

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO MATO GROSSO**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS**  
**MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**  
**ÁREA: FARMACOLOGIA**  
**SUBÁREA: FARMACOLOGIA DE PRODUTOS NATURAIS**

**ESTUDO TOXICOLÓGICO PRÉ-CLÍNICO DO EXTRATO**  
**HIDROALCOÓLICO DA ENTRECASCA DO CAULE DE**  
***Aspidosperma subincanum* Mart. (GUATAMBU)**

**Orientanda: Scheila Rafaela dos Santos**  
**Orientador: Prof. Dr. Domingos Tabajara de Oliveira Martins**  
**Co-orientador: MSc. Joaquim Corsino da Silva Lima**

Cuiabá – MT  
2005

# **Livros Grátis**

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

Milhares de livros grátis para download.

**SCHEILA RAFAELA DOS SANTOS**

**ESTUDO TOXICOLÓGICO PRÉ-CLÍNICO DO EXTRATO  
HIDROALCOÓLICO DA ENTRECASCA DO CAULE DE  
*Aspidosperma subincanum* Mart. (GUATAMBU)**

Trabalho apresentado ao Programa de  
Mestrado em Ciências da Saúde, da  
Faculdade de Ciências Médicas, da  
Universidade Federal de Mato Grosso,  
como requisito parcial para obtenção do  
título de Mestre em Ciências da Saúde.

Cuiabá – MT

2005

# SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	
1. Plantas Medicinais	1
2. Família Apocynaceae	3
3. Gênero <i>Aspidosperma</i>	3
4. Aspectos Fitoquímicos, Farmacológicos e Toxicológicos do Gênero <i>Aspidosperma</i>	10
5. <i>Aspidosperma subincanum</i> Mart.	11
6. Alcalóides	14
7. Alcalóides Indólicos	15
JUSTIFICATIVA	17
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	18
ARTIGO	22
Resumo	23
1. Introdução	24
2. Materiais e métodos	24
2.1. Animais	24
2.2. Material Botânico	24
2.3. Preparação do Extrato	25
2.4. Teste Hipocrático	25
2.5. Dose Letal 50% (DL <sub>50</sub> )	25
2.6. Toxicidade Subcrônica	26
2.7. Bioensaio de Citotoxicidade	26
2.8. Análises Estatísticas	27
3. Resultados	27
3.1. Toxicidade Aguda	27
3.2. Toxicidade Subcrônica	27
3.3. Bioensaio de Citotoxicidade	28
4. Discussões e Conclusões	28
5. Referências Bibliográficas	40

# INTRODUÇÃO

## 1. Plantas Medicinais

As plantas medicinais são utilizadas como medicamentos curativos para o tratamento de enfermidades desde a antiguidade. Registros do uso terapêutico ou preventivo de plantas medicinais são encontrados nos antigos hieróglifos egípcios, nos manuais chineses de fitoterapia e na Bíblia, sendo muitos datados há mais de 7.000 anos (ALONSO, 1999).

Com a evolução, o homem foi conhecendo o uso das plantas medicinais e alimentícias e sem perceber deu origem à possibilidade de comercializá-las, observando que muitas espécies eram únicas de determinados continentes. Desta forma, o conhecimento botânico e fitoterápico foi originado nas principais culturas da antiguidade, como na China, no Egito, na Assíria, na Suméria, na Babilônia, na Índia e na Grécia (ALONSO, 1999).

As plantas medicinais foram incorporadas pela medicina moderna, pois, além da utilização direta como agentes terapêuticos, servem como matéria prima para a elaboração de compostos semi-sintéticos mais complexos. As estruturas químicas de origem vegetal podem ser utilizadas como protótipos para modelagem de novos produtos sintéticos ou utilizadas como marcadores taxonômicos na busca por novos compostos (YUNES et al., 2001).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) estimou em um bilhão o número de pessoas vivendo em pobreza absoluta e que 80% da população mundial depende essencialmente da medicina popular para o atendimento primário das suas necessidades básicas de saúde. A maior parte das práticas terapêuticas tradicionais envolve o uso de extratos de plantas ou seus princípios ativos (WHO, 1993).

De acordo com CALIXTO (2000), apesar dos grandes avanços da medicina moderna nos últimos 100 anos, as plantas medicinais continuam tendo uma contribuição muito importante para o moderno arsenal terapêutico. Na última década o interesse por plantas medicinais tem crescido muito, sendo estimado em 25% o número de fármacos que são originariamente derivados diretos ou indiretamente de plantas superiores. Em alguns grupos farmacológicos de

interesse, cerca de 60% dos medicamentos disponíveis no mercado ou em fase clínica de desenvolvimento, são derivados de produtos naturais, principalmente de plantas superiores, como ocorre com os antitumorais e antimicrobianos.

As informações existentes sobre a magnitude do mercado de compostos de origem vegetal são pouco precisas. Por outro lado, afirma-se que o mercado mundial de drogas de origem vegetal é estimado em US\$ 12,4 bilhões, sendo o consumo da Europa responsável por aproximadamente 40% deste mercado. Fitoterápicos e fitofármacos são responsáveis por 35% do receituário médico nos países desenvolvidos e cerca de 80% nos países em desenvolvimento nos EUA, no período de 1983 a 1994, dos 520 fármacos aprovados pela Food and Drug Administration - FDA, 57 (30%) eram produtos naturais ou seus derivados (GUERRA & NODARI, 2003).

Outras estimativas revelam que o mercado de produtos farmacêuticos movimenta US\$ 320 bilhões/ano, dos quais US\$ 20 bilhões são originados de substâncias ativas derivadas de plantas (GUERRA & NODARI, 2003).

No Brasil estima-se que 25% dos US\$ 8 bilhões de faturamento em 1996, da indústria farmacêutica nacional, sejam originados de medicamentos derivados de plantas. Apenas 8% das espécies vegetais da flora brasileira foi estudada em busca de compostos bioativos e 1100 espécies vegetais foram avaliadas em suas propriedades medicinais, destas 590 plantas foram registradas no Ministério da Saúde para comercialização (GUERRA & NODARI, 2003).

O Brasil privilegia-se por deter a maior extensão de florestas tropicais, com mais de 3,5 milhões de Km<sup>2</sup>, representando 30% das florestas tropicais existentes, suplantando as encontradas na África, Ásia e restante da região neotropical. Além disso, possui uma rica diversidade étnico-cultural, baseada em conhecimentos oriundos dos indígenas, africanos e europeus (BIZERRIL, 2003).

Existem cinco regiões fitogeográficas no Brasil, as quais apresentam uma abundância de plantas nativas. A Amazônia, a maior delas, é formada por vários tipos de vegetação, tais como matas, várzeas, igapós, campinaranas, tabacais e savanas, constituindo-se no maior sistema fluvial do mundo a qual juntamente com o Cerrado (o segundo bioma brasileiro em extensão) e o Pantanal (maior área alagada do mundo) são responsáveis por grande parte da megabiodiversidade do país. Apesar de restar apenas 5% de sua extensão original, a Mata Atlântica têm a maior biodiversidade por Km<sup>2</sup> do país. A Caatinga nordestina, complexo

vegetacional de caráter arbustivo, é considerada por alguns pesquisadores como um ambiente já totalmente transformado pelo homem. Por causa do solo pobre e estiagens freqüentes, representa a mais pobre dentre as regiões (RIZZINI, 1979; BIZERRIL, 2003).

## **2. Família Apocynaceae**

Compreende esta família cerca de 200 gêneros com mais de 2.000 espécies de distribuição marcadamente tropical e subtropical em todo mundo. São plantas de hábito variado, ervas, subarbustos, árvores e trepadeiras, na maioria lateiscentes, vivem tanto nos campos como nas matas. Têm folhas em geral opostas, até opostas cruzadas e verticiladas, com estípula rudimentares, inteiras. Flores pequenas e também grandes e vistosas, tipicamente pentâmeras, hermafroditas, diclamídias. Corola perfeitamente gamopétala, infundibuliforme ou hipocrateriforme, de tubo longo. Androceu formado por 5 estames epipétalos, em geral de filetes curtos, alternos com os lobos da corola e apostos ao estigma. Ovário súpero bicarpelar e bilocular, com muitos óvulos. Carpelo separados, com um só estilete e um grande estigma em forma de carretel, e em geral com 2 apículos. Fruto seco capsular ou indeiscente (*thevetia*), ou então 2 frutículos (cada qual resultante do desenvolvimento de um carpelo), secos, deiscentes. Sementes aladas (*Aspidosperma*), pilosas (*Nerium*) ou não (*Allamanda*) (JOLY, 1998).

Exemplos típicos entre nós são os gêneros arbóreos *Aspidosperma*, com diversas espécies vulgarmente conhecidas como guatambu, pereiro ou pau-pereiro no Nordeste e perobeira que fornece excelente madeira avermelhada, a peroba, de largo uso na carpintaria (JOLY, 1998).

## **3. Gênero *Aspidosperma***

O gênero *Aspidosperma* pertence a família Apocynaceae (Dicotyledonae). Esta família foi descrita por Antoine Laurent de Jussieu, e pertence à ordem Gentianales, subclasse Asteridae. A família das Apocynaceae inclui 165 gêneros, com aproximadamente 1.900 espécies tropicais e subtropicais, sendo algumas poucas registradas nas regiões temperadas. Inclui espécies arbustivas, herbáceas, arbóreas, muitas das quais trepadeiras e suculentas. Os gêneros mais importantes

desta família são: *Alstonia*, *Aspidosperma*, *Rauwolfia*, *Vinca*, *Tabernaemontana*, *Mandevilla*, *Hancoria*, *Nerium*, *Catharanthus*, *Allamanda*, *Thevetia*, *Himatanthus*, *Wrightia* (CÔRREA, 1978; JOLLY, 1998; GOMES & CAVALCANTI, 2001).

