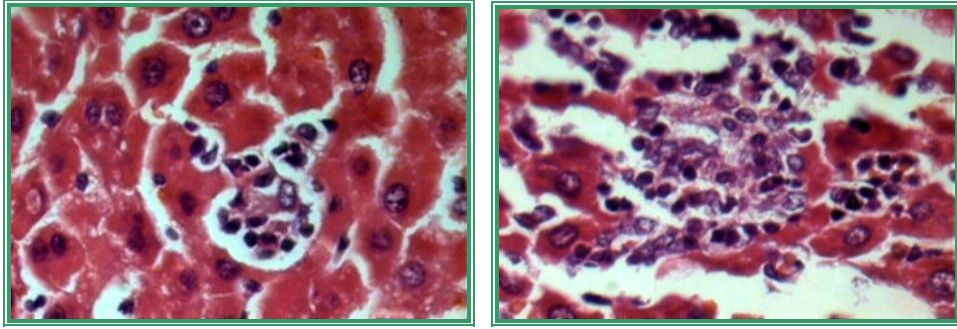


Figura 04 – Necrose hepatocelular (lobular) associada a afluxo linfohistocítico. Hematoxilina-eosina X250 (A-B)

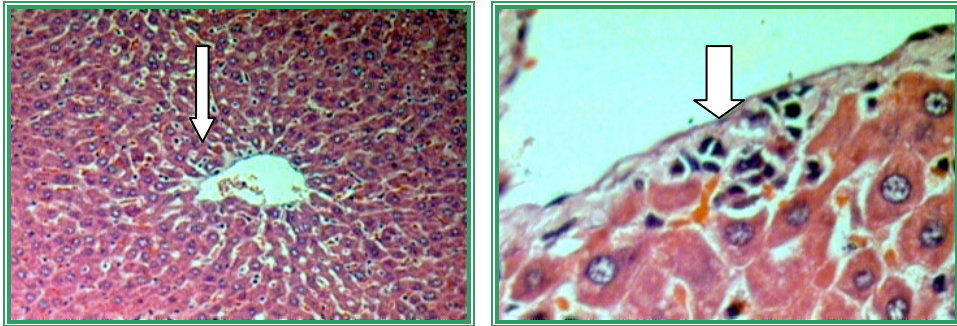


Figura 05 – Veia hepática terminal de paredes finas (seta delgada), margeada por travess de hepatócitos (A) e inflamação mononuclear mural – perivenulite (B, seta grossa). Hematoxilina-eosina X100 (A) – X400 (B)

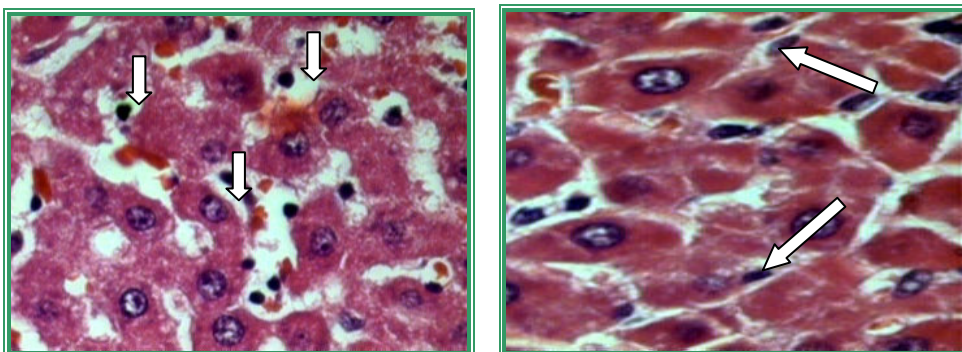


Figura 06 – Afluxo de linfócitos para a luz de sinusóides (seta curta), nos quais destacam-se células de Küpffer (seta longa). Hematoxilina-eosina X250 (A) – X400 (B)

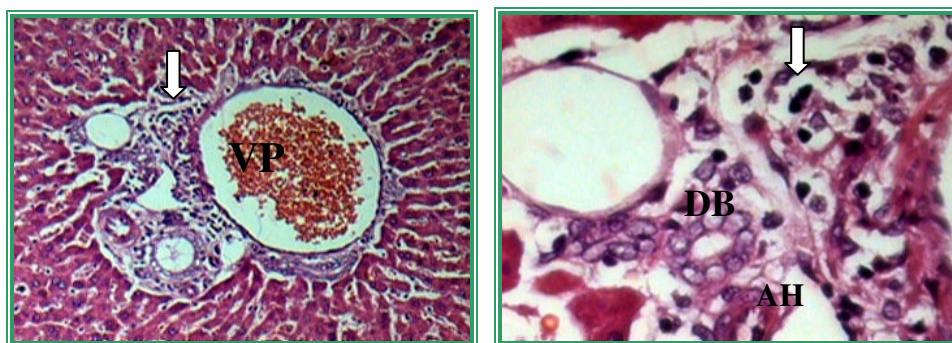


Figura 07 – Espaços portais pequenos, laxos, apresentando tríades vasculo-biliares habituais e inflamação linfocítica estromal. Hematoxilina-eosina X100 (A) – X400 (B). VP: Ramo da veia porta; AH: Arteríola hepática.

