



# Avaliação da toxicidade aguda do extrato aquoso de *Apeiba tibourbou* Aubl (Tiliaceae), em camundongos e ratos

Luiz Carlos da Cunha<sup>1\*</sup>; Dorcas Fernandes dos Anjos Melo<sup>1</sup>; Marcelo Elias Pereira<sup>1</sup>; Davi de Souza Melo<sup>2</sup>; Leila Leal Parente<sup>1</sup>; Marina Alves Coelho Silva<sup>1</sup>; Edemilson Cardoso da Conceição<sup>1</sup>; Lidiane Quirino da Silva Gonzaga<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de Goiás

<sup>2</sup> Faculdade União de Goyases

## RESUMO

O teste de toxicidade aguda estima a dose letal mediana ( $DL_{50}$ ) e classifica os toxicantes quanto à periculosidade, inclusive para extratos de plantas. A espécie *Apeiba tibourbou* Aubl (Tiliaceae), conhecida como pau-de-jangada ou pente-de-macaco, é empregada popularmente como antirreumática, antiespasmódica e expectorante, embora seja desconhecida quanto aos seus efeitos tóxicos. Assim, o objetivo desta pesquisa foi investigar o potencial de toxicidade aguda do extrato aquoso de *A. tibourbou* (EAT), administrado por gavagem, em camundongos fêmeas e ratos fêmeas, seguindo as diretrizes OECD *Guideline* 423/2001 e o *screening* hipocrático. Os camundongos fêmeas foram divididos em três grupos de três animais cada (C1 – controle, água filtrada, 0,25 mL; C2 – 300 mg/kg de EAT; e C3 – 2000 mg/kg de EAT). Os ratos fêmeas foram divididos em dois grupos de três animais cada (R1 – controle, água filtrada, 0,5 mL; e R2 – 2000 mg/kg de EAT). O grupo C2 consumiu 28% de água a mais que o grupo C1 ( $p < 0,05$ ); o grupo C3 produziu 31% de excretas a mais que o grupo C1 ( $p < 0,0001$ ); o grupo R2 reduziu o consumo de ração e a produção de excretas em 20% e 28% em relação ao grupo R1 ( $p < 0,05$ ), respectivamente. No *screening* hipocrático, nenhuma alteração motora e/ou sensorial foi observada. Não houve morte nem estado moribundo de nenhum animal. Conclui-se que o EAT possui  $DL_{50}$  estimada maior que 2000 mg/kg (Classe 5 de toxicidade, segundo o Globally Harmonized System – GHS, ONU), demonstrando reduzido potencial de toxicidade aguda.

*Palavras-chave:* Toxicidade Aguda. *Apeiba tibourbou*. *Screening* Hipocrático.

## INTRODUÇÃO

A diversidade na vegetação do cerrado brasileiro possibilita encontrar várias espécies com potencial econômico, as quais são utilizadas desde fins medicinais, nutricionais até ornamentais. Segundo Azevedo et al. (2005), a família Tiliaceae possui cerca de 450 espécies, sendo 65 encontradas no Brasil. A espécie botânica *Apeiba tibourbou* Aubl é encontrada na América Central e região do cerrado Brasileiro, conhecida como pau-de-jangada ou pente-de-macaco. É uma árvore que atinge cerca de 10 a 15 m de altura com grandes folhas simples, alternas e estipuladas. Seu período de floração é extenso, encontrando na mesma árvore botões florais até frutos maduros. As inflorescências paniculiformes são utilizadas na arborização e ornamentação de praças e avenidas, principalmente devido à beleza de suas folhas (Matos et al., 2008) e também pela exuberância de seus frutos.

Apesar do vegetal *Apeiba tibourbou* ser completamente desconhecido quanto aos seus efeitos tóxicos, é empregado popularmente como antirreumático, bem como antiespasmódico (Lasure et al., 1994).

A *Apeiba tibourbou* Aubl, espécie pertencente à família Tiliaceae, é conhecida no Brasil como pau-de-jangada ou pente-de-macaco, que se distribui desde o Norte do Brasil até Minas Gerais e São Paulo (Lorenzi, 2000), sendo encontrada também nas matas de restingas do Maranhão (Girnos, 1993), nas matas ripárias do Cerrado do Centro-Oeste do Brasil (Paula et al., 1996) e na Mata Atlântica (Barbosa et al., 2005). A entrecasca desse vegetal é utilizada popularmente no preparo de anti-helmínticos e estimulante estomacal.