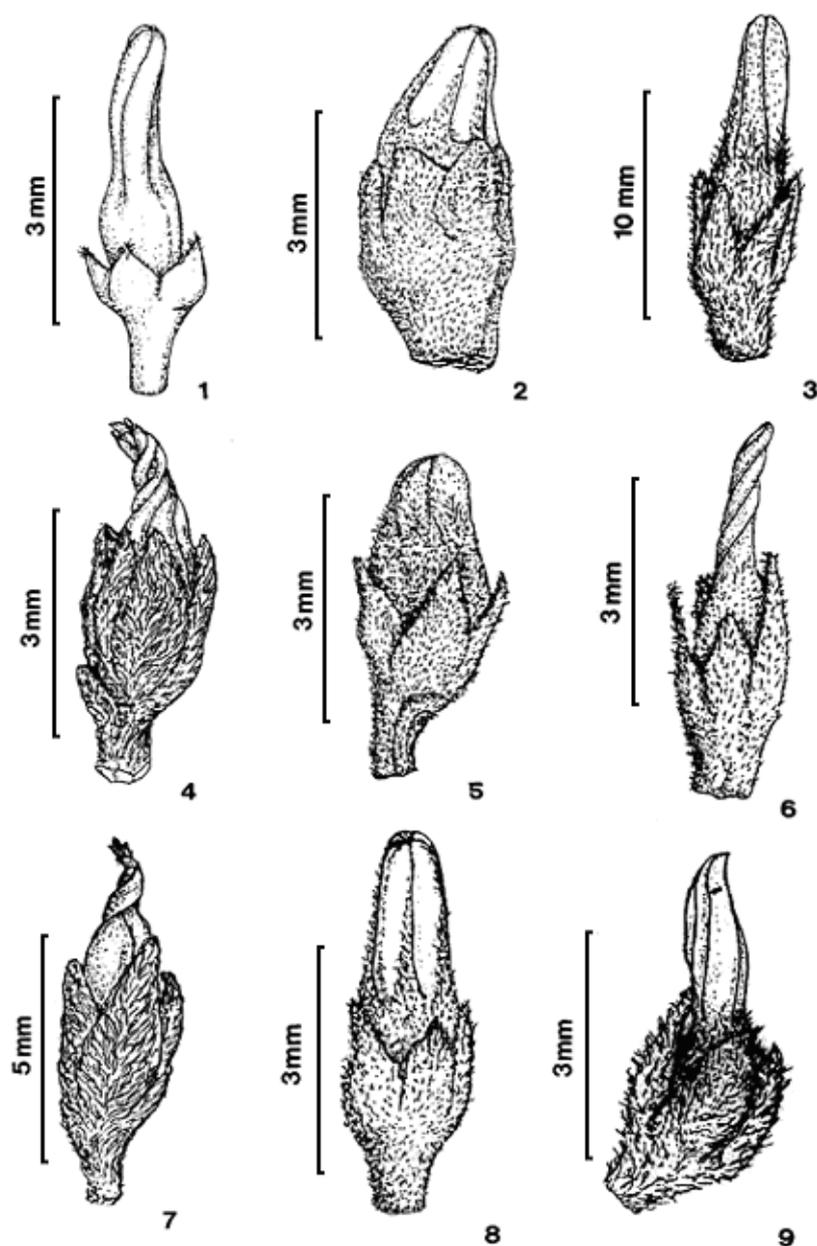
Somente o gênero *Aspidosperma* possui 52 espécies de plantas conhecidas, a maioria delas sendo encontradas no Brasil, as quais são conhecidas por fornecerem madeira de excelente qualidade, como as árvores conhecidas localmente como peroba, pereiro e guatambu (OLIVEIRA, 1999; GOMES & CAVALCANTI, 2001).

Espécies pertencentes ao gênero *Aspidosperma* (Apocynaceae), ocorrem desde o México até a Argentina e se caracterizam pela freqüente ocorrência de alcalóides indólicos (JÁCOME et al., 1998). Os alcalóides indoloterpênicos, típicos do gênero *Aspidosperma*, são de origem mista (chiquimato/mevalonato) e possuem geralmente atividade biológica marcante. Muitos destes alcalóides têm sua importância farmacológica relatada, devido sua atividade antitumoral, antiviral, antimicrobiana, analgésica, antimalárica, e bloqueadores dos receptores  $\alpha$ -2 adrenérgicos (OLIVEIRA, 1999; AQUINO et al., 2002). Algumas espécies de *Aspidosperma* têm uso medicinal como antimaláricos, tônicos, febrífugos e adstringentes (BARBOSA et al., 2002; JÁCOME et al., 2004).

O gênero *Aspidosperma* possui espécies com acentuada similaridade, criando controvérsias na classificação, rico em espécies de distinção laboriosa, que se caracteriza pela presença, no tubo corolino, de fissuras ou rimas por detrás das anteras, e pêlos folículos achatados, contendo sementes aladas. Como várias de suas fusões de espécies próximas são ilegítimas, baseadas na insuficiência de amostragem completa das coleções, o desconhecimento das árvores naturais e dos respectivos habitats, este gênero pode avançar-se a cerca de 130 espécies, sendo perto de 80 no Brasil (OLIVEIRA, 1999; GOMES & CAVALCANTI, 2001).

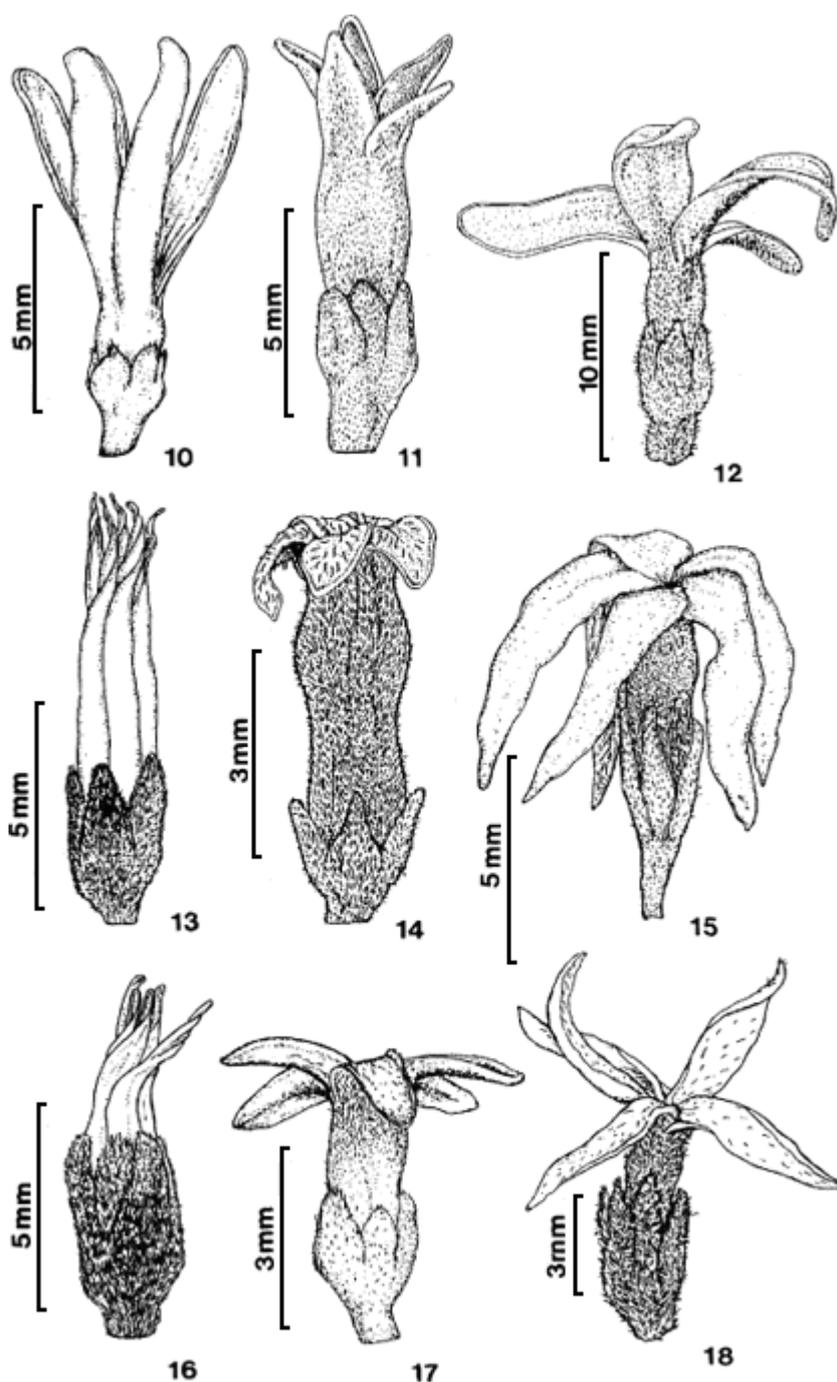
GOMES & CAVALCANTI (2001), procederam estudo morfológico das flores de *Aspidosperma* através do exame de 234 exsiccatas, 67 das quais originaram-se de coletas próprias. Através dos exames em material herborizado, em flores preservadas em álcool 70% e das observações efetuadas no campo, efetuou-se a análise morfológica de nove espécies: *A. cylindrocarpon* Müll. Arg., *A. discolor* A. DC., *A. macrocarpon* Mart., *A. nobile* Müll. Arg., *A. parvifolium* A. DC., *A. pyriforme* Mart., *A. spruceanum* Benth. ex Müll. Arg., *A. subincanum* Mart. e *A. tomentosum* Mart. et Zucc. Constatou-se a relevância de diversos caracteres florais, tais como

tipo de indumento, consistência da corola e aspectos do tubo floral e dos lobos da flor em antese. Investigou-se a relação entre calosidade do tubo floral na região da fauce e presença de anel na fauce da corola. Identificaram-se novos caracteres, destacando-se a disposição dos óvulos no interior do ovário como de importância taxonômica para a distinção das espécies. Este é um estudo de vital importância na classificação taxonômica destas espécies abordadas. As características morfológicas dos botões florais, flores, corola, anteras e região livre dos filetes e ovários das diferentes espécies de *Aspidosperma* deste estudo estão apresentadas nas figuras 1 a 5, respectivamente.