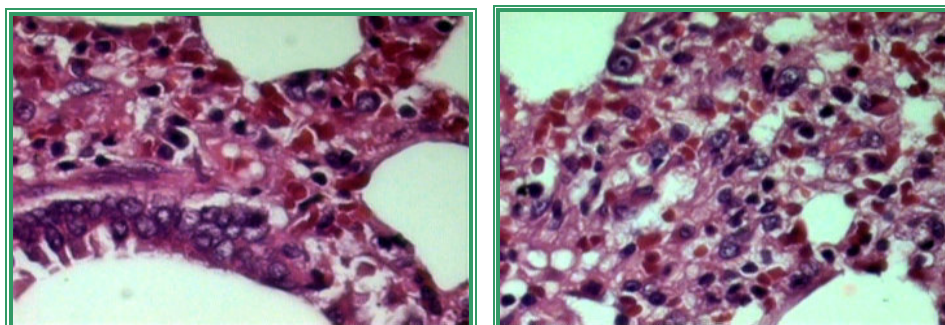


Figura 08 – Fêmea com quadro histológico de broncopneumonia, apresentando proeminente exsudação inflamatória mista com alargamento de septos alveolares e comprometimento da parede bronquial. Hematoxilina-eosina X250 (A-B)

Capítulo IV

Discussão

5 DISCUSSÃO

É fato que o século XXI está sendo marcado pelo amadurecimento de um paradigma entre o conhecimento popular e o científico, concomitante à valorização dos recursos naturais e das plantas medicinais, abrindo caminho para um novo universo chamado fitoterapia.

A associação feita entre plantas e seu poder curativo pode-se dizer histórica, passada de geração a geração, a princípio reunindo informações sobre o potencial medicamentoso de várias espécies, de fundo não científico, tornando-se, na maioria dos casos, ora um atalho ora um alicerce para o processo de construção do saber científico.

O conhecimento tradicional do uso de plantas medicinais vai além das melhorias de vida das comunidades locais, da saúde da população, amplia seus horizontes e permeia as políticas públicas no Brasil, atingindo áreas como ambiental, agrícola e também educacional.

Diante da tão vasta flora brasileira, possuidora de aproximadamente 55.000 espécies já catalogadas de um total estimado entre 350.000 a 550.000 (NODARI e GUERRA, 2000), é incrível que este país faça tão pouco uso deste arsenal natural, pois em pesquisa realizada pela ABIFITO (2003, citado por Turolla, 2004), dos 206 medicamentos fitoterápicos registrados no Brasil em 2003, 89% são originários de plantas estrangeiras (européias).

Inserido no contexto da fitoterapia, a literatura correspondente à espécie em estudo, *Pradosia huberi* Ducke (Ducke), foi bastante escassa, quando do momento da pesquisa bibliográfica, apesar desta planta já ser utilizada em grande proporção, principalmente pela população local do Amapá, como fitoterápico destinado às desordens gástricas. Apenas uma referência (Kushima et al., 2005) continha alguns ensaios farmacológicos e um toxicológico agudo pré-clínico, porém neste alguns parâmetros não foram contemplados, tais como análises sanguíneas, tanto do ponto de vista da hematologia como da bioquímica, consumo de

água, análise comportamental e exame histopatológico. Ambos, toxicológico e farmacológico, utilizaram mamíferos roedores (ratos e camundongos) como modelo de animais.

No que se refere a sua análise fitoquímica, estudo cromatográfico recente verificou a presença de di-hidro-flavonóides em sua composição (MEDEIROS et al, 2006), achado este que foi corroborado com investigação química anterior sobre a planta em questão, só que esta havia sido encontrada e identificada na Guiana Francesa.

O que acima foi então exposto tornou-se “alavanca propulsora” à realização do presente trabalho, com o intuito de colaborar com a comunidade científica na complementação de dados sobre esta espécie, tornando mais segura sua utilização.

As preparações fitoterápicas podem ser classificadas em duas categorias: 1 - extratos ou preparações em que os princípios ativos são conhecidos e 2 – extratos ou preparações em que estes não são conhecidos. Poucos extratos estão inseridos na primeira classificação (LOEW e KASZKIN, 2002). O EHA de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke) é uma preparação pertencente à segunda classificação, uma vez que os princípios ativos não são conhecidos, e os “marcadores” utilizados foram os Flavonóides.

Segundo Habs (1999), assim como Lazarowych e Pekos (1998), marcadores são substâncias químicas definidas e que não necessariamente respondem sozinhas pela eficácia e segurança do medicamento fitoterápico.

Após comentários, provenientes de levantamento bibliográfico sobre a espécie estudada e seu contexto no estado situacional dos fitoterápicos e da fitoterapia acima explicitados, procedeu-se à etapa experimental desta pesquisa com ensaio de toxicidade pré-clínica aguda e utilização de dose única de 2000 mg/kg, correspondente ao limite experimental, uma vez que a exposição acima desse nível tornar-se-ia incomum de acontecer em humanos, como também poder-se-ia considerar um resultado falso positivo o surgimento

de sinais adversos, devido à alta dosagem, mascarando a real significância dos resultados e comprometendo a fidedignidade do estudo.

Para Andersen et al. (2004), e Netto (2006), o rato (*Ratus norvegicus*) é considerado o principal modelo em estudos toxicológicos por apresentar certas vantagens em detrimento de outros animais, tais como: fácil manuseio; baixo custo; boa reprodutibilidade; curto período de gestação e ninhada numerosa; volume de fluídos adequados à análise de certos parâmetros; número de cepas bem definidas; numerosos estudos sobre a espécie, entre outros.