Devido à sua riqueza de substâncias mucilaginosas, flavonóides e compostos fenólicos, como o ácido rosmarínico, preparações medicinais de *Apeiba tibourbou* Aubl são utilizadas popularmente como estimulante estomacal, tratamento de processos inflamatórios, espasmos e afecções respiratórias (SEPLANTEC, 1979; Lasure et al., 1994). Adicionalmente, alguns dos compostos possuem propriedades antioxidantes (flavonóides, taninos) e, principalmente, o ácido rosmarínico, que possui atividade

antiinflamatória, adstringente, antioxidante, e outras (Petersen & Simmonds, 2003; Matsumoto et al., 2009), o que tem motivado padronizar extratos aquosos secos de tal espécie vegetal, para estudos de atividades antioxidantes e hepatoprotetoras.

Assim, visando observar possíveis sinais de toxicidade e estimar a  $DL_{50}$ , o objetivo deste estudo foi avaliar a toxicidade aguda do extrato aquoso padronizado (em 6,5% de ácido rosmarínico) de *Apeiba tibourbou* Aubl, de acordo com o *Acute Toxic Class Method* (OECD 2001) para teste de dose aguda tóxica (*Guideline 423*), em camundongos *Swiss* fêmeas e ratos *Wistar*, fêmeas.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Preparo do vegetal

As folhas de *A. tibourbou* foram coletadas de modo sistemático numa área de cultivo do Instituto do Trópico Sub-Úmido da Universidade Católica de Goiás (Goiânia-GO), no mês de fevereiro de 2008 (coordenadas: S16°44'10,8" – WO49°12'47,4"). O material foi identificado pelo Prof. Dr. José Realino de Paula (UFG), e a exsicata depositada no Herbário da Universidade Federal de Goiás (UFG), sob o nº 40.119. O extrato seco das folhas de *Apeiba tibourbou* Aubl (EAT), padronizado com 6,5% de ácido rosmarínico, foi preparado no Laboratório de Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação de Bioprodutos (PD&I) da UFG, utilizando-se dos processos de secagem por nebulização/aspersão (Spray Dryer) (Couto, 2011).

### Animais

Foram utilizados 9 camundongos da linhagem *Swiss (Mus musculus)* fêmeas, pesando 35 a 42g; e 6 ratos fêmeas *Wistar (Rattus norvegicus)* pesando  $200 \pm 25$  g, todos provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Goiás (UFG). No período de adaptação e de experimentação, os animais foram mantidos em gaiolas coletivas e, em salas separadas por espécies; com controle de temperatura a  $25 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ , manutenção de ciclo diário claro/escuro de 12 h, recebendo ração padrão da marca Purina® e água filtrada à vontade. Somente na fase de experimentação é que os animais ficaram em jejum. Os ratos fêmeas ficaram em jejum de comida por 5 h antes da administração (o alimento foi restituído 3 h após a administração); já os camundongos fêmeas ficaram em jejum de ração por 3 h, com restituição da mesma 1 h após administração do extrato da planta ou do controle.

O protocolo experimental foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais/CEUA da Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação da Universidade Federal de Goiás (UFG), sob o nº 177/2011. Todos os animais foram tratados em conformidade com os princípios definidos pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), obedecendo, também, aos preceitos da legislação brasileira (Lei Arouca - Lei nº 11794, de 8 de outubro de 2008).

## Desenho experimental

A dose estabelecida para estimar a  $DL_{50}$  (dose letal mediana) está de acordo com *Acute Toxic Class Method* (OECD, 2001) para teste de dose aguda tóxica (*Guideline 423*). Este guia da OECD estabelece 4 níveis de dose (5, 50, 300 e 2000 mg/kg – podendo chegar a 5000 mg/kg). Neste experimento, os ensaios foram iniciados em camundongos com a dose de 300 mg/kg, por serem desconhecidas informações acerca de doses letais para o extrato seco padronizado da planta, como preconiza o citado guia. Com a experiência prévia nos camundongos fêmeas, conduziu-se o teste para ratos fêmeas com a dose limite de 2000 mg/kg, conforme os procedimentos descritos na sequência.