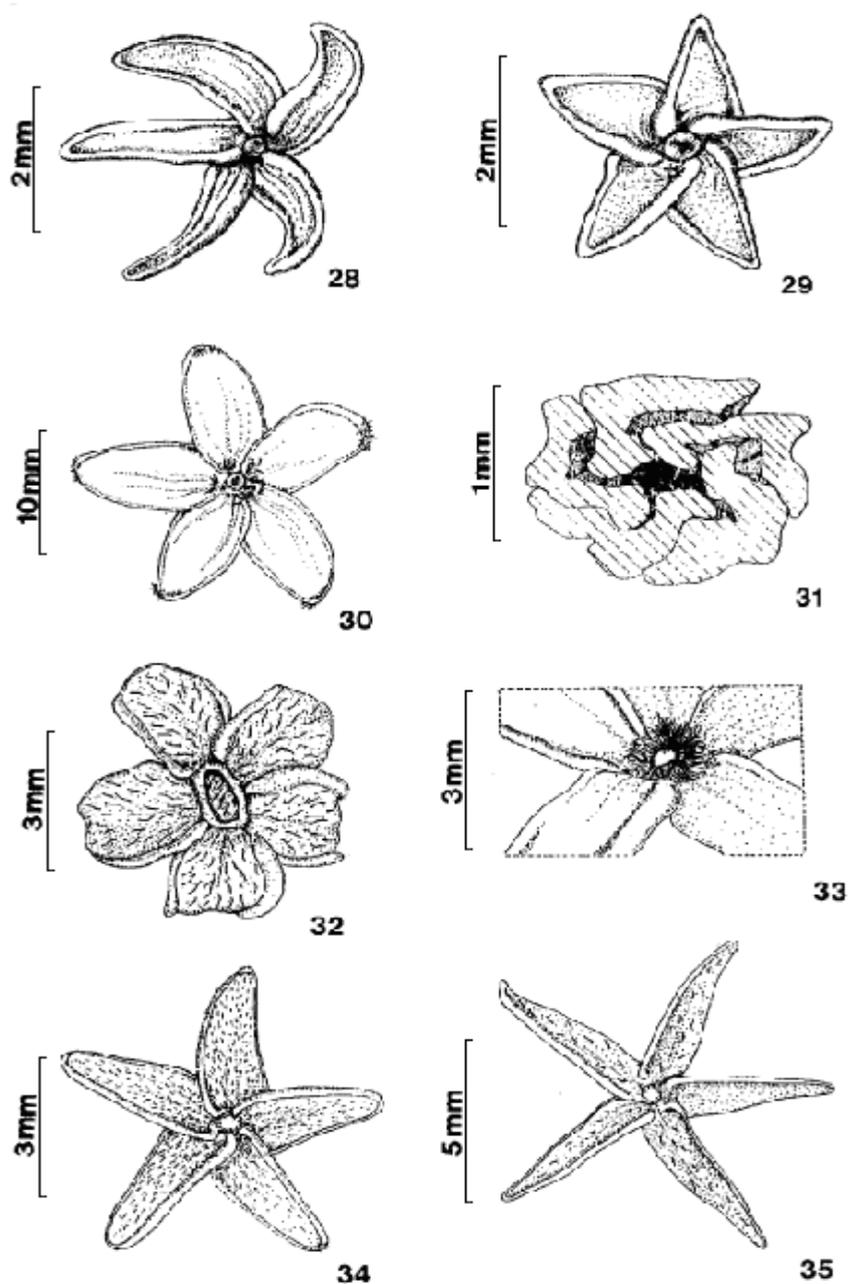
**Figura 1:** Botões florais de espécies de *Aspidosperma* com vista do cálice. 1. *A. cylindrocarpon*; 2. *A. discolor*; 3. *A. macrocarpon*; 4. *A. nobile*, 5. *A. parvifolium*; 6. *A. pyriformium*; 7. *A. spruceanum*; 8. *A. subincanum*; 9. *A. tomentosum*.

**Fonte:** GOMES & CAVALCANTI, 2001.



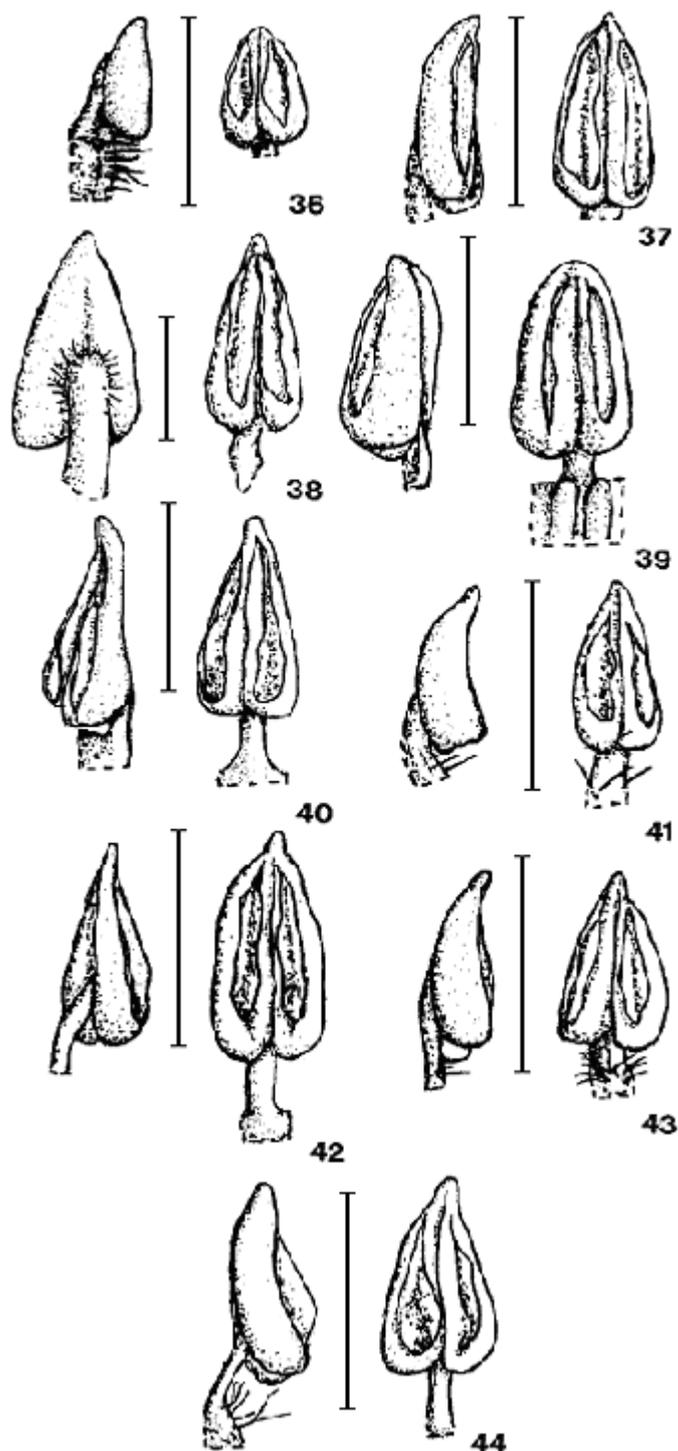
**Figura 2:** Flores totalmente abertas de *Aspidosperma* em vista lateral. 10. *A. cylindrocarpon*; 11. *A. discolor*; 12. *A. macrocarpon*; 13. *A. nobile*; 14. *A. parvifolium*; 15. *A. pyriformium*; 16. *A. spruceanum*; 17. *A. subincanum*; 18. *A. tomentosum*.

**Fonte:** GOMES & CAVALCANTI, 2001.



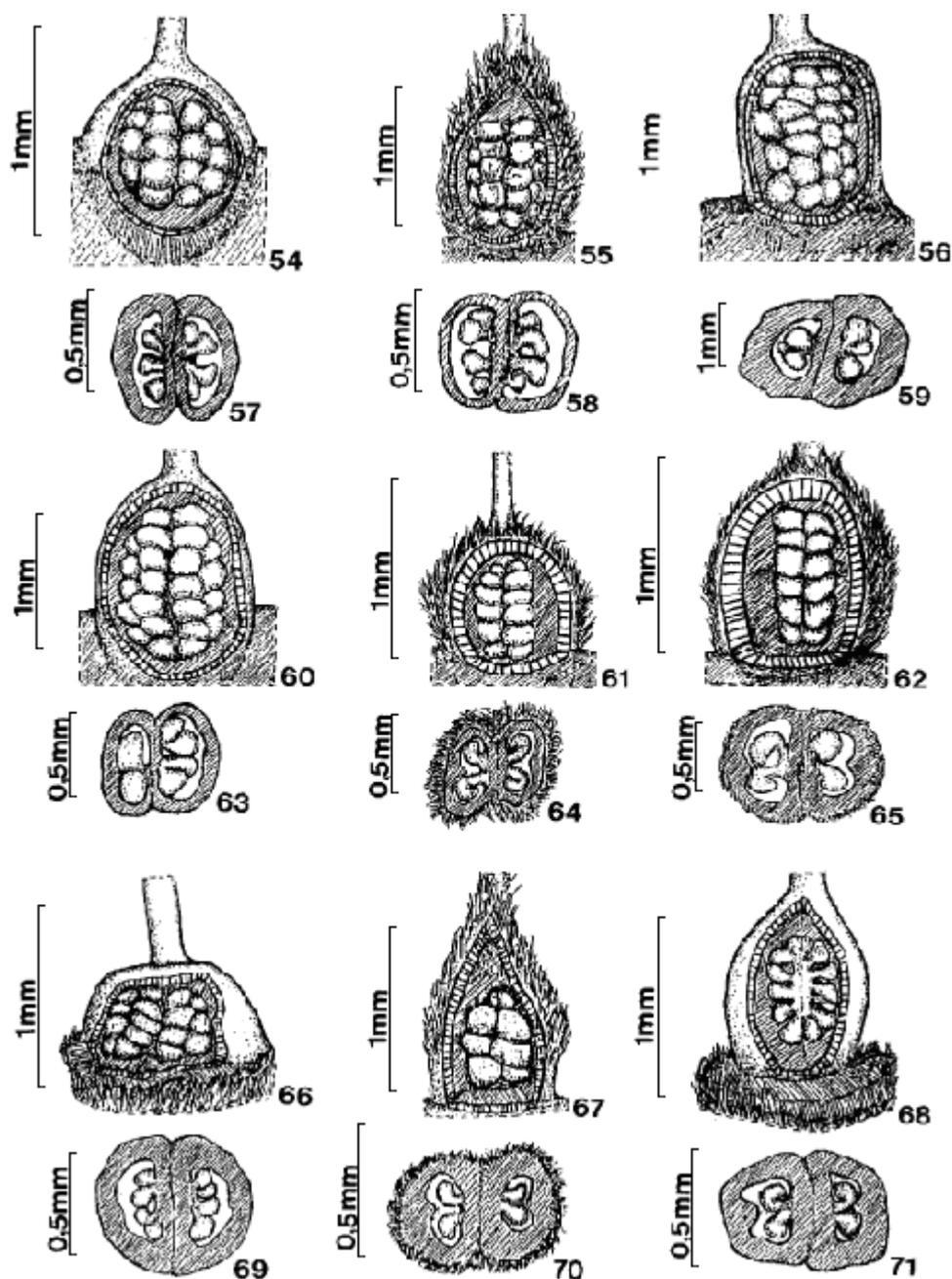
**Figura 3:** Detalhes da corola das flores *Aspidosperma*. 28. *A. cylindrocarpon*; 29. *A. discolor*; 30. *A. macrocarpon*; 31. *A. nobile*; 32. *A. parvifolium*; 33. *A. pyriformium*; 34. *A. subincanum*; 35. *A. tomentosum*. (28-30 e 32-35: vistas frontais; 31 seção transversal na altura dos lobos da corola).

