

Janine Kátia dos Santos Alves e Rocha

Análise fitoquímica e toxicidade de espécies vegetais do Cerrado

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Produção Animal do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Produção Animal.

Área de Concentração: Produção animal.

Orientador: Raphael Rocha Wenceslau

Co-orientador: Neide Judith Faria de Oliveira

MONTES CLAROS

2017

Rocha, Janine Kátia dos Santos Alves e.

Análise fitoquímica e toxicidade de espécies vegetais do Cerrado / Janine Kátia dos Santos Alves e Rocha. Montes Claros, 2017.

R672a

62 f. : il.

2018

Dissertação (Mestrado) - Área de concentração em Produção Animal, Universidade Federal de Minas Gerais / Instituto de Ciências Agrárias.

Orientador: Raphael Rocha Wenceslau.

Banca examinadora: Prof.^a Neide Judith Faria de Oliveira, Prof.^a Franciellen Morais Costa, Prof.^a Viviane Andrade Aguiar.

Inclui referências: f. 13-14, 24-27, 37-39, 51-53.

1. Toxicologia. 2. Plantas venenosas. 3. Plantas -- Toxinas. I. Wenceslau, Raphael Rocha (Orientador). II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Agrárias. III. Título.

CDU: 580(81)

Janine Kátia dos Santos Alves e Rocha

Análise fitoquímica e toxicidade de espécies vegetais do Cerrado

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Produção Animal da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Produção Animal

Área de Concentração: Produção Animal

Linha de Pesquisa: Toxicologia de Plantas

Orientador: Raphael Rocha Wenceslau

Instituto de Ciências Agrárias da UFMG

Aprovado pela banca examinadora constituída pelos professores:

Profa. (Neide Judith Faria de Oliveira)

ICA/UFMG

Profa. (Franciellen Moraes Costa)

UFMG

Profa. (Viviane Andrade Aguiar)

UNIMONTES

Prof.: Raphael Rocha Wenceslau (Orientador)

UFMG

Montes Claros, 21 de novembro de 2017.

DEDICATÓRIA

Dedico a DEUS!

AGRADECIMENTOS

Inicio meus agradecimentos por DEUS, já que Ele colocou pessoas tão especiais a meu lado, sem as quais certamente não teria dado conta! Ainda, por me acalmar a cada dia e me mostrar que preciso ser paciente e confiar em suas promessas.

Aos meus pais, aos meus irmãos e sobrinhos por fazerem o melhor por mim, minha gratidão.

Ao meu Marido Ricardo e ao meu lindo Filho Pedro Benício, pela compreensão com minha ausência, o apoio e o carinho durante os momentos mais difíceis dessa jornada.

Aos orientadores, Neide Judith Faria de Oliveira e Raphael Rocha Wenceslau, meu muito obrigada por todo o apoio, disponibilidade e dedicação com projeto. Sem vocês essa conquista também não seria possível. Vocês foram e são referências profissionais e pessoais para meu crescimento.

“Tudo posso naquele que me fortalece”

(Filipenses 4.13)

RESUMO

Os fitoterápicos possuem diferentes compostos naturais procedentes do metabolismo primário e secundário do vegetal, que são responsáveis pelas propriedades terapêuticas, como taninos, saponinas, flavonoides, cumarinas, triterpenos, esteroides, alcaloides, entre outros. Muitas espécies com potencial tóxico têm recebido atenção da comunidade científica para verificação das propriedades farmacológicas e/ou terapêuticas, e investigação de possíveis atividades toxicológicas. Objetivou-se realizar triagem fitoquímica dos extratos aquosos de *Stryphnodendron adstringens*, *Dimorphandra mollis*, *Enterolobium contortisiliquum*, *Luffa operculata* e *Annona crassiflora* para verificação da presença de princípios ativos com ação tóxica e abortiva e, realizar ensaio toxicológico para investigar a toxicidade do extrato hidroalcoólico da casca do caule de *Stryphnodendron adstringens* por meio da determinação da dose letal 50% (DL₅₀) e 90% (DL₉₀). Os extratos aquosos foram submetidos a caracterização fitoquímica para identificar fenóis, taninos, flavonoides, saponinas, esteroides, triterpenos, cumarinas e alcaloides. Para investigar a toxicidade da planta foram realizadas análises toxicológicas do extrato metanólico da casca do caule de *Stryphnodendron adstringens* administrado por via intraperitoneal. Utilizou-se o modelo de regressão considerando a morte como variável binária com resposta em função da concentração do extrato e do sexo dos animais. A análise foi realizada por meio do procedimento *proc probit* do *software* SAS 9.4. Para a investigação da DL₅₀ e DL₉₀, os extratos foram ressuspensos em água para injetáveis e submetidos a diluições seriadas decimais, utilizando o fator de diluição 1:10, obtendo extratos com concentrações de 1000; 100; 10; 1; 0,1; 0,01; 0,001 e 0,0001 mg/mL. Posteriormente, foram inoculados por via intraperitoneal. Utilizaram-se oito grupos de camundongos *Swiss* de ambos os sexos, sendo cinco animais por grupo, para cada extrato vegetal, totalizando 90 animais por sexo. Após inoculação, os animais foram observados por sete dias, para verificar alterações comportamentais, quantidade de animais mortos, doentes e sobreviventes. Os resultados da análise fitoquímica foram considerados positivos por formação de precipitados e surgimento de coloração e espuma e, negativos por ausência dessas reações. Foi possível identificar nas espécies analisadas a presença de metabólitos secundários, como taninos, flavonoides, cumarinas, triterpenos, esteroides, saponinas e alcaloides. Para o estudo toxicológico do extrato metanólico da casca do caule do *Stryphnodendron adstringens* em camundongos de ambos os sexos, por via intraperitoneal, obteve-se DL₅₀ igual a 95,1mg/mL e DL₉₀ 564,76 mg/mL, o que caracterizou a planta como tóxica para esses animais.

Palavras - chave: Plantas tóxicas. Aborto. Barbatimão. Fava d'anta. Tamboril. Buchinha - do - Norte. Panã.

ABSTRACT

Phytotherapies have different natural compounds derived from the primary and secondary metabolism of the plant, which are responsible for the therapeutic properties, such as tannins, saponins, flavonoids, coumarins, triterpenes, steroids, alkaloids, among others. Many species with toxic potential have received attention from the scientific community to verify pharmacological and/or therapeutic properties and to investigate possible toxicological activities. Phytochemical screening of the aqueous extracts of *Stryphnodendron adstringens*, *Dimorphandra mollis*, *Enterolobium contortisiliquum*, *Luffa operculata* and *Annona crassiflora* to verify the presence of active principles with toxic and abortive action and to carry out a toxicological test to investigate the toxicity of the hydroalcoholic extract of the bark of the stalk of *Stryphnodendron adstringens* by determining the 50% lethal dose (LD₅₀) and 90% (LD₉₀). The aqueous extracts were submitted to phytochemical characterization to identify phenols, tannins, flavonoids, saponins, steroids, triterpenes, coumarins and alkaloids. To investigate the toxicity of the plant, toxicological analyzes of the methanolic extract of the stem bark of *Stryphnodendron adstringens* administered by intraperitoneal route were carried out. The regression model was used considering death as a binary variable with response as a function of the extract concentration and the sex of the animals. The analysis was performed using the proc probit procedure of SAS 9.4 software. For the investigation of DL₅₀ and DL₉₀, the extracts were resuspended in water for injections and subjected to serial decimal dilutions, using the 1:10 dilution factor, obtaining extracts with concentrations of 1000; 100; 10; 1; 0.1; 0.01; 0.001 and 0.0001 mg/mL. Subsequently, they were inoculated intraperitoneally. Eight groups of Swiss mice of both sexes were used, five animals per group, for each plant extract, totaling 90 animals per sex. After inoculation, the animals were observed for seven days to verify behavioral changes, number of dead animals, patients and survivors. The results of the phytochemical analysis were considered positive by formation of precipitates and appearance of staining and foam, and negatives due to absence of these reactions. It was possible to identify secondary metabolites such as tannins, flavonoids, coumarins, triterpenes, steroids, saponins and alkaloids in the analyzed species. For the toxicological study of the hydroalcoholic extract of the stem bark of *Stryphnodendron adstringens* in mice of both sexes, intraperitoneal, LD₅₀ was equal to 95.1 mg mL⁻¹ and DL₉₀ 564,76 mg mL⁻¹, which characterized the plant as toxic to these animals.

Key words: Toxic plants. Abortion. Barbatimão. Fava d'anta. Tamboril. Buchinha - do - Norte. Panã.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO I

FIGURA 1 - (A) Parte do caule e folhas da espécie do “barbatimão” (<i>S. adstringens</i>) e, (B) Folhas e frutos de <i>S. adstringens</i>	17
FIGURA 2 - Frutos secos de “buchinha - do - Norte” (<i>Luffa operculata</i>)	18
FIGURA 3 - Fruto de <i>Annona crassiflora</i> (panã)	19
FIGURA 4 - Árvore de “Fava - d’anta” (<i>Dimorphandra mollis</i>) com frutos em forma de vagem (Figura A) e frutos secos de <i>Dimorphandra mollis</i> (Figura B)	20
FIGURA 5 - Árvore (A) e Fruto (B) de <i>Enterolobium contortisiliquum</i> (“tamboril”)	21
FIGURA 6 - Esquema da rota biossintética de metabólitos secundários	23

CAPÍTULO III

FIGURA 1- Probabilidade de morte de camundongos <i>Swiss</i> segundo a dose de administração intraperitoneal do extrato metanólico evaporado, liofilizado e ressuspendido em água para injetáveis da casca do caule de <i>S. adstringens</i>	46
FIGURA 2 - Gráfico da análise de correspondência das doses de administração intraperitoneal do extrato metanólico evaporado, liofilizado e ressuspendido em água para injetáveis da casca do caule de <i>S. adstringens</i> , em contraste com alterações orgânicas e comportamentais	49

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II

TABELA 1-Triagem fitoquímica dos extratos aquosos de *Stryphnodendron adstringens*, *Dimorphandra mollis*, *Enterolobium contortisiliquum*, *Annona crassiflora* e *Luffa operculata* 35

CAPÍTULO III

TABELA 1- Peso médio dos órgãos internos de camundongos machos inoculados intraperitonealmente com extrato metanólico evaporado, liofilizado e ressuspendido em água para injetáveis de *S. adstringens* em diferentes concentrações 48

TABELA 2 - Peso médio dos órgãos internos de camundongos fêmeas inoculados intraperitonealmente com extrato metanólico evaporado, liofilizado e ressuspendido em água para injetáveis de *S. adstringens* em diferentes concentrações 48

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ALT - Alanina aminotransferase

AST- Aspartato aminotransferase

CLAE - Cromatografia líquida de alta eficiência

DL₅₀ - Dose estimada para 50% de mortalidade

DL₉₀-Dose estimada para 90% de mortalidade

F2 - Polímeros de proantocianidinas

MS - Ministério da Saúde

OMS - Organização Mundial de Saúde

p/v –peso por volume

RDC - Resolução de Diretoria Colegiada

RENISUS - Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse do SUS

SUS - Sistema Único de Saúde

UV – Ultravioleta

v/v –volume por volume

SUMÁRIO

CAPÍTULO I

1 INTRODUÇÃO	11
Referências	13
2 REVISÃO DE LITERATURA	15
Histórico da utilização de plantas medicinais	15
2.2 Características Gerais das espécies	16
2.2.1- <i>Stryphnodendron adstringens</i> (Mart.) Coville <i>Fabaceae</i>	16
2.2.2- <i>Luffa operculata</i> (L.) Cogn. <i>Cucurbitaceae</i>	17
2.2.3- <i>Annona crassiflora</i> (Mart.) <i>Annonaceae</i>	18
2.2.4- <i>Dimorphandra mollis</i> (Benth.) <i>Caesalpiniaceae</i>	20
2.3.2.2.5 - <i>Enterolobium contortisiliquum</i> (Vell.) Morong (<i>Fabaceae</i>)	21
2.3 - Metabólitos secundários tóxicos presentes nas espécies vegetais	23
Referências	24

CAPÍTULO II

3 ARTIGO	30
3.1 Artigo 1- Triagem Fitoquímica de Plantas Abortivas do Cerrado: “Barbatimão”, “Buchinha - do - Norte”, “Panã”, “Fava d'anta” e “Tamboril	31

CAPÍTULO III

4 ARTIGO	41
4.1 Artigo 2 - Efeitos toxicológicos do extrato matanólico da casca do caule de <i>Stryphnodendron adstringens</i> em camundongos	42

ANEXO A - CERTIFICADO DO COMITÊ DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS (CEUA)	54
--	----

ANEXO B - INSTRUÇÕES PARA SUBMISSÃO DE ARTIGOS.	55
--	----

1 INTRODUÇÃO

A fitoterapia foi uma das primeiras terapias medicinais utilizados pela humanidade, sendo a única disponível ao homem durante muito tempo. De acordo com Bessa *et al.* (2013) e Melo *et al.* (2010), em algumas situações, mesmo com intenção de cura, as plantas utilizadas na medicina produziam graves efeitos colaterais e até mesmo a morte.

