

## Determinação da toxicidade aguda ( $DL_{50}$ ) do extrato aquoso da *Simarouba versicolor* St. Hill, em camundongos

Fernandes, M.Z.L.C.M.<sup>1</sup>; Fernandes, R.M.<sup>2</sup>; Viana, G.E.N.<sup>2</sup>; Lopes, J.B.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Mestranda do Curso de Ciência Animal –UFPI, e-mail: zenaidemoreno@bol.com.br; <sup>2</sup>Depto. de Morfofisiologia Veterinária- CCA, UFPI, 64049-550, Campus Agrários da Socopo, Teresina –Pi, e-mail: zmoreno@ufpi.br; <sup>3</sup>Depto. de Zootecnia – CCA - UFPI, e-mail: lopesjb@uol.com.br

**RESUMO:** Na medicina popular, diversas plantas têm sido empregadas para tratamento das mais variadas enfermidades, porém o uso, em geral, é feito sem nenhum critério ou comprovação científica. A *Simarouba versicolor* é conhecida popularmente como pau-paraíba, sendo sua casca e frutos usados como anti-helmíntico, contra mordida de cobra, diarreia, disenteria, dispepsia, febre e hemorragia. Objetivou-se com o presente trabalho determinar a toxicidade aguda ( $DL_{50}$ ) do extrato aquoso da casca da *S. versicolor* em camundongos. O material botânico foi coletado em Set/2000 no município de Angical, PI e identificado no Herbário Graziela Barroso/UFPI exsicata nº 14.301/TEPB. A casca foi dessecada em estufa e depois triturada em moinho. O extrato aquoso foi preparado em água destilada a uma concentração de 10% (m/v) e submetido à cocção durante dois minutos. Foram utilizados 120 camundongos adultos de ambos os sexos, peso médio de 26 g, divididos em grupos de dez, machos e fêmeas em igual número, aos quais foram administrados, por meio de sonda intragástrica, 0,1 mL para 10 g de peso corporal (PC) do extrato aquoso e da solução fisiológica (controle), o mesmo volume foi administrado pela via intraperitoneal (IP), computando-se em seguida o número de óbitos durante o período de 72 horas. Determinado o peso seco, calculou-se em mg/kg as doses administradas pelas vias IP e VO que foram de 16, 32, 64, 128, 256 e 88,5, 177, 260,4, 356,4 e 433,7 mg/Kg, respectivamente. A Dose Letal Média ( $DL_{50}$ ) foi calculada através de probitos usando o programa SPSS para windows versão 8.0 / UFPI, obtendo-se os seguintes valores: 68,80 e 185,88 mg/kg com limites de confiança superiores e inferiores de 95,96 - 49,27 e 229,20 - 134,81 mg/kg, respectivamente. Os valores calculados para as  $DL_{50}$  sugerem um potencial de atividade tóxica do extrato. Também, observou-se que a  $DL_{50}$  = 68,80, determinada para via IP é aproximadamente um terço da dose administrada pela VO.

**Palavras-chave:** *Simarouba versicolor*, toxicidade aguda, camundongos e  $DL_{50}$ , plantas medicinais.

**ABSTRACT: Acute toxicity ( $LD_{50}$ ) determination of the *Simarouba versicolor*, St. Hill, aqueous extract in mice.**

In popular medicine, several plants have been used for treatment of the most varied illnesses, however these plants are used without any scientific criterion or test. The *Simarouba versicolor* is known popularly as "pau-paraíba", asher rind and fruits are used as anthelmintic, against snake poison, diarrhea, dysentery, dyspepsia, fever and hemorrhage. This research was developed to determine the acute toxicity in mice ( $LD_{50}$ ) of the aqueous extract of the *S. versicolor* rind. The botanical material was collected in Sept/2000 in municipal district of Angical - PI and identified in the "Herbário Graziela Barroso/UFPI" exsiccate number 14.301/TEPB. The rind was dried in oven and later ground in mill. The aqueous extract was prepared in distilled water with the concentration of 10% (m/v) and submitted to broil two minutes out of 100 and were used twenty adult mice, with weight of 26 g and divided in groups containing males and females in equal number, to which were administered through probe intragastric 0,1 mL for 10 g of body weight (BW) of the aqueous extract and of the physiologic solution (control group), the same volume was administered by the intraperitoneal route (IP), being computed the number of deaths soon afterwards during the period of 72 hours. After determination of dry weight was calculated (mg/kg), the administered doses by IP and VO way, which were 16; 32; 64; 128; 256 and 88.5; 177; 260.4; 356.4 and 433.7 mg/Kg, respectively. The Lethal Average Dose ( $LD_{50}$ ) was calculated through probitos using the program