**Fonte:** GOMES & CAVALCANTI, 2001.



**Figura 4:** Anteras e região livre dos filetes destacados da corola em espécies de *Aspidosperma*. Vista lateral e frontal (36-37 e 39-44) vista dorsal e frontal (38). 36. *A. cylindrocarpon*; 37. *A. discolor*; 38. *A. macrocarpon*; 39. *A. nobile*; 40. *A. parvifolium*; 41. *A. pyriforme*; 42. *A. spruceanum*; 43. *A. subincanum*; 44. *A. tomentosum*. Escala 1 mm.

**Fonte:** GOMES & CAVALCANTI, 2001.



**Figura 5:** Detalhes do ovário em espécies de *Aspidosperma*. (54-5, 60-62 e 66-68: seção longitudinal; 57-59, 63-65 e 69-71: seção transversal). 54-57. *A. cylindrocarpon*; 55, 58. *A. discolor*; 56, 59. *A. macrocarpon*; 60, 63. *A. nobile*; 61, 64. *A. parvifolium*; 62, 65. *A. pyriformium*; 66, 69. *A. spruceanum*; 67, 70. *A. subincanum*; 68, 71. *A. tomentosum*.

**Fonte:** GOMES & CAVALCANTI, 2001.

#### 4. Aspectos Fitoquímicos, Farmacológicos e Toxicológicos do Gênero *Aspidosperma*

Os alcalóides uleína e 3,14-desidrouleína foram isolados do extrato etanólico das cascas de *A. parvifolium* (JÁCOME et al., 1996; JÁCOME et al., 2004). A uleína foi testada contra *Trypanossoma cruzi* em doses de 1,4; 0,7 e 0,3 mg/mL, apresentando 100% de atividade, causando porém lise parcial de hemácias (JÁCOME et al., 1996). Outros estudos evidenciaram o potencial da *A. parvifolium* como antiparasitário e antitumoral (JÁCOME et al., 1998).

Outros alcalóides indólicos como a aspidospermina e quebrachamina também foram isoladas de planta do gênero *Aspidosperma*. Estes alcalóides mostraram ser ativos como bloqueadores adrenérgicos (DEUTSCH et al., 1994).

O extrato bruto contendo alcalóides das sementes de *A. ramiflorum* e dos gravetos de *A. tomentosum*, nas dosagens de 0,2 mg/mL e 2,0 mg/mL respectivamente, apresentaram potente atividade antitumoral (AQUINO et al.; 2002). O extrato alcaloídico das cascas de *A. ramiflorum*, o qual é rico nos alcalóides ramiflorina A e ramiflorina B, apresentou atividade contra a forma extracelular (promastigotos) de *Leishmania amazonensis* e *Leishmania braziliensis* (FERREIRA et al., 2004). Os extratos brutos etanólico e diclorometânico das partes aéreas de *A. tomentosum* apresentaram atividade antiproliferativa quando testados frente a cinco linhagens de células tumorais humanas (KOHN et al., 2000).

Compostos químicos como os triterpenos  $\beta$ -amirina e 3-oxo-ursanoato, e os esteróides  $\beta$ -sitosterol e estigmasterol foram isolados do cerne de *A. nitidum* (PEREIRA et al., 2004).

Os alcalóides presentes nos ramos e folhas de *A. cylindrocarpon* apresentaram atividade antitumoral e também demonstraram potencial atividade antimalárica (CORNÉLIO & MORENO, 2002).

O extrato etanólico do caule de *A. polyneuron* apresentou atividade antifúngica quando testado pelo método de biorrevelação em placas de CCD (FERREIRA et al., 2004).

Os alcalóides indólicos presentes no gênero *Aspidosperma* como o N-formil-aspidospermidina e aspidospermina apresentaram atividade contra *Plasmodium falciparum* (MITAINE-OFFER et al., 2002).

### **5. *Aspidosperma subincanum* Mart.**

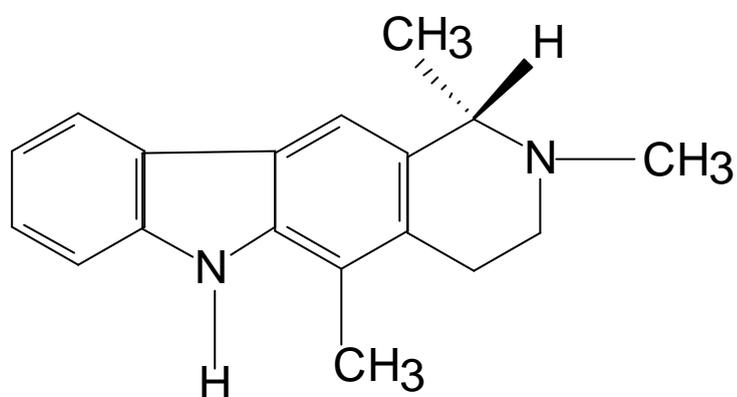
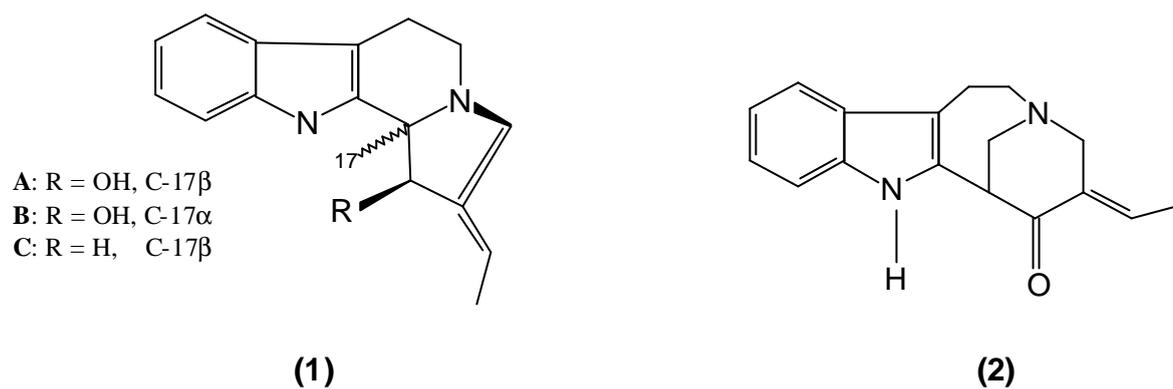
A espécie *Aspidosperma subincanum* Mart. é vulgarmente conhecida como perobinha, guatambu, guatambu vermelho, pau-pereira-do-mato, pau-pereiro, peroba-vermelha, peroba e pau-peroba. É uma árvore de aproximadamente 15 a 20 metros, com tronco de 40 a 50 cm, podendo ser encontrada em alguns estados do Brasil como São Paulo, Minas Gerais, Mato Grosso, Goiás e Mato Grosso do Sul. As flores desta planta podem ser encontradas entre os meses de setembro e novembro (CORRÊA, 1978; DE LA CRUZ, 1997).

Sua entrecasca tem indicação popular para o tratamento de enfermidades como: diabetes, colesterol, obesidade, úlceras e gastrites. (Dados não publicados).

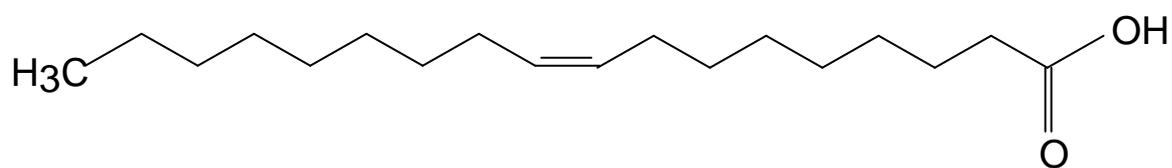
Através de estudos fitoquímicos, foram isolados das cascas desta planta ácido oléico e os alcalóides indólicos subincanadineos A-C (**1**), subincanideos D-E e subincanideo F (**2**), conforme figura 6 (KOBAYASHI et al., 2002; PORTO et al., 2004).

O alcalóide guatambuína e o ácido oléico foram isolados do *Aspidosperma subincanum* Mart, pela equipe da UNIVALI – em Itajaí, Santa Catarina sob orientação do Prof. Dr. Valdir Cechinel Filho. As estruturas químicas destes compostos seguem na figura 6. (Dados não publicados).

Este alcalóide já foi encontrado em outras espécies do gênero *Aspidosperma*, como a *Aspidosperma australe*, assim como de outras espécies da família Apocynaceae, como da planta *Ervatamia coronaria* e *Stenosolen heterophyllus*.



**Guatambuína**



**Ácido Oleico**

**Figura 6:** Estrutura química dos compostos isolados de *Aspidosperma subincanum* Mart.

**Fonte:** KOBAYASHI et al., 2002 e Cechinel, V. Univali – SC (Dados não publicados).

PORTO et al. (2004), realizou uma investigação fitoquímica de frações clorofórmicas resultantes dos extratos etanólicos do caule e raízes de *Aspidosperma subincanum* Mart, isolando três alcalóides indólicos pirocarbazóis. Destes, um foi identificado como sendo a olivacina (1,5 dimetil-6H-piridol[4,3-b]carbazol), uma substância com atividade antitumoral, de ocorrência comum no gênero tendo sido previamente descrita nesta espécie. Outro alcalóide teve sua estrutura determinada como sendo a guatambuína (Nb-metiltetraidroolivacina), presente no gênero *Aspidosperma*. Para o terceiro alcalóide foi proposto por PORTO et al. (2004) a estrutura do 2,11-dimetil-1OH-pirido[2,3-b]-carbazol, o qual não foi encontrado na literatura.

Realizaram-se ainda bioensaios com frações hexânicas e clorofórmicas do caule e raízes apresentando resultados significativos para *Artemia salina* e *Aedes aegypti*, sendo a taxa de toxicidade frente à *Artemia salina* efetiva até 1,0 µg/mL. As mesmas frações não foram satisfatórias no controle moluscicida com o caramujo *Biomphalaria glabrata* (PORTO et al., 2004).

Com base em estudos etnobotânicos, entrevistas e avaliando o modo de uso desta planta pela população, na forma de infusos e decoctos da entrecasca do caule, foi estimada a dose diária consumida por um adulto jovem através do cálculo do peso seco (resíduo) de 1L de chá. O uso do chá se dá como substituição da água, logo se chegou a dose média consumida de 25 mg/dia (Dados não publicados).



**Figura 7:** Foto da *Aspidosperma subincanum* Mart., em detalhe o fruto, em 23/11/2003.

## 6. Alcalóides

Alcalóides (termo lingüisticamente derivado da palavra árabe *alquali*, denominação vulgar da qual a soda foi originalmente obtida) são compostos nitrogenados farmacologicamente ativos e são encontrados predominantemente nas angiospermas. Na sua grande maioria, possuem caráter alcalino, com algumas exceções (HENRIQUES et al., 2003).