Os ensaios em camundongos foram realizados em três grupos com três animais cada. Um controle (C1), recebendo água filtrada; e dois grupos recebendo doses de 300 (C2) e 2000 mg/kg (C3) de EAT, respectivamente. No experimento utilizando ratos fêmeas, dois grupos de três animais foram avaliados, um controle (R1), recebendo água filtrada e outro tratado com dose de 2000 mg/kg (R2) de EAT.

O extrato foi diluído em água filtrada e administrado por gavagem (p.o) em dose única para todos os grupos tratados, enquanto os grupos controle de ambos os ensaios receberam apenas o veículo, água filtrada por gavagem em uma única administração (sendo 0,25 mL para os camundongos e 0,50 mL para os ratos).

### Parâmetros avaliados

Massa corporal; consumo de água; ração e produção de excretas foram avaliados durante todo experimento. O "screening" hipocrático foi feito por meio de observações individuais dos animais nos períodos de 30 min, 1, 2, 4, 8, 12 e 24 h, e a cada 24 h por 14 dias. Foram avaliados o estado de consciência e a disposição geral, a coordenação motora, o tônus muscular, os reflexos e a atividade do sistema nervoso autônomo. Ao final, no 15º dia, os animais foram pesados, anestesiados com xilazina/cetamina (Flecknell, 1996; Kohn, 1997) e eutanasiados por deslocamento cervical; os órgãos foram observados macroscopicamente.

### Massa relativa dos órgãos

Após eutanásia dos animais, o fígado e os rins foram retirados e pesados. O cálculo da massa relativa dos órgãos de cada animal foi realizado dividindo-se o peso de cada órgão (g) pelo peso corporal de cada animal no dia da coleta, e multiplicando-se o resultado por 100. O resultado foi expresso em g/100 g de peso vivo (g/100g p.v.).

### Análise estatística

Aos dados obtidos aplicaram-se os testes de análise de variância (ANOVA *one-way*) para os camundongos fêmeas, seguido de teste de Tukey. Para a comparação entre os dois grupos de ratos fêmeas, utilizou-se o teste t de Student, em software GraphPad Prism®. Consideraram-se

valores significativos para  $p < 0,05$  e altamente significativos para  $p < 0,0001$ .

## RESULTADOS

Não houve morte nem qualquer outro sinal de toxicidade nos animais controle ou tratados com as doses de 300 e 2000 mg/kg durante todo o estudo. No ensaio com camundongos (Tabela 1), O consumo de água aumentou em 27,99% no grupo C2 em relação ao grupo C1 ( $p < 0,05$ ); enquanto o grupo C3 produziu 31,10% de excretas a mais que o grupo C1 ( $p < 0,0001$ ). No *screening* hipocrático, nenhuma alteração motora e/ou sensorial foi observada (dados não mostrados).

Tabela 1 – Média dos valores obtidos no consumo de água, consumo de ração e produção de excretas, avaliados por 14 dias, em camundongos fêmeas, nos grupos controle (C1) e tratados com EAT nas doses de 300 mg/kg (C2) e 2000 mg/kg (C3) por massa corporal de animal.

	Consumo de água (mL/dia/grupo)	Consumo de ração (g/dia/grupo)	Produção de excretas (g/dia/grupo)
Controle (C1)	19,11 ± 1,52	14,25 ± 0,50	8,39 ± 0,16
300 mg/kg (C2)	24,46 ± 1,76 <sup>a</sup>	13,03 ± 0,48	7,57 ± 0,10
2000 mg/kg (C3)	18,75 ± 1,20	14,37 ± 0,52	11,0 ± 1,30 <sup>b</sup>

Os valores foram expressos como Média ± E.P.M. (n= 3 animais em cada grupo). ; <sup>a</sup>  $p < 0,05$  comparado ao grupo C1 e <sup>b</sup>  $p < 0,0001$  comparado ao grupo C1.

