



Toxicidade aguda do extrato aquoso de folhas de *Erythrina velutina* em animais experimentais

Ariadne Conceição Santos Craveiro,¹ Deise Maria Monteiro Carvalho,¹ Rogéria de Souza Nunes,¹ Ricardo Fakhouri,² Sheila Alves Rodrigues,³ Flavia Teixeira-Silva*¹

¹Departamento de Fisiologia, Universidade Federal de Sergipe, Avenida Marechal Rondon, s/n 49100-000 São Cristóvão-SE, Brasil,

²Departamento de Medicina, Universidade Federal de Sergipe, Rua Cláudio Batista s/n Bairro Sanatório, 49060-100 Aracaju-SE, Brasil,

³Laboratório de Produtos Naturais, Universidade Tiradentes, Avenida Murilo Dantas, 300, Bairro Farolândia, 49032-490 Aracaju-SE, Brasil

RESUMO: Este trabalho teve como objetivo a avaliação da toxicidade aguda do extrato aquoso de folhas de *Erythrina velutina*, espécie vegetal muito usada na medicina popular principalmente como tranqüilizante. O protocolo experimental utilizado seguiu o Guia para a Realização de Estudos de Toxicidade Pré-clínica de Fitoterápicos da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa, 2004). Ratos Wistar adultos foram tratados por via oral com a dose limite de 5 g/kg do extrato e observados por 14 dias consecutivos. Nenhum animal veio a óbito e nenhum sinal de toxicidade foi detectado nas observações comportamentais ou nas autópsias, indicando uma razoável atoxicidade do extrato.

Unitermos: *Erythrina velutina*, Fabaceae-Faboideae, mulungu, toxicidade aguda, fitoterapia.

ABSTRACT: "Acute toxicity of the aqueous extract of *Erythrina velutina* leaves in experimental animals". The aim of this work was to evaluate the acute toxicity of the aqueous extract of *Erythrina velutina* leaves, which is frequently used in folk medicine as a tranquilizer. The experimental design followed the Guide for Preclinical Toxicity Studies of Herbal Medicines from the Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa, 2004). Adult Wistar rats were treated *per os* with the limit dose of 5g/kg of the extract and then observed for 14 consecutive days. No animals died and no signs of toxicity were detected either during the behavioral observations or at the autopsies, what indicates a reasonable lack of toxicity for the extract.

Keywords: *Erythrina velutina*, Fabaceae-Faboideae, mulungu, acute toxicity, phytotherapy.

INTRODUÇÃO

Nos últimos vinte anos no Brasil, país com a maior diversidade vegetal do mundo, o número de informações sobre plantas medicinais tem crescido 8% anualmente (Brito & Brito, 1993). Em um país biologicamente tão rico, pesquisas com plantas medicinais deveriam ser mais incentivadas, visto que há grande tendência mundial de aumento na utilização de fitoterápicos (Brasil, 1998; Falcão et al., 2005; Barbosa-Filho et al., 2005; Mariz et al., 2006; Silva et al., 2006; Brandão et al., 2006; 2008; Carvalho et al., 2008; Veiga-Junior VF 2008). Este aumento justifica-se por se acreditar que os fitoterápicos apresentam menor número de efeitos colaterais que os medicamentos sintéticos, o que nem sempre é confirmado pelas pesquisas, e por se mostrarem aparentemente eficazes em casos onde a medicina convencional não alcançou resultados mais

seguros (Calixto, 2000).

Dentre inúmeras plantas que estão sendo estudadas, nos dias de hoje, algumas são capazes de atuar no comportamento, humor, pensamento e sensações, e o entendimento de seus mecanismos de ação, segurança e eficácia constituem um desafio para os pesquisadores (Almeida et al., 1999; 2001; Carlini, 2003; Carlini et al., 2006). Dentre as plantas medicinais com efeitos no sistema nervoso central, destacam-se as do gênero *Erythrina*, as quais são utilizadas como traqüilizantes (Camargo, 1997).

Pertencente a família Fabaceae-Faboideae (Papilionoideae), o gênero *Erythrina* é amplamente conhecido, ocorrendo nas regiões tropicais e subtropicais do mundo. Possui cerca de 110 espécies, das quais 70 são nativas das Américas. Estas plantas são a principal fonte dos alcalóides tetracíclicos tipo eritrina que foram originalmente identificados em 1937 por

Folkers & Major (Nkengfack et al., 1994).

