



## AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE *IN VIVO* E *IN VITRO* DO EXTRATO SECO DE *Chenopodium ambrosioides*

Maria Patrícia V. Santos<sup>1</sup>(IC)\*, Julia A. Santos<sup>1</sup>(IC), Thaís M. S. Ferreira<sup>2</sup>(PG), Ludimilla S. Souza<sup>1</sup>(IC), Leandra A. Modesto<sup>1</sup>(IC), Ana Luisa Trautenmuller<sup>1</sup>(PQ), Marielly Carvalho<sup>2</sup>(PG), Leandra A. R. Oliveira<sup>1</sup>(PQ), Vanessa C. S. Amaral<sup>2</sup>(PQ), Plínio L. F. Naves<sup>2</sup>(PQ), Joelma A. M. Paula<sup>2</sup>(PQ)

<sup>1</sup>Curso de Graduação em Farmácia, Campus Anápolis de Ciências Exatas e Tecnológicas, UEG, Anápolis, GO

<sup>2</sup>Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas a Produtos para Saúde (Mestrado), UEG, Anápolis, GO

\*mariapatriciavilacasantos@gmail.com

Resumo: *Chenopodium ambrosioides* L. (Amaranthaceae), conhecida como erva-de-santa-maria, é muito utilizada na medicina popular brasileira como analgésica, antiparasitária, anti-inflamatória e antimicrobiana. A toxicidade de seu óleo essencial é amplamente conhecida, entretanto há poucas informações sobre a toxicidade de outros derivados das partes aéreas desta planta. Este trabalho objetivou avaliar a toxicidade oral aguda, em ratas *Wistar*, do extrato seco por aspersão, obtido das partes aéreas de *C. ambrosioides*, bem como avaliar a toxicidade em *Artemia salina*. Para tanto, as partes aéreas foram dessecadas a 40 °C e pulverizadas. O extrato líquido foi obtido por percolação em etanol 70% (m/m), concentrado e seco por aspersão. Os ensaios de toxicidade oral aguda foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UEG (006/2017) e realizados conforme preconizado por organizações internacionais. Para avaliar a toxicidade *in vitro* foram utilizados cistos de *Artemia salina*. Na avaliação da toxicidade oral aguda não ocorreram mortes ao longo dos 14 dias de observação. O valor estimado para a DL<sub>50</sub> foi entre 2000 e 5000 mg/kg. No ensaio realizado com *Artemia salina* não foram observadas mortes de microcrustáceos para todas as concentrações testadas (2000, 1000, 500, 250 e 125 µg.mL<sup>-1</sup>). Estes achados indicam que sob condições agudas de exposição o extrato demonstrou ter baixa toxicidade.

Palavras-Chave: Erva-de-santa-maria. Ratas *Wistar*. *Artemia salina*

### Introdução

A fitoterapia, ramo da ciência médica que utiliza plantas, drogas vegetais e seus preparados para o tratamento de enfermidades, tem se expandido com o decorrer dos anos, em virtude dos altos custos dos tratamentos empregados na

REALIZAÇÃO

PRG  
Pró-Reitoria de  
Graduação

PRP  
Pró-Reitoria de  
Pesquisa e  
Pós-Graduação

PRE  
Pró-Reitoria de  
Extensão, Cultura e  
Assuntos Estudantis



Universidade  
Estadual de Goiás



medicina moderna e muitas vezes pela insatisfação com a eficácia de fármacos sintéticos (ALMANÇA, 2011).

Uma das espécies comumente utilizada na fitoterapia é *Chenopodium ambrosioides* L. uma planta herbácea da família Amaranthaceae (OLIVEIRA et al., 2014). Esta espécie é originária da América Central e do Sul, ocorre em todos os países tropicais e temperados de forma silvestre ou cultivada e é considerada uma planta invasora (LORENZI; MATOS, 2002; MONZOTE et al., 2009).

*C. ambrosioides* possui uma ampla aplicação na medicina popular brasileira, e sua ação terapêutica é decorrente de metabólitos secundários encontrados na planta como, compostos fenólicos, catequinas, esteroides, flavononas, taninos, triterpenóides e o óleo essencial (OLIVEIRA et al., 2014). O óleo essencial é constituído principalmente de monoterpenos, sendo o ascaridol o componente majoritário, e o responsável pela ação anti-helmíntica da planta. Porém concentrações elevadas do óleo essencial da *C. ambrosioides* pode ser tóxico para o organismo podendo causar irritações na mucosa do trato gastrointestinal, além de efeitos genotóxicos (GADANO et al., 2002).

Nesse sentido, diante do potencial de apresentar toxicidade, de seu amplo uso na medicina popular, e das exigências das agências reguladoras, o objetivo deste trabalho foi realizar ensaios de toxicidade *in vivo* e *in vitro* com o extrato seco das partes aéreas de *C. ambrosioides*. Os resultados dos testes visam contribuir para a segurança e eficácia dos produtos oriundos deste extrato, além de possibilitar estimar dose, riscos e benefícios (ALMEIDA et al., 2009).