Na avaliação feita em ratos fêmeas com a dose administrada de 2000 mg/kg (grupo R2) de EAT, o consumo de ração e a produção de excretas foram reduzidas em 20,24% e 28,40%, respectivamente, em relação ao controle (Tabela 2). Os órgãos, fígado ou rins, não mostraram alterações aparentes (dados não mostrados). Em observação clínica dos ratos fêmeas durante o *screening*, o grupo tratado, R2, demonstrou alteração em relação à resposta ao toque e ao aperto da cauda com mesma intensidade de evento (escore 1) (Tabela 3), durante as primeiras duas horas, dez e quatorze dias após o tratamento com EAT. Houve redução da produção de fezes a zero nas duas horas iniciais, assim como no décimo dia, passando a rara no sétimo dia após administração do EAT (Tabela 3). Entretanto, ao comparar a produção de fezes com o consumo de água no grupo tratado com EAT, R2, observou-se uma relação proporcional com ausência de fezes associada à redução no consumo de água. Ou seja, nas primeiras 24 h e no décimo dia depois do tratamento com EAT, os animais do grupo R2 (2000 mg/kg) consumiram menos água e por conseguinte não defecaram no período do *screening* de 10 a 15 minutos de análise.

Os órgãos analisados (fígado e rins) tanto para camundongos fêmeas quanto para os ratos fêmeas, se mostraram inalterados macroscopicamente, assim como a massa relativa das mesmas vísceras de todos os animais (tabelas 4 e 5).

Tabela 2 - Média dos valores obtidos no consumo de água, consumo de ração e produção de excretas, avaliados por 14 dias, em ratos fêmeas, nos grupos controle (R1) e tratado com EAT na dose de 2000 mg/kg por massa corporal de animal (R2).

	Consumo de água (mL/dia/grupo)	Consumo de ração (g/dia/grupo)	Produção de excretas (g/dia/grupo)
Controle (R1)	40,19 ± 2,10	28,41 ± 1,28	16,44 ± 1,45
2000 mg/kg (R2)	40,36 ± 1,74	22,66 ± 0,26 <sup>a</sup>	11,77 ± 0,37 <sup>a</sup>

Valores expressos como Média ± E.P.M. (n= 3 animais em cada grupo). <sup>a</sup>  $p < 0,05$  comparado ao grupo R1.

Tabela 3 – Parâmetros relacionados ao *screening* hipocrático, após administração oral em dose única de EAT, em ratos fêmeas, na dose de 2000 mg/kg(R2). O controle (R1) recebeu água por gavagem.

Parâmetros avaliados	Grupo (média n=3)	Tempo (h)						Tempo (dias)				
		0	0,5	1	2	4	8	24	3	7	10	14
Atividade Geral	R1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
	R2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Resposta ao toque	R1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
	R2	2	2	2	1	2	2	2	2	2	1	1
Resposta ao aperto da cauda	R1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
	R2	2	2	2	1	2	2	2	2	2	1	1
Defecação	R1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
	R2	2	2	2	0	2	2	2	2	1	0	2
Morte	R1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	R2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Score: 4: intenso; 3: moderado; 2: pouco; 1: raro e 0: ausente.

Tabela 4 – Massa relativa dos órgãos (fígado e rins), após eutanásia dos camundongos fêmeas tratados com EAT em dose única de 300 (C2) e 2000 mg/kg (C3). O controle (C1) recebeu água filtrada. Dados expressos como Média ± E.P.M. (n= 3 animais em cada grupo).

Grupos	Fígado (g/100g p.v)	Rim direito (10 <sup>-1</sup> g/100g p.v)	Rim esquerdo (10 <sup>-1</sup> g/100g p.v)
Controle (C1)	5,38 ± 1,42	7,30 ± 0,38	6,93 ± 0,25
300 mg/kg (C2)	4,96 ± 0,48	6,70 ± 0,13	6,66 ± 0,15
2000 mg/kg(C3)	5,58 ± 1,64	5,30 ± 0,03	5,33 ± 0,08

Tabela 5 – Massa relativa dos órgãos (fígado e rins), após eutanásia ratos fêmeas tratados com EAT em dose única de 2000 mg/kg (R2). O controle (R1) recebeu água filtrada. Os valores foram expressos como Média ± E.P.M. (n= 3 animais em cada grupo).