Em concordância com o conteúdo acima apresentado, o presente trabalho utilizou como espécie animal ratos Wistar em idade adulta, separados por grupos (controle e tratado), sexo (machos e fêmeas) e amostragem correspondente a 24 animais, número mínimo recomendado pela ANVISA, na Resolução Específica de nº 90/04. Ainda seguindo recomendações do órgão anteriormente citado, a via de administração (oral) foi a utilizada pela população, como também daquele avaliado em estudos anteriores.

Dando início aos procedimentos toxicológicos experimentais em sua fase aguda, a administração de dose única equivalente a 2000mg/kg provocou diminuição da massa corporal de forma significativa, associada à redução da ingestão de água e alimentos, por parte dos ratos tratados. O extrato induziu efeito contrário para as fêmeas quanto ao consumo de água, aumentando este.

Nenhum sinal de toxicidade e letalidade foi evidenciado pelas observações durante período experimental, para todos os animais (controle e tratado), não ocorrendo nenhuma repercussão às análises sobre os sistemas nervoso autônomo e central. No entanto, o maior número possível de parâmetros foi observado, conforme protocolo apresentado por Almeida et al., (1999).

Procedida a análise sangüínea, no tocante à bioquímica, ocorreu diminuição dos triglicérides, AST e ácido úrico nas fêmeas tratadas.

Para Lima et al. (1992), a diminuição dos triglicerídeos pode ser justificada pelo aumento do metabolismo lipídico, porém cumpre-se pesquisar em maior profundidade a sua natureza.

Sabe-se que o ácido úrico é um produto do metabolismo das proteínas (purinas) por ação enzimática. Então, tanto a sua formação quanto a sua degradação são subordinadas a processos enzimáticos. Seu equilíbrio plasmático é, de um lado, dependente da absorção e produção e, de um outro, da destruição. A hipourecemia é uma síndrome assintomática com várias causas pouco conhecidas (GUYTON & HALL, 2002).

A análise hematológica resultou em diminuição dos níveis de hemácias, hemoglobinas, hamatócrito e das plaquetas para os machos tratados. As fêmeas obtiveram diminuição para Concentração da Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM) e linfócitos.

A concentração de hemoglobina correlaciona-se estreitamente com a contagem de hemácias. Baixas concentrações de hemoglobina, hemácias e hamatócrito podem indicar anemia, hemorragia recente ou retenção de líquido, causando hemodiluição. Vale ressaltar que tais resultados não foram confirmados pelo VCM e CHCM destes animais (ratas). Uma contagem diminuída de plaquetas (trombocitopenia) pode resultar de uma série de situações patológicas, entre as quais estão: destruição aumentada de plaquetas, devido ao uso de certas drogas; desordens imunes; coagulação vascular disseminada; ou lesões mecânicas às plaquetas (LIMA, et al., 1992).

O diferencial de leucócitos é usado para avaliar a distribuição e morfologia dos glóbulos brancos, fornecendo informações mais específicas sobre o sistema imune do que a contagem de leucócitos isoladamente. Os padrões diferenciais anormais fornecem evidência para uma ampla faixa de estados de doença e outras condições (FAILACE, 2003).

Para Lipp (1996), deve ser considerada a existência de uma variedade de princípios ativos e substâncias presentes em um fitoterápico, agindo de forma sinérgica, não podendo

ter-se a certeza de qual componente seria o responsável pela terapêutica e/ou toxicidade. Portanto, ambos os efeitos são agonistas, até que se prove o contrário.

A análise macroscópica, levando em consideração aspectos tais como: forma, tamanho, peso e cor, realizada em órgãos (coração, fígado, rins e pulmões) de ratos (machos e fêmeas), não evidenciou qualquer alteração.

De acordo com Sipes (1997) “a dose faz o veneno”, para tanto dois fatores são imprescindíveis à sua total compreensão: se a dose for suficientemente alta ou o tempo de exposição demasiadamente prolongado, qualquer substância pode ser considerada tóxica.

A administração crônica (13 semanas) em diferentes doses (D1= 1,22 mg/kg, D2 = 6,1 mg/kg e D3 = 30,5 mg/kg), do EHA de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke), via oral, sobre ratos Wistar, demonstrou diminuição sobre o peso corporal dos machos tratados, assim como quanto ao consumo de água, resultados estes observados no estudo agudo. As fêmeas expressaram de modo geral diminuições quanto ao consumo de água e ração, porém estes não trouxeram repercussão/correlação sobre o seu desenvolvimento ponderal. Vale ressaltar que, em relação ao consumo de água, todas as variações, para ambos os sexos, disseram respeito a maior dose dada (D3), o mesmo não ocorrendo para o consumo de alimento (fêmeas), que apresentou diminuições nas seguintes doses administradas: D2 e D3. É oportuno mencionar que o tratamento agudo e crônico com o EHA das cascas do caule de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke) trouxe efeitos sobre estes parâmetros. Os grupos satélites referentes às duas maiores doses (D2 e D3) apresentaram resultados diversos, uma vez que os machos continuaram a diminuir seu consumo de água, enquanto que as fêmeas tiveram este consumo aumentado, dando indício de uma regularização para estas (fêmeas). No que se relaciona ao peso corporal e consumo de alimentos (ração), nenhuma significância estatística foi evidenciada, ou seja, as variações que se sucederam, durante o tratamento (90 dias) permaneceram constantes.

As vias hipotalâmicas relacionadas com a sensação de fome podem ser bloqueadas pela ação de drogas estimulantes do Sistema Nervoso Central, como por exemplo a anfetamina, trazendo como consequência a diminuição da ingestão de alimentos e perda significativa de peso corporal (GOODMAN & GILMAN, 1995).