Planta medicinal é definida como toda e qualquer espécie vegetal que apresente compostos químicos com ação farmacológica. No Brasil, é aceitável a utilização de variadas formas de preparo, podendo ser feita de folhas, cascas, raízes, sementes, flores, caule e fruto. O uso popular ocorre principalmente como infusões, decoctos, tinturas e soluções alcoólicas, obtidas, na maioria das vezes, de modo artesanal (MUSSI-DIAS *et al.*, 2012; SOUZA *et al.*, 2016).

Segundo estudo desenvolvido por Tokarnia *et al.* (2012), há variação na quantidade de princípio ativo tóxico nas diferentes partes dos vegetais, sendo a maior concentração encontrada nas sementes. Vários fatores podem influenciar na toxicidade, tais como o modo de ingestão, o estágio vegetativo e a sazonalidade. Estas espécies denominadas tóxicas produzem metabólitos secundários, como taninos, fenóis, esteroides, triterpenos, saponinas, flavonoides, cumarinas, alcaloides, entre outros, que podem causar distúrbios no organismo, podendo levar à morte (CAMPOS *et al.*, 2016; GETTER; NUNES, 2011; MONSENY *et al.*, 2015).

Plantas de interesse pecuário são responsáveis por prejuízos à bovinocultura em todo o mundo (TOKARNIA *et al.*, 2012). Apesar de serem difíceis de estimar por causa da escassez de dados, plantas tóxicas causam perdas econômicas significativas para a pecuária brasileira (PESSOA; MEDEIROS; RIET - CORREA, 2013; SANT'ANA *et al.*, 2014).

A maioria dos vegetais com ativos tóxicos não é palatável (COSTA *et al.*, 2011). Contudo, a fome em função da seca ou cheia, superlotação, queimadas, mudanças para pastagens novas, transporte e deficiência de minerais levam os animais ao consumo dessas espécies. Assim, podem ocorrer perdas diretas e indiretas, conforme o impacto que representam (MELO *et al.*, 2010; RIET - CORREA; MEDEIROS, 2001). As diretas ocasionam morte, diminuição dos índices reprodutivos (abortos, infertilidade, malformações), redução da produtividade nos sobreviventes (diminuição da produção de leite e carne) e aumento da incidência de doenças por causa da depressão imunológica. As indiretas, incluem custos empregados para controle e erradicação nas pastagens, construção de cercas, pasto alternativo, medidas de manejo para evitar intoxicações, compra de gado para substituir mortos, e gastos associados ao diagnóstico e tratamento dos intoxicados (BEZERRA *et al.*, 2012; HERNANDES *et al.*, 2010; SCHONS *et al.*, 2012).

As intoxicações ocupam o terceiro lugar nos casos de óbitos de animais adultos no Brasil. Em estudo realizado em 2012 pelos profissionais que atuam no atendimento clínico aos

grandes ruminantes, foi estimado 100.000 bovinos mortos anualmente por ingestão de plantas tóxicas (TOKARNIA *et al.*, 2012; MONSENY *et al.*, 2015; PIRES *et al.*, 2015).

Há na flora brasileira 131 espécies tóxicas, sendo distribuídas em 79 gêneros (RIET-CORREA; MEDEIROS, 2001). Dentre as de interesse na prática da Medicina Veterinária, por possuírem ação teratogênica e embriotóxica, podem ser citadas *Stryphnodendron adstringens*, *Luffa operculata*, *Annona crassiflora*, *Dimorphandra gardneriana* e *Enterolobium contortisiliquum* (BANDINELLI *et al.*, 2014). Os produtos fabricados a partir dessas plantas medicinais apresentam diferentes compostos naturais procedentes do metabolismo primário e secundário do vegetal, responsáveis por diversas propriedades terapêuticas. Entretanto, podem exercer efeitos adversos em seres humanos e animais em decorrência da composição química do fitoterápico (ALMEIDA *et al.*, 2009).

A farmacologia e a toxicidade de plantas utilizadas na medicina alternativa têm recebido atenção da comunidade científica. A verificação das propriedades farmacológicas e/ou terapêuticas e a investigação de possíveis atividades toxicológicas são imprescindíveis para garantir segurança no uso medicinal (REBECCA *et al.*, 2002). Portanto, o reconhecimento da planta tóxica e sintomatologia clínica são importantes para se evitar a perda de animais e saber como proceder nos casos de intoxicação.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, A. C. *et al.* Toxicidade aguda dos extratos hidroalcoólicos das folhas de alecrim-pimenta, aroeira e barbatimão e do farelo da casca de pequi administrados por via intraperitoneal. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 1, p. 200-203, 2009. Disponível em: <n 1 /a415cr1346. pdf >. Acesso em: 20 de out. 2015.
- BANDINELLI, M. B. *et al.* Identification and distribution of cardiac lesions in cattle poisoned by *Amorimia exotropica*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 34, n. 9, p. 837-844, 2014. Disponível em: <org/10.1590/S0100-736X2014000900006>. Acesso em: 07 fev. 2017.
- BESSA *et al.* Preliminary phytochemical screening of native Cerrado plants of medicinal popular use by the rural community of the Vale Verde settlement – Tocantins. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v. 15, n. 4, p. 692 - 707, 2013. Disponível em: <http://org/10.1590/S1516-05722013000500 010>. Acesso em: 07 fev. 2017.
- BEZERRA, C. W.C. *et al.* Plantas tóxicas para ruminantes e equídeos da microrregião do Cariri Cearense. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 6, p. 1070 - 1076, 2012. Disponível em: <org/101590/S0103-84782012000600020>. Acesso em: 20 fev. 2017.
- CAMPOS, S. C. *et al.* Toxicity of plant species. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v. 18, n. 1, p. 373 - 382, 2016. Disponível em: <http://org/10.1590/1983-084X/15_057>. Acesso em: 27 fev. 2017.
- COSTA, E. V. *et al.* Poisonous plants to livestock interest in the Amazonia and Savanna ecotone region Part I: Bico do Papagaio, North of Tocantins, Brazil. **Acta Veterinária Brasília**, Mossoró v. 5, n. 2, p. 178 - 183, 2011. Disponível em: <https://publication/266178528 _PLANTASTOXICAS_DE_INTERESSE_PECUARIO_EM_REGIAO_DE_ECOTONO_AMAZONI A_E_CERRADO_PARTE_II_ARAGUAINA_NORTE_DO_TOCANTINS>. Acesso em: 21 abr. 2015.
- GETTER, C. J.; NUNES, J. R. S. Occurrence of intoxication by toxic plants in Brazil. **Revista de Engenharia Ambiental**, Espírito Santo do Pinhal, v. 8, n. 1, p. 079 - 100, 2011. Disponível em: <revistas.pucsp.br/index.php/reb/article/downloadsuppfile/1866/696>. Acesso em: 12 fev. 2017.
- HERNANDES, L. *et al.* Toxicity of plant species Woundhealing evaluation of ointment from *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão) in rat skin. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, São Paulo, v. 46, n. 3, p. 431 - 436, 2010. Disponível em: <script=sciarttext&pid=S1984 82502010000300005>. Acesso em: 11 ago. 2015.
- MELO, R. R. *et al.* Características farmacobotânicas, químicas e biológicas de *Syzygium alaccense* (L.). **Revista Brasileira de Farmácia**, São Paulo, v. 90, n. 4, p. 298 - 302, 2010. Disponível em: <http://files/pag298302caracteristicasfarmacobotanicas22090-4. Pdf >. Acesso em: 18 out. 2015.
- MONSENY, A. M. *et al.* Poisonous plants: an ongoing problem. **Anales de Pediatría**, Barcelona, v. 85, n. 2, p. 347 - 353, 2015. Disponível em: <http://analesdepediatria.org/en/

poisonousplantsanongoingproblem/articulo/S2341287915000861Pdf>. Acesso em: 28 fev. 2017.

MUSSI - DIAS *et al.* Endophytic fungi associated with medicinal plants. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 14, n. 2, p. 261 - 266, 2012. Disponível em: <<http://org/10.1590/S1516-05722012000200002>>. Acesso em: 28 fev. 2017.

PESSOA, C. R. M.; MEDEIROS, R. M. T; RIET – CORREA, F. Economic impact, epidemiology and control poisonous plants in Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 33, n. 6, p. 752 - 758, 2013. Disponível em: <<http://org/10.1590/S0100-736X2013000600011>>. Acesso em: 11 mar. 2017.

PIRES, A. P. C. *et al.* Study about the sensitivity of goats to the toxicity of crotalarías poisonous for cattle aiming their use for prophylactic measures. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 35, n. 6, p. 501 - 512, 2015. Disponível em: <<pdf/pvb/v35n6/1678-5150-pvb-35-06-005>>. Acesso em: 02 fev. 2017.

REBECCA, M. A. *et al.* Toxicological studies on *Stryphnodendron adstringens*. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 83, n. 1/2, p. 101 - 104, 2002. Disponível em: <<ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12413713>>. Acesso em: 08 out. 2015.

RIET - CORREA, F.; MEDEIROS, R. M. T. Intoxicações por plantas em ruminantes no Brasil e no Uruguai: importância econômica, controle e riscos para a saúde pública. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 21, n. 1, p. 752 - 758, 2001. Disponível em: <<http://org/10.1590/S0100-736X2013000600011>>. Acesso em: 11 mar. 2017.

SANT'ANA *et al.* Toxic plants for ruminants in Southwestern Goiás, Brazil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 44, n. 5, p. 865 - 871, 2014. Disponível em: <<pdf/cr/v44n5/a13014cr2013-1092.pdf>>. Acesso em: 28 fev. 2017.

SCHONS, S. V. *et al.* Plant poisonings in ruminants and equidae in central region of Rondônia state, Northern Brazil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 7, p. 1257 - 1263, 2012. Disponível em: <<http://org/10.1590/S0103-84782002005000047>>. Acesso em: 18 fev. 2017.

SOUZA, L. F. *et al.* Medicinal Plants referenced by “raizeiros” from Jataí county, Goiás state. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v. 18, n. 2, p. 451 - 461, 2016. Disponível em: <<pdf/rbpm/v18n2/15160572-rbpm-18-2-04>>. Acesso em: 02 mar. 2017.

TOKARNIA, C.H. *et al.* **Plantas tóxicas do Brasil para animais de produção**. 2. ed. Rio de Janeiro: Helianthus, 2012. p. 566 - 570.

3 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 - Histórico da utilização de plantas medicinais

No ano 3000 a.C., no Egito, os papiros registraram o uso de 500 plantas medicinais, dentre as quais podem ser citados: *Mentha arvensis* (Menta), *Rosmarinus officinalis* (Alecrim), *Chamomilla recutita* (Camomila), *Artemisia absinthium* (Absinto), *Aloe vera* (Babosa), além das famílias *Asteraceae* e 13 vegetais da família *Solanecea*, as quais ainda são utilizadas pelo homem (CZELUSNIAK *et al.*, 2012). O uso de plantas medicinais faz parte da evolução humana, pois essa prática é observada desde as antigas civilizações, sendo a primeira referência encontrada na obra Pen Ts'ao "A Grande Fitoterapia", do chinês Shen Nung, a qual remonta a 2800 a.C. (SILVA; DIAS - JUNIOR; MORAES, 2012).

A fitoterapia manteve seu domínio até os anos 40 do século XX quando os ativos dos medicamentos eram extraídos de plantas, pois não havia vacinas e remédios sintéticos para tratamento de determinadas doenças. Apesar dos avanços, a Organização Mundial da Saúde (OMS) reconhece que a maioria da população de países em desenvolvimento depende da medicina tradicional, pois 80% dessa desenvolve tais práticas em cuidados primários (BARBOSA *et al.*, 2012; COSTA.; MAYWORM, 2011).