Uma definição para essa classe de substâncias apresenta certas dificuldades devido à ausência de uma separação precisa entre alcalóides e aminas complexas de ocorrência natural. Para contornar esses problemas, PELLETIER (2003) formulou a seguinte definição: "Um alcalóide seria uma substância orgânica, de origem natural, cíclica, contendo um nitrogênio em um

estado de oxidação negativo e cuja distribuição é limitada entre os organismos vivos.” Essa definição englobaria todos os compostos até o momento considerados como alcalóides, mas excluiria compostos nitrogenados como: aminas simples, aminoácidos, peptídeos, proteínas, ácidos nucleicos, nucleotídeos, porfirinas, vitaminas e compostos nitro e nitroso (HENRIQUES et al., 2003).

Os alcalóides contendo um átomo de nitrogênio em um anel heterocíclico são chamados alcalóides verdadeiros e são classificados de acordo com o sistema anelar presente na molécula. As substâncias com o átomo de nitrogênio não-pertencente a um sistema heterocíclico são denominadas de protoalcalóides. Compostos nitrogenados com e sem anéis heterocíclicos que não são derivados de aminoácidos são chamados de pseudoalcalóides (HENRIQUES et al., 2003).

O amplo espectro das atividades biológicas reportadas aos alcalóides pode ser relacionado com sua variedade estrutural. A presença de alcalóides pode ser assinalada em ampla gama de atividades biológicas investigadas. Assim pode-se citar emetina (amebicida e emético), atropina, hioscina e escopolamina (anticolinérgicos), reserpina e protoveratrina A (anti-hipertensivos), quinina (antimalárico), captotecina, vimblastina e vincristina (antitumorais), codeína e noscapina (antitussígenos), morfina (hipnoanalgésico), quinidina (depressor cardíaco), cafeína (estimulante do SNC), teobromina e teofilina (diuréticos), colchicina (tratamento da gota), tubocurarina (miorelaxante), efedrina (simpatomimético), castanospermina (antiviral), galantamina (tratamento do mal de Alzheimer) entre muitos outros (HENRIQUES et al., 2003).

## **7. Alcalóides Indólicos**

Atualmente, são conhecidos em torno de 2000 alcalóides indólicos. Essa classe de compostos pode ser subdividida em dois grupos: o grupo maior, com os alcalóides conhecidos como indólicos monoterpênicos, e um outro, com os demais alcalóides indólicos. Os primeiros são, na maioria das vezes, derivados de triptamina e do monoterpene (iridóide) secologanina. Apesar de quase todos os membros desse grupo serem derivados desses dois compostos, diversos rearranjos do esqueleto original resultaram numa enorme variedade estrutural, com grande número de centros assimétricos. Conseqüentemente, a síntese desses compostos continua sendo um desafio e quase todos os membros desse grupo

usados na terapêutica continuam sendo obtidos a partir de extratos vegetais. O grupo menor é muito heterogêneo e, com isso, tem ocorrência dispersa e menos características do ponto de vista quimiosistemático. Estão enquadrados nesse grupo os derivados simples do triptofano, como a triptamina e a serotonina e também os derivados do harmano, que contém mais um anel. Existem também, estruturas características encontradas até hoje somente em um gênero, como a fisiostigmina e os alcalóides do esporão-de-centeio (SCHRIPSEMA et al., 2003).

Os alcalóides indólicos possuem grande importância econômica devido às suas atividades farmacológicas. Podem ser citadas a vincristina e a vimblastina, que são antineoplásicos importantes; a ergotamina utilizada para enxaqueca; a ajmalicina e a iombina, fármacos usados nos distúrbios do fluxo sanguíneo e a reserpina como antidepressivo (SCHRIPSEMA et al., 2003).

## JUSTIFICATIVA

De modo geral a população recorre aos conhecimentos populares na hora de utilizar plantas medicinais (na maioria, plantas oriundas de fontes desconhecidas), por acreditarem que "se bem não fizer, mal também não fará". Acreditar que as plantas medicinais são totalmente benéficas somente por serem plantas, pode ser muito perigoso. As substâncias produzidas pelas plantas são idênticas àquelas sintetizadas em laboratório pelo homem; apenas podem ser menos tóxicas devido às baixas concentrações encontradas nos vegetais ou pela interação direta ou indireta com outras substâncias existentes na planta. Esse conceito conferido aos chás e infusões deve ser revisto, pois, se houver ingestão em excesso, ou se alguns componentes forem nocivos ao homem, os efeitos indesejados serão idênticos ou ainda piores que dos remédios sintéticos que seriam utilizados para a doença em questão (SOARES, 2002).

Baseado nesta crença de que as plantas não fazem mal a saúde, muitas vezes o uso popular ocorre de forma indiscriminada. Com o objetivo de avaliar a segurança da utilização da *Aspidosperma subincanum* Mart. pela população foi proposto o desenvolvimento deste trabalho que realizou um estudo toxicológico pré-clínico do extrato hidroalcoólico da entrecasca do caule de *Aspidosperma subincanum* Mart. e confrontou com a dose diária média utilizada pela população.

## ARTIGO

### ESTUDO TOXICOLÓGICO PRÉ-CLÍNICO DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DA ENTRECASCA DO CAULE DE *Aspidosperma subincanum* MART. (GUATAMBU)

**Resumo:** A *Aspidosperma subincanum* Mart. (Apocynaceae) é uma árvore de porte médio, nativa do cerrado, conhecida popularmente por guatambu, pau-pereiro e perobinha. É utilizada pela população na forma de chás (infuso e decocto) para distúrbios gástricos, diabetes, hipercolesterolemia e como emagrecedor. Com o intuito de estabelecer as bases toxicológicas para o uso popular da entrecasca do caule de *A. subincanum* Mart., foi realizado um estudo toxicológico pré-clínico com o extrato hidroalcoólico desta planta (EHAs). Este estudo verificou a toxicidade aguda do EHAs pela estimativa da DL<sub>50</sub> após administração oral e intraperitoneal em camundongos. A citotoxicidade (CL<sub>50</sub>) foi avaliada pelo bioensaio de *Artemia salina* Leach. Os efeitos subcrônicos nos parâmetros bioquímicos e hematológicos dos ratos, foram estudados após 30 dias de exposição diária ao EHAs (5 e 100 mg/kg). O EHAs não apresentou toxicidade com doses agudas de até 300 mg/kg para v.o. e 200 mg/kg para i.p. A DL<sub>50</sub> do EHAs foi de 1129 ± 154 mg/kg, v.o. e 397 ± 15 mg/kg, i.p. e a CL<sub>50</sub> foi de 1340 ± 428 µg/mL. O EHAs, nas doses testadas, não causou alterações comportamentais, bioquímicas e hematológicas assim como também não alterou os pesos relativos dos órgãos de ratos. Usando o método de aproximação de dose por fator de correção (NOAEL), a dose segura foi de 70 mg/dia. As análises fitoquímicas revelaram a presença de alcalóides e saponinas. O EHAs mostrou-se seguro e não tóxico em ratos e as preparações usadas pela população possuem relativa segurança quando usada nas doses habituais.

**Palavras chaves:** *Aspidosperma subincanum*, extrato hidroalcoólico, entrecasca do caule, estudos toxicológicos.

## 1. Introdução

*Aspidosperma subincanum* Mart.(Apocynacea), popularmente conhecido como “Guatambu, Pau-pereiro e Perobinha”, é uma árvore de porte médio nativa da região do cerrado mato-grossense do Brasil. As preparações na forma de infusos e decoctos da entrecasca do caule são largamente utilizadas pela população para o tratamento de diabetes, hipercolesterolemia, distúrbios gástricos e como emagrecedor (CORREA, 1978; GOMES & CAVALCANTI, 2001).

Estudos fitoquímicos preliminares do extrato metanólico da entrecasca do caule de *A. subincanum* revelaram a presença de alcalóides indólicos quaternários (KOBAYASHI et al., 2002). Pelo nosso conhecimento, nem estudos farmacológicos nem toxicológicos foram publicados na literatura científica.

O objetivo do presente estudo é avaliar a segurança do extrato hidroalcoólico da entrecasca do caule de *A. subincanum* Mart. realizando a toxicidade aguda, toxicidade subcrônica e atividade citotóxica.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1. Animais

Ratos Wistar albinos machos (180-200 g) e camundongos Swiss (25-30g) machos e fêmeas foram usados. Os animais foram mantidos em gaiolas de propileno a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  com ciclo claro-escuro de 12 h e livre acesso a ração e água. Grupos de três a dez animais foram utilizados nos experimentos. Náuplios de *Artemia salina* Leach foram usados no bioensaio de citotoxicidade. O protocolo para estes experimentos foi aprovado pelo Comitê de Ética em Animais da Universidade Federal do Mato Grosso, Brasil.

### 2.2. Material Botânico

A entrecasca do caule de *A. subincanum* Mart. foi coletada (5,35 kg), na estrada de Santo Antônio do Leverger, área do município de Cuiabá, em 27 de novembro de 2003, pela manhã, numa reserva de cerrado nativo. A identificação botânica foi realizada pelo MSc. Harri Lorenzi, do Instituto Plantarum, em Nova Odessa - São Paulo. Uma amostra testemunha do material com frutos, foi depositada no Herbário Central da Universidade Federal do Mato Grosso, sob exsicata de nº 30487.

### **2.3. Preparação do Extrato**

A entrecasca do caule foi limpa e seca a temperatura de 40°C por 7 dias até peso constante (4,7 kg) e posteriormente triturada. O pó da entrecasca do caule (2 kg) foi macerada com etanol/água 75% (1:3 p/v) por 7 dias em temperatura ambiente. O extrato foi separado por filtração e concentrado em rotaevaporador. O solvente residual foi eliminado em estufa a 45°C e obtido 208,2 g (10,41% de rendimento). No momento do uso, o extrato hidroalcoólico (EHAs) foi dissolvido com Tween 80 (0,1%) em água destilada ou salina 0,9%.

### **2.4. Teste Hipocrático**

Foram utilizados camundongos machos para este teste, três animais para cada dose. Sinais e sintomas foram observados após administração oral - v.o. (100 - 3000 mg/kg) ou intraperitoneal - i.p. (100 - 1000 mg/kg) do EHAs. No grupo veículo foi utilizado salina 0,9%. Após os tratamentos, os animais foram observados em 5, 10, 15, 30, 60, 120 e 240 min e sinais clínicos e mortalidade, se manifestados, foram registrados por um período de uma semana, de acordo com o método modificado de MALONE (1977).