Para avaliar o índice de emocionalidade dos animais (ratos Wistar), foram envolvidas medidas comportamentais e fisiológicas, tais como: contagem do número de bolos fecais, de ambulações, de levantar (rearing) e limpeza (grooming). Neste sentido estudos têm feito correlação entre alterações nestes parâmetros com o nível de ansiedade. Para tanto, fez-se necessária a utilização do aparelho de campo aberto (MANSUR, 1971 e ALMEIDA, 2006). Assim feito, foram encontrados os seguintes resultados, sendo estes referentes à maior dose (D3): as fêmeas aumentaram significativamente o levantar e a ambulação, na segunda e quarta semanas. É válido salientar que, no decorrer do tratamento, essas variações se normalizaram quando comparadas ao controle. Porém, quando feito acompanhamento dos satélites, equivalentes às duas maiores doses (D2 e D3), apenas as ambulações (fêmeas) foram diminuídas, bem como ocorreu o surgimento do comportamento de limpeza (machos e fêmeas), que até então (tratamento crônico) não havia manifestado alterações. Este apresentou-se diminuído em análise comparativa para com as doses acima citadas.

A glicemia caudal apresentou aumento significativo para as ratas tratadas com a dose usual (D1). No entanto, essa alteração diminuiu com o decorrer do tratamento. Porém, ao seu término e procedente avaliação (30 dias) dos grupos satélites, foram verificados aumentos deste parâmetro, para ambos os sexos.

Já para as determinações sanguíneas, a investigação bioquímica revelou aumento do nível de glicose para ambos os sexos, assim como das transaminases (AST e ALT), estas últimas somente para as fêmeas. Sucederam-se observações para os machos tratados quanto ao aumento da albumina e decréscimo para os eletrólitos cálcio e magnésio.

O fígado desempenha funções diferentes, porém muitas dessas se encontram interligadas, e esta interdependência muitas vezes torna-se evidente quando este órgão é afetado, tendo várias funções atingidas simultaneamente. Entre outras funções, é responsável por: gliconeogênese; síntese de gorduras; formação de uréia e proteínas plasmáticas, bem como remoção ou excreção de fármacos e outras substâncias (GUYTON & HALL, 2002).

Na verdade, os mecanismos reguladores dos níveis de glicose sanguínea são um tanto complexos e pouco conhecidos. No entanto, quando estas taxas se encontram elevadas, deve ser levado em consideração o dano hepático, uma vez que o fígado é o regulador primário da glicose no organismo (KANEKO, 1996 e RAVEL, 1997).

As transaminases AST e ALT existem em todos os tecidos corporais, especialmente coração, fígado, músculo esquelético, rins, cérebro, pâncreas, leucócitos e eritrócitos. A ALT é encontrada primariamente no fígado, e em pequena quantidade no rim e no coração. Estas enzimas são liberadas no sangue em quantidades elevadas na ocorrência de dano à membrana do hepatócito, o que resulta em aumento de sua permeabilidade. Assim, o aumento das aminotransferases tem valor diagnóstico, e não prognóstico, nas hepatopatias agudas (SANTOS, 2003).

Nas lesões do hepatócito, acompanhadas de necrose ou de aumento da permeabilidade, a dosagem das transaminases, AST e ALT, é fundamental, uma vez que tais lesões são, de modo geral, seguidas por aumento destas no sangue. A necrose de apenas 1% do tecido hepático aumenta duas a três vezes suas atividades (LIMA et al., 1992).

Ainda segundo o autor supra citado, a hiperalbuminemia, aumento dos níveis de albumina, é considerada rara, o que pode ocorrer na desidratação. Sendo digna de observação e/ou correlação a diminuição quanto ao consumo de água por parte dos machos tratados, lembrando também que o fígado é a principal sede da síntese da albumina.

São vários os testes de função hepática com o objetivo de: detectar a presença de doença hepática; fazer diagnóstico diferencial das doenças e avaliar a extensão do dano hepático. A fim de elevar sua sensibilidade e especificidade os mais usados são: aminotransferases, fosfatase alcalina e albumina, se estiverem alterados, a chance de doença hepática é grande. Se estiverem normais, a chance de doença hepática não diagnosticada é baixa (SANTOS, 2003).

Inúmeras causas podem estar associadas à hipocalcemia, entre tantas: o hipotireoidismo, a má absorção, metástases osteoblásticas, entre outras. A paratireóide é uma glândula que secreta o hormônio paratireoideano (PTH), hormônio este que atua nos ossos e nos rins, controlando minuto a minuto a homeostasia mineral. O cálcio participa dos processos de mineralização dos ossos, contração muscular, impulsos nervosos, mecanismos de coagulação e como co-fator no metabolismo enzimático. O hormônio acima citado é um potente controlador das concentrações de cálcio e de outros minerais, ao regular sua absorção intestinal e excreção renal. A hipofunção dessas glândulas resulta em hipocalcemia (GUYTON & HALL, 2002). Os resultados aqui apresentados sugerem que o EHA de *Pradosia huberi* interfere no metabolismo destes íons (cálcio e magnésio), porém de forma ainda longínqua quanto ao seu entendimento.

Para Lopez e Nóbrega (1978, apud LIMA et al., 1992, p.35), em estudo experimental feito em ratos Wistar, foi comprovada hipomagnesemia em animais desnutridos, o mesmo ocorrendo em humanos com deficiência nutricional.