Segundo Ethur *et al.* (2011), há necessidade de maiores informações referente à forma de cultivo, identificação botânica correta, informações ao consumidor, qualidade e eficácia dos produtos vegetais, pois a toxicidade da maioria desses ainda é parcialmente desconhecida. Assim, faz-se necessária a padronização das preparações fitoterápicas, demonstrando a importância da Farmacovigilância, o que possibilita a notificação e prevenção de efeitos indesejáveis e riscos inerentes ao uso.

Conforme Resolução Diretora Colegiada nº 48, de 16 de março de 2010, a qual se refere ao registro de medicamentos fitoterápicos, definido como:

Fitoterápico é o medicamento obtido com o emprego exclusivo de matérias-primas vegetais. É caracterizado pelo conhecimento da eficácia e dos riscos do uso, assim como pela reprodutibilidade e constância da qualidade. Não sendo considerado medicamento fitoterápico aquele que, na composição, inclua substâncias ativas isoladas, de qualquer outra origem, nem as associações destas com extratos vegetais (BRASIL, 2010).

A Resolução Diretora Colegiada nº 10/2010, promulgada no dia 10 de março de 2010, dispõe sobre a notificação de drogas vegetais junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). A referida norma instituiu a notificação de drogas vegetais, com ênfase no uso tradicional e na revisão dos dados disponíveis na literatura relacionados a essa terapia. Assim, "plantas medicinais, ou suas partes, que contenham princípios ativos e ação farmacológica, após processos de coleta ou colheita, estabilização e secagem, de formas íntegras, rasuradas,

trituras ou pulverizadas, serão produtos passíveis de venda, isentos de prescrição e destinados ao consumidor final”. Em contrapartida, a Resolução Diretora Colegiada nº 14/2010, distingue os termos drogas vegetais e medicamentos fitoterápicos, pois ambos podem ser obtidos de plantas medicinais, mas diferem-se nas formas de elaboração e comercialização (BRASIL, 2010).

O Ministério da Saúde aprovou a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares mediante portaria nº 971, de 03 de maio de 2006 que contempla diretrizes, ações e responsabilidades do governo para oferta de serviços e produtos da homeopatia, plantas medicinais e fitoterapia, medicina tradicional chinesa e acupuntura. Mais especificamente, a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos aprovada pelo Decreto nº 5.813 de 22 de junho de 2006, visa garantir à população brasileira o acesso seguro e a utilização racional de plantas medicinais e fitoterápicos, promovendo o uso sustentável da biodiversidade, o desenvolvimento da cadeia produtiva e da indústria nacional (BRASIL, 2012).

A avaliação da atividade biológica de uma planta inclui a investigação farmacológica e toxicológica de extratos brutos ou de substâncias isoladas. No entanto, para que sejam reconhecidas como terapia medicinal, é necessário que a autenticidade, a integridade e pureza desses extratos ou substâncias sejam comprovadas. Porém, pesquisas que verifiquem a eficiência desses são escassas (CATALAN *et al.*, 2012; ROYER *et al.*, 2013).

2 - Características Gerais das espécies

2. 2. 1 - *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville Fabaceae

Stryphnodendron adstringens é conhecido popularmente por diferentes nomes como: “barba - de - timão”, “barbatimão”, “barba - de - timan”, “borãozinho - roxo”, “barbatimão verdadeiro”, “casca da mocidade” e “barbatimão - vermelho” (FERREIRA, 2011; FONSECA; LIBRANDI, 2008; SOUZA *et al.*, 2007). As árvores de barbatimão produzem compostos químicos primários, responsáveis por manter as funções orgânicas do vegetal e metabólitos secundários que conferem proteção à planta contra herbívoros, micro-organismos e outros efeitos externos. Dentre os compostos químicos secundários descritos na espécie, encontram-se taninos, terpenos, estilibenos, esteroides, saponinas, inibidores de proteases e alcaloides (RODRIGUES *et al.*, 2013).

O extrato da casca do caule de *S. adstringens* possui diversas substâncias, porém predominam os taninos (LIMA *et al.*, 2010). De acordo com a quantidade desses, o vegetal poderá adquirir odor desagradável, sabor adstringente, provocar intoxicações e promover efeitos antinutricionais em predadores. Os efeitos nocivos são decorrentes da ligação desses princípios ativos com proteínas, tornando-as insolúveis e indigestas (BATESTIN *et al.*, 2004).

Plantas ricas em taninos, como o barbatimão são empregadas na medicina tradicional para o tratamento de diversas moléstias, tais como: diarreia, hipertensão arterial, reumatismo, hemorragias, feridas, queimaduras, azia, náusea, gastrite, úlcera gástrica, problemas renais e

do sistema urinário e processos inflamatórios em geral (SIMÕES *et al.*, 2010). Segundo Almeida *et al.* (2010), Melo (2010) e Souza *et al.* (2007), as propriedades medicinais estão associadas aos taninos que estão presentes em concentrações de 40% na casca e aproximadamente 30% nas folhas (Figura 1 A e Figura 1 B). Ainda, possui propriedades medicinais antimicrobianas (BARDAL *et al.*, 2011), estrogênica (GARCIA *et al.*, 2010) e antiofídica (LUCENA *et al.*, 2009).

Figura 1 - (A) Parte do caule e folhas da espécie do “barbatimão” (*S. adstringens*) e, (B) Folhas e frutos de *S. adstringens*



Fonte: Dos autores, 2016

A Farmacopeia Brasileira descreve como oito por cento a quantidade mínima de taninos necessária para utilização medicinal do barbatimão em seres humanos (BRASIL, 2010). Entretanto, esses teores podem variar de acordo com a espécie, localização geográfica e parte da planta empregada (BATESTIN *et al.*, 2004; LOPES *et al.*, 2009; MONTEIRO *et al.*, 2005).

A determinação da quantidade de taninos e fenóis totais nas espécies vegetais pode ser realizada utilizando-se cromatografia líquida de alta eficiência (BRASIL, 2010; LOPES *et al.*, 2009). A quantificação desses compostos é teste básico para comprovar as propriedades farmacológicas em ensaios *in vitro*, principalmente relacionados à atividade antimicrobiana do extrato da casca do barbatimão (ISHIDA *et al.*, 2009).

2.2.2- *Luffa operculata* (L.) Cogn. *Cucurbitaceae*

Luffa operculata é planta angiosperma e dicotiledônea, encontrada em grande parte do Brasil, ocorrendo desde as regiões Norte e Nordeste, nos estados do Amazonas, Ceará, Pernambuco e Bahia, até Mato Grosso, Minas Gerais e São Paulo. Esse vegetal é conhecido popularmente como “buchinha”, “buchinha-do-norte”, “cabacinha”, “purga-de-jalapa” e “purga-dos-paulistas”, entre outros nomes (CAMPOS, 2016).

É trepadeira, pertencente à família das cucurbitáceas (*Cucurbitaceae*), com caule herbáceo e delgado, podendo medir até dez metros de comprimento. Os frutos são ovoides, pedunculados e de superfície rugosa. Quando secos apresentam coloração amarelo claro a castanho, sendo percorridos externamente por estrias longitudinais. O interior desses apresenta mesocarpo fibroso, disposto em emaranhado frouxo, contendo sementes achatadas de superfície levemente rugosa e coloração castanho - escura (Figura 2) (SOUSA, 2006).

Figura 2 - Frutos secos de “buchinha – do - Norte” (*Luffa operculata*)



Fonte: Dos autores, 2016

De maneira geral, as flores, folhas, sementes e frutos podem ser usados nas preparações das infusões da *L. operculata*. Porém, a parte mais utilizada é o fruto seco da planta. Na medicina popular tradicional é empregada principalmente, como purgativo, emenagogo, descongestionante nasal e nos tratamentos homeopáticos para rinite e sinusite (BROCK; DUARTE; NAKASHIMA, 2003; SOUZA *et al.*, 2007). Ainda, apresenta como indicações o tratamento de doenças herpéticas, oftálmicas crônicas, laringites, hidropsia, icterícia, sífilis, tinea, ascites e amenorreias (SOUSA, 2006).

Dentre as propriedades farmacológicas dessa espécie, pode-se citar o efeito laxante ou purgativo, decorrente da ação irritativa das cucurbitacinas e dos glicosídeos sobre a mucosa intestinal. A ação detergente das saponinas contribui para a propriedade cáustica sobre o intestino grosso, por meio da emulsificação dos compostos lipossolúveis, acarretando em evacuações fluidas (SOUZA *et al.*, 2007).

2. 2. 3 - *Annona crassiflora* (Mart.) *Annonaceae*

O gênero *Annona* pertence à família *Annonaceae* e compreende aproximadamente 162 espécies de árvores e arbustos, cuja maioria é nativa das regiões tropicais. No Brasil, existem 60 espécies, com maior ocorrência em florestas e com poucos representantes em áreas abertas (CHATROU *et al.*, 2012; COSTA *et al.*, 2011).

Annona crassiflora apresenta ampla distribuição no Cerrado brasileiro, podendo ser encontrada na Bahia, Minas Gerais, São Paulo, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, Goiás e Tocantins. Essa árvore é conhecida popularmente como “araticum”, “marolo”, “pinha-do-cerrado”, “cabeça de negro”, “panã”, entre outros nomes comuns (FERREIRA, 2011).

A espécie possui amplo uso na medicina popular há muito tempo. As sementes e folhas são frequentemente empregadas no tratamento de câncer, acidentes ofídicos e doenças venéreas (VILAR; FERRI; CHEN - CHEN, 2011). Os frutos (Figura 3) são consumidos como tônico e adstringente. O pó da casca do tronco apresenta propriedades antifúngicas e antirreumáticas (VILAR; FERRI; CHEN-CHEN, 2011). Em algumas regiões brasileiras, é comum a utilização das sementes contra afecções parasitárias do couro cabeludo, como pediculose (PEREIRA *et al.*, 2008).

Figura 3 - Fruto de *Annona crassiflora* (“panã”)



Fonte: Dos autores, 2016

Derivado da palavra em Latim “colheita anual”, o gênero *Annona* é fonte importante de frutos comestíveis da família *Annonaceae* tendo, conseqüentemente, importância econômica. Normalmente, os frutos são consumidos "in natura" ou como sucos, sobremesas e preparações de sorvetes (LORENZI; MATOS, 2008).

Essa espécie vegetal possui diversos tipos de metabólitos secundários, com ação no sistema nervoso, podendo causar alterações de comportamento, humor, pensamento e sensações (SILVA *et al.*, 2009). Dados quimiotaxonômicos caracterizam-na por possuir alcaloides, flavonoides e terpenoides, principalmente diterpenos, justificando a atividade ansiolítica, anticonvulsivante e tranquilizante (SILVA *et al.*, 2009).

Estudos sobre fitoquímica e atividade biológica do gênero *Annona* estão sendo intensificados em consequência da presença das acetogeninas, compostos com ampla atividade biológica, tais como citotóxica, imunossupressora, pesticida, antiparasitária e antimicrobiana. Ainda, na família *Annonaceae* podem ser encontrados alcaloides quinolínicos, pirrolizidínicos, piperidínicos, indolizidínicos, piridínicos e isoquinolínicos (LIMA *et al.*, 2010; MATSUMOTO *et al.*, 2010; SIMÕES *et al.*, 2010).

Em estudo realizado por Oliveira *et al.* (2011) para descrever a intoxicação ocorrida em teste de campo com *Borregos Santa Inês* expostos ao extrato de *A. crassiflora.*, foi possível observar que a maioria dos animais apresentou inapetência total seis horas após administração do extrato desse vegetal e comportamento anormal em ovinos em jejum. Segundo os mesmos autores, após 24 horas, seis ovinos foram encontrados mortos e nas baias destes verificaram-se sinais de diarreia aquosa acentuada e indicativos de movimentos de pedalagem *ante mortem*, sugerindo quadro de intoxicação.

2. 2. 4 - *Dimorphandra mollis* (Benth.) *Caesalpiniaceae*

O gênero *Dimorphandra* possui relevância, sobretudo nos aspectos medicinais e de biodiversidade, por incluir duas espécies, *D. mollis* e *D. gardneriana*. São importantes economicamente como fontes de flavonoides, servindo de matéria prima para a indústria farmacocômica (SUDRÉ *et al.*, 2011).