No Brasil são catalogadas cerca de doze espécies de *Erythrina* (EPAMIG, 1993), sendo as duas principais *E. velutina*, originária do nordeste e *E. mulungu*, nativa do sudeste (Neill, 1988).

A *E. velutina*, popularmente conhecida como “mulungu”, “suínã”, “canivete” ou “corticeira” (Lorenzi, 1992), é um arbusto pequeno, de caule tortuoso e flores vermelho-alaranjadas (EPAMIG, 1993). O infuso das cascas é empregado como calmante e sedativo de tosses e bronquites, bem como para tratamento de verminoses e hemorróidas (Lorenzi, 1992; Agra et al., 2007; 2008). Estudos fitoquímicos tem mostrado a presença de alcalóides e flavonóides (Cunha et al., 1996; Rabelo et al., 2001; ISI-Web of knowledge, 2008)

Estudos farmacológicos realizados em diferentes laboratórios brasileiros têm demonstrado atividades antinociceptiva, ansiolítica/sedativa, relaxante muscular e antibacteriana de extratos de *Erythrina velutina* (Marchioro et al., 2005; Dantas et al., 2004; Vasconcelos et al., 2004; Virtuoso et al., 2005; Raupp, 2006; Santos et al., 2007). No entanto, estudos toxicológicos que comprovem a segurança de seu uso, apesar de muito importantes (Fuji, 2001) ainda são muito escassos.

Em 2001, Bomfim demonstrou o caráter razoavelmente atóxico do extrato aquoso de folhas de *Erythrina velutina*, num estudo de toxicidade aguda pré-clínica em que todos os animais sobreviveram à administração de 5g/kg do extrato. Contudo, esse estudo somente visou o cálculo da DL₅₀, não atendendo a todas as recomendações atuais da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa, 2004) para a realização de estudos de toxicidade pré-clínica de fitoterápicos (Anvisa-Resolução RE N° 90, 16 de Março de 2004).

Diante desse contexto, uma avaliação toxicológica de extratos de *Erythrina velutina* em conformidade com os rigorosos critérios da Anvisa seria de grande interesse tanto científico quanto comercial, já que os resultados obtidos poderiam servir tanto ao conhecimento como ao desenvolvimento de um futuro fiterápico.

Visto que recentemente a Anvisa publicou o Guia para a Realização de Estudos de Toxicidade Pré-clínica de Fitoterápicos (RE N° 90), o presente trabalho objetivou-se em avaliar a toxicidade aguda do extrato aquoso de folhas de *Erythrina velutina*, em conformidade com as normas publicadas.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta do material botânico

As folhas de *Erythrina velutina* foram coletadas no município de Simão Dias (10° 44' 18" S, 37° 48' 40" O), estado de Sergipe, Brasil, durante a estação de estiagem. A identidade botânica da planta

foi confirmada através de comparação a uma espécime que se encontra depositada no Herbário da Universidade Federal de Sergipe sob o registro ASE 4126.

Preparação do extrato aquoso de folhas de *Erythrina velutina*

As folhas de *Erythrina velutina* foram completamente desidratadas em estufa de ar circulante (Marconi MA-037) a uma temperatura de 40 °C e depois trituradas em moinho (Tecnal TE-650) até sua transformação em um pó fino. O extrato aquoso foi obtido a partir deste pó pela adição de água destilada a 100 °C (1:40) deixando a mistura em infusão por 30 minutos. O infuso assim obtido foi filtrado sob vácuo, liofilizado (Freezone 4.5, Labconco) e estocado a 5 °C para uso posterior.

Animais

Foram utilizados ratos Wistar adultos (de 2 a 3 meses de idade), machos (peso no início do experimento: média ± dp = 210,7 ± 51,3 g) e fêmeas (peso no início do experimento: média ± dp = 153,7 ± 30,3 g) obtidos no Biotério Central da Universidade Federal de Sergipe. Os animais foram mantidos em gaiolas com no máximo 5 animais, com livre acesso à água e comida, numa sala com temperatura controlada, em torno de 24 °C, e ciclo claro/escuro natural (12 horas de claridade a partir das 05:30 h). Todos os experimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Animais da Universidade Federal de Sergipe.