SPSS for windows version 8.0 / UFPI, and obtained the following values: 68.80 and 185.88 mg/kg with superior trust limits and inferior to 95,96 – 49.27 and 229.20 – 134.81 mg/kg, respectively. This study reveals that the values made calculations for LD<sub>50</sub>, which suggest a toxic potential activity from extract. Also, it was observed that LD<sub>50</sub> = 68.80, determined for IP route is approximately a third of the dose administered by VO.

**Key words:** *Simarouba versicolor*, Acute Toxicity, Mice and LD<sub>50</sub>.

## INTRODUÇÃO

A medicina popular tem usado diversas plantas para tratamento das mais variadas enfermidades, porém o uso, em geral, é feito sem nenhum critério ou comprovação científica. Na maioria dos casos não há preocupação com os efeitos tóxicos das substâncias contidas nos extratos e infusões preparadas com esses vegetais. Felizmente, tem crescido muito a avaliação do potencial terapêutico das plantas, consideradas medicinais e seus metabólitos secundários tais como: os flavonóides, alcalóides, triterpenos, tanino e quassinóides, que têm sido objeto de várias pesquisas. Além disso, muitas plantas já são listadas com possibilidade de aproveitamento terapêutico. Porém um passo fundamental para o uso dessas plantas com segurança é a determinação inicial da Dose Letal Média (DL<sub>50</sub>).

O teste da dose letal média foi desenvolvido em 1927 (Zbiden & Flury-Hoversi, 1981) para a padronização biológica de drogas tóxicas. Desde então foi incorporado ao protocolo de rotina toxicológica de outros compostos químicos clássicos, sendo agora usado nos modelos governamentais, os quais regulam os testes toxicológicos de substâncias químicas. A toxicidade aguda é o efeito que produz uma substância dentro de um curto período de tempo e que resulta da administração de uma única dose ou de várias doses. Serve de base ainda para o estabelecimento de um regime de doses para pesquisas sobre a toxicidade subaguda e crônica, além de fornecer subsídios sobre o modo de ação tóxica da substância-teste. A DL<sub>50</sub> é um teste com um valor estatisticamente derivado da administração de uma única dose de uma substância que pode provocar a morte de 50% dos animais da experiência, podendo ser expressa em grama ou miligrama por quilo de peso vivo (PV) (Brito, 1994).

A *Simarouba versicolor* é uma planta pertencente à família Simaroubaceae, sendo uma espécie brasileira que tem propriedades semelhantes à Cáscara Amarga (*Simarouba amara*). A espécie *S. versicolor* é conhecida popularmente como “pau-paraíba”, descrita como uma árvore de porte regular e elegante, de casca esbranquiçada e meio esponjosa, apresentando folhas alternas, compostas por folíolos luzentes na parte superior e flores verdeongas, em cachos pequenos (Mesquita, 1997).

Os frutos e a casca são empregados como anti-helmíntico e a infusão da casca é usada para mordida de cobra. A casca tem sabor amargo e os insetos não a atacam. Acredita-se que o pó da casca tem atividade vermícida (Grieve, 2000).

Grenand *et al.* (1987), afirmam que a quassina é o principal constituinte químico de *S. versicolor*, determinada em 1960. Como resultado um grande número de outros constituintes foram isolados de diversas espécies de simaroubaceas e sua estrutura elucidada.