Grupos	Fígado (g/100g p.v)	Rim direito (g/100g p.v)	Rim esquerdo (g/100g p.v)
Controle (R1)	9,39 ± 1,05	1,30 ± 0,38	1,27 ± 0,29
2000 mg/kg (R2)	8,98 ± 0,46	1,20 ± 0,08	1,18 ± 0,12

## DISCUSSÃO

A avaliação de toxicidade aguda é uma metodologia amplamente empregada para verificar e classificar substâncias quanto à sua capacidade de provocar danos agudos aos organismos vivos, em altas doses, especialmente injúrias anátomo-patológicas e letalidade, e podem oferecer contribuição para estabelecer parâmetros de segurança – juntamente com outros dados de toxicidade – para a saúde humana (Valadares, 2006; Zatta et al., 2009). Quanto aos vegetais, este método é útil para identificar a toxicidade que o mesmo possa apresentar e com isto minimizar o equívoco da população em acreditar que produtos naturais são desprovidos de efeitos tóxicos ou adversos (Lapa, 1999; Lapa, 2001; Marlière et al., 2008; Silveira et al., 2008; Cunha et al., 2009).

Em complemento aos estudos de toxicidade em animais, estudos epidemiológicos e laboratoriais têm demonstrado que produtos vegetais podem exercer efeitos tóxicos pela produção de metabólitos secundários, causando desde resistência vascular até teratogenicidade em embriões de roedores (Lather, 2011; Ouedraogo, 2012). Testes realizados em roedores detectaram efeito carcinogênico e hepatotóxico dos vegetais ricos em cumarina (Lacy & O’Kennedy, 2004). A *Jatropha gossypifolia* L. é um exemplo desse aspecto (terapêutico/tóxico): rica em diterpeno (jatrona) com diversas atividades terapêuticas e biológicas, mas seus testes toxicológicos revelaram efeitos purgativos e depressores dos sistemas respiratório e cardiovascular, além de uma importante toxicidade crônica (Mariz et al., 2008; Mariz et al., 2010).

Violante (2008), estudando o potencial terapêutico e toxicológico de algumas espécies vegetais do cerrado da Região Centro-Oeste, verificou a presença de alguma atividade citotóxica nos vegetais estudados. A toxicidade dos produtos fitoterápicos não é frequentemente avaliada, sendo relativamente inexplorada, contrastando com intensas pesquisas feitas na descoberta e produção de drogas convencionais.

Turolla & Nascimento (2006), selecionaram dez plantas medicinais e avaliaram seus perfis de toxicidade aguda, subaguda e crônica por meio de bancos de dados, encontrando resultados de DL<sub>50</sub> em apenas cinco plantas, com a utilização de metodologias variadas e, com presença de algum grau toxicidade. Com efeito, a escassez de dados sobre avaliação de toxicidade reforça a necessidade de estudos dessa natureza que trazem grande contribuição para utilização segura desses produtos pela população humana e animal, além de detectar diferenças significativas no perfil farmacocinético e farmacológico/tóxico, bem como os efeitos sinérgicos/aditivos (Ouedraogo, 2012; Wills et al., 2012).

Os medicamentos oriundos de plantas são amplamente utilizados pela população mundial e possuem uma extensa história no emprego à prevenção e tratamento de doenças, desde antes de Cristo (Ouedraogo et al., 2012). Entretanto, tais produtos devem ser avaliados por meio de testes toxicológicos capazes de estabelecer intervalos de segurança no uso, ao estimar DL<sub>50</sub> e outros ensaios de toxicidade. Nesta avaliação podem surgir reações adversas, úteis para informar sobre os riscos ou inseguranças no uso do vegetal (Tchamadeu et al., 2011).

A *Apeiba tibourbou* Aubl é pouco utilizada pela população, e estudos referentes aos riscos pela via oral, e estudos farmacológicos são escassos. A estimativa da segurança dos medicamentos e de produtos vegetais por via oral, é realizada em animais de experimentação, visando simular situação de uso/exposição humana. Uma boa correlação tem sido relatada entre roedores (ratos ou camundongos) e o homem, quando do uso nos animais experimentais (roedores), de doses elevadas ou limites e doses próximas às de uso humano sendo, portanto, úteis na investigação dos efeitos agudos tóxicos (Tchamadeu et al., 2011).