Ensaio toxicológico

O extrato aquoso de *Erythrina velutina* (Ev), foi dissolvido em água destilada e administrado, por via oral, a um grupo de 12 animais (Ev: 6 machos e 6 fêmeas) em jejum por 12 horas, na dose de 5000 mg/kg,

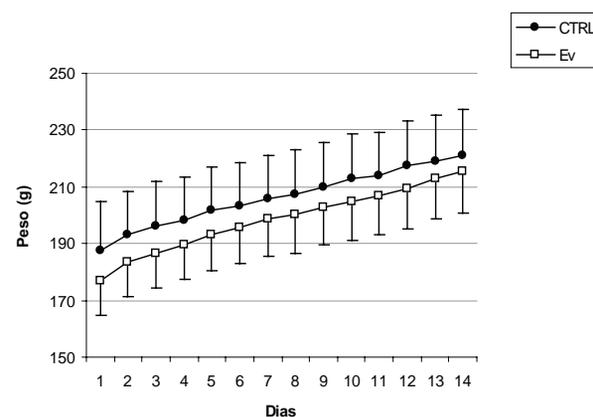


Figura 1. Evolução do peso dos animais dos grupos controle (CTRL) e tratado com extrato aquoso de folhas de *Erythrina velutina* (Ev). Dados representados por média ± erro-padrão.

Tabela 1. Sumário de dados obtidos durante as 12 horas de observação pós-administração do extrato de *Erythrina velutina* (Ev).

Parâmetro	Tratamento	Tempo de Observação					
		15 min	30 min	1 hora	4 horas	8 horas	12 horas
Bolos Fecais	CTRL	0 (0 - 0)	0 (0 - 0)	0 (0 - 0)	4 (0,75 - 0)	8 (4,75 - 0)	18,5 (9,25 - 30)
	Ev	0 (0 - 0)	0 (0 - 0)	0 (0 - 0)	1 (0 - 5,25)	5 (0 - 9,25)	9,25 (7,5 - 20,25)
Atividade motora	CTRL	4 (4 - 4)	4 (4 - 4)	4 (4 - 4)	4 (4 - 4)	4 (4 - 4)	4 (4 - 4)
	Ev	4 (4 - 4)	4 (3,5 - 4)	4 (3,75 - 4)	4 (3,75 - 4)	4 (4 - 4)	4 (3,75 - 4)
Respiração	CTRL	4 (4 - 4)	4 (4 - 4)	4 (4 - 4)	4 (4 - 4)	4 (4 - 4)	4 (4 - 4)
	Ev	4 (4 - 4)	4 (4 - 4)	4 (4 - 4)	4 (4 - 4)	4 (4 - 4)	4 (4 - 4)
Reflexo Corneal	CTRL	4 (4 - 4)	4 (4 - 4)	4 (4 - 4)	4 (4 - 4)	4 (4 - 4)	4 (4 - 4)
	Ev	4 (4 - 4)	4 (4 - 4)	4 (4 - 4)	4 (4 - 4)	4 (4 - 4)	4 (4 - 4)
Reflexo de Endireitamento	CTRL	4 (4 - 4)	4 (4 - 4)	4 (4 - 4)	4 (4 - 4)	4 (4 - 4)	4 (4 - 4)
	Ev	4 (4 - 4)	4 (4 - 4)	4 (4 - 4)	4 (4 - 4)	4 (4 - 4)	4 (4 - 4)
Tônus Corporal	CTRL	4 (4 - 4)	4 (4 - 4)	4 (4 - 4)	4 (4 - 4)	4 (4 - 4)	4 (4 - 4)
	Ev	4 (4 - 4)	4 (4 - 4)	4 (4 - 4)	4 (4 - 4)	4 (4 - 4)	4 (4 - 4)
Reflexo de Retirada	CTRL	4 (4 - 4)	4 (4 - 4)	4 (4 - 4)	4 (4 - 4)	4 (4 - 4)	4 (4 - 4)
	Ev	4 (4 - 4)	4 (4 - 4)	4 (4 - 4)	4 (4 - 4)	4 (4 - 4)	4 (4 - 4)

Dados representados como: mediana (intervalo interquartil).