Mesquita (1997), através de análise cromatográfica dos extratos clorofórmico e acetato de etila, retirados do lenho de *S. versicolor*, fez o isolamento de dois quassinóides, excelsina e 11-acetato-amarolídio, sendo que a excelsina foi isolada pela primeira vez neste gênero. Arriaga *et al.* (2002) a partir das raízes, galhos e frutos desta planta isolaram, através dos extratos hexânico, clorofórmico, acetato de etila e metanólico, os quassinóides (3,5-7), triterpenóides (8-14) e uma mistura de esteróides (15-17), além do flavonóide canferol e derivados esqualênicos (19).

Considerando o vasto uso desta planta na medicina popular que já teve algumas de suas ações cientificamente testadas, porém, sem nenhum estudo a respeito de sua toxicidade, o presente trabalho teve como objetivo determinar a toxicidade aguda da *Simarouba versicolor* em camundongos.

## MATERIAL E MÉTODO

O experimento foi conduzido no Biotério Experimental do Departamento de Morfofisiologia Veterinária do Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Piauí, no período de agosto/2000 a junho/2001.

O material botânico foi coletado em Set/2000 no município de Angical, PI e identificado no Herbário Graziela Barroso/UFPI exsiccata nº 14.301/TEPB. A casca foi dessecada em estufa de circulação forçada de ar durante três dias a uma temperatura de aproximadamente 55 °C e em seguida, triturada em moinho de bola. O extrato aquoso foi preparado em água destilada numa concentração de 10% (m/v) e submetido a processo de cocção durante dois minutos. Este foi coado em um tecido de algodão para retirar o excesso de pó e depois filtrado (papel de filtro) através de uma bomba de vácuo acoplada a um frasco

kitasato, sendo posteriormente acondicionado em vidro âmbar e mantido sob refrigeração (entre 4 e 8 °C) até o momento de seu uso.

Neste trabalho foram utilizados 120 camundongos (*Mus musculos*), adultos, ambos os sexos, peso médio de 26 g, divididos em grupos de dez animais contendo machos e fêmeas em igual número. Para cada via de administração, constituiu-se um grupo controle que recebeu solução salina a 0,9% (NaCl). Pela via oral administraram-se com auxílio de uma sonda metálica o volume de 0,1 mL para 10g de peso corporal (PC) do extrato aquoso e da solução controle, sendo usado o mesmo volume pela via intraperitoneal (IP), conforme Brito (1994).

No dia do ensaio farmacológico retirou-se apenas a ração pela manhã, de forma que no momento da administração dos extratos os animais estavam com seis horas de jejum. Após a administração os animais foram mantidos com água e alimento "ad libitum" e observados durante um período de 72 horas, registrando-se os óbitos ocorridos neste período.

Para determinar a concentração em mg/Kg das doses administradas (Tabela 1), determinou-se o peso seco do extrato. Este foi obtido retirando-se três alíquotas de 1mL do extrato aquoso, estas foram colocadas em frascos previamente pesados e desengordurados, posteriormente levados ao dessecador sob vácuo até a obtenção de um peso constante.

## RESULTADO E DISCUSSÃO

O teste da toxicidade aguda com o extrato aquoso da *S. versicolor* em diferentes doses administradas pela via IP e VO, permitiu a determinação de duas doses letais medianas (Tabelas 2, 3 e Gráfico 1.).

O peso seco médio obtido para o extrato aquoso na concentração de 10% foi de 8,6 mg/mL e a partir deste resultado relacionou-se a massa obtida em 1mL com o volume total do extrato aquoso.

Quando comparados ao controle, os animais, que receberam o extrato aquoso administrado pela via intraperitoneal (Tabela 2), apresentaram durante o período de 72 horas, um percentual de mortalidade que aumentou de forma gradativa, resultado não observado na via oral (Tabela 3), o que parece indicar absorção irregular por esta via de administração, talvez

**TABELA 1.** Doses em mg/kg do extrato aquoso da *Simarouba versicolor*.

Via de Administração	Grupos de doses (mg/Kg)				
	1	2	3	4	5
Intraperitoneal	16,0	32,0	64,0	128,0	256,0
Oral	88,5	177,0	260,4	356,4	433,7

**TABELA 2.** Determinação da DL<sub>50</sub> do extrato aquoso da *Simarouba versicolor* em camundongos, via intraperitoneal.