Para produtos candidatos a fitoterápicos, deverão ser utilizadas, nos experimentos com animais, doses suficientes para se observar efeito adverso e estimar a DL<sub>50</sub> (Brasil, 2004), enquanto a OECD preconiza uso de dose limite de 2000 mg/kg, que é suficiente para estimar DL<sub>50</sub> e classificar o produto na GHS (*Globally Harmonised System*); no caso do EAT foi a classe 5.

A literatura tem demonstrado numerosos estudos de extratos de plantas com algum efeito terapêutico, o que torna cada vez mais necessário estabelecer parâmetros de toxicidade (Shahjahan, 2004; Tchamadeu et al., 2011). No entanto, a planta em estudo não é considerada um fitoterápico, mas tem seu emprego popular como antirreumática e antiespasmódica (Lasure et al., 1994), e os dados obtidos são úteis para fornecer mais informações que reforcem a terapêutica racional e ampliem as margens de segurança de produtos de origem vegetal.

No estudo de toxicidade oral aguda, os animais que receberam doses de 300 mg/kg e 2000 mg/kg de EAT não exibiram qualquer sinal de efeito adverso após 14 dias de observação. As alterações detectadas pelo uso de EAT em todos os animais foram pouco relevantes quando comparadas aos seus controles.

No *screening* hipocrático, ensaio de triagem prévia útil na avaliação das atividades fármaco-toxicológicas (Lucio et al., 2000, Cunha et al., 2009), não foram detectadas alterações na atividade geral, consciência e, sensibilidade entre as espécies (ratos e camundongos), com rara alteração do sistema nervoso autônomo quando da ausência de fezes durante 24 h e no décimo dia após tratamento no grupo de ratos, com possível presença de constipação leve. A necropsia dos animais não evidenciou nenhuma alteração macroscópica que justificasse o estudo histopatológico dos órgãos selecionados para análise (rins e fígado).

Em conclusão, de acordo com a metodologia empregada, o extrato aquoso de *Apeiba tibourbou* não produziu sinais de intoxicação e nem alterações fisiológicas, motoras ou comportamentais nas doses administradas (p.o.) aos animais. Ou seja, possui baixa toxicidade aguda. No entanto, recomendam-se estudos complementares, inclusive toxicidade subaguda para avaliações mais detalhadas, incluindo análise histopatológica e avaliação dos parâmetros bioquímicos e histopatológicos, para melhor entendimento da toxicidade em doses repetidas.

O valor DL<sub>50</sub> para a administração oral do extrato aquoso de *Apeiba tibourbou* Aubl foi estimado em maior que 2000 mg/kg, podendo ser enquadrada na Classe 5 de toxicidade, segundo a GHS, sendo considerada de baixa toxicidade.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG), à Fundação de Apoio à Pesquisa da UFG (FUNAPE) e ao Biotério Central da UFG.

## ABSTRACT

*Assessment of acute toxicity of water extract from Apeiba tibourbou Aubl (Tiliaceae) in mice and rats*

**The acute toxicity test estimates the median lethal dose (LD<sub>50</sub>) against a given test organism and classifies toxic substances, including plant extracts, according to their intrinsic toxicity. *Apeiba tibourbou* Aubl (Tiliaceae), a tree known in Brazil as “raft-wood” or “monkey’s comb”, is popularly used as an antirheumatic, antispasmodic and expectorant agent, although its toxic effects are unknown. The objective of this research was therefore to investigate the potential acute toxicity to female mice and rats of a water extract of *A. tibourbou* leaves (WET), administered by gavage, following OECD Guideline 423/2001 and hippocratic screening. The female mice were divided into three groups of three animals each (C1 – control, given 0.25 mL filtered water; C2 – treated with 300 mg/kg WET; C3 – with 2000 mg/kg WET). The female rats were divided into two groups of three animals each (R1 – control, given 0.5 mL filtered water; R2 – 2000 mg/kg WET). Group C2 consumed 28% more water than group C1 ( $p < 0.05$ ); group C3 produced 31% more excreta than group C1 ( $p < 0.0001$ ); group R2 reduced food consumption and excretion by 20% and 28%, relative to group R1 ( $p < 0.05$ ), respectively. During the Hippocratic screening, no motor and/or sensorial alterations were observed. Neither death nor symptoms of impending death were observed in any animals. It can be concluded that WET has an estimated LD<sub>50</sub> greater than 2000 mg/kg (Class 5 toxicity, according to the UN Globally Harmonized System – GHS), demonstrating low acute toxicity potential.**