### **2.5. Dose Letal 50 % (DL<sub>50</sub>)**

Para determinação da DL<sub>50</sub> o método de MILLER & TAINTER (1944) foi seguido. Doses crescentes de EHAs (100 – 3000 mg/kg v.o. ou 300 - 500 mg/kg i.p) foram administradas em grupos de 10 camundongos (5 machos e 5 fêmeas) cada, pesando 25 - 30 g. Um grupo controle recebeu salina 0,9% i.p. e água v.o. Sinais de toxicidade e mortalidade dentro de 24 h foram registrados. A DL<sub>50</sub> foi calculada pelo gráfico da porcentagem de mortalidade contra o probito do log da dose do extrato.

### **2.6. Toxicidade Subcrônica**

A toxicidade subcrônica foi avaliada pela administração única e diária do veículo (0,1% de Tween 80 em água destilada – 1 mL/100g) ou EHAs (5 e 100

mg/kg) por um período de 30 dias, como proposto por BAUTISTA et al., (2004). Ratos Wistar (n=6; 180 - 200 g) receberam veículo ou EHAs por gavagem orogástrica, sempre durante as manhãs. O ganho de peso corporal e consumo de ração e água foram determinados a cada 6 dias. Do mesmo modo, sinais e sintomas de toxicidade foram registrados, se ocorressem, incluindo alterações na pele, pêlo, olhos, sistema circulatório, gastrointestinal, respiratório, sistema nervoso central e periférico, assim como manifestações comportamentais gerais. Ao final do período, com os animais anestesiados, amostras de sangue com EDTA foram coletadas da veia cava inferior, para realizar estudos hematológicos incluindo hematócrito (Ht), hemoglobina (Hb), hemáceas (RBC), volume corpuscular médio (MCV), hemoglobina corpuscular média (MCH), concentração de hemoglobina corpuscular média (MCHC), leucócitos (WBC), linfócitos e plaquetas. Também foi coletado soro e traçado o perfil bioquímico determinando-se os níveis plasmáticos de glicose, uréia, ácido úrico, transaminase asparaginina (AST), transaminase alanina (ALT), colesterol total, triglicérides e albumina. Os exames laboratoriais foram realizados pelo LACEN – MT, utilizados kits Labtest e equipamento de automação Lab Max.

Os órgãos vitais foram removidos (pulmões, coração, pâncreas, estômago, fígado e rins), necropsiados e pesados para determinação do peso relativo [(peso do órgão / peso corporal) X 100].

## 2.7. Bioensaio de Citotoxicidade

A citotoxicidade foi avaliada de acordo com a técnica modificada descrita por MEYER et al., (1982). O EHA foi testado em níveis de concentração (0,1 - 1000 µg/mL). Os cistos de *Artemia salina* Leach foram acondicionados em um recipiente com água marinha artificial (sal marinho 3%), em temperatura ambiente, em triplicata. Após 24 h, 10 náuplios (larvas eclodidas com movimento) foram colocadas em cada tubo de ensaio contendo a amostra. O número de náuplios sem movimentos foi contado após 24 h. A CL<sub>50</sub> para cada ensaio, foi calculada pela média de três amostras usando a análise de probitos (MILLER & TAINTER, 1944). Sulfato de quinidina (50 a 1000 µg/mL) foi usado como controle positivo.

## 2.8. Análises Estatísticas

Os dados são apresentados por média  $\pm$  E.P.M. Foi realizado Análise de variância – ANOVA e valor de  $p$  menor que 0,05 foram considerados significantes.

### **3. Resultados**

#### **3.1. Toxicidade Aguda**

A administração oral de 300 mg/kg de EHAs não mostrou nenhum sinal de toxicidade ou alteração comportamental geral nos camundongos. Entretanto, doses de 500 a 3000 mg/kg foram seguidas de sinais e sintomas típicos de estimulação do sistema nervoso central efeitos como piloereção, tremores, convulsões, cianose e morte. Estes efeitos foram dose-dependente e o valor da DL<sub>50</sub> oral do extrato encontrado foi  $1129 \pm 154$  mg/kg (Tabela 1).

A administração intraperitoneal do EHAs produziu piloereção e tremores começando com dose de 300 mg/kg. Com doses de 350 a 475 mg/kg, foram observados piloereção, tremores, convulsões, cianose e mortalidade de 100% dos camundongos com a maior dose. O valor da DL<sub>50</sub> intraperitoneal do extrato foi de  $397 \pm 15$  mg/kg (Tabela 2).

#### **3.2. Toxicidade Subcrônica**

Nenhum dos animais tratados com EHAs nas doses de 5 e 100 mg/kg v.o. exibiram alterações comportamentais e sinais e sintomas tóxicos não foram observados.

Como mostrado na Tabela 3, o peso médio dos animais tratados v.o. com doses repetidas do EHAs não diferiram estatisticamente dos pesos médios dos animais controles. O mesmo foi observado no consumo de ração e de água quando comparados com o grupo controle (Tabela 4 e 5, respectivamente).

O efeito subcrônico da administração oral de EHAs nos parâmetros hematológicos é apresentado na Tabela 6. Todos os parâmetros [leucócitos (WBC), hemáceas (RBC), hemoglobina (Hb), hematócrito (Ht), plaquetas, linfócitos absolutos e relativos] mantiveram-se com limites normais após o período do tratamento e sem diferenças significativas quando comparados com grupo controle.

O perfil bioquímico dos ratos tratados e controles está apresentado na Tabela 7. Administração oral subcrônica do EHAs não causou alterações significativas nas dosagens de glicose, uréia, transaminase asparaginina (AST), transaminase alanina (ALT), colesterol total, triglicérides, albumina e ácido úrico.

O peso relativo dos órgãos está apresentado na Tabela 8. Não existem diferenças significativas nos pesos relativos do estômago, fígado, coração, pulmões, rins e pâncreas após o período experimental quando comparados os grupos tratados com o controle. No exame macroscópico, nenhuma lesão gástrica ou alteração da mucosa foi constatada nos ratos tratados com EHAs ou veículo.

### 3.3. Bioensaio de Citotoxicidade

O EHAs não apresentou letalidade significativa contra *Artemia salina* com concentrações de 0,1 µg/mL. A letalidade dos náuplios iniciou-se na concentração de 1 µg/mL do EHAs (6%) culminando com 100% de morte na concentração de 5000 µg/mL. A  $CL_{50}$  calculada para o EHAs foi de  $1340 \pm 428$  µg/mL, enquanto para o sulfato de quinidina foi de  $130 \pm 33$  µg/mL.

## 4. Discussões e Conclusões

As infusões e decocções da entrecasca do caule de *A. subincanum* Mart. são indicadas pela população para tratamento de diabetes, hipercolesterolemia, problemas gástricos e como emagrecedor. A dose usual nas preparações populares é estimada em aproximadamente 25mg/dia (dados não publicados). Este trabalho avalia a toxicidade aguda e subcrônica do extrato hidroalcoólico da entrecasca do caule de *A. subincanum* Mart. Este extrato foi selecionado devido à semelhança de polaridade do EHAs quando comparada às preparações populares onde o veículo é a água.

A avaliação toxicológica da administração oral do EHAs mostrou que a dose de 300 mg/kg não causa nenhum sinal de toxicidade em camundongos. Os efeitos tóxicos foram observados a partir de 500 mg/kg e a severidade foi dose-dependente culminando com 100% de morte na dose de 2500 mg/kg. A  $DL_{50}$  encontrada nos camundongos após administração oral foi de  $1129 \pm 154$  mg/kg.

Os efeitos tóxicos decorridos da administração intraperitoneal de 350 mg/kg do EHAs foram observados primeiro que na via oral. O valor de  $DL_{50}$  encontrado para a administração intraperitoneal foi de  $397 \pm 15$  mg/kg. Este resultado mostra que o EHAs tem absorção mais efetiva pela via intraperitoneal do que pela via oral.

O estudo da toxicidade subcrônica do EHAs administrado por via oral em ratos nas doses de 5 e 100 mg/kg por 30 dias, mostra que os animais tratados não apresentaram alterações comportamentais e não tiveram alterações no ganho de peso médio, no consumo de alimentos e de água. As alterações no peso médio têm sido usadas como indicador de efeitos adversos para drogas e compostos (HILALY et al., 2004); o presente resultado sugere que doses orais de EHAs não apresentaram toxicidade em ratos, nas doses testadas.

Não houve alterações significantes nos parâmetros bioquímicos dos ratos tratados com EHAs. Os níveis plasmáticos de colesterol, um indicador indireto da função do fígado (HILALY et al., 2004), não foram afetados pela administração do EHAs e foi confirmado pelo fato de não terem sido observados alterações nos níveis de transaminases (ALT e AST), as quais são bons indicadores de função hepática, então pode-se deduzir que o EHAs não induz a danos no fígado.

Após o período de tratamento, os níveis plasmático de glicose, albumina, ácido úrico e uréia se mantiveram nos limites fisiológicos, sugerindo que a administração subcrônica do EHAs (5 e 100 mg/kg, v.o.) não interfere no metabolismo dos ratos. Como não houve nenhuma alteração nos níveis de albumina e uréia, pode-se deduzir que o EHAs não induz efeitos nocivos aos rins. Não houve alterações significativas nos limites de ácido úrico sugerindo nenhum efeito deletério do EHAs nas funções de qualquer órgão (CHAVALITTUMRONG et al., 2004).

Como existe a indicação popular da planta para tratamento da diabetes vale ressaltar que a glicemia de ratos normais não foi alterada após o tratamento com o EHAs.

O EHAs (5 e 100 mg/kg v.o) não alterou nenhum parâmetro hematológico avaliado (leucócitos, hemáceas, hemoglobina, hematócrito, plaquetas, linfócitos absolutos e relativos) demonstrando que não causa nenhum efeito tóxico sobre a medula óssea e sobre o mecanismo de homeostasia do sistema circulatório.

O exame macroscópico não revelou alterações no estômago, fígado, pâncreas, coração, pulmões e rins e nenhuma alteração no peso relativo dos

órgãos dos ratos tratados com EHAs (5 e 100 mg/kg, v.o.). Estes achados estão de acordo com os parâmetros hematológicos e bioquímicos observados, sugerindo que o EHAs não causa nenhum efeito nocivo sobre órgãos vitais quando administrado por 30 dias, nas doses testadas.

Para avaliar citotoxicidade do EHAs foi realizado o ensaio de *Artemia salina*. A CL<sub>50</sub> calculada para o EHAs foi de 1340 ± 428 µg/mL. Levando em conta a possível relação entre atividade no bioensaio e possível toxicidade aguda da planta em humanos (DESMARCHELIER et al., 1996), pode-se sugerir inocuidade do EHAs e das preparações populares de *A. subincanum* Mart.

A extrapolação de doses dos animais para humanos é baseada em múltiplas suposições sobre o comportamento do composto entre as espécies. Uma aproximação comumente utilizada é baseada na dose do composto que possui ausência de efeitos tóxicos na mais sensível das espécies testadas em estudos toxicológicos pré-clínicos de quatro semanas, usando a NOAEL - no observable adverse effect level (REIGNER & BLESCH, 2002).