## Material e Métodos

Neste estudo foram utilizadas as partes aéreas de *C. ambrosioides*, que após coletadas foram submetidas à secagem em estufa com circulação de ar, a 40°C, e trituradas em moinho de facas para utilização no preparo, por percolação, do extrato etanólico bruto (etanol 70% m/m). Posteriormente esse extrato foi concentrado em rotaevaporador e submetido à técnica de secagem por aspersão (*spray drying*) e padronizado quanto ao teor de flavonoides (dados conduzidos em outro estudo do grupo de pesquisa).



Na avaliação da toxicidade do extrato seco em *Artemia salina* empregou-se método proposto por Molina-Salinas et al. (2006), com adaptações. O ensaio foi realizado em microplacas de 96 poços e as concentrações do extrato seco e do Aerosil® (adjuvante utilizado na secagem do extrato) foram 2000, 1000, 500, 250 e 125  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ . O extrato e o Aerosil® foram diluídos em 5% de propilenoglicol e salina. O controle positivo foi solução de  $\text{K}_2\text{CrO}_7$  e o controle negativo foi solução salina. Cada poço foi preenchido com  $10 \pm 1$  náuplios suspensos em 100  $\mu\text{L}$  de solução salina completados com 100  $\mu\text{L}$  do respectivo tratamento. Após 24 horas de incubação realizou-se a contagem de microcrustáceos mortos.

Na etapa de avaliação da toxicidade oral aguda os experimentos foram conduzidos de acordo com as normas do Conselho de Experimentação Animal (CONCEA) e foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de animais (CEUA) da Universidade Estadual de Goiás (UEG), conforme protocolo nº 006/2017. Foram utilizados ratos fêmeas da linhagem *Wistar (Rattus norvegicus)*, com idade entre 68 e 81 dias, pesando entre 144,22 – 210,68 g, e foram adotados procedimentos do protocolo nº 423 da Organização para Cooperação Econômica e Desenvolvimento (Organization for Economic Co-operation and Development - OEDC) (OECD, 2001).

No preparo da amostra o extrato seco foi dissolvido em 10% de propilenoglicol e água. No grupo controle foi utilizado o Aerosil® diluído em 10% de propilenoglicol e água. Nos grupos testes foram avaliadas as doses de 300 e 2000 mg/kg do extrato, com três ratas em cada grupo. As amostras foram administradas por gavagem. Após a administração os animais foram observados por 8 horas seguidas, em intervalos de 30 minutos durante 4 horas, e depois em intervalos de 1 hora. Nos outros 14 dias observaram-se 1 hora no período da manhã. Ao final do período experimental todos os animais foram submetidos à eutanásia, com solução de uretana, e à necropsia. Os órgãos foram analisados quanto ao seu aspecto geral, e determinou-se a massa dos rins, fígado e baço. As análises estatísticas foram realizadas por meio da ANOVA seguida pelo teste Student-Newman-Keuls, com auxílio do software Statistica® versão 12.0. Foram consideradas diferenças significativas quando  $p < 0,05$ .

## Resultados e Discussão

REALIZAÇÃO

PRG  
Pró-Reitoria de  
Graduação

PRP  
Pró-Reitoria de  
Pesquisa e  
Pós-Graduação

PRE  
Pró-Reitoria de  
Extensão, Cultura e  
Assuntos Estudantis



Universidade  
Estadual de Goiás



Na avaliação da toxicidade em *Artemia salina* o extrato seco de *C. ambrosioides* e o Aerosil® não ocasionaram mortes do microcrustáceo nas concentrações testadas (2000, 1000, 500, 250 e 125 µg/mL). Em decorrência da ausência de mortes não foi possível estimar a CL<sub>50</sub>.

Na avaliação da toxicidade oral aguda em ratas *Wistar* não houve morte em nenhum grupo (controle/teste), de modo que o extrato seco, obtido das partes aéreas de *C. ambrosioides* se enquadra na categoria “5” da OECD 423. A amostra é considerada atóxica uma vez que apresenta valor de DL<sub>50</sub> acima de 2000 mg/kg ou entre 2000 e 5000mg/kg (OECD, 2001).

Para avaliação do consumo de ração relativo a cada 3 dias a ANOVA para medidas repetidas não apontou efeito do tratamento ( $F_{2,15} = 0,34$ ;  $p = 0,71$ ) e nem interação entre dias e tratamento ( $F_{8,60} = 0,79$ ;  $p = 0,61$ ). Entretanto a ANOVA apontou efeito apenas do fator dias ( $F_{4,60} = 11,03$ ;  $p < 001$ ), conforme Figura 1.

Figura 1 - Gráfico do consumo relativo de ração das ratas Wistar, no decorrer do teste.

