

AVALIAÇÃO DA TOXIDADE AGUDA, EM RATOS, DO EXTRATO ETANÓLICO DAS FOLHAS DE *SYNADENIUM UMBELLATUM*

AZEREDO, Flaubertt Santana¹; **DA CUNHA**, Luiz Carlos²; **BOZINIS**, Marize Campos Valadares³; **GARROTE**, Clévia Ferreira³; **TRESVENZOL**, Leonice³; **DE PAULA**, José Realino³; **BARA**, Maria Tereza³; **ALVES**, Nilda⁴; **VIEIRA**, Marcelo de Sousa⁵; **PUCCI**, Liuba Laxor⁶; **GOLONI**, Raquel⁷

Palavras-chave: *Synadenium umbellatum*, toxicidade aguda, toxicidade subaguda.

1. INTRODUÇÃO

A utilização de espécies vegetais pelo homem para os mais diversos propósitos parece ser uma atividade atávica da espécie. Em todas as faces de desenvolvimento das diversas civilizações sempre prevaleceu uma estreita relação entre o homem e as plantas. Com o passar do tempo, o poder curativo de certas plantas, mesmo naquelas atividades que foram descobertas por acaso, tornou-se muito importante para ser esquecido; o homem então começou a sistematizar os seus usos (SILVA, 2002). Dados fornecidos pela Organização Mundial de Saúde (OMS), constata-se que o uso de plantas medicinais pela população tem sido muito significativo nos últimos anos, sendo este uso muito incentivado pela própria OMS. (SIMÕES et al, 2003). Dentre os numerosos exemplares de uso medicinal encontrados na flora brasileira, está a *Synadenium umbellatum* (vulgo “cola-nota”, “cancerola”, “milagrosa”), planta herbácea, cultivada como ornamental e pertencente à família Euphorbiaceae, cujo látex têm uso popular empírico como “remédio natural” para o combate a câncer (ORTÊNCIO, 1997). Por existir espécimes tóxicas dessa mesma família (QUER, 1962), e diante da grande preocupação quanto ao uso seguro de extratos vegetais com necessidade de estudos toxicológicos pré-clínicos e clínicos destes extratos, o presente estudo pretende avaliar a toxicidade pré-clínica do extrato alcoólico de *Synadenium umbellatum* Pax, por via oral, em ratos, sendo a toxicidade aguda a inicial.



Figura 1: *Synadenium umbellatum*

2. MATERIAL E MÉTODOS

Material botânico: Coletou-se amostras de *Synadenium umbellatum* Pax em chácara de Goiânia (781m de altitude, 16°40'15,5" sul e 49°14'13,6" oeste), cuja

exsicata foi depositada no Herbário da UFG, sob o número 27.160.

Preparo do extrato: Para o preparo do extrato alcoólico, as folhas coletadas foram dessecadas a 40°C em estufa com circulação de ar, por três dias. Após a secagem, as folhas foram trituradas em um moinho de facas, do tipo WILLYE. O pó foi extraído com álcool etílico 96°GL, em quantidade correspondente a cinco vezes o peso da amostra. O processo de extração foi repetido duas vezes.

Animais: Foram utilizados ratos Wistar (*Rattus norvegicus*), com peso de 270 a 380 g, não-isogênicos, provenientes de fontes fidedignas e em perfeitas condições de saúde. Fez-se a aclimatização dos animais para averiguação do comportamento, dos hábitos alimentares e fisiológicos e das condições sanitárias dos mesmos à temperatura (22±3°C) e umidade relativa do ar (30–70%) ambientes, com controle da renovação de ar (20 trocas de ar por hora) e do ciclo claro/escuro (12h claro/ 12h escuro), conforme literatura específica (BRITO, 1994). Assim permaneceram até o fim dos estudos no biotério de manutenção, no Núcleo de Pesquisa e Estudos Tóxico-farmacológicos da Faculdade de Farmácia da UFG (NEPET-FF/UFG), que está provido de um sistema de barreiras, de modo a garantir condições sanitárias adequadas para os estudos toxicológicos.