Dimorphandra mollis (Benth.) *Caesalpiniaceae* é planta com ampla ocorrência nos estados do Maranhão, Piauí, Ceará, Bahia, Pará, Goiás, Mato Grosso e Minas Gerais (MONTANO *et al.*, 2007). É leguminosa, com espécies lenhosas, em geral de porte arbóreo, possui porte médio ou até 30 a 50 metros de altura. Conhecida popularmente como “fava d’anta” ou “faveiro”, com frutos em forma de vagens (Figura 4 A e Figura 4 B) os quais contêm glicosídeos flavônicos, principalmente rutina, potente agente abortivo, e quercetina, com ação antiinflamatória, anticarcinogênica e antioxidante (FÉRES *et al.*, 2006).

Figura 4 - Árvore de “Fava d’anta” (*D. mollis*) com frutos em forma de vagem (Figura A) e Frutos secos de *D. mollis* (Figura B)



Fonte: Dos autores, 2016

Rutina atua no aumento da permeabilidade das paredes dos capilares, usada em combinação com a vitamina C, reduzindo hemorragias e quadros de trombose. Ainda apresenta propriedades antioxidante, antiviral, antitumoral e antiinflamatória (FÉRES *et al.*, 2006).

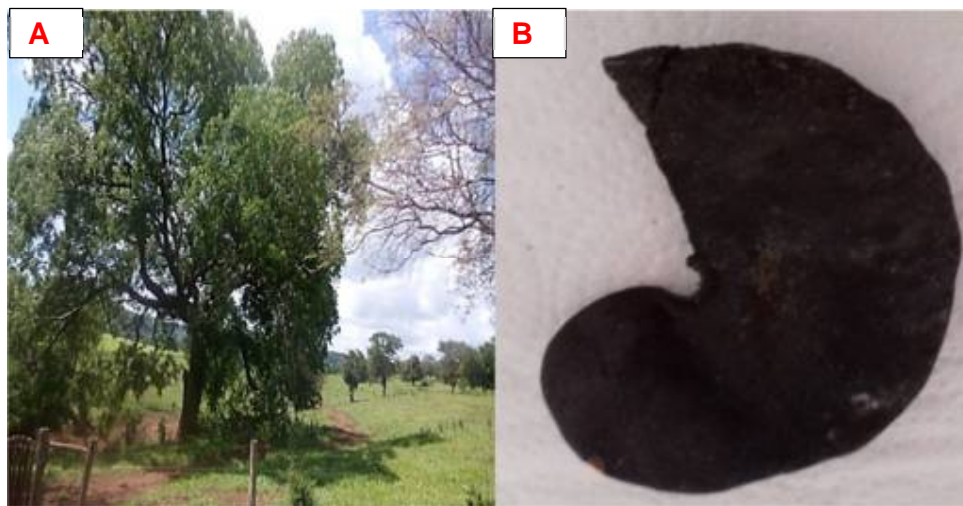
Quercetina é antioxidante polifenólico natural presente em vegetais, frutas e sucos. Quimicamente, é classificada como aglucona da rutina e de outros glicosídeos, atuando na redução de radicais livres, atividade cardiovascular, diminuindo o risco de enfarto do miocárdio e doenças coronarianas. Também, foram descritas outras ações farmacológicas, como antiviral, antiinflamatória e anti - carcinogênica. Atua no sistema imunológico, reduz a formação de cataratas em diabéticos, sendo também considerada hepato e gastroprotetora (SILVA *et al.*, 2009).

Segundo Féres *et al.* (2006), a ingestão de “Fava d’anta” por bovinos pode acarretar intoxicação, com ocorrência de cólica, poliúria, oligúria, hematúria e, em casos mais graves, morte em 24 horas. Para redução dos quadros de intoxicação, é preciso que os proprietários observem durante o período de seca, se as favas estão molhadas e túrgidas por chuvas de verão e impeçam o acesso dos animais aos pastos com presença de frutos maduros (TORRES, 2005).

2. 2. 5 - *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong Fabaceae

Enterolobium contortisiliquum, pertence à família *Mimosoideae*, é arbóreo (Figura 5 A) e conhecido popularmente como “orelha de negro”, “orelha de macaco”, “timburí”, “timbaúba”, “tamboril”, “tambori”, “pau - de - sabão”, “timbaíba”, “timbó”, “tambaré”, “pacará” e “tamburé”. É encontrado nas regiões brasileiras Sul, Sudeste, Norte e Nordeste. Apresenta inflorescências branco-esverdeadas em capítulos axilares e caracteriza-se por produzir favas de coloração negra, com forma parecida com orelha humana (Figura 5 B). A frutificação ocorre nos meses de junho e julho, mas as vagens podem permanecer na planta por mais tempo (TOKARNIA *et al.*, 2012).

Figura 5 - Árvore (A) e Fruto (B) de *Enterolobium contortisiliquum* (“tamboril”)



Fonte: Da autora

Em pesquisas realizadas por Lemos *et al.* (2015) sobre a intoxicação de bovinos por “tamboril” nos estados do Mato Grosso e Rio Grande do Sul, foram descritos sinais clínicos caracterizados principalmente por transtornos digestivos, fotossensibilização hepatógena e abortos. Ademais, em caprinos foram relatadas alterações no sistema digestivo e aborto. Em ovinos caso espontâneo de intoxicação foi descrito, associado à fotossensibilização hepatógena (BEZERRA *et al.*, 2012).

Em estudos experimentais ainda não foram reproduzidos quadros de aborto ou fotossensibilização em bovinos, sendo observados sinais digestivos e dermatite discreta. Os aspectos sobre a patogenia destes quadros de intoxicação por tamboril não foram elucidados na literatura consultada. Nesse contexto, como o princípio tóxico ainda não foi satisfatoriamente caracterizado, alguns autores propõem a presença de saponinas esteroidais e da proteína enterolobina nesse vegetal (LEMOS *et al.*, 2015; MATOS, 2011).

A intoxicação por “tamboril” em bovinos costuma ocorrer após o consumo de frutos no período de escassez de alimento, podendo ser caracterizada por inapetência, anorexia e diarreia, sendo essas observações semelhantes aos relatos de intoxicação em bovinos de diferentes idades. Como medida preventiva, é preciso evitar o acesso dos animais às favas, por meio da mudança de pasto ou corte de árvores nas áreas infestadas (COSTA *et al.*, 2011).

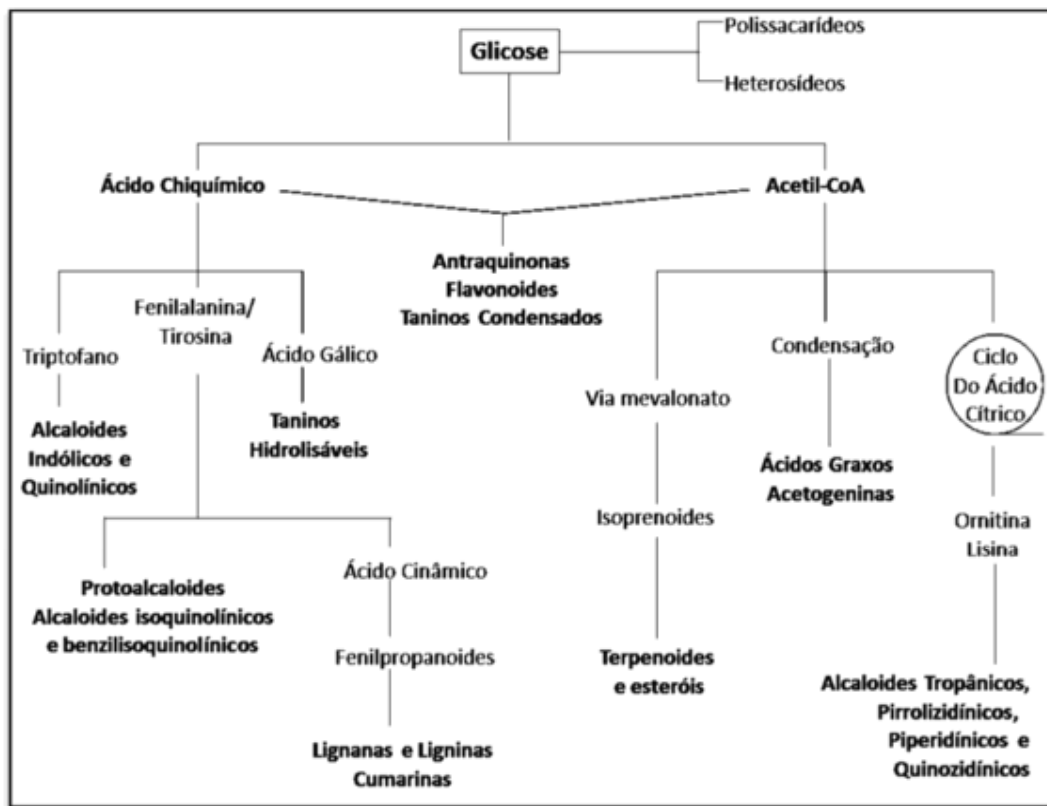
2.3 - Metabólitos secundários tóxicos presentes nas espécies vegetais

Metabolismo representa o conjunto de reações químicas celulares e compostos formados, degradados ou transformados denominados metabólitos e podem ser divididos em primários e secundários. Compreende - se por primário as várias reações químicas envolvidas na transformação de moléculas de nutrientes em unidades constitutivas essenciais. Essas se encontram envolvidas na manutenção da sobrevivência e no desenvolvimento da espécie (COSTA *et al.*, 2011).

Substâncias com ação bioativa de importância na farmacologia são produzidas por biossíntese dos metabólitos secundários (Figura 6). Esses constituintes apresentam-se de diversas formas estruturais, cada família, gênero e espécie produtor de categorias químicas características ou mistura, as quais podem ser utilizadas como caracteres taxonômicos na classificação destas (COSTA *et al.*, 2011; SIMÕES *et al.*, 2010).

Existem três importantes grupos, como compostos fenólicos, terpenos e alcaloides usados na defesa das plantas contra estresses bióticos e abióticos. Os fenólicos, como flavonoides, taninos e ligninas são derivados do ácido chiquímico e mevalônico e os terpenos são sintetizados a partir do ácido mevalônico, no citoplasma, ou do piruvato – 3 - fosfoglicerato, no cloroplasto. Os alcaloides são provenientes de aminoácidos aromáticos, triptofano e tirosina, os quais derivam do ácido chiquímico e de aminoácidos alifáticos como, ornitina e lisina; a nicotina, a cafeína e vincristina são alguns exemplos de substâncias fabricadas nesse processo (TAIZ; ZEIGER, 2009).

Figura 6 - Esquema da rota biossintética de metabólitos secundários



Fonte: SANTOS, 2011

As plantas sintetizam ativos químicos constituindo recurso terapêutico relevante para parcela significativa da população mundial que não tem acesso aos medicamentos alopáticos. Sendo consideradas tóxicas as que produzem compostos capazes de causar alterações fisiológicas prejudiciais ao homem e aos animais (CAMPOS *et al.*, 2016).

A toxicidade apresentada por determinadas espécies pode estar relacionada a fatores associados ao indivíduo, à planta, ao modo de exposição ao ambiente. Assim, pode-se entender por tóxico “todo o vegetal que, ingerido por um organismo vivo, seja capaz de causar danos à saúde e vitalidade dos seres” (SCHONS *et al.*, 2012). Nesse contexto, as plantas tóxicas de interesse pecuário podem ser definidas como as que promovem, sob condições naturais, intoxicação em caprinos, equinos, ovinos, suínos e bovinos (CAMPOS *et al.*, 2016; MELO *et al.*, 2010).

Ao longo do processo evolutivo, os vegetais desenvolveram a capacidade de tornar substâncias tóxicas em atóxicas e estocá-las em locais inativos metabolicamente. Quaisquer que tenham sido os motivos para o surgimento dos compostos, estes se tornaram fundamentais na defesa contra herbívoros, micro-organismos, raios ultravioleta) e atração de polinizadores ou dispersores de sementes (SANTOS, 2011).