num volume de 20 ml/kg. O grupo controle (CTRL: 6 machos e 6 fêmeas) recebeu o mesmo volume de água destilada. Após a administração, durante as primeiras 12 horas, nos períodos de 15, 30 e 60 minutos e a cada 4 horas foram observados sinais tóxicos de caráter geral, sendo avaliados os seguintes parâmetros: atividade motora, respiração, reflexos corneal, de endireitamento e de retirada (cauda), tônus corporal, quantidade de bolos fecais, e presença de cianose, piloereção, contorções, ptose palpebral, tremores, convulsões, ataxia, hipnose, urina vermelha e diarreia. Com exceção da quantidade de bolos fecais, os demais parâmetros foram avaliados através de escalas analógicas unipolares variando de 0 a 4 pontos (cianose, piloereção, contorções, ptose palpebral, tremores, convulsões, ataxia, hipnose e urina vermelha), ou bipolares variando de 0 a 8 pontos, sendo 4 o valor representante da normalidade (atividade motora, respiração, reflexos corneal, de endireitamento e de retirada, tônus corporal) (Brito, 1995). A partir da 24ª hora até 14 dias após a administração da dose, foi observada diariamente a variação de peso. Ao fim do período de observação, foi contabilizado o número de mortes para cálculo da DL_{50} (Litchfield & Wilcoxon, 1949) e todos os animais sobreviventes foram eutanasiados e autopsiados, sendo observadas as características macroscópicas dos pulmões, rins, intestinos, fígado, gônadas e coração.

Análise estatística

As medidas de toxicidade geral, obtidas durante as 12 horas de observação pós-administração do extrato, por apresentarem nível de mensuração ordinal, foram analisadas por teste de Mann-Whitney, comparando-se os grupos CTRL e Ev em cada momento de observação. Já as medidas de peso obtidas diariamente por 14 dias foram analisadas por ANOVA de duas vias (fator 1:

tratamento; fator 2: dia).

RESULTADOS

Não houve mortos durante todo o período de observação (14 dias) após a administração do extrato aquoso de *Erythrina velutina* na dose de 5 g/kg, considerada como dose limite para avaliação toxicológica aguda (Anvisa, 2004; Barros & Davino, 2003). Por esta razão, não houve cálculo de DL_{50} .

Nas primeiras 12 horas pós-administração, nenhum animal apresentou cianose, piloereção, contorções, ptose palpebral, tremores, convulsões, ataxia, hipnose, urina vermelha ou diarreia. Também não existiram diferenças significativas entre os grupos tratados para os parâmetros atividade motora, respiração, reflexos corneal, de endireitamento e de retirada, tônus corporal e quantidade de bolos fecais (Tabela 1).

Quanto ao peso (Figura 1), a ANOVA não mostrou interação, nem diferença significativa entre os grupos CTRL e Ev, sendo que os dois ganharam peso ao longo das duas semanas de observação ($F_{13,286} = 77,09$; $p = 0,000$).

O exame macroscópico das vísceras dos animais não detectou alterações relevantes em nenhum dos grupos tratados.

DISCUSSÃO

O objetivo do presente estudo foi avaliar a toxicidade aguda do extrato aquoso de folhas de *Erythrina velutina*, em conformidade com as normas atuais da Anvisa (2004).

Os resultados obtidos indicam que o extrato aquoso de folhas de *Erythrina velutina*, administrado agudamente, é atóxico por via oral em ratos, uma vez que não foram observados mortalidade ou sintomas

adversos após a administração da dose limite de 5 g/kg. Este resultado já era de certa forma esperado, já que num estudo de DL₅₀ realizado em camundongos (Bonfim, 2001) também não foram observadas mortes na mesma dose.

Exames histopatológicos não se fizeram necessários, uma vez que não foram observadas alterações nas autópsias.

Já que não houve toxicidade aguda, a avaliação da toxicidade crônica deverá ser o próximo passo no estudo toxicológico da planta.

Em resumo, o uso agudo da infusão de folhas de *Erythrina velutina* pela medicina popular pode ser considerado seguro, além de não representar risco à sobrevivência da planta (Zschocke et al., 2000), o que, somado ao fato de que seus efeitos farmacológicos já vêm sendo comprovados (Dantas et al., 2004; Marchioro et al., 2005), torna a *E. velutina* uma excelente candidata para o desenvolvimento de um futuro fitoterápico.