Condições de manutenção: Os ratos foram acondicionados, individualmente, em gaiolas semi-metabólicas suspensas, de aço inoxidável e fundo de grade. Os animais são alimentados com ração comercial de boa qualidade e adequada às necessidades de nutrientes para camundongos, cujos nutrientes estão de acordo com a quantidade preconizada pela literatura (NAS, 1978). Para administração do extrato, os animais são privados de alimento por 12 horas, sendo restituído 3 a 4 horas após a administração da droga. Antes da administração da droga, o animal é pesado para ser ajustar o volume a ser dado. Excetuando-se este período de jejum, os animais terão acesso à ração e à água *ad libitum*. No décimo quarto dia após administração, os animais são sacrificados e necropsiados de acordo com Os Princípios Éticos de Experimentação Animal, proposta pelo COBEA (Colégio Brasileiro de Experimentação Animal, 2003).

Teste de toxicidade aguda dose única: A investigação da toxicidade aguda do *Synadenium umbellatum* seguiu as diretrizes da OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) para o teste de classe de dose aguda tóxica (Acute Toxic Class Method – OECD 425) e as diretrizes da Portaria 116/96 do Ministério da Saúde, para avaliação da toxicidade aguda oral de substâncias químicas e estudos de toxicidade de dose única de novas drogas, além de se enquadrar nas exigências da RDC 17, de 24 de fevereiro 2000 da ANVISA/MS. Para determinar a classe de dose tóxica aguda, apenas um animal foi tratado com a droga a cada dose, sendo a classe definida como a menor dose que, na seqüência considerada, induz a morte. Portanto, o extrato é administrado na seqüência da dose menor para a maior. As doses preconizadas são 5, 50, 300 e 2000mg/kg. Excepcionalmente, e somente quando justificado por regulação específica, o uso de dose superior a dose de 5000 mg/kg deve ser considerada. O extrato das folhas de *Synadenium umbellatum* foi administrado por via oral do animal, por gavagem, através de cânula apropriada, na forma de solução fisiológica solubilizada com Tween 80. O volume administrado não excedeu a 1mL/100g de peso corporal e, para manter o volume constante, ajustou-

se as concentrações da solução de acordo com o nível de dose e peso do animal. O animal foi observado, em intervalos regulares após a administração da droga (10 min, 30 min, 1h, 2h, 4h, 6h, 12h e 24h) e, a partir de então, diariamente, até o décimo quarto dia. Todos os sinais de toxicidade, a época do seu aparecimento, a intensidade, a duração e a progressão dos mesmos foram registrados. Observações comportamentais sistemáticas através do *screening* hipocrático (atividade geral, frêmito vocal, irritabilidade, resposta ao toque, resposta aperto cauda, contorção, posição trem posterior, reflexo endireitamento, tonus do corpo, força para agarrar, ataxia, reflexo auricular, reflexo corneal, tremores, convulsões, *straub*, hipnose, anestesia, lacrimação, ptose, micção, defecação, piloereção, hipotermia, respiração, cianose, hiperemia, morte) também são realizadas. As intensidades dos eventos são tabuladas de zero a 4, correspondendo, respectivamente a: ausente, raro, pouco, moderado, intenso. As alterações encontradas na observação comportamental e exame clínico sistemático dos animais são registrados em protocolo impresso com a lista de sinais a serem investigados. Esta lista e a pesquisa de sinais serão baseadas no modelo proposto por MALONE, 1977.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi realizado a toxicidade aguda usando um rato por dose de 5, 50, 300 e 2000mg/kg, não observando a morte em nenhum dos animais. No entanto, os ratos utilizados estavam acima do peso preconizado pela literatura, que é de 180 a 250 kg. Este fato pode ter interferido no resultado, sendo necessário novo experimento. Percebe-se ainda que experimentos independentes devem ser realizados para avaliação da toxicidade aguda oral em dose única em ratos machos e fêmeas, na tentativa de evidenciar qualquer diferença entre gêneros quanto à toxicidade aguda ao comparar os resultados. No momento está em processo de aquisição dos animais.