É importante mencionar que, após a cessação do tratamento e acompanhamento dos satélites, os valores referentes às determinações bioquímicas que se mostraram alterados, independentemente do sexo afetado, tiveram suas variações normalizadas, com exceção do cálcio, que continuou a diminuir significativamente. No entanto, cessado o tratamento, surgiu a diminuição do colesterol, AST e FA, para os machos, e triglicerídeos e ácido úrico, para as

fêmeas. As diminuições enzimáticas sugerem redução da sobrecarga sofrida pelo fígado em detrimento de altas dosagens do extrato, uma vez que de forma geral todas se sucederam com as maiores doses (D2 e D3).

No que concerne aos parâmetros hematológicos dos de animais (fêmeas), o extrato promoveu aumento da hemoglobina e monócitos. Apesar de significativos estatisticamente, é questionável a importância clínica desse achado, uma vez que tais alterações não refletiram no aumento da CHCM, nem do número total de leucócitos.

Os dados expressos, após tratamento com os grupos satélites submetidos ao tratamento das duas maiores doses, quanto aos testes hematimétricos são de pouco significado clínico, uma vez que não coadunam entre si, para ambos os sexos, pois uma contagem deprimida de hemácias sugere anemia, desde que haja acréscimo e concordância com testes adicionais tais como os índices de CHCM, VCM e HCM, fato este que não ocorreu.

Porém quando feito acompanhamento dos satélites (D2 e D3), ocorreram alterações no que concerne ao aumento das plaquetas em machos e fêmeas. É importante salientar que este parâmetro foi diminuído quando de sua análise para o estudo agudo, trazendo observação sobre o fato de que o extrato em estudo pode alterar significativamente este elemento sanguíneo (plaquetas), uma vez que cessado o tratamento esses valores aumentaram.

Aos exames macro e microscópicos foram observados:

1 – Fígado: os espécimes de hepatectomia de todos os animais mostrava lobos anatômicos bem individualizados, recobertos por fina cápsula de Glisson, através da qual visualizava-se a superfície externa lisa e de cor vinhosa. Aos cortes seriados, o parênquima era vinhoso, compacto, brilhante, elástico, sem septações fibrosas. O exame histológico do fígado de animais, machos e fêmeas, teve resultados similares em todas as amostras teciduais analisadas, revelando lesões de discreta intensidade e, em geral, focais. A presença de necrose lobular focal para a qual ocorria afluxo de linfócitos e histiócitos era, eventualmente,

acompanhada de reação inflamatória discreta e de mesma natureza, em torno de veias hepáticas terminais. Ainda no seio do lóbulo, chamou atenção a ocorrência de células inflamatórias mononucleares em lumes sinusoidais, associada, ademais, à hiperplasia de células de Küpffer. Os espaços portais, pequenos e laxos, eram sede de discreta mobilização de linfócitos, não acompanhada de alterações matriciais;

2 – Pulmões: estavam recobertos por pleura transparente, com vasos sinuosos e finos, sendo os grandes brônquios, permeáveis e o parênquima, esponjoso, de tonalidade rósea, exceto em áreas das bases, onde a tonalidade e a textura do tecido tornaram-se, respectivamente, pardacenta e compacta. O exame microscópico revelou sinais de congestão vênulo-capilar basal nos diversos animais, enquanto que em apenas uma fêmea esse processo congestivo associou-se a um quadro de broncopneumonia aguda, caracterizada por intenso infiltrado inflamatório, constituído por linfócitos, plasmócitos, histiócitos e neutrófilos. Tal exsudação celular invadia a luz de alvéolos, ocorrendo ainda migração exocítica para a parede e lumes bronquiolares. Essas lesões acompanhavam-se de áreas de atelectasia do parênquima;

3 – Rins: com superfície externa envolvida por cápsula opalescente, que se destaca com facilidade do parênquima. Às secções seriadas, observa-se superfície compacta, pardacenta, com limites córtico-medulares nítidos e perfeita visualização pirâmides e cálices renais. Cotos ureterais representando remanescentes de amputação proximal. O estudo histológico mostrou arquitetura lobular e “população” glomerular preservadas. Nos glomérulos, tufo capilares e mesângio delicados estavam separados da cápsula de Bowman por espaço de retração artefactual. Não foram observadas lesões fibróticas, hemorrágicas ou áreas de enfarte;

4 – Coração: recoberto por epicárdio fino, transparente e delicadamente vascularizado, o coração apresentava vasos da base proporcionais às dimensões do órgão e cavidades átrio-ventriculares revestidas por endocárdio liso e brilhante sendo ora vazias, ora ocupadas por coágulos sangüíneos (alteração natural *post-mortem*). As válvulas átrio-ventriculares e

semilunares (pulmonar e aórtica) tinham bordas livres. Ao exame microscópico, o tecido cardíaco mostrou-se dentro dos limites da normalidade histológica.

È imprescindível relatar que, apesar das agressões orgânicas acima descritas, todas se apresentaram de maneira discreta e local e foram expressas na maior dose dada, correspondente a 30,5 mg/kg do extrato, sendo esta 25 vezes superior a dose usual. No entanto, não é aconselhável a total desconsideração histotóxica deste produto sobre o fígado e os pulmões.

Em concordância com os resultados apresentados neste estudo toxicológico, agudo e crônico, e também com o objetivo de permitir uma melhor compreensão destes, Drew e Myers (1997) explica que as reações adversas com medicamentos fitoterápicos podem receber duas grandes classificações:

1. Reações intrínsecas, ou seja, relacionadas aos próprios medicamentos fitoterápicos, recebendo denominação como tipo A (dose dependente, superdosagem e interações medicamentosas e então já previstas) e tipo B (idiossincráticas, portanto não esperadas);
2. Reações extrínsecas, ou seja, não relacionadas com a planta, mas por deficiências e/ou falhas pertinentes a sua própria fabricação.