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, A. P. M. G. *et al.* Avaliação do efeito tóxico de *Leucaena leucocephala* (Leg. *Mimosoideae*) em ovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 26, n. 3, p. 190-194, 2010. Disponível em: <pdf/pvb/v26n3/a11v26n3.pdf>. Acesso em: 02 mar. 2017.
- BARBOSA, J. D. *et al.* Natural poisoning by *Ipomoea asarifolia* (*Convolvulaceae*) in buffaloes on the Marajó Island, Pará, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 32, n. 9, 2012. Disponível em: <pdf/pvb/v32n9/10.pdf>. Acesso em: 02 mar. 2017.
- BARDAL, D. **Atividade antimicrobiana de barbatimão *Stryphnodendron adstringens* (Martius) Coville em agentes causadores da mastite**. 2011.180 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros. 2011. Disponível em: <bibliotecadigital.ufmg.br/dspace/handle/1843/ncap-8sdnvd>. Acesso em: 10 out. 2015.
- BATESTIN, V. *et al.* Fontes e aplicações de taninos e tanases em alimentos. **Revista Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 15, n. 1, p. 63 - 72, 2004. Disponível em: <servbib.Fcfar.unesp.br/seer/index.php/alimentos/article/viewFile/58/75>. Acesso em: 10 out. 2015.
- BEZERRA, C. W. C. *et al.* Plantas tóxicas para ruminantes e equídeos da microrregião do Cariri Cearense. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 6, p.1070 - 1076, 2012. Disponível em: <org/101590/S0103-8478201200060 0020>. Acesso em: 20 fev. 2017.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 10 de 10 de março de 2010**. Dispõe sobre a notificação de drogas vegetais junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2010. Disponível em: <anvisa.gov.br>. Acesso em: 20 jun. 2016.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Decreto nº 5.813 de 22 de junho de 2006**. Dispõe sobre a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos no Sistema Único de Saúde. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2012. Disponível em: <portal.saude.gov.br>. Acesso em: 17 nov. 2015.
- BROCK, A. C. K.; DUARTE, M. R.; NAKASHIMA, T. Morpho - anatomical study and phytochemical screening of fruits and seeds of *Luffa operculata* (L.) Cogn. *Cucurbitaceae*. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 4, n. 1, p. 31 - 37, 2003. Disponível em: <revistas.ufpr.Br/acadêmica/article/viewFile/520/433>. Acesso em: 21 abr. 2016.
- CAMPOS, S. C. *et al.* Toxicity of plant species. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v. 18, n. 1, p. 373 - 382, 2016. Disponível em: <org/10.1590/1983-084X/15_057>. Acesso em: 27 fev. 2017.
- CATALAN, A. A. S. *et al.* Phytogetic additives in animal nutrition: *Panax ginseng*. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, Lisboa, v. 111, n. 1. p. 15 - 21, 2012. Disponível em: <fmv.ulisboa.pt/spcv/PDF/pdf6_2012/15-21.pdf>. Acesso em: 02 mar. 2017.
- CHATROU, L. W. *et al.* A new subfamilial and tribal classification of the pantropical flowering plant family *Annonaceae* informed by molecular phylogenetics. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 169, n. 1, p. 5 - 40, 2012. Disponível em: <onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1095-8339.2012.01235.x/fullpdf>. Acesso em: 21 abr. 2016.

- COSTA, A. M. D. *et al.* Poisonous plants to livestock interest in the Amazonia and Savanna ecotone region Part I: Bico do Papagaio, North of Tocantins, Brazil. **Acta Veterinaria Brasilica**, Mossoró, v. 5, n. 2, p. 178 - 183, 2011. Disponível em: <researchgate.net/publication/286222169_Poisonous_plants_of_livestock_interest_in_the_Amazonia_and_Savanna_ecotone_region_Part_II_Araguaina_North_of_Tocantins_state_Brazil>. Acesso em: 03 mar. 2017.
- COSTA, V. P.; MAYWORM, M. A. S. Medicinal plants used by the community of Tenentes District - Extrema Municipality, Minas Gerais State, Brazil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 13, n. 3, p. 282 - 292, 2011. Disponível em: <[pdf/rbpm/v13n3/a06v13n3.pdf](#)>. Acesso em: 02 mar. 2017.
- CZELUSNIAK, K. E. *et al.* Morpho - anatomy, phytochemistry and pharmacology of *Mikania glomerata* Sprengel: a brief literature review. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 14, n. 2, p. 400 - 409, 2012. Disponível em: <[pdf/rbpm/v14n2/22](#)>. Acesso em: 06 mar. 2017.
- ETHUR, L. Z. *et al.* Formal trade and profile of consumers of medicinal plants and phytomedicine in Itaquí Municipality, Rio Grande do Sul State, Brazil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 13, n. 2, p. 121 - 122, 2011. Disponível em: <sbpmmed.org.br/download/issn112/13n2_01_121-128>. Acesso em: 20 de abr. 2016.
- FÉRES, C. A. O. *et al.* Acute and chronic toxicological studies of *Dimorphandra mollis* in experimental animals. **Journal of Ethnopharmacology**, Amsterdam, v. 108, n. 3, p. 450 - 456, 2006. Disponível em: <[ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16872769](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16872769)>. Acesso em: 12 jul. 2016.
- FERREIRA, M. F. M. **Análises genéticas de *Annona crassiflora* (Annonaceae): implicações para conservação da espécie.** 2011. 127 f. Dissertação (mestrado). Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011. Disponível em: <dcf.ufla.br/conservacao/dissertacoes/mariafernanda.pdf>. Acesso em: 22 abr. 2016.
- FONSECA, P.; LIBRANDI, A. P. L. Avaliação das características físico-químicas e fitoquímicas de diferentes tinturas de barbatimão (*Stryphnodendron barbatiman*). **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 44, n. 2, p. 271 - 277, 2008. Disponível em: <[itstream/handle/BDPI/5855/artFONSECAAvaliacaodascaracteristicasfisicoquimicasefitoquimicasde2008.pdf](#)>. Acesso em: 08 out. 2015.
- GARCIA, R. C. *et al.* Ensaios biológicos do almeirão-roxo (*Cichorium intybus*) e barbatimão (*Stryphnodendron Barbatiman Martius*) em ratas com menopausa cirúrgica. **Revista Eletrônica de Farmácia**, Goiânia, v. 7, n. 1, p. 65-80, 2010. Disponível em: <<http://ufg.br/index.php/REF/article/viewFile/996/6652>>. Acesso em: 08 de out. 2015.
- ISHIDA, K. *et al.* Activity of tannins from *Stryphnodendron adstringens* on *Cryptococcus neoformans*: effects on growth, capsule size and pigmentation. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, London, v. 8, n. 29, p. 01 - 02, 2009. Disponível em: <[ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2777115](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2777115)>. Acesso em: 08 out. 2015.

- LEMOS, R. A. A. *et al.* Poisoning by *Enterolobium contortisiliquum* in cattle in Northeastern Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 35, n. 1, 2015. Disponível em: <script=sci_arttext&pid=S0100736 X2015000100044/>. Acesso em: 08 mai 2016.
- LIMA, C. R. O. *et al.* Caracterização dos metabólitos secundários do barbatimão. In: SILVA, L. A. F. *et al.* **Manual do barbatimão**. Goiânia: Kelps, p. 61 - 68, 2010.
- LOPES, G. C. *et al.* Determinação quantitativa de taninos em três espécies de *Stryphnodendron* por cromatografia líquida de alta eficiência. **Brazilian Journal Of Pharmaceutical Sciences**, São Paulo, v. 45, n. 1, p. 135-143, 2009. Disponível em: <org/101590/S1984-82502009000100017>. Acesso em: 18 out. 2015.
- LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. 2. ed. São Paulo, Nova Odessa: Instituto Plantarum, p. 80 - 97, 2008.
- LUCENA, M. N. *et al.* Avaliação da estabilidade da pomada à base de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville e sua eficácia na neutralização dos efeitos locais induzidos pela peçonha de *Bothrops pauloensis*. **Horizonte Científico**, Uberlândia, v. 3, n. 1, p. 1- 29, 2009. Disponível em: <index.php/horizontecientifico/article/download/4314/3196>. Acesso em: 18 out. 2015.
- MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais: guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no nordeste do Brasil**. 2. ed. Fortaleza: Editora UFC, 2011. p. 300 – 344.
- MATSUMOTO, R. S. *et al.* Allelopathic potential of leaf extract of *Annona glabra* L. (*Annonaceae*). **Acta Botanica Brasilica**, Feira de Santana, v. 24, n. 3, p. 631 - 635, 2010. Disponível em: <cabdirect.org/abstracts/EC8FBC6EC2FE0E0A7DACB9FFD26CF>. Acesso em: 23 abr. 2016.
- MELO, R. R. *et al.* Características farmacobotânicas, químicas e biológicas de *Syzygium alaccense* (L.). **Revista Brasileira de Farmácia**, São Paulo, v. 90, n. 4, p. 298 - 302, 2010. Disponível em: <http://files/pag298302caracteristicasfarmacobotanicas22090-4. Pdf >. Acesso em: 18 out. 2015.
- MONTANO, H. G. *et al.* Phytoplasma in “fava d'anta” tree (*Dimorphandra gardneriana*) in Brazil. **Bulletin of Insectology**, Bologna, v. 60, n. 2, p. 147-148, 2007. Disponível em: <bulletinofinsectology.org/pdfarticles/ vol60-2007-147-148montano. pdf>. Acesso em: 22 abr. 2016.
- MONTEIRO, J. M. *et al.* Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Química Nova**, São Paulo, v. 28, n. 5, p. 892 - 896, 2005. Disponível em: <pdf/qn/v28n5/25920.pdf>. Acesso em: 18 out. 2015.
- OLIVEIRA, R. B. *et al.* Toxicidade de *Annona crassiflora* sobre ovinos em teste de campo: relato de caso. **Revista Veterinária e Zootecnia**, Goiânia, v. 18, n. 3, p. 620 - 623, 2011. Disponível em: <academia. Edu / 2 1 3 8 7 9 0 1/ toxicidade _ de _ Annona _ crassiflora _ sobre _ ovinos _ em _ teste _ de _ campo _ relato _ de _ caso>. Acesso em: 18 set. 2016.
- PEREIRA, M. F. *et al.* Development of microsatellite markers in *Annona crassiflora* Mart., a Brazilian Cerrado fruit tree species. **Molecular Ecology Resources**, Oxford, v. 8, n. 6, p. 1329 - 1331, 2008. Disponível em: <researchgate.net /publication /51140282_ Development _ of _

microsatellite _ markers_in_Annona_crassiflora_Mart_a_Brazilian_Cerrado_fruit_tree>. Acesso em: 25 maio 2016.

RODRIGUES, D. F. *et al.* O extrato da casca de barbatimão, *Stryphnodendron Adstringens* (Martius) Coville, na cicatrização de feridas em animais. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 9, n. 16, p. 1583 - 1601, 2013. Disponível em: <<http://enciclop/2013/a/agrarias/o%20extrato%20da%20casca.pdf>>. Acesso em: 08 out. 2015.

ROYER, A. F. B. *et al.* Fitoterapia aplicada à avicultura industrial. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 9, n. 17, p. 1466-1484, 2013. Disponível em: <conhecer.org.br/enciclop/2013b/CIENCIAS%20AGRARIAS/FITOTERAPIA.pdf>. Acesso em: 08 mar. 2017.

SANTOS, A. P. B. A beleza, a popularidade, a toxicidade e a importância econômica de espécies de Aráceas 2011. **Revista virtual de química**, v. 3, n. 3, p. 181 - 195, 2011. Disponível em: <rvq.s bq.org.br/detalhe_artigo.asp?id=592>. Acesso em: 08 mar. 2017.

SCHONS, S. V. *et al.* Clinical signs and pathology of chronic experimental poisoning by *Palicourea marcgravii* in goats. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 7, p. 1257 - 1263, 2012. Disponível em: <pdf/pvb/v35n3/0100-736X-pvb-35-03-00209.pdf>. Acesso em: 03 mar. 2017.

SILVA, L. A. F. *et al.* Extrato da casca do barbatimão (*Stryphnodendron barbatiman* Martius) associado ao tratamento cirúrgico e toailete dos cascos na recuperação de bovinos da raça Nelore com dermatite digital. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v.1, n. 1, p. 373 - 378, 2009. Disponível em: <<http://index.php/vet/article/view/7803>>. Acesso em: 08 out. 2015.

SILVA, M. A. C.; DIAS - JUNIOR, W.; MORAES, M. G. Intoxicações causadas por plantas no estado de Goiás. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 8, n. 14, p. 1576 - 1585, 2012. Disponível em: <conhecer.org.br/enciclop/2012a/saude/Intoxicacoes>. Acesso em: 02 mar. 2017.