**Keywords:** Acute toxicity. *Apeiba tibourbou*. Hippocratic screening.

## REFERÊNCIAS

- Azevedo MAM, Valente MC. Tiliaceae da Mata de Encosta do Jardim Botânico do Rio de Janeiro e Arredores, Rio de Janeiro, RJ. *Arq Mus Nac*. 2005;63(4):631-7.
- Barbosa MRV, Lyra-Lemos RP, Thomas WW, Rodal MJN, Carvalho AM. Flora da estação ecológica de Murici, Alagoas. *Rev Bras Sementes*. 2005;20(2):108-11.
- Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Resolução RE nº 90, de 16 de março de 2004. Dispõe sobre o Registro de Medicamentos Fitoterápicos [Internet]. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária; 2004. Disponível em: [www.anvisa.gov.br](http://www.anvisa.gov.br).
- Couto RO. Obtenção e caracterização do extrato seco padronizado da *Rosmarinus officinalis* L.(Lamiaceae). [Dissertação]. Goiânia: Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Goiás; 2011.
- Cunha LC, Azeredo FS, Mendonça ACV, Vieira MS, Pucci LL, Valadares MC, Freitas HOG, Sena AAS, Lino Junior RS. Avaliação da toxicidade aguda e subaguda, em ratos, do extrato etanólico das folhas e do látex de *Synadenium umbellatum* Pax. *Rev Bras Farmacogn*. 2009;19(2A):403-11.
- Flecknell, P. Laboratory animal anesthesia. New York: Academic Press; 1996.
- Girnos EC. Morfologia, anatomia e aspectos da germinação de *Apeiba tibourbou* Aubl. (Tiliaceae). [Tese]. Rio Claro: Faculdade de Ciências Biológicas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”; 1993.
- Kohn, DF. Anesthesia and analgesia in laboratory animals. New York: Academic Press; 1997.
- Lacy A, O’Kennedy R. Studies on Coumarins and Coumarin-Related Compounds to Determine their Therapeutic Role in the Treatment of Cancer. *Curr Pharm Des*. 2004;10(30):3797-811.
- Lapa AJ. Farmacologia e toxicologia de produtos naturais. In: Simões CMO. (Ed). *Farmacognosia da planta ao medicamento*. Florianópolis: Editora da Universidade Federal de Santa Catarina; 1999. P. 181-96.
- Lapa AJ, Caden S, Lima-Landman MTR, Lima TCM. Métodos de avaliação da atividade farmacológica de plantas medicinais. Salvador: Sociedade Brasileira de Farmacologia e Terapêutica Experimental (SBFTE); 2001.
- Lasure A, Poel BV, Pieters L, Clayes M, Gupta M, Berghe DV, Vlietinck A. Complemente inhibiting propertiers of *Apeiba tibourbou*Aubl. *Planta Médica*, Stuttgart. 1994; 60: 276-277.
- Lather A, Valecha R, Sharma K, Garg M. World wide potential of plants causing teratogenicityan overview. *Spatula DD*. 2011;1(2):101-6.
- Lorenzi H. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 3. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum; 2000.
- Lucio EMRA, Rosalen PL, Sharapin N, Souza Brito ARM. Avaliação toxicológica aguda e creening hipocrático da epilsopilosina, alcalóide secundário de *Pilocarpus microphyllus* Stapf. *Rev Bras Farmacogn*. 2000;9(10):23-5.
- Mariz SR, Araújo MST, Cerqueira GS, Duarte W, Diniz MFFM, Medeiros IA. Avaliação histopatológica em ratos após tratamento agudo com o extrato etanólico de partes aéreas de *Jatropha gossypifolia* L. *Rev Bras Farmacogn*. 2008;18(2):213-6.
- Mariz SR, Borges ACR, Diniz MFFM, Medeiros IA. Possibilidades terapêuticas e risco toxicológico de *Jatropha*