È bem verdade que muitos são os fatores que interferem na qualidade do medicamento fitoterápico, como a presença de muitas substâncias, algumas inclusive em baixas concentrações, tornando, com isso, mais difícil sua identificação; condições variadas de cultivo e plantio; presença de contaminantes e microorganismos, etc. (CALIXTO, 2000).

No entanto, Bauer (1998) afirma que todos estes fatores podem ser controlados através de padronizações, desde o cultivo até as preparações dos extratos, com já se encontram presentes nas farmacopéias, garantindo uma maior qualidade do medicamento fitoterápico.

Ainda, Robberts, Speedie e tyler (1996) enunciam grandes vantagens sobre a utilização de plantas e dos fitoterápicos para a medicina moderna, tais como: 1. a obtenção de

fármacos extremamente importantes e de difícil síntese; 2. as fontes naturais fornecem compostos que podem ser levemente modificados, tornando-os menos tóxicos e mais eficazes, e 3. podem servir como modelos para fabricação de medicamentos sintéticos com atividade terapêutica semelhante a dos compostos originais.

É exatamente neste contexto que se enfatiza a necessidade e importância de estudos toxicológicos pré-clínicos, agudo e crônico, criteriosos com o intuito de tornar viável, segura e eficaz não somente a utilização como também a sua comercialização.

Capítulo V

**Conclusão e
Perspectivas**

6 CONCLUSÃO

Diante do exposto o presente estudo conclui, perante a toxicologia pré-clínica, sobre tratamento, agudo e crônico, de ratos Wistar com o extrato hidroalcoólico de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke) que:

- Os machos foram mais sensíveis aos efeitos sobre a diminuição do consumo de alimentos e água, assim como diminuição do peso corporal;
- A análise sangüínea sob a ótica da bioquímica apresentou efeito hiperglicemiante em ambos os sexos e aumento das transaminases (AST e ALT) para as fêmeas, sendo indicativos de dano hepático;
- O estudo histopatológico revelou agressões de leve intensidade e locais sobre o fígado e os pulmões dos animais (machos e fêmeas) tratados, sendo estas correspondentes as maiores doses administradas.

7 PERSPECTIVAS

Apesar de o tratamento agudo e crônico não ter refletido gravidade clínica e nem ter induzido a morte dos animais tratados, os resultados apresentados por si só sugerem que o extrato hidroalcoólico (EHA) das cascas de *Pradosia huberi* Ducke (Ducke), deve ser mais pesquisado, quanto aos seus constituintes químicos, levando em consideração sua importância econômica, farmacológica e toxicológica, uma vez que se trata de medicamento fitoterápico já em uso.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, R. N.; FALCÃO, A. C. G.; DINIZ, R. S. T.; QUINTANS-JÚNIOS, L. J.; POLARI, R. N.; BARBOSA-FILHO, J. M.; AGRA, M. F.; DUARTE, J. C.; FERREIRA, C. D.; ANTONIOLLI, A. R.; ARAÚJO, C. C. Metodologia para avaliação de plantas com atividade no Sistema Nervoso Central e alguns dados experimentais. **Rev. Bras. Farm.** v. 80, n.3-4, p.72-76. 1999.

ALMEIDA, R. N. **Psicofarmacologia: fundamentos práticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. p.62-75.

ANDERSEN, M. L.; D' ALMEIDA V.; KO, G. M.; KAWAKAMI, R.; MARTINS, P. J. F.; MAGALHÃES, L. E.; TUFIK, S. **Princípios Éticos do Uso de Animais de Experimentação**. p.167. São Paulo: UNIFESP. 2004.

ASCHWANDEN, C. Herbs for health, but how safe are they? **Bull. W. h. o., Geneva**, v.79,n. 7, p. 691-692, 2001. Disponível em: <<http://www.who.int/bulletin>> Acesso em 10 nov. 2007.

BARROS, S. B. M.; DAVINO, S. C. Avaliação da Toxicidade. In: OGA S. **Fundamentos de Toxicologia**. 2. ed. São Paulo: Atheneu Editora. 2003. p.57-67.

BAUER, R. Quality Criteria and standadizrization of phytopharmaceuticals: can acceptable drug standards be achieved? **Drug Inf, J.**, New York, v.32, p. 101-110, 1998.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada RDC nº 48/2004, de 16 de março de 2004. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 18 mar. 2004a. v. 53, seção 1, p.39-41.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução Específica RE nº 90/2004, de 16 de março de 2004. Normas para estudos toxicológicos de produtos fitoterápicos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 18 mar. 2004b. v. 53, seção 1, p.34-35.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 971, de 03 de maio de 2006a. Aprova a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, de 04 de maio de 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Decreto nº 5.813, de 22 de junho de 2006b. Aprova a Política Nacional de Plantas Medicinais e Medicamentos

fitoterápicos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, de 23 de junho de 2006.

BRASÍLIA. Ministério da Saúde. Secretária de Políticas de Saúde. **Proposta de Política Nacional de Plantas Medicinais e Medicamentos Fitoterápicos**. Outubro, 2001.

BRITO, A. S. **Manual de Ensaio Toxicológicos in vivo**. Campinas: Editora da UNICAMP. P. 122. 1994.

CALIXTO, J. B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). **Braz. J. Med. Biol. Res.**, Ribeirão Preto, v. 33, p. 179-189, 2000.