SIMÕES, C. M. O. *et al.* **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Santa Catarina: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2010. p. 1102 - 1112.

SOUZA, T. M. *et al.* Bioprospecção de atividade antioxidante e antimicrobiana da casca de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (*Leguminosae - Mimosoidae*). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, Araraquara, v. 28, n. 2, p. 221 - 226, 2007. Disponível em: <serv-bib.Fcfar.unesp.br/seer/index.php/Cien_Farm/article/viewFile/334/320>. Acesso em: 02 out. 2015.

SOUSA, N. P. S. **Luffa operculata**: mecanismo de ação no epitélio respiratório e eficácia terapêutica no tratamento clínico das rinosinusites: revisão sistemática. 2006. 42f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo, São Paulo, 2006. Disponível em: <fcmscsp.edu.br/images/Arquivos_médicos/2007/52_1/05-teses1_2006.pdf>. Acesso em: 21 abr. 2016.

SUDRÉ, C. P. *et al.* Genetic divergence among *Dimorphandra* spp. accessions using RAPD markers. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 4, p. 608-613, 2011. Disponível em: <andorinha.epagri.sc.gov.br/consulta_website/busca_pdf>. Acesso em: 21 abr. 2016.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. p. 819 - 850.

TOKARNIA, C. H. *et al.* **Plantas tóxicas do Brasil para animais de produção**. 2. ed. Rio de Janeiro: Helianthus, 2012. p. 566 - 570.

TORRES, D. P. M. **Gelificação térmica de hidrolisados enzimáticos de proteínas do soro de leite bovino**: comportamento de sistemas aquosos mistos péptidos polissacarídeos. 2005. 118f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia/Engenharia de Bioprocessos) - Departamento de Engenharia Biológica, Universidade do Minho, Braga/Portugal. 2005. Disponível em: <repositorio. ufrn. Br /jspui/ bitstream/ 123456789/15897/1/JorgeSC_tese.pdf>. Acesso em: 12 jul. 2016.

VILAR, J. B. A.; FERRI, P. H. B; CHEN-CHEN, L. A. Genotoxicity investigation of araticum (*Annona crassiflora* Mart., 1841, *Annonaceae*) using SOS - Inductest and Ames test. **Revista Brazilian Journal of Biology**, São Carlos, v. 71, n. 1, p. 197 - 202, 2011. Disponível em: <pdf/bjb/v71n1/26.pdf>. Acesso em: 22 abr. 2016.

CAPÍTULO II

3 ARTIGO

3. 1 - Artigo 1 - Triagem fitoquímica de plantas abortivas do Cerrado: “barbatimão”, “buchinha - do - Norte”, “panã”, “fava d'anta” e “tamboril”.

Este artigo foi elaborado conforme normas do Periódico Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia

1 **Triagem fitoquímica de plantas abortivas do Cerrado: barbatimão, buchinha - do - Norte,**
2 **panã, fava d'anta e tamboril**

3 **Phytochemical screening of Cerrado's abortive plants: barbatimão, buchinha - do - Norte,**
4 **panã, fava d'anta and tamboril**

5 **Janine Kátia dos Santos Alves e Rocha^I Neide Judith Faria de Oliveira^{II} Raphael Rocha**
6 **Wenceslau^{III}**

7
8 *Janine Kátia dos Santos Alves e Rochas: janine.katia@funorte.edu.br; Docente do Curso de
9 Farmácia das Faculdades Integradas do Norte de Minas (FUNORTE), Montes Claros, Minas
10 Gerais

11

12 **RESUMO:** Objetivou-se com este trabalho caracterizar qualitativamente grupos de metabólitos
13 secundários de cinco espécies de plantas nativas do Cerrado. As amostras das espécies
14 “barbatimão”, “fava d'anta”, “panã”, e “tamboril”, foram coletadas na região do município de
15 Montes Claros, Minas Gerais, Brasil. Os exemplares de “buchinha - do - Norte” foram
16 adquiridos no mercado municipal da referida cidade. O material vegetal foi composto por frutos
17 e sementes, coletados de abril a maio de 2016. Exsicatas foram preparadas e depositadas no
18 Herbário da Universidade Estadual de Montes Claros para identificação botânica. Os extratos
19 aquosos foram submetidos a reações de caracterização fitoquímica para identificação de
20 fenóis, taninos, flavonoides, saponinas, esteroides, triterpenos, cumarinas e alcaloides. Os
21 resultados foram considerados positivos por formação de precipitados e surgimento de
22 coloração e espuma e, negativos por ausência dessas características. Foi possível identificar
23 nas espécies analisadas a presença os metabólitos secundários, como taninos, flavonoides,
24 cumarinas, triterpenos, esteroides, saponinas e alcaloides que, provavelmente são os
25 principais ativos responsáveis por ação farmacológica e tóxica das espécies estudadas.

26

27 **PALAVRAS-CHAVE:** Fitoterápicos, intoxicação, metabólitos secundários, plantas tóxicas.

28

29 **ABSTRACT:** The objective of this work was to qualitatively characterize groups of secondary
30 metabolites of five species of plants native to the Cerrado. Samples of the species *S.*
31 *adstringens*, *D. mollis*, *A. crassiflora* and *E. contortisiliquum*, were collected in the region of the
32 municipality of Montes Claros, Minas Gerais, Brazil. The *L. operculata* specimens were
33 purchased in the municipal market of that city. The plant material was composed of fruits and
34 seeds, collected from April to May 2016. Exsiccates were prepared and deposited in the Herbarium
35 of the State University of Montes Claros for botanical identification. The aqueous extracts were
36 submitted to phytochemical characterization reactions to identify phenols, tannins, flavonoids,
37 saponins, steroids, triterpenes, coumarins and alkaloids. The results were considered positive
38 by formation of precipitates and appearance of staining and foam, and negatives due to the
39 absence of these characteristics. It was possible to identify secondary metabolites such as
40 tannins, flavonoids, coumarins, triterpenes, steroids, saponins and alkaloids in the analyzed

41 species, which are probably the main active agents responsible for the pharmacological and
42 toxic action of these species.

43

44 **KEY WORDS:** Phytotherapics, intoxication, secondary metabolites, toxic plants.

45

46

INTRODUÇÃO

47

48 No Brasil, o uso da Fitoterapia é amplamente difundido e, na maioria dos casos, a
49 escolha de uma terapia baseada em plantas medicinais ocorre sem orientação médica. Um dos
50 principais problemas dessa utilização é a crença de que produtos de origem vegetal são
51 isentos de reações adversas e efeitos tóxicos (Gallo e Koren, 2001; Clarke *et al.*, 2007).

52

53 Os vegetais possuem substâncias com propriedades naturais, físicas, químicas ou físico-
54 químicas, capazes de alterar o conjunto funcional e orgânico, em vista da incompatibilidade
55 vital ou condução do organismo às reações biológicas diversas, sendo o grau de toxicidade
56 dependente da dosagem e do indivíduo. Além da função de proteção contra a predação por
57 micro-organismos, insetos e herbívoros, os princípios ativos fitoquímicos exercem efeitos sobre
58 os organismos, podendo ser benéficos ou tóxicos (Ferreira *et al.*, 2006).

59

60 Conforme Rodrigues *et al.* (2013), dentre as reações adversas mais graves causadas
61 pelo uso indiscriminado de plantas medicinais estão os efeitos teratogênico, embriotóxico e
62 abortivo, pois os constituintes desses vegetais podem atravessar a placenta, chegar ao feto e
63 gerar problemas deletérios. Há diversas espécies da flora brasileira com ação abortiva
64 conhecida, como *Stryphnodendron adstringens*, *Luffa operculata*, *Annona crassiflora*,
65 *Dimorphandra mollis* e *Enterolobium contortisiliquum*, entre outras (Souza *et al.*, 2007).

66

67 A triagem fitoquímica dos extratos aquosos desses vegetais pode revelar metabólitos
68 secundários como fenóis, taninos, flavonoides, saponinas, esteroides, triterpenos, cumarinas e
69 alcaloides que apresentam ação abortiva (Souza *et al.*, 2007). Objetivou-se com esse estudo
70 determinar o perfil fitoquímico de *Stryphnodendron adstringens*, *Dimorphandra mollis*, *Luffa*
71 *operculata*, *Annona crassiflora* e *Enterolobium contortisiliquum*, para identificar a presença de
72 compostos com ação abortiva. Após análise de dados, faz-se necessário obter informações
73 sobre os compostos presentes nesses fitoterápicos para que sirvam de referência para futuros
74 trabalhos científicos e contribuam para utilização de maneira segura e eficaz tanto na medicina
75 veterinária quanto na agricultura.

76

77

MATERIAL E METODOS

78

79 As amostras das espécies *Stryphnodendron adstringens*, *Dimorphandra mollis*, *Annona*
80 *crassiflora* e *Enterolobium contortisiliquum*, foram coletadas na comunidade Planalto Rural,
81 situada a aproximadamente 20 km da cidade de Montes Claros, às margens da BR-135,
82 integrando a região Serra Velha. Os exemplares de *Luffa operculata* foram adquiridos no
83 mercado municipal da referida cidade. O material vegetal foi composto por frutos e sementes,
84 coletados de setembro a outubro de 2017. Em seguida, exsiccadas foram preparadas e

80 depositadas no Herbário da Universidade Estadual de Montes Claros para identificação
81 botânica.

82 O desenvolvimento da extração aquosa dos compostos ativos da planta, a avaliação da
83 granulometria do pó, os processos de filtração e as identificações fitoquímicas do extrato
84 aquoso (Simões *et al.*, 2010; Barbosa *et al.*, 2001; Farmacopeia Brasileira II, 2010) ocorreram
85 no Laboratório de Farmacognosia do Curso de Farmácia das Faculdades Unidas do Norte de
86 Minas (FUNORTE), em Montes Claros - MG. A presença ou ausência dos grupos de
87 metabólitos secundários de *S. adstringens*, *D. mollis*, *A. crassiflora*, *E. contortisiliquum* e *L.*
88 *operculata* foi verificada de forma qualitativa, a partir da observação das reações químicas
89 características, indicando a presença de resultado positivo ou negativo para cada grupo e
90 constituinte analisado.

91 Os extratos aquosos foram submetidos a reações seriadas de caracterização
92 fitoquímica: **fenóis** e **taninos**, reação com cloreto férrico, gelatina, acetato de cobre e chumbo;
93 **flavonoides**, reação com magnésio granulado com ácido clorídrico; **saponinas**, teste de
94 espuma-agitação; **esteroides** e **triterpenos**, extração com clorofórmio anidrido acético e ácido
95 sulfúrico; **cumarinas**, em observação sob a luz ultravioleta e para **alcaloides**, utilizou-se
96 reativo de Dragendorff. Antes da operação extrativa do pó, das sementes e cascas de frutos de
97 *S. adstringens*, *D. mollis*, *E. contortisiliquum*, *A. crassiflora*, *L. operculata* procedeu-se a
98 pulverização integral das amostras vegetais, em moinho de facas do tipo *Willey*, em sistema
99 contínuo (Sonaglio *et al.*, 2007). Após a moagem, o material foi embalado em envelopes de
100 cartolina e acondicionado em bandejas de polipropileno. As bandejas permaneceram
101 armazenadas por período integral, em estantes, com temperatura constante, $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, ao
102 abrigo de luz e umidade até o momento do uso. Padronizou-se o diâmetro das partículas, com
103 tamis oficial correspondente a 425 μm , facilitando a extração por solvente (água destilada) na
104 proporção de 100g/1000 mL por aumentar a superfície de contato entre as fases da
105 suspensão.

106 As sementes e cascas dos frutos das espécies estudadas foram coletadas e submetidas
107 à secagem em estufa à temperatura de $40 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ por três dias e trituradas em moinho. Os
108 extratos foram preparados a partir da pesagem de 100 g do pó das sementes e cascas do fruto
109 de cada vegetal. Após o processo de moagem, o material foi separado, sendo 40g suspensas
110 em 200 mL de água destilada e colocado em banho - maria a 70°C por 10 minutos, com
111 agitação realizada entre 10 a 15 minutos, filtrando em gaze e, logo após em papel filtro com
112 poros. Em seguida, os extratos obtidos foram acondicionados em vidros âmbar, armazenados
113 por 72 horas, protegidos da luz e sob refrigeração de $5 \pm 3^{\circ}\text{C}$ para evitar interferências de
114 possíveis reações de oxidações, reduções e modificações dos constituintes polifenólicos por
115 polimerização (Gabbardo, 2009).