AGRADECIMENTOS

O presente estudo recebeu apoio financeiro da Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP) e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Sergipe (FAP-SE).

REFERÊNCIAS

- Agra MF, França PF, Barbosa-Filho JM 2007. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. *Rev Bras Farmacogn* 17: 114-140.
- Agra MF, Silva KN, Basílio IJLD, França PF, Barbosa-Filho JM 2008. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. *Rev Bras Farmacogn* 18: 472-508.
- Almeida RN, Quintans-Júnior LJ, Barbosa-Filho JM, Agra MF, Araújo CC 1999. Metodologia para avaliação de plantas com atividade no sistema nervoso central e alguns dados experimentais. *Rev Bras Farm* 80: 72-76.
- Almeida RN, Navarro DS, Barbosa-Filho JM 2001. Plants with central analgesic activity. *Phytomedicine* 8: 310-322.
- Anvisa 2004. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). Resolução - RE nº90/2004. Normas para estudos toxicológicos de produtos fitoterápicos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 16 de março de 2004.
- Barbosa-Filho JM, Vasconcelos THC, Alencar AA, Batista LM, Oliveira RAG, Guedes DN, Falcão HS, Moura MD, Diniz MFFM, Modesto-Filho J 2005. Plants and their active constituents from South, Central, and North America with hypoglycemic activity. *Rev Bras Farmacogn* 15: 392-413.
- Barros SBM, Davino SC 2003. Avaliação da Toxicidade. In: S. Oga. *Fundamentos da Toxicologia*. 2.ed. São Paulo: Atheneu. P.57-67.
- Bonfim KBR 2001. *Farmacologia de Planta Medicinais Analgésicas de uso Popular da Caatinga*. Aracaju 153p. Dissertação de Mestrado - Núcleo de Pós Graduação em desenvolvimento e meio ambiente, Universidade Federal de Sergipe.
- Brandão MGL, Cosenza GP, Moreira RA, Monte-Mor RLM 2006. Medicinal plants and other botanical products from the Brazilian Official Pharmacopoeia. *Rev Bras Farmacogn* 16: 408-420.
- Brandão MGL, Zanetti NNS, Oliveira GRR, Goulart LO, Monte-Mor RLM 2008. Other medicinal plants and botanical products from the first edition of the Brazilian Official Pharmacopoeia. *Rev Bras Farmacogn* 18: 127-134.
- Brasil 1998. Primeiro Relatório nacional para a conservação sobre diversidade biológica: Brasil. Ministério do Meio Ambiente, dos Recursos Hídricos e da Amazônia Legal, Brasília.
- Brito ARM, Brito AAS 1993. Forty years of Brazilian medicinal plant research. *J Ethnopharmacol* 39: 53-67.
- Brito AS 1995. *Manual dos Ensaios Toxicológicos in vivo*. Editora da UNICAMP.
- Calixto JB 2000. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytoterapeutic agents). *Bras J Med Biol Res* 33: 179-89.
- Camargo MT 1997. Contribuição ao estudo etnobotânico de plantas do gênero *Erythrina* usadas em rituais de religiões afro-brasileiras. *Revista do Instituto de Estudos Brasileiros* 42: 179-189.
- Carlini EA 2003. Plants and the central nervous system. *Pharmacol Biochem Behav* 75: 501-512.
- Carlini EA, Rodrigues E, Mendes FR, Tabach R, Gianfratti B 2006. Treatment of drug dependence with Brazilian herbal medicines. *Rev Bras Farmacogn* 16: 690-695.
- Carvalho ACB, Balbino EE, Maciel A, Perfeito JPS 2008. Situação do registro de medicamentos fitoterápicos no Brasil. *Rev Bras Farmacogn* 18: 314-319.
- Cunha EVL, Dias C, Barbosa-Filho JM, Gray AI 1996. Eryvellutinine, an isoflavone from the stem bark of *Erythrina vellutina*. *Phytochemistry* 43: 1371-1373.
- Dantas MC, De Oliveira FS, Bandeira SM, Batista JS, Silva Jr CD, Alves PB, Antonioli AR, Marchioro M 2004. Central nervous system effects of the crude extract of *Erythrina velutina* on rodents. *J. Ethnopharmacol* 94:129-133.
- EPAMIG 1993. Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais. O gênero *Erythrina* L. No PAMG - Herbário da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais. *Revista Daphne* 3: 20-25.
- Falcão HS, Lima IO, Santos VL, Dantas HF, Diniz MFFM, Barbosa-Filho JM, Batista LM 2005. Review of the plants with anti-inflammatory activity studied in Brazil. *Rev Bras Farmacogn* 15: 381-391.
- Fuji T 2001. Qualidade e abastecimento de plantas medicinais. *I Jornada Catarinense de Plantas medicinais*. Santa Catarina, Brasil.
- ISI-Plataforma Web of knowledge 2008. URL: <http://www.periodicos.capes.gov.br>.
- Litchfield JT, Wilcoxon F 1949. Simple method of fitting dose-effect curve. *J Pharmacol Exp Ther* 95: 99-113.
- Lorenzi H 1992. *Árvores brasileiras: Manual de Identificação*