CARLINI, E. A.; CONTAR, J. D. P.; SILVA-FILHO, A. R.; SILVEIRA-FILHO, N. G.; FROCHTENDGARDEN, M. L.; BUENO, O. F. A. Pharmacology of Lemograss (*Cymbopogon citratus* Stapf). Effects of teas prepared from leaves on laboratory. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 17, p.37-64. 1986.

COLÉGIO BRASILEIRO DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (COBEA). Legislação e Ética. Resolução 592. Disponível em: <http://meusite.com.br/COBEA/>. Acesso em 03/04/2007.

CORREA, M.P. **Dicionário das Plantas Úteis do Brasil**, v. 5, p. 400, 1984.

DINIZ, M. F. F. M. **Ensaio Toxicológicos Pré-clínicos com as Folhas de Cissampelos sympodialis Eichl**. João Pessoa/PB, 2000. 147 f. Tese (Doutorado em produtos Naturais e Sintéticos Bioativos - Área de concentração em farmacologia) – Laboratório de Tecnologia Farmacêutica “profº Delby Fernandes Medeiros”, Universidade Federal da Paraíba.

DI STASI, L. C. **Plantas medicinais: arte e ciência. Um guia de estudo interdisciplinar**/Luiz Cláudio Di Stasi organizador. São Paulo: Editora da Universidade Estadual Paulista, 1996.

DOS SANTOS, M. A.; COELHO-FERREIRA, M. Inventário de espécies medicinais empregadas pelo IEPA, Macapá-AP. **Amazônia: Cia. & Desenvolvimento.**, v.1, n.1, p. 159-180, jul./dez. 2005.

DREW, A. K.; MYERS, S. P. Safety issues in herbal medicine: implications for the health professions. **Med. J. Aust.**, Glebe, v. 166, p. 538-541, 1997.

DRYDEN, G. W.; SONG, M.; MCCLAIN, C. Polyphenols and gastrointestinal diseases. **Currente opinio in: Gastroenterology**. v. 22(2), p. 165-170, 2006.

DUNHAM, N. W.; MIYA, T. S. A rote on a simple apparatus for detecting neurological deficit rats and nice. **Journal of the americam pharmaceuticae** associatio scientific Edit., V. 16, n. 3, 1957.

FAILACE, R. **Hemograma: manual de interpretação**. 4ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2003.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 4ª ed. São Paulo: Atheneu Editora. v.2.9. 1988.

FAUSTMAN, E. M.; OMENN, G. S. **Risk Assessment**. In: **KLAASSEN, C. D. (ed.) Cassaret and Doull's Toxicology: the Basic Science of Poicons**. 6. ed. New York: McGraw-Hill, p. 83-104, 2001.

GOODMAN, L. S.; GILMAN, A. G. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 8ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995.

GRAPHPAD PRISM 1999. **User's Guide Version 4.0: the fast, organized way to analyse and graph scientific data**. San Diego. Disponível em: <<http://www.graphpad.com>>. Acesso em: 20 out. 2007.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Fisiologia Médica**. 10ª. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

HABS, M. Herbal products: advances in preclinical and clinical development. **Drug inf. Journal.**, New York, v. 33, p. 993-1001, 1999.

JACOBSON-KRAM, D.; KELLER, K. A. **Toxicology Testing Handbook**. New York: Marcel Dekker, 2001.

JACQUEMIN, H.; BOISSONAT, A.; FAUGERAS, G.; TILLEQUIN, F.; DELAVEAU, P. Flavonóides de Glycoxylon huberi Ducke. **Ann. pharmaceutiques françaises**, 43, nº 5, pp. 521-525, 1985.

KANEKO, J. J. **Clinical biochemistry of domestic animals**. San Diego: Academic Press. 1996.

KO, R. J. Causes, epidemiology, and clinical evaluation of suspected herbal poisoning. **Clinical Toxicology**., New York, v. 37, n. 6, p. 697-708, 1999.

KUSHIMA, H.; HIRUMA-LIMA, C. A.; SANTOS, M. A.; VIANA, E.; COELHO-FERREIRA M.; BRITO A. R. M. S. Gastroactive activity of *Pradosia huberi* on experimentally induced gastric lesions in rodents: Role of endogenous sulfhydryls and nitric oxide. **Journal of Ethnopharmacology**. V. 101, p. 61-67, May, 2005.

LARINI, L. Avaliação Toxicológica. In: LARINI, L. **Toxicologia**. 3ed. São Paulo: Manole. p. 43-58, 1993.

LAZAROWYCH, N. J.; PEKOS, P. Use of fingerprints and marker compounds for identification and standardization of botanical drugs: strategies for applying pharmaceutical HPLC analysis to herbal products. **Drug information, Journal**. New York, v. 32, p. 497-512, 1998.

LIMA et al.; **Métodos de laboratório aplicados à clínica: técnica e interpretação**. 7^a. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992.

LIPP, F. J. The efficacy, history and politics of medical plants. **Alternative Therapeutic**., Aliso Viejo, v. 2, n. 4, p. 36-41, 1996.

LITCHFIELD, L. T. JR; WILCOSON, F. A simplified method of evaluation dose-effect experiments. **Journal of Pharmacology And Experim. Therap.**, V.19, p.388-397, 1949.

LOEW, O.; KASASZKIN, M. Approaching the problem of bioequivalence of herbal medicinal products. *Phytother. Res.* V. 16, p. 705-711, 2002.

MACIEL, Maria Aparecida M. et al. Medicinal Plants: the need for multidisciplinary scientific studies. **Química Nova**, São Paulo, V.25, n. 3, 2000.