A dose segura pode ser estimada usando a fórmula  $1/10 \times \text{NOAEL} \times 70 \text{ kg} \times 1/10$ , onde NOAEL corresponde a 100 mg/kg. A dose segura em nosso estudo pode ser estimada em 70mg/dia. Quando comparando a dose segura com a dose usualmente utilizada em preparações domésticas pela população (25 mg/dia) podemos dizer que as pessoas estão utilizando doses com limite de segurança apenas três vezes menor que a dose segura estimada, o que permite dizer que o uso de *A. subincanum* Mart. deve ser conduzido com cuidado.

Estudos fitoquímicos preliminares de extrato metanólico da entrecasca do caule de *A. subincanum* revelaram a presença e isolamento de alcalóides indólicos quaternários (KOBAYASHI et al., 2002). Os efeitos tóxicos presentes na toxicidade aguda neste estudo podem estar relacionados com a presença de alcalóides no EHAs.

Em resumo, com doses usadas no estudo toxicológico pré-clínico em roedores, o EHAs não apresentou nenhum efeito tóxico notável com doses agudas (300 mg/kg, v.o.). Doses de 100 mg/kg administradas v.o. por 30 dias, não causaram alterações comportamentais, nos parâmetros hematológicos e bioquímicos e nem no peso relativo dos órgãos vitais. O EHAs mostrou baixa citotoxicidade quando testado com *Artemia salina* Leach. A extrapolação dos resultados obtidos no estudo toxicológico pré-clínico para humanos, permite dizer

que preparações usadas pela população possuem segurança relativa, sugerindo uso cauteloso desta planta.

**Agradecimentos:** CAPES, Instituto Plantarum; LACEN.

**Tabela 1:** Toxicidade aguda do extrato hidroalcoólico da entrecasca do caule de *Aspidosperma subincanum* Mart (EHAs) por administração oral em camundongos.

<b>Dose mg/kg</b>	<b>Morte/ Tratado</b>	<b>Latência (min)</b>	<b>Sinais e sintomas tóxicos</b>
300	0/10	---	Nenhum,
500	1/10	>60 <120	Piloereção, tremores, convulsões e morte
750	1/10	>60 <120	Piloereção, tremores, convulsões e morte
850	3/10	>30 <120	Piloereção, tremores, convulsões, cianose e morte
1000	5/10	>15 <90	Piloereção, tremores, convulsões, cianose e morte
1250	7/10	>15 <60	Piloereção, tremores, perda dos movimentos das patas traseiras, convulsões, cianose e morte
1500	9/10	>10 <60	Piloereção, tremores, perda dos movimentos das patas traseiras, convulsões, cianose e morte
1750	9/10	>10 <60	Piloereção, tremores, perda dos movimentos das patas traseiras, convulsões, cianose e morte
2000	9/10	>10 <60	Piloereção, tremores, perda dos movimentos das patas traseiras, convulsões, cianose e morte
2500	10/10	>10 <60	Piloereção, tremores, perda dos movimentos das patas traseiras, convulsões, cianose e morte
3000	10/10	>10 <60	Piloereção, tremores, perda dos movimentos das patas traseiras, convulsões, cianose e morte

DL<sub>50</sub>: 1129 ± 154 mg/kg

Observação após 7 dias nos grupos: sem alterações.

**Tabela 2:** Toxicidade aguda do extrato hidroalcoólico da entrecasca do caule de *Aspidosperma subincanum* Mart (EHAs) por administração intraperitoneal em camundongos.

<b>Dose mg/kg</b>	<b>Morte/ Tratado</b>	<b>Latência (min)</b>	<b>Sinais e sintomas tóxicos</b>
100	0/10	---	Nenhum
200	0/10	---	Nenhum
300	0/10	---	Piloereção, tremores
350	1/10	>30 <120	Piloereção, tremores, convulsões e morte
400	4/10	>30 <120	Piloereção, tremores, convulsões e morte
425	7/10	>30 <120	Piloereção, tremores, convulsões, cianose e morte
450	9/10	>15 <90	Piloereção, tremores, convulsões, perda dos movimentos das patas traseiras, cianose e morte
475	10/10	>15 <60	Piloereção, tremores, convulsões, perda dos movimentos das patas traseiras, cianose e morte
500	10/10	>10 <60	Piloereção, tremores, convulsões, perda dos movimentos das patas traseiras, cianose e morte

DL<sub>50</sub>: 397 ± 15 mg/kg

Observação após 7 dias nos grupos: sem alterações.

**Tabela 3:** Efeito do EHAs sobre o ganho de peso corporal dos ratos durante 30 dias de ensaio.

Tratamento	Dose (mg/kg)	Ganho de peso corporal (g)				
		M1	M2	M3	M4	M5
Veículo	---	20,78 ± 3,12	16,38 ± 3,45	7,53 ± 1,91	4,71 ± 1,88	3,15 ± 3,48
EHAs	5	20,60 ± 3,36	16,31 ± 2,66	9,51 ± 1,95	4,86 ± 1,43	-3,15 ± 1,42
EHAs	100	19,36 ± 2,29	24,88 ± 4,63	11,90 ± 2,96	1,75 ± 1,31	-1,51 ± 1,31

ANOVA; M (1-5) – média de ganho de peso a cada 6 dias.

n=6

**Tabela 4:** Efeito do EHAs sobre o consumo de ração dos ratos durante 30 dias de ensaio.

Tratamento	Dose (mg/kg)	Consumo de ração (g)				
		M1	M2	M3	M4	M5
Veículo	---	88,36 ± 4,64	119,52 ± 8,75	113,77 ± 7,56	122,55 ± 5,46	127,25 ± 4,14
EHAs	5	84,25 ± 5,66	113,62 ± 5,77	104,98 ± 6,07	113,49 ± 6,26	126,70 ± 2,54
EHAs	100	75,75 ± 5,17	114,85 ± 7,07	101,10 ± 5,55	114,87 ± 4,74	124,97 ± 1,33

ANOVA; M (1-5) – média de consumo de ração a cada 6 dias.

n=6

**Tabela 5:** Efeito do EHAs sobre o consumo de água (mL) dos ratos durante 30 dias de ensaio.

Tratamento	Dose (mg/kg)	Volume (mL)				
		M1	M2	M3	M4	M5
Veículo	---	133,33 ± 7,14	159,17 ± 10,1	171,67 ± 9,00	165,83 ± 6,76	177,00 ± 6,26
EHAs	5	131,67 ± 7,60	166,67 ± 7,03	170,00 ± 10,64	165,33 ± 12,18	178,67 ± 6,71
EHAs	100	123,33 ± 5,57	173,33 ± 6,41	182,50 ± 6,15	170,17 ± 10,77	192,00 ± 4,08

ANOVA; M (1-5) – média de consumo de água a cada 6 dias.

n=6

**Tabela 6:** Efeito do EHAs sobre os parâmetros hematológicos dos ratos após 30 dias de ensaio.

<b>Parâmetros</b>	<b>Veículo</b>	<b>EHAs (5 mg/kg)</b>	<b>EHAs (100 mg/kg)</b>
Leucócitos -WBC ( $10^3$ U/L)	7,66 ± 0,92	8,35 ± 1,03	7,43 ± 0,83
Hemáceas - RBC ( $10^6$ U/L)	7,03 ± 0,20	6,91 ± 0,20	7,17 ± 0,62
Hemoglobina (g/dL)	14,46 ± 0,29	14,56 ± 0,25	14,46 ± 0,47
Hematócrito (%)	41,31 ± 1,204	40,63 ± 1,40	38,80 ± 1,17
Plaquetas ( $10^3$ U/L)	605,17 ± 23,98	534,17 ± 61,41	564,03 ± 28,56
Linfócitos absolutos ( $\text{mm}^3$ )	6,6 ± 0,73	6,66 ± 0,81	6,03 ± 0,53
Linfócitos relativos (%)	80,25 ± 1,50	80,75 ± 2,82	82,43 ± 2,57

ANOVA

n=6

**Tabela 7:** Efeito do EHAs sobre os parâmetros bioquímicos dos ratos após 30 dias de ensaio.

<b>Parâmetros</b>	<b>Veículo</b>	<b>EHAs (5 mg/kg)</b>	<b>EHAs (100 mg/kg)</b>
Glicose (mg/dL)	80,0 ± 5,34	84,50 ± 7,27	78,83 ± 3,60
Uréia (mg/dL)	37,00 ± 4,43	41,17 ± 5,02	39,00 ± 4,73
Ácido úrico (mg/dL)	1,70 ± 0,34	1,08 ± 0,12	2,00 ± 0,61
AST (U/L)	179,50 ± 12,36	181,33 ± 11,25	187,83 ± 16,63
ALT (U/L)	50,16 ± 2,24	61,83 ± 12,21	56,50 ± 7,97
Colesterol total (mg/dL)	70,50 ± 10,67	78,16 ± 9,62	71,66 ± 2,33
Triglicérides (mg/dL)	81,33 ± 6,02	77,00 ± 10,2	75,83 ± 10,16
Albumina (mg/dL)	4,28 ± 0,11	4,31 ± 0,07	4,28 ± 0,13

ANOVA

n=6

**Tabela 8:** Efeito do EHAs sobre o peso relativos dos órgão após 30 dias de ensaio.

Tratamento	Dose (mg/kg)	Peso relativo dos órgãos (g% peso corporal)				
		Fígado	Coração	Pulmões	Rins	Pâncreas
Veículo	---	15,73 ± 2,02	1,88 ± 0,23	2,63 ± 0,28	3,76 ± 0,60	1,01 ± 0,13
EHAs	5	14,32 ± 1,73	1,68 ± 0,25	2,57 ± 0,32	3,64 ± 0,50	0,85 ± 0,12
EHAs	100	12,21 ± 0,85	1,46 ± 0,11	2,16 ± 0,14	3,16 ± 0,30	0,69 ± 0,026

ANOVA

n=6

## 5. Referências Bibliográficas:

BAUTISTA, A.R.P.L; MOREIRA, E.L.T; BATISTA, M.S.; MIRANDA, M.S.; GOMES, I.C.S. Subacute toxicity assessment of annatto in rat. **Food and Chemical Toxicological**. n. 42, p. 625 - 629, 2004.

CHAVALITTUMRONG, P.; CHIVAPAT, S.; ATTAWISH, A.; BANDIDDHI, J.; PHADUNGPAT, S.; CHAORAI, B.; RAYWADEE, B. Chronic toxicity study of *Portulaca grandiflora* Hook. **Journal of Ethnopharmacology**. n. 90, p. 375 - 380, 2004.