Grupos	Dose mg/Kg	Nº de Animais	Nº de Óbitos
Controle (Sol. Salina)	-	10	00
Grupo	16,0	10	00
Experimental	32,0	10	01
	64,0	10	05
	128,0	10	08
	256,0	10	10
Limite de Confiança para DL <sub>50</sub> (α= 0,05)			
DL <sub>50</sub> média = 68,80			
Limite Superior DL <sub>50</sub> =95,96			
Limite Inferior DL <sub>50</sub> = 49,27			

em decorrência de vários fatores tais como: a taxa de esvaziamento gástrico, o pH gastrintestinal e a concentração enzimática. Considerando ainda que a substância tenha sido absorvida no estômago ou no intestino passará primeiramente pelo fígado (Spinosa et al. 2002). Desta forma, acredita-se que o extrato tenha sido biotransformado em sua primeira passagem pelo fígado, reduzindo seu potencial toxicológico.

No teste considerado, observa-se que as doses administradas pela via oral não expressam uma razão constante, uma vez que no início do experimento as doses empregadas não foram capazes de induzir 100% de mortalidade. Então, trabalhou-se aumentando gradativamente as doses administradas até chegar a um percentual máximo de mortalidade,

**TABELA 3.** Determinação da DL<sub>50</sub> do extrato aquoso da *Simarouba versicolor* em camundongos, via oral.

Grupos	Dose mg/Kg	Nº de Animais	Nº de Óbitos
Controle (Sol. Salina)	-	10	00
Grupo	88,5	10	00
Experimental	177,0	10	06
	260,4	10	08
	356,7	10	08
	433,7	10	10
Limite de Confiança para DL50 (α= 0,05)			
DL50 média = 185,88			
Limite Superior DL50 =229,20			
Limite Inferior DL50 = 134,82			

visando atingir pelo menos cinco pontos para determinar a  $DL_{50}$ . Observa-se ainda, nas tabelas 2 e 3 que as concentrações das menores doses não induziram morte, comportando-se de forma semelhante ao grupo controle.

Na Figura 1, observa-se que a  $DL_{50}$  calculada para a via IP (68,8 mg/kg) corresponde aproximadamente, a um terço da  $DL_{50}$  encontrada para a via VO (185,78 mg/kg), isto pode ser devido a uma absorção mais regular da via intraperitoneal, pois segundo Gilman *et al.* (2003), a cavidade peritoneal oferece grande superfície de absorção a partir da qual as substâncias entram rapidamente na circulação.

A determinação da toxicidade aguda de *S. versicolor* se fez necessária uma vez que já existem vários estudos sobre sua atividade terapêutica, porém percebe-se que os trabalhos realizados para isolamento de princípios ativos não empregam o extrato aquoso, e sim, extratos etanólicos, clorofórmicos, metanólicos entre outros. No entanto, sabe-se que o uso popular desta planta é feito na forma de extrato aquoso. Ghosh *et al.* (1977) pesquisando plantas com atividade antitumoral isolaram em *S. versicolor* os princípios ativos beta-sitosterol, epilúpeo, amorolide-11-acetato, amarolide-2,11-diacetato, ailanthionone e glaucarubinone. Segundo os autores, as atividades citotóxica e antileucêmica dos extratos de *S. versicolor* são devido, principalmente, ao glaucarubinone.