Comportamentalmente, observou-se um estado de prostração e letargia até 2 horas após a administração, o que pode predizer uma atividade depressora da droga. Portanto, o *screening* hipocrático mostra-se ser um ensaio bastante útil, pois a análise dos dados obtidos permite: a) classificar os fármacos em estudo em categorias farmacológicas; b) estudar a toxicidade dos fármacos; c) determinar possíveis mecanismos de ação dos fármacos; d) auxiliar no direcionamento das investigações científicas posteriores. Isto porque, ao realiza-lo, pode-se observar os efeitos produzidos por uma amostra desconhecido sobre: a) estado de consciência e disposição; b) atividade e coordenação do sistema motor e tônus muscular; 3) reflexos; 4) atividade no SNC e 5) atividade no SNA.

4. CONCLUSÕES

É necessário a realização de novos testes para uma avaliação mais criteriosa.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRASIL, 1996. Portaria nº 116, de 8 de agosto de 1996, DOU 12/08/96 – Dispõe sobre normas para estudo da toxicidade de produtos fitoterápicos. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária, Ministério da Saúde.

BRASIL, 2000. Resolução-RDC nº 17, de 24 de fevereiro de 2000 – Dispõe sobre o registro de Fitoterápicos. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Ministério da Saúde.

BRITO, A. S. , *Manual de Ensaio Toxicológicos In Vivo*, 122p., Editora da UNICAMP, Campinas-SP, 1994.

CENTENO, AJ. *Curso de Estatística Aplicada à Biologia*, Cegraf-UFG, 1ª reimpressão, Goiânia-GO, 1990. p. 188.

MALONE, M. H. “Pharmacological Approaches to Natural Products Screening and Evaluation” in *New Natural Products and Plant Drugs with Pharmacological, Biological or Therapeutical Activity*, Edited by Wagner, H. and Wolff, P. – pp. 23 53; Spriger-Verlag, Berlin , 1977.

MONTES, P. R. Estudo de aspectos farmacognósticos da espécie vegetal *Synadenium umbellatum*. Projeto de Iniciação Científica – Faculdade de Farmácia/UFG, Goiânia-GO, 2003.

NAS - National Academy of Sciences: *Nutrient requirements of laboratory animals*. Third revised edition, 1978. Washington, D.C., USA.

NATIONAL CENTER FOR TOXICOLOGICAL RESEARCH: *Policies and procedures for murine rodent diets*. NCTR, Jefferson, Arkansas, 1979.

OECD - Organisation for Economic Co-operation and Development , *Guideline 425: Acute Oral Toxicity: Modified Up-and-Down Procedure, 2000*.

ORTÊNCIO, W.B. *Medicina popular do Centro-Oeste*, 2ª Edição, Ed. Thesaurus, Brasília, 1997.

QUER, P. F. *Plantas medicinales: El Dioscórides renovado*. Editorial Labor, Barcelona, Espanha, 1962.

SILVA, P. *Farmacologia*. 6ª ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2002.

SIMÕES, C. M. O. *Farmacognosia, da Planta ao Medicamento*. 5ª ed. Porto Alegre: Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e Editora da Universidade Federal de Santa Catarina, 2003.

¹ Farmacêutico/Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da UFG Faculdade de Farmácia /NEPET- Núcleo de Estudos e Pesquisas Toxicológicas, flaudrogas@hotmail.com

² Orientador/Faculdade de Farmácia/UFG

³ Professor colaborador/Faculdade de Farmácia/UFG

⁴ Aluna de mestrado Convênio UnB/FESURV

⁵ Médico Veterinário/Bolsista de apoio técnico CNPq/NEPET-UFG

⁶ Farmacêutica/Bolsista de apoio técnico CNPq/NEPET-UFG

⁷ Bolsista do Programa Interno de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC/CNPq).