116 Procedeu-se a identificação fitoquímica dos extratos aquosos de *S. adstringens*, *D.*
117 *mollis*, *E. contortisiliquum*, *A. crassiflora* e *L. operculata*, sempre em triplicata. A identificação e
118 diferenciação dos taninos foi determinada por constituição qualitativa inespecífica da planta
119 (Farmacopeia Brasileira II, 2010; Mello, 2010; Souza *et al.*, 2007).

120 Realizaram-se reações qualitativas dos extratos vegetais, nas quais os compostos
121 tânicos precipitaram soluções proteicas de gelatina a 2,5% (p/v) e complexaram com íons
122 metálicos, como acetato de cobre a 4% (p/v), acetato de chumbo a 10% (p/v) e cloreto férrico a
123 1% (p/v) (Monteiro *et al.*, 2005).

124 A adição de duas gotas da solução de gelatina em cada tubo de ensaio, com os
125 diferentes extratos, indicou reação positiva caracterizada por turvação e/ou precipitação.
126 Posteriormente, foram adicionadas três gotas de solução acetato de cobre a 4% e acetato de
127 chumbo a 10% (p/v) ao extrato, sendo possível observar também turvação e precipitação
128 (Barbosa *et al.*, 2001).

129 Para diferenciar taninos hidrolisáveis e condensados, empregaram-se os métodos
130 qualitativos específicos: reação com cloreto férrico (FeCl_3) a 2% (p/v) em metanol, para
131 identificar taninos hidrolisáveis; reação com a vanilina a 1% (p/v) em meio metanólico e ácido,
132 a qual indica taninos condensados (Farmacopeia Brasileira II, 2010; Mello, 2010).

133 Em tubos de ensaio contendo dois mL de cada extrato, adicionaram-se três gotas de
134 solução alcoólica de FeCl_3 , agitando fortemente. Observou-se presença de coloração verde ou
135 azul nos tubos, de acordo com a espécie estudada (Farmacopeia Brasileira II, 2010).

136 Para a identificação de flavonoides, utilizou-se a reação de Shinoda, cloreto de alumínio
137 e Pew. Para a reação de Shinoda, adicionou-se dois mL dos extratos alcoólicos nos tubos de
138 ensaio e seis fragmentos de Magnésio (Mg) metálico em cada um. Em seguida, acrescentou-se
139 um mL de ácido clorídrico (HCl) concentrado, observando-se aparecimento de coloração
140 vermelha, o que indica presença de flavonoides na amostra (Miranda *et al.*, 2013).

141 Procedeu-se à análise utilizando-se a reação de cloreto de alumínio (AlCl_3), umedecendo
142 áreas diferentes de tiras de papel de filtro com os extratos aquosos. Colocou-se sobre as
143 bordas do papel uma gota de solução de cloreto de alumínio a 5%, comparando fluorescência
144 sob luz ultravioleta. A pesquisa é positiva para presença de flavonoides por causa da
145 intensificação de fluorescência com presença de coloração verde amarelada (Barbosa, 2001).

146 Para a reação de Pew, foram adicionados três mL das amostras vegetais em cinco
147 cápsulas de porcelana e levados ao banho-maria até desidratação total. Logo após, adicionou-
148 se três mL de metanol e transferiu-se o conteúdo das cápsulas para tubos de ensaio.
149 Acrescentou-se cinco fragmentos de zinco metálico e três gotas de HCl concentrado. Foi
150 possível observar desenvolvimento lento de coloração vermelha, indicativo para reação positiva
151 de flavonoides (Miranda *et al.*, 2013).

152 Para identificação de saponinas os testes foram considerados positivos por causa da
153 formação permanente de espuma ou colarinho após a solução ser aquecida e, posteriormente
154 agitada por 15 segundos. Essa característica ocorre em função da ausência da tensão
155 superficial da água e da natureza anfifílica da molécula saponosídica (Simões *et al.*, 2010).

156 A reação de Liebermann - Burchard, anidrido acético - ácido sulfúrico foi utilizada para
157 determinação de esteroides e triterpenos presentes nos extratos aquosos dos vegetais. Em um
158 tubo contendo o extrato foram adicionados dois mL de clorofórmio para a dissolução desse.
159 Após esse processo, a solução clorofórmica foi filtrada em funil fechado com algodão para

160 outro tubo. Em seguida, adicionou-se um mL de anidrido acético, agitando suavemente. Logo
161 após, foram acrescentadas três gotas de ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4) sob agitação e
162 observado o desenvolvimento de coloração azul e verde características da reação. É possível
163 observar que triterpenos desenvolvem coloração mutável, azul para verde e esteróides
164 coloração estável (Macedo *et al.*, 2007).

165 Preparou-se a solução extrativa com cinco mL do extrato vegetal em 20 mL de água
166 fervida a 100 °C. Após filtração, adicionou-se HCl 1 M, até que fosse alcançado pH igual a 1. A
167 solução acidificada foi submetida à partição líquido - líquido com 10 mL de éter etílico. A fase
168 etérea foi concentrada até metade de seu volume inicial e aplicada em duas manchas na borda
169 do papel filtro. Em uma das manchas foi adicionada uma gota de NaOH 1M, sendo esta
170 observada à luz UV (365 nm); na outra nada foi aplicado. O aparecimento de fluorescência, no
171 primeiro caso, é indicativo da presença de cumarinas (Barbosa *et al.*, 2001).

172 Para confirmação do resultado, em tubo de ensaio colocaram-se dois mL da solução
173 metanólica, tampou-se com papel filtro impregnado em solução 10% de NaOH e levou-se a
174 banho - maria a 100°C por cinco min. Removeu-se o papel de filtro e examinou-se sob luz UV.
175 A fluorescência amarela confirmou presença de cumarinas.

176 Para a identificação de alcaloides, dividiu - se o filtrado em duas porções denominadas
177 A e B. Desenvolveu-se a pesquisa direta na porção A, com distribuição do filtrado de cada
178 planta em dois tubos de ensaio de 10 mL, gotejando os reagentes 1 a 2 gotas, fazendo
179 comparação com branco. Observou-se turvação e precipitação da amostra (Pereira; Oliveira;
180 Lemos, 2004).

181 A pesquisa confirmatória foi feita com a porção B dos extratos aquosos, adicionando-se
182 hidróxido de amônio (NH_4OH) diluído até que o pH ficasse básico entre oito e nove.
183 Posteriormente, foram acrescentados sete mL de clorofórmio ($CHCl_3$) com extração cautelosa
184 por 10min. Após decantação, a camada clorofórmica foi transferida para cápsula de porcelana,
185 aquecida em banho-maria e evaporou-se até secura total do material. Dissolveu-se o resíduo
186 em cinco mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) a 1%, distribuiu a mistura em oito tubos de ensaio e
187 gotejou os reagentes. O resultado positivo foi verificado após turvação e precipitação com
188 aparecimento de cor alaranjada a vermelho (Pereira; Oliveira; Lemos, 2004).

189

190

RESULTADOS E DISCUSSÃO

191 Após depósito de exsiccatas no Herbário da Universidade Estadual de Montes Claros,
192 obtiveram - se os números de identificação para *S. adstringens* (HMC 5769), *D. mollis* (HMC
193 314), *A. crassiflora* (HMC 326), *E. contortisiliquum* (HMC 554) e *L. operculata* (HMC 5770). Os
194 testes realizados com sementes e cascas de frutos das espécies foram positivos por causa da
195 formação de precipitados e surgimento de coloração e espuma, sendo negativos se houve
196 ausência dos mesmos (Tab. 1).

197

198 Tabela 1-Triagem fitoquímica dos extratos aquosos de *S. adstringens*, *D. mollis*, *E.*
199 *contortisiliquum*, *A. crassiflora* e *L. operculata*

PLANTAS ESTUDADAS			CLASSE DE METABÓLITO PESQUISADA							
Nome Científico	Nome Popular	Partes	Fenóis	Taninos		Flavonoides	Saponinas	Esteroides/ Triterpenos	Cumarinas	Alcaloides
				Condensados	Hidrolisáveis					
<i>S. adstringens</i> (HMC 5769)	Barbati-mão	Sementes	+	+	-	+	+	-	+	+
		Cascas de frutos	+	+	-	+	+	-	+	+
<i>D. mollis</i> (HMC 314)	Fava d'anta	Sementes	+	-	+	+	+	+	+	+
		Cascas de frutos	+	-	+	+	+	+	+	+
<i>E. contortisiliquum</i> (HMC 554)	Tamboril	Sementes	+	-	+	+	+	+	+	+
		Cascas de frutos	+	-	+	+	+	+	+	+
<i>A. crassiflora</i> (HMC 326)	Panã	Sementes	+	+	-	+	+	+	+	+
		Cascas de frutos	+	+	-	+	+	+	+	+
<i>L. operculata</i> (HMC 5770)	Buchinha - do - Norte	Sementes	+	-	+	-	+	+	-	+
		Cascas de frutos	+	-	+	-	+	+	-	+

200

201

202

203 Legenda: (+) Presença da classe dos compostos secundários; (-) ausência das classes dos
204 compostos secundários.

205

Fonte: Dos autores

206

207 Observou-se a presença de taninos totais nos extratos das plantas, pela formação de
208 precipitados e decantados nítidos. Os tubos contendo os extratos de sementes e cascas de
209 frutos de “panã” e “barbatimão” indicaram a presença de taninos condensados ou catéquicos
210 (Tab. 1). Os resultados desse estudo foram semelhantes aos verificados por Souza *et al.*
211 (2007) e Mello *et al.* (2010). No entanto, os extratos de “fava d'anta”, “buchinha-do-norte” e
212 “tamboril” apresentaram taninos hidrolisáveis ou gálicos. Esse tipo metabólito secundário é
213 amplamente aplicado no curtume de couros (Almeida *et al.*, 1998). No que refere à aplicação
214 terapêutica, os taninos previnem a peroxidação de lipídios e degradação de nucleotídeos
215 (Pietta, 2000), e aceleram o processo de cicatrização (Panizza *et al.*, 1988). Os taninos
216 condensados possuem um amplo padrão de distribuição nos vegetais quando comparados aos
217 hidrolisáveis, sendo encontrados em diversas famílias de angiospermas como nas *Anonáceas*
218 (Paiva *et al.*, 2002).

219 O desenvolvimento das colorações laranja e avermelhada na presença do reativo de
220 Shinoda indicaram a presença de flavonoides nos extratos de “barbatimão”, “fava d'anta”,
221 “panã” e “tamboril”, não sendo esses metabólitos encontrados nos extratos de sementes e
222 cascas de frutos de buchinha-do-Norte. Os flavonoides, biossintetizados a partir da via dos

223 fenilpropanóides, constituem uma importante classe de polifenóis, presentes em abundância
224 entre os metabólitos secundários de vegetais. São encontrados em maior quantidade nas
225 famílias *Leguminosae* e *Compositae* (Martins *et al.*, 1994). Este grupo é de interesse
226 econômico, principalmente farmacológico, pois possui atividades antiinflamatórias,
227 antioxidantes e antivirais, entre outras (Macedo *et al.*, 2007). Esses compostos naturais estão
228 entre os mais disseminados no reino vegetal, registrando-se aproximadamente dois mil
229 compostos, no estado livre ou como glicosídeos. As funções são variadas, constituindo
230 substâncias do estresse de metabólitos ou moléculas sinalizadoras. Segundo o mesmo autor, é
231 possível observar efeito cardioprotetor capaz de reduzir a mortalidade por doenças coronárias,
232 atividade antiperoxidativa em nível das membranas celulares do fígado, antibacteriana, inibição
233 da atividade da tirosina kinase dos produtos oncogênicos e da síntese de DNA nas células
234 tumorais, impedindo assim a proliferação celular anormal. Ainda, apresenta ação antidiarreica,
235 proteção solar, estrogênica e benzodiazepínica (Costa, 2013).

236 A formação de espuma estável em tubo de ensaio, por intermédio de agitação vigorosa
237 dos extratos, revelou a presença de saponina espumídica em todas as amostras (Tab 1).
238 Plantas que apresentam esses compostos possuem ações farmacológicas, tais como
239 hipocolesterolemiantes, expectorantes e cicatrizantes (Lopes *et al.*, 2009). As saponinas também
240 têm sido associadas às atividades hemolítica, antiviral, antiinflamatória (Simões *et al.* 2010) e
241 redução na falha congestiva cardíaca por inibição do efluxo celular de íons sódio (Na^+)
242 (Schneider e Wolfling, 2004).