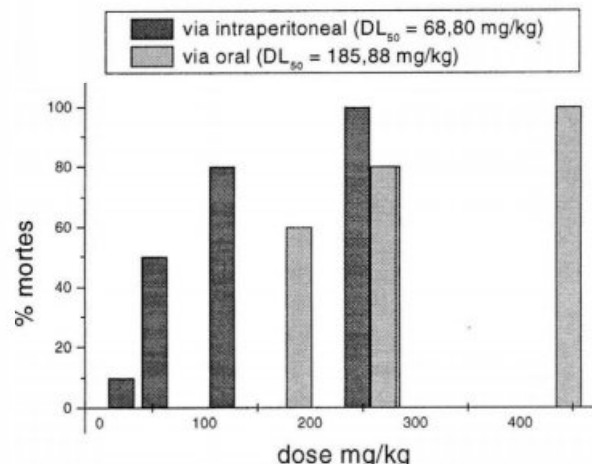
O'Neil *et al.* (1988), testando extratos preparados com frutos da *S. amara*, determinaram atividade *in vitro* contra *Plasmodium falciparum* e atividade *in vivo* contra *Plasmodium berghei* em camundongos. Os autores identificaram quatro quassinóides ativos: o ailanthinone, 2'-acetylglaucarubinone, glaucarubinone e holacanthone. Embora tenham trabalhado com espécie diferente os princípios ativos isolados são semelhantes aos de *S. versicolor*, reforçando assim a importância de se pesquisar a atividade toxicológica desta planta.

Na revisão de literatura encontrou-se apenas uma citação sobre a  $DL_{50}$  feita por Crosby (1971) *apud* Grenand *et al.* (1987), usando um quassinóide isolado da *Quassia amara* (Simaroubaceae), sendo registrado uma  $DL_{50}$  de 546 mg/Kg para a VO e de 138 mg/kg para via intravenosa em ratos.

## CONCLUSÃO

Os valores calculados para as  $DL_{50}$  = 68,80 mg/Kg e 185,88 mg/Kg sugerem um potencial de toxicidade do extrato aquoso de *S. versicolor* em camundongos. Ainda, indicam que a  $DL_{50}$  determinada para a via IP é aproximadamente um terço da dose administrada pela VO.

**FIGURA 1** - Percentual de mortalidade em relação às doses administradas pelas vias IP e VO do extrato aquoso da *Simarouba versicolor* em camundongos.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARRIAGA, A.M.C., MESQUITA, A.C., POULIQUEN, Y.B.M. *et al.* Chemical constituents of *Simarouba versicolor*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.74, n.3, p.415-24, 2002.
- BRITO, A.S. Manual de ensaios toxicológicos *in vivo*. São Paulo: Ed. da Unicamp, 1994, 122p.
- GILMAN, A.G., RHARDMAN, J.G., LIMBIIRD, L.E. Goodman e Gilman: as bases farmacológicas da terapêutica. 10 ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana do Brasil, 2003. 1671p.
- GHOSH, P.C., LARRAHONDO, J.E., LeQUENSE, P.W. *et al.* Antitumor plants. IV. Constituintes of *Simarouba versicolor*. **Lloydia**, v.40, p.364-9, 1977.
- GRELAND, P., MORETTI, C., JACQUEMIN, H. **Pharmacopées traditionnelles en Guyane**. Paris: Editions de Portom, 1987. v.108, p.307-405
- GRIEVE, M.A. Modern herbal. Disponível em: <[www.bonical.com/botanical/mgm/s/simarou50.html](http://www.bonical.com/botanical/mgm/s/simarou50.html)>. Acessado em 10 de julho de 200
- MESQUITA, A. G. **Contribuição ao conhecimento químico de plantas do Nordeste do Brasil: *Simarouba versicolor* (Simaroubaceae)**. 1997. 119p. Dissertação (Mestrado em Química Orgânica) Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.
- O'NEILL, M.J., BRAY, D.H., BOARDMAN, P. *et al.* Plants as sources of antimalarial drugs, Part 6: Activities of *Simarouba amara* fruits. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 22, p.183-90, 1988.
- SPINOSA, H. S., GÓRNIK, S. L., BERNARDI, M.M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 3 ed. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002, 752p.
- SPSS for Windows. Release 8.0.0.1 Standard Versions. Copyright© SPSS Inc., 1989-1999.
- ZBIDEN, G., FLURY-HOVERSI, M. Significance of the  $LD_{50}$ -Test for the toxicological evaluation for chemical Substance. **Archives of Toxicology**, v.47. p.77-99. 1981.