- gossypifolia* L.: Uma revisão narrativa. Rev Bras Plantas Med. 2010;12 (3):346-57.
- Marlière LDP, Ribeiro AQ, Brandão MGL, Klein CH, Acurcio FA. Utilização de fitoterápicos por idosos: resultados de um inquérito domiciliar em Belo Horizonte (MG), Brasil. Rev Bras Farmacogn. 2008;18(Supl.):754-60.
- Matos VP, Ferreira EGBS, Ferrira RLC, Sena LHM, Sales AGFA. Effect of the Type of Packing and the Environment of Storage on the Germination and the Vigor of *Apeiba tibourbou* Aubl. Rev Árvore. 2008;32(4):617-25.
- Matsumoto T, Horiuchi M, Kamata K, Seyama Y. Effects of *Bidens pilosa* L. var. *radiata* Scherff treated with enzyme on histamine-induced contraction of guinea pig ileum and on histamine release from mast cells. J Smooth Muscle Res. 2009;45(2-3):75-86.
- Organisation For Economic Cooperation and Development - OECD. Guidelines for the Testing of Chemicals, OECD 423. Acute Oral Toxicity-Acute Toxic Class Method. Paris: Organisation for Economic Cooperation and Development; 2001.
- Ouedraogo M, Baudoux T, Stévigny C, Nortier J, Colet JM, Efferth T, Fan Quf, Zhog J, Chan K, Shaw D, Pelkonen O, Duez P. Review of current and “omics” methods for assessing the toxicity (genotoxicity, teratogenicity and nephrotoxicity) of herbal medicines and mushrooms. J Ethnopharmacol. 2012;140(3):492-512. DOI: 10.1016/j.jep.2012.01.059.
- Paula JE, Imaña-Encinas J, Pereira BA. Parâmetros volumétricos e da biomassa da mata ripária do Córrego dos Macacos. Cerne. 1996;2(2):21-8.
- Petersen M, Simmonds M. Rosmarinic acid. Phytochemistry. 2003;62(2):121-5.
- Silveira PF, Bandeira MAM, Arrais PSD. Farmacovigilância e reações adversas às plantas medicinais e fitoterápicos: uma realidade. Rev Bras Farmacogn. 2008(18):618-26.
- Shahjahan M, Sabitha KE, Jainu M, Devi CSS. Effect of *Solanum trilobatum* against carbon tetrachloride induced hepatic damage in albino rats. Indian J Med Res. 2004;120(1):194-8.
- Subsecretaria de Ciência e Tecnologia - SEPLANTEC. Inventário de plantas medicinais do Estado da Bahia. Salvador: Prefeitura Municipal de Salvador; 1979.
- Tchamadeu MC, Dzeufiet PDD, Nana P, Kouambou Nougba CC, Ngueguim Tsofack F, Allard J, Blaes Siagat NR, Zapfack L, Girolami JP, Tack I, Kamtchouing P, Dimo T. Acute and sub-chronic oral toxicity studies of an aqueous stem bark extract of *Pterocarpus soyauxii* Taub (Papilionaceae) in rodents. J Ethnopharmacol. 2011;133(2):329-35. DOI: 10.1016/j.jep.2010.09.035.
- Turolla MSR, Nascimento ES. Informações toxicológicas de alguns fitoterápicos utilizados no Brasil. Rev Bras Ciênc Farm. 2006;42(2):289-306.
- Valadares MC. Avaliação de Toxicidade Aguda: Estratégias Após a “Era do Teste DL50”. Rev Eletr Farm. 2006;3(2):93-8.
- Violante IMP. Avaliação do potencial antimicrobiano e citotóxico de espécies do cerrado da Região Centro-Oeste. [Dissertação]. Campo Grande: Universidade Federal de Mato do Sul - UFMS; 2008.
- Wills PJ, Asha VV. Acute and subacute toxicity studies of *Lygodium flexuosum* extracts in rats. Asian Pacific J Trop Biom. 2012; 2(1):s200-s202.
- Zatta DT, Pimenta FC, Tresvenzol LMF, Fiuza TS, Bara MTF, Cunha LC, Pucci LL, Garrote CFD, Oliveira FNM, Paula JR. Estudo da Atividade Antibacteriana contra cepas de *Pseudomonas aeruginosa* e da Toxicidade Aguda das folhas da *Jacaranda decurrens*. Latin Am J Pharm. 2009;28(4):485-9.

Recebido em 29 de agosto de 2012

Aceito para publicação em 22 de outubro de 2012