MANSUR, J.; MARTZ, R. M. W. ; URLINI, E. A. Effects of acute and chronic administration of *Cannabis Sativa* and (-) Δ^9 - tetrahydrocannabinol on the behavior of rats in open-field arena. **Psychopharmacology**, V. 9, p. 388-397, 1971.

MATOS, F. J. A. **Introdução à Fitoquímica Experimental**. Fortaleza: Edições UFC. 2^a ed. 1997.

MEDEIROS F. A.; MEDEIROS A. A. N.; TAVARES J. F.; QUEIROGA K. F.; COSTA, V. C. O.; SILVA M. S. Flavononóis Acetilados de *Pradosia huberi* Ducke (Sapotaceae). In: 29ª Reunião Anual da **Sociedade Brasileira de Química**, 2006.

MICHALANY, J. **Técnica Histológica em Anatomia Patológica: com instruções para o cirurgião, enfermeira e citotécnico**. São Paulo: Editora Michalany Ltda. 3ª ed. 1998. 295 p.

MORAIS, L. C. S. L.; BARBOSA-FILHO, J. M.; ALMEIDA, R. N. Central depressant effects of reticuline extracted from *Ocotea ducket* in rats and mice. **J. of Ethopharmacol.** V. 62, p. 57-61, 1998.

NETTO, S. M. Animais de Laboratório. In; Almeida, R. N. **Psicofarmacologia. Fundamentos Práticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 46-52, 2006.

NODARI, R. O.; GUERRA, M. P. Biodiversidade: aspectos biológicos, geográficos, legais e éticos. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMAN, G. M.; MELLO, J. C. P.; PETROVICK, P. R., ORGS. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 2ªed. Florianópolis. UFSC; Porto Alegre: UFRGS, 2000. Cap. 1, p. 11-24.

OMS – Organización Mundial de La Salud. Situación regulamentaria de los medicamentos: una reseña mundial. Traducción del inglés: Organización de la Salud. Washington: OPAS, p. 62, 2000.

RAVEL, R. **Laboratório Clínico: aplicações clínicas dos achados laboratoriais**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1997.

ROBBERS, J. E.; SPEEDIE, M. K.; TYLER, V. E. **Pharmacognosy and pharmacobiotechnology**. Baltimore: Willians & Wilkins, p. 1-14, 1996.

SÁ, R. C. S.; **Investigação do Potencial Tóxico de Mikania glomerata Spreng. (Asteraceae) sobre o Sistema Reprodutor de Ratos Wistar**. João Pessoa/PB, 2003. 134 p. Tese (Doutorado em produtos Naturais e Sintéticos Bioativos - Área de concentração em farmacologia) – Laboratório de Tecnologia Farmacêutica “profº Delby Fernandes Medeiros”, Universidade Federal da Paraíba.

SANTOS, F. S. D. Folk traditions in the use of medicinal plants in the amazon. **História Ciençais Saúde-Manguinhos.**, V.6, Sup1.0 Rio de Janeiro, Sept. 2000.

SANTOS, M. M. A. **Provas de função e lesão hepática**. FM-UnB: Monitoria de Clínica Médica – 1/2003.

SIMÕES, C. M. O.; MENTZ, L. A.; SCHENKEL, E. P.; GOSMAN, G.; DE MELLO, J. C. P.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**– 4.ed. – Porto Alegre/Florianópolis:ed. Universidade/UFRGS/Ed. da UFSC, 2002.

SIPES, I. G.; DART, R. C. Toxicologia. In Brody, T. M. et al.; **Farmacologia humana da molécula à clínica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 749, 1997.

SOUZA BRITO, A. R. M. How to study the pharmacology of medicinal plants in underdeveloped countries? **Journal of ethnopharmacology**. V. 54, 131-138. 1996.

TUROLLA, M. S. R. **Avaliação dos aspectos dos diferentes fitoterápicos: um estudo comparativo**. 2004. 145 f. Dissertação (Mestrado em toxicologia e análises toxicológicas) – Universidade de São Paulo, São Paulo.

VEIGA Jr, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova**, v. 28, n. 3, p. 519-528, fev. 2005.

WINSLOW LC; KROLL, D. Herbs on medicines. **Asch Intern. Med**. V.158, n.20, p. 2192-2199, 1998.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHO monographs on selected medicinal plants**. Geneva: Organização Mundial de Saúde, 1999. 2v.

Anexo

ATIVIDADE FARMACOLÓGICA	Quantificação dos efeitos				
	(0) sem efeito, (-) efeito diminuído, (+) efeito presente, (++) efeito intenso				
	Até 30'	1h	2h	3h	4h
1 - SNC a – Estimulante Hiperatividade Irritabilidade Agressividade Tremores Convulsões Piloereção Movimento intenso das vibrissas Outras _____ B – Depressora Hipnose Ptose Sedação Anestesia Ataxia Reflexo de endireitamento Catatonía Analgesia Resposta ao toque diminuída Perda do reflexo corneal Perda do reflexo auricular C – Outros comportamentos Ambulação Bocejo excessivo Limpeza Levantar Escalar Vocalizar Sacudir a cabeça Contorções abdominais Abdução das patas do trem posterior Pedalar Esteriotípia 2 – SNA Diarréia Constipação Defecação aumentada Respiração forçada Lacrimejamento Micção Salivação Cianose Tono muscular Força para agarrar 3 - MORTE Obs.:					

Protocolo Psicofarmacológico LTF/UFPB.

Fonte: ALMEIDA, et al., 2006. p. [136]

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)