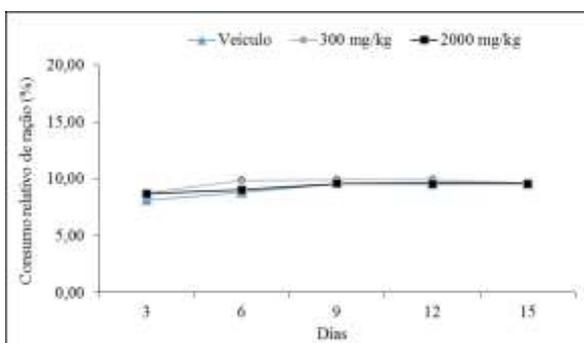
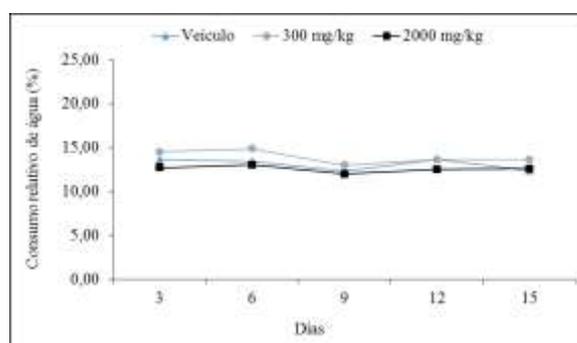


Figura 2 - Gráfico do consumo relativo de água das ratas Wistar, no decorrer do teste.



Na análise do consumo relativo de água a cada 3 dias a ANOVA para medidas repetidas não apontou efeito do tratamento ( $F_{2,15} = 0,85$ ;  $p = 0,45$ ), também não foi apresentado efeito para o fator dias ( $F_{4,60} = 1,91$ ;  $p = 0,12$ ) e nem interação entre dias e tratamento ( $F_{8,60} = 0,33$ ;  $p = 0,95$ ), conforme Figura 2.

Na análise das massas dos órgãos (rins e fígado), as massas do grupo tratamento se encontraram próximas do grupo controle, não havendo diferenças estatisticamente significativas entre os grupos.

A toxicidade advinda da espécie *C. ambrosioides* é decorrente da presença do ascaridol, componente majoritário do óleo essencial, que em concentrações maiores causa danos ao organismo. No entanto por ser um componente volátil,



possui baixo ponto de ebulição (cerca de 40 °C), deste modo temperaturas elevadas, tais como as utilizadas na secagem do extrato, resultam na sua vaporização (POZZATTI et al., 2010).

## Considerações Finais

Os resultados indicam que sob condições agudas de exposição o extrato seco das partes aéreas de *C. ambrosioides* demonstrou ter baixa toxicidade. No entanto, devem ser conduzidos estudos de toxicidade subcrônica e crônica, para atestar a segurança do extrato em períodos maiores de utilização, bem como estudos de toxicidade materno-fetal.

## Agradecimentos

À UEG pela Bolsa de Incentivo ao Pesquisador; ao CNPq pela bolsa de Iniciação Tecnológica PIBITI/CNPq; ao Horto Medicinal do Jardim Botânico de Goiânia; ao Biotério da UniEvangélica.

## Referências

ALMANÇA, J. C. C. **Extrato Hidroetanólico de Erva-de-Santa (*Chenopodium ambrosioides* L.) no controle do carrapato de bovinos [*Rhipicephalus (Boophilus) microplus* Canestrini, 1888 (Acari: Ixodidae)]**. 2011. 119 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Pará, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre. 2011.

ALMEIDA, N. F. L.; SILVA, S. R. S.; SOUZA, J. M.; QUEIROZ, A. P. N.; MIRANDA, G. S.; OLIVEIRA, H. B. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais na cidade de Viçosa- MG. **Revista Brasileira Farmacognosia**, v. 90, n.4, p.316-20, 2009.

GADANO, A.; GURNI, A.; LOPEZ, P.; FERRARO, G.; CARBALLO, M. In vitro genotoxic evaluation of medicinal plant *Chenopodium ambrosioides* L. **Journal Ethnopharmacol**, v.81, p.11-16, 2002.

MOLINA-SALINAS, G. M.; SAID-FERNÁNDEZ, S. A. Modified microplate cytotoxicity assay with brime shrimp larvae (*Artemia salina*). **Pharmacologyonline**, v.3, p. 633-638, 2006.

OLIVEIRA, S. S. L.; FERREIRA, S. F.; BARROSO, M. A. Erva de Santa Maria (*Chenopodium ambrosioides* L.): Aplicações clínicas e formas tóxicas – Revisão de literatura. **Jornal Brasileiro de Ciência Animal**, v.7, n. 13, p. 464 – 499, 2014.

POZZATTI, P. N. et al. Aspectos farmacológicos e terapêuticos da utilização da Erva-de-santamaria (*Chenopodium ambrosioides*) em humanos e animais. **PUBVET**, v. 4, n. 35, Ed. 140, Art. 946, 2010.

OECD - **Guideline for the Testing of Chemicals** – no 423: “Acute Oral Toxicity – Acute Toxic Class Method”. (Adopted: 17th December 2001). Disponível em: <http://www.oecd.org/chemicalsafety/risk-assessment/1948370.pdf>>. Acesso em: 4 dez. 2015.

STATISTICA®. Data analysis software system, version 12. STATSOFT, Inc. 2010.

### REALIZAÇÃO