- e Cultivo de Plantas arbóreas nativas do Brasil*. São Paulo: Editora Plantarum.
- Marchioro M, Blank MFA, Mourão RHV, Antonioli AR 2005. Anti-nociceptive activity of the aqueous extract of *Erythrina velutina* leaves. *Fitoterapia* 76: 637-642.
- Mariz SR, Cerqueira GS, Araújo WC, Duarte JC, Melo AFM, Santos HB, Oliveira K, Diniz MFFM, Medeiros IA 2006. Estudo toxicológico agudo do extrato etanólico de partes aéreas de *Jatropha gossypifolia* L. em ratos. *Rev Bras Farmacogn* 16: 372-378.
- Neill AD 1988. Experimental studies on species relationships in *Erythrina* (Leguminosae: Papilionoideae). *Ann Mo Bot Gard* 75: 886-969.
- Nkengfack AE, Vouffo TW, Fomum ZT, Meyer M, Bergendorff O, Sterner 1994. Prenylated isoflavanone from the roots of *Erythrina sigmoidea*. *Phytochemistry* 36: 1047-1051.
- Rabelo LA, Agra MF, Cunha EVL, Silva MS, Barbosa-Filho JM 2001. Homohesperetin and phaseollidin from *Erythrina velutina*. *Biochem Syst Ecol* 29: 543-544.
- Raupp MFI 2006. *Efeito ansiolítico da administração prolongada do extrato de Erythrina velutina no labirinto em cruz elevado*. Curitiba, 51p. Dissertação de Mestrado - Programa de Pós-graduação em Farmacologia, Universidade Federal do Paraná.
- Santos MRV, Alves PB, Antonioli AR, Marchioro M 2007. Relaxant effect of the aqueous extract of *Erythrina vellutina* leaves on rat vas deferens. *Rev Bras Farmacogn* 17: 343-348.
- Silva MIG, Gondim APS, Nunes IFS, Sousa FCF 2006. Utilização de fitoterápicos nas unidades básicas de atenção à saúde da família no município de Maracanaú (CE). *Rev Bras Farmacogn* 16: 455-462.
- Vasconcelos SM, Macedo DS, Melo CT, Paiva Monteiro A, Rodrigues AC, Silveira ER 2004. Central activity of hydroalcoholic extracts from *Erythrina velutina* and *Erythrina mulungu* in mice. *J Pharm Pharmacol* 56: 389-395.
- Veiga-Junior VF 2008. Estudo do consumo de plantas medicinais na Região Centro-Norte do Estado do Rio de Janeiro: aceitação pelos profissionais de saúde e modo de uso pela população. *Rev Bras Farmacogn* 18: 308-313.
- Virtuoso S, Davet A, Dias JFG, Cunico MM, Miguel MD, Oliveira AB, Miguel OG 2005. Estudo preliminar da atividade antibacteriana das cascas de *Erythrina velutina* Willd., Fabaceae (Leguminosae). *Rev Bras Farmacogn* 15: 137-142.
- Zschocke S, Rabe T, Taylor JLS, Jager AK, Staden JV 2000. Plant part substitution - a way to conserve endangered medicinal plants. *J Ethnopharmacol* 71: 281-292.