243 Os resultados para esteroides e triterpenoides foram negativos para os extratos do
244 barbatimão, quando em comparação com o extrato bruto, após a reação de Liberman -
245 Burchard. No entanto, foram positivos para sementes e cascas de frutos das outras espécies
246 analisadas nesse trabalho. Não foi possível observar cumarinas no extrato aquoso de *L.*
247 *operculata*, porém foram identificadas em *S. adstringens*, *D. mollis*, *E. contortisiliquum* e *A.*
248 *crassiflora*. Os esteroides são substâncias envolvidas no desenvolvimento e no controle do
249 sistema reprodutor humano, funcionando como cardiotônicos, precursores de vitamina D,
250 anticoncepcionais orais, agentes antiinflamatórios e anabolizantes (Robbers *et al.*, 1997).
251 Segundo Ikeda *et al.* (2008), triterpenos é o grupo mais importante de terpenóides,
252 apresentando efeitos antiinflamatórios, analgésicos, cardiovasculares e antitumorais. As
253 cumarinas são ativos com ação anticoagulante e utilizados no tratamento de doenças de pele,
254 como psoríase, dermatoses e vitiligo (Leite, 2009).

255

256

CONCLUSÃO

257 Nas plantas estudadas, os constituintes fitoquímicos identificados foram fenóis, taninos,
258 flavonoides, saponinas, cumarinas, esteroides, terpenoides e alcaloides, que sugerem
259 potencialidade tóxica, podendo também estar associados a atividades farmacológicas como
260 antiinflamatória, antifúngica, antioxidante e antimicrobiana. Nesse sentido, é importante
261 quantificar e avaliar os metabólitos presentes nos vegetais com efeitos tóxicos sobre a
262 reprodução animal, a fim de direcionar ações preventivas e reduzir casos de intoxicação.

REFERÊNCIAS

- 263
- 264 ALMEIDA, S. P. *et al.* **Cerrado**: Espécies vegetais úteis. 1 ed. EMBRAPA CEPAC. Planaltina:
265 DF, 1998, p. 430 - 468.
- 266 BARBOSA, W. L. R. *et al.* **Manual para análise fitoquímica e cromatográfica de extratos**
267 **vegetais**. Edição revisada, Belém: Editora UFPA, 2001, p. 19.
- 268 BRASIL. **Farmacopéia Brasileira**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: ANVISA,
269 v. 2, p. 671 - 675, 2010.
- 270 CLARKE, J. H. R. *et al.* Um alerta sobre o uso de produtos de origem vegetal na gravidez.
271 **Infarma**, Brasília, v. 19, n. 1/2, p. 41- 48, 2007. Disponível em: < revistas. Cff . Org . br/?journal
272 = infarma & page = article & op = view & path % 5B%5D=223&path%5B%5D=211>. Acesso
273 em: 15 out. 2015.
- 274 COSTA, M. A. *et al.* Acute and chronic toxicity of an aqueous fraction of the stem bark of
275 *Stryphnodendron adstringens* (Barbatimão) in Rodents. **Evidence - Based Complementary**
276 **and Alternative Medicine**, New York, v. 1, n. 2, p. 1 - 9, 2013. Disponível em: <
277 journals/ecam/2013 /841580 /ref />. Acesso em: 15 out. 2015.
- 278 FERREIRA, E. V. *et al.* Poisoning by *Stryphnodendron fissuratum* (Mimosoideae) in cattle.
279 **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 29, n. 11, p. 951 - 957, 2006. Disponível
280 em: < pdf/pvb/v2 9n11/a15 v2911. pdf>. Acesso em: 20 jun. 2017.
- 281 GABBARDO, M. **Borras finas e manoproteínas na maturação de vinho tinto Cabernet**
282 **Sauvignon**. 2009. 66 f. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia Agroindustrial) -
283 Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial da Universidade Federal
284 de Pelotas. Pelotas, 2009. Disponível em: <livros01.livrosgratis.com.br/cp128271.pdf>. Acesso
285 em: 08 out. 2015.
- 286 GALLO, M.; KOREN, G. Can herbal products be used safely during pregnancy? Focus
287 on *Echinacea*. **Canadian Family Physician**, Toronto, v. 47, p. 1727- 1728, 2001. Disponível
288 em: <ncbi. nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2018561/pdf/11570295.pdf>. Acesso em: 08 out.
289 2015.
- 290 IKEDA, Y.; MURAKAMI, A.; OHIGASHI, H. Ursolic acid: anti-and pro-inflammatory triterpenoid.
291 **Molecular Nutrition & Food Research**, Singapura, v.52, p. 26-42, 2008. Disponível em:
292 <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/mnfr.200700389>. Acesso em: 08 out. 2015.
- 293 LEITE, J. P. V. **Química dos produtos naturais**: Uma abordagem Biossintética. In: Leite, J. P.
294 V. **Fitoterapia**: bases científicas e tecnológicas. 1. ed. São Paulo: Editora Atheneu,. 2009. p.
295 320 - 328.
- 296 LOPES, G. C. *et al.* Determinação quantitativa de taninos em três espécies de
297 *Stryphnodendron* por cromatografia líquida de alta eficiência. **Brazilian Journal Of**
298 **Pharmaceutical Sciences**, São Paulo, v. 45, n. 1, p. 135-143, 2009. Disponível em: <org/1 0 1
299 5 9 0 / S 1 9 8 4-8 2 5 0 2 0 0 9 0 0 0100017>. Acesso em: 18 out. 2015.
- 300 MACEDO, F. M. *et al.* Triagem fitoquímica do barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (Mart)
301 Coville]. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, n. 2, p. 1166 - 1168, 2007.

- 302 Disponível em: <ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/download/1026/765. Acesso em: 18
303 out. 2015.
- 304 MARTINS, E. R. *et al.* **Plantas Mediciniais**. 1. ed. Viçosa: UFV, Imprensa Universitária, 1994.
305 p. 20 - 50.
- 306 MELLO, R. R. *et al.* Características farmacobotânicas, químicas e biológicas de *Syzygium*
307 *alaccense* (L.). **Revista Brasileira de Farmácia**, São Paulo, v. 90, n. 4, p. 298 - 302, 2010.
308 Disponível em: <files/pag/298302/caracteristicas_farmacobotanicas_220904.pdf >.
309 Acesso em: 18 out. 2015.
- 310 MIRANDA, G. S. *et al.* Atividade antibacteriana *in vitro* de quatro espécies vegetais em
311 diferentes graduações alcoólicas. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v. 15,
312 n. 1, p. 104 - 111, 2013. Disponível em: <scielo.br/pdf/rpmv15n1/a5v15n1.pdf>. Acesso em:
313 10 nov. 2016.
- 314 MONTEIRO, J. M. *et al.* Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Química Nova**, São
315 Paulo, v. 28, n. 5, p. 892 - 896, 2005. Disponível em: <pdf/qn/v28n5/25920.pdf>. Acesso em: 18
316 out. 2016.
- 317 PAIVA, S. R.; HERINGER, A. P.; FIGUEIREDO, M. R.; KAPLAN, M. A. C. Taninos
318 condensados de espécies de *Plumbaginaceae*, **Floresta e Ambiente**, Rio de Janeiro, v. 9, n. 1,
319 p. 153-157, 2002. Disponível em: <
320 http://www.floram.org/files/v9n%C3%BAnico/v9nunicoa19.pdf>. Acesso em: 10 out. 2016.
- 321 PANIZZA, S. *et al.* *Stryphnodendron barbadetiman* (Vellozo) *Martius*: teor em tanino na casca e
322 sua propriedade cicatrizante. **Revista de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 10, n. 1, p.
323 101-106, 1988. Disponível em: <projetos.Extras.ufg.br/conpeex/20062-
324 TalitaDayanePereiraeSilva.pdf>. Acesso em: 10 out. 2016.
- 325 PEREIRA, R. C.; OLIVEIRA, M. T. R.; LEMOS, G. C. S. Plantas utilizadas como medicinais no
326 município de Campos de Goytacazes, Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Farmacologia**, v.
327 14, n. 1, p. 37-40, 2004. Disponível em: <pdf/rbfar/v14s0/a15v14s0.pdf>. Acesso em: 22 abr.
328 2016.
- 329 PIETTA, P. G. Flavonoids as antioxidants. **Journal of Natural Products**, Washington, v. 63,
330 n. 7, p. 1035-1042, 2000. Disponível em: <http://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/np9904509>.
331 Acesso em: 22 abr. 2016.
- 332 ROBBERS, J. E. *et al.* **Farmacognosia e Farmacobiotechnologia**, 1. ed. São Paulo: Editorial
333 premier, 1997. p. 350 - 372.
- 334 RODRIGUES, D. F. *et al.* O extrato da casca de barbatimão, *Stryphnodendron Adstringens*
335 (*Martius*) Coville, na cicatrização de feridas em animais. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 9,
336 n. 16, p. 1583 - 1601, 2013. Disponível em: <enciclop/2013^a/agrarias/o%20extrato%20da%
337 20casca.pdf>. Acesso em: 08 out. 2015.
- 338 SCHNEIDER, G.; WOLFLING, J. Synthetic cardenolides and related compounds. **Current**
339 **Organic Chemistry**, Budapeste, v. 8, n. 14, p. 1381- 1403, 2004.
- 340 SIMÕES, C. M. O. *et al.* **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Santa Catarina:
341 Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2010. p. 1102 - 1112.

- 342 SONAGLIO, D. *et al.* Desenvolvimento tecnológico e produção de fitoterápicos. In: SIMÕES, C.
343 M. O. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 6. ed. Santa Catarina: Universidade
344 Federal do Rio Grande do Sul, 2007. p. 289 - 326.
- 345 SOUZA, T. M. *et al.* Bioprospecção de atividade antioxidante e antimicrobiana da casca de
346 *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Leguminosae - Mimosoidae). **Revista de**
347 **Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, Araraquara, v. 28, n. 2, p. 221-226, 2007.
348 Disponível em: <serv-bib.Fcfar. unesp. br/ seer/ index. php/ Cien_
349 Farm/article/viewFile/334/320>. Acesso em: 02 out. 2015.
- 350
- 351

CAPÍTULO III

4. ARTIGO

4.1 Artigo 1 - Efeitos toxicológicos do extrato metanólico da casca do caule de *Stryphnodendron adstringens* em camundongos

Este artigo foi elaborado conforme normas do Periódico Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia

353 **Efeitos toxicológicos do extrato metanólico da casca do caule de *Stryphnodendron***
354 ***adstringens* em camundongos**

355 **Toxicological effects of the methanolic extract from the stem bark of *Stryphnodendron***
356 ***adstringens* in mice**

357 **Janine Kátia dos Santos Alves e Rocha^{I*} Neide Judith Faria de Oliveira^{II} Raphael Rocha**
358 **Wenceslau^{III}**

359

360 *Janine Kátia dos Santos Alves e Rochas: janine.katia@funorte.edu.br; Farmácia das
361 Faculdades Integradas do Norte de Minas (FUNORTE), Montes Claros, Minas Gerais

362

363 **RESUMO:** Objetivou - se realizar ensaio toxicológico para investigar a toxicidade da casca do
364 caule de barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville] por meio da determinação
365 da dose letal 50% (DL₅₀) e 90% (DL₉₀). Para a investigação da DL₅₀ e DL₉₀, os extratos foram
366 ressuspensos em água para injetável e submetidos a diluições seriadas decimais, utilizando
367 o fator de diluição 1:10, obtendo extratos correspondendo a 1000, 100, 10, 1, 0.1, 0.01, 0.001 e
368 0.0001 mg/mL, posteriormente, inoculados por via intraperitoneal. Utilizaram-se oito grupos de
369 camundongos *Swiss* de ambos os sexos, sendo cinco animais por grupo, para cada extrato
370 vegetal, totalizando 90 animais por sexo. Após inoculação, os animais foram observados por
371 sete dias para verificar a quantidade de animais mortos, doentes e sobreviventes. O estudo
372 toxicológico do extrato metanólico da casca do caule de barbatimão demonstrou, em
373 camundongos por via intraperitoneal, DL₅₀ igual a 