CORREA, M.P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Imprensa Oficial: Rio de Janeiro, 1978.

DESMARCHELIER, C.; MONGELI, E.; COSSIO, J.; CICCIA, G. Studies on the cytotoxicity, antimicrobial and DNA-binding activities of plants. **Journal of Ethnopharmacology**. n. 50, p. 91-96, 1996.

GOMES, S. M. & CAVALCANTI, T.B. Morfologia Floral de *Aspidosperma* Mart. & Zucc (Apocynaceae). **Acta Bot. Bras.** n. 15, p. 107-127, 2001.

HILALY, J.E.; ISRAILI, Z.H.; LYOUSSI, B. Acute and chronic toxicological studies of *Ajuga iva* in experimental animals. **Journal of Ethnopharmacology**. n. 91, p. 43-50, 2004.

KOBAYASHI, J.; SEKIGUCHI, M.; SHIMAMOTO, S.; SHIGEMORI, H.; ISHIYAMA, H.; OHSAKI A. Subincanadines A – C Novel quaternary indole alkaloids from *Aspidosperma subincanum*. **J. Org. Chem.** n. 67, p. 6449 –6455, 2002.

MALONE, M. H., Pharmacological approaches to natural product and evaluating. In: Wasner, H.; Walf, L. P. **Natural products and plant drugs with pharmacological, biological or therapeutic activity**. Springer Verlag, Berlin, p. 23-56, 1977.

MEYER, B.N.; FERRIGINI, N.R.; PUTNAM, J.E.; JACOBSEN, L.B.; NICHOLS, D.E.; McLAUGHIN, J.L., Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta Medica**. n. 45, p. 31-34, 1982.

MILLER, L. C. L. & TAINTER, M. L. Estimation of the ED<sub>50</sub> and its error by means of logarithmic probit graph paper. **Proc. Soc. Exp. Med.** n. 57, p. 261-264, 1944.

REIGNER, B.G. & BLESCH K.S. Estimating the starting dose for entry into humans: principles and practice. **European Journal of Clinical Pharmacology**. n. 57, p. 835-845, 2002.

## OUTRAS REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALONSO, J. R. **Tratado de Fitomedicina. Bases clínicas e farmacológicas**. Isis editorial, Buenos Aires, Argentina, 1999.

AQUINO, E.M.; OHARA, M.T.; MORENO, A.C.R.; MORENO, P.H.R. Biological activity of crude alkaloid extracts from *Aspidosperma ramiflorum* and *Aspidosperma tomentosum*. **Revista de Fitoterapia**. v.2, supl. I, p.317, 2002.

BARBOSA, W.L.R.; TAVARES, I.C.C.; SOARES, D.C. Perfil de frações alcalóidicas de *Aspidosperma auriculatum*. **Anais**. In: XVII Simpósio de Plantas Mediciniais do Brasil, Cuiabá – MT, 2002.

BIZERRIL, M.X.A. O cerrado nos livros didáticos de geografia e ciências. **Ciência hoje**. v. 32, n. 192, p. 56-60, 2003.

CALIXTO, J.B. Efficacy, safety, quality, control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). **Braz. J. Med. Biol. Res.** v. 33, n. 2, p. 179-189, 2000.

CORNÉLIO, M.L. & MORENO, P.R.H. Estudo da atividade biológica de *Aspidosperma cylindrocarpon* Muell. Arg. (Apocynaceae). **Anais**. In: XVII Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, Cuiabá – MT, 2002.

CORRÊA, M.P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro, Imprensa Oficial, 1978.

CECHINEL

DE LA CRUZ, M.G.F. - Plantas Medicinais Utilizadas por Raizeiros: Uma Abordagem Etnobotânica no Contexto da Saúde e Doença em Cuiabá, Mato Grosso. **Dissertação**. (Mestrado em Saúde e Ambiente), Instituto de Saúde Coletiva, Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá – MT, 1997.

DEUTSCH, H.F.; EVENSON, M. A.; DRESCHER, P.; SPARWASSER, C.; MADSEN, P. O. Isolation and biological activity of aspidospermine e quebrachamine from an *Aspidosperma* tree source. **J. Pharm. Biomed. Anal.** v.12, n.10, p.1283-1287, 1994.

FERREIRA, I.C.P.; LONARDONI, M.V.C.; MACHADO, G.M.C.; LEON, L.L.; GOBBI FILHO, L.; PINTO, L.H.B.; OLIVEIRA, A.J.B. Anti-leishmanial activity of alkaloidal extract from *Aspidosperma ramiflorum*. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**. v.99, n.3, p. 325-327, 2004.

GOMES, S. M. & CAVALCANTI, T.B. Morfologia Floral de *Aspidosperma* Mart & Zucc (Apocynaceae) **Acta Bot. Bras.** v.15, n.1, p. 73-88, 2001.

GUERRA, M.P. & NODARI, R.O. Biodiversidade: aspectos biológicos, geográficos, legais e éticos. In: **Farmacognosia: da Planta ao Medicamento**. 5.ed. rev. amp., Porto Alegre/Florianópolis, Editora da UFRGS/ Editora da UFSC, p.13 - 28, 2003.

HENRIQUES, A.T.; LIMBERGER, R.P.; KERBER, V.A.; MORENO, P.R.H. Alcalóides: generalidades e aspectos básicos. In: **Farmacognosia: da Planta ao Medicamento**. 5.ed. rev. amp., Porto Alegre/Florianópolis, Editora da UFRGS/ Editora da UFSC, p. 765-792, 2003.

JÁCOME, R.L.P.; RASLAN, D.S.; WAGNER, H.; OLIVEIRA, A.B.; CHIARI, E. Estudo Fitoquímico de *Aspidosperma parvifolium* monitorado por ensaio *in vitro* contra o *Trypanosoma cruzi* (Tripomastigota). **Anais**. In: XIV Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, Florianópolis– SC, p.145, 1996.

JÁCOME, R.L.P.; RASLAN, D.S.; DOLABELA, M.F.; LOPES, M.T.P.; CHIARI, E.; OLIVEIRA, A.B. Atividade citotóxica, tripanosomicida e antitumoral dos extratos das cascas de *Aspidosperma parvifolium* A. DC. **Anais**. In: XV Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, Águas de Lindóia– SP, p.56, 1998.

JÁCOME, R.L.R.P.; A. B.; RASLAN, D.S.; WAGNER, H. Estudo químico e perfil cromatográfico das cascas de *Aspidosperma parvifolium* A. DC. (“pau-pereira”). **Quím. Nova**. v. 27, n.6, 2004.

JOLY, A.B. **Botânica Introdução à taxonomia vegetal**. 12.ed. São Paulo, Companhia Editora Nacional, Biblioteca Universitária, série 3, Ciências Puras, v.4, 1998.

KOBAYASHI, J.; SEKIGUCHI, M.; SHIMAMOTO, S.; SHIGEMORI, H.; ISHIYAMA, H.; OHSAKI, A. Subincanadines A-C, Novel Quaternary Indole Alkaloids from *Aspidosperma subincanum*. **J. Org. Chem**. v. 67, n.18, p 6449 – 6455, 2002.

KOHN, L.K.; FOGLIO, M.; PIZÃO, P.E.; ANTONIO, M.A.; CARVALHO, J.E. Inibição da proliferação *in vitro* de células tumorais humanas expostas aos extratos brutos e frações de *Aspidosperma tomentosum* Mart. **Anais**. In: XVI Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, Recife-PE, p.239-240, 2000.

Lorenzi 1997

MITAINE-OFFER, A.C.; SAUVAIN, M. VALENTIN, A. CALLAPA, J.; MALLIE, M. ZECHANROT, M. Antiplasmodial activity of *Aspidosperma* indole alkaloids. **Phytomedicine**. v.9, n.2, p. 142-145, 2002.

OLIVEIRA, A.J.B. Estudo de seis espécies do gênero *Aspidosperma* utilizando GC, GC/MS e HPLC: Análise qualitativa e quantitativa. Teste bioautográfico; Cultura de

tecidos e células vegetais e rota de preparação dos compostos diméricos ramiflorina A e ramiflorina B. **Tese** (Doutorado em Química). Instituto de Química, Unicamp, Campinas – SP, 1999.

PELLETIER, S.W. (ed). Alkaloids chemical and biological perspectives. v.1-6, New York, Willey, 1983-88. In: HENRIQUES, A.T.; LIMBERGER, R.P.; KERBER, V.A.; MORENO, P.R.H. Alcalóides: generalidades e aspectos básicos. In: **Farmacognosia: da Planta ao Medicamento**. 5.ed. rev. amp., Porto Alegre/Florianópolis, Editora da UFRGS/ Editora da UFSC, p. 765-792, 2003.

PEREIRA, M.M.; RASLAN, D.S.; ALCÂNTARA, A.F.C.; VELOSO, D.P. Estudo químico do cerne de *Aspidosperma nitidum* Benth. **Anais**. In: XVII Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, Cuiabá-MT, QI 070, 2002.

PORTO, K.R.A.; HUMBERTO, M.M.S.; SANT'ANA, A. E. G.; SILVA, R.S.; ARGOLO, A.C.M. Alcalóides piridocarbazóis e avaliação da toxicidade de *Aspidosperma subincanum* frente *Artemia salina*, *Biomphalaria glabrata* e *Aedes aegypti*. **Anais**. In: XVIII Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, Manaus – AM, p. 25, 2004.

RIZZINI, C.T. - **Tratado de Fitogeografia do Brasil**. São Paulo: Ed. Universidade de São Paulo, p. 374, 1979.

ROBERT, G. M. T.; AHOND, A.; POUPAT, C.; POTIER, P.; JOLLES, C. & JOUSSELIN, A. *Aspidosperma* de Guyane: alcaloides d'*Aspidosperma markgravianum*. **Journal of Natural Products**. v.46, n.5, p. 694-707, 1983.

SCHRIPSEMA, J.; DAGNINO, D.; GOSMANN, G. Alcalóides Indólicos, In: **Farmacognosia: da Planta ao Medicamento**. 5.ed. ver. apm. In: **Farmacognosia: da Planta ao Medicamento**. 5.ed. rev. amp., Porto Alegre/Florianópolis, Editora da UFRGS/ Editora da UFSC, p. 819-843, 2003.

SOARES, A. C., Se não fizer bem, mal também não fará. **Revista Eletrônica de Ciências**, v. 12, 2002.

YUNES, R. A.; PEDROSA, R. C.; CECHINEL FILHO, C. Fármaco e fitoterápicos: A necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Química Nova**. v. 24, n.1, p. 147-152, 2001.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Good manufacturing practices for the manufacture of herbal medicinal products**. WHO, Geneva, 1993.

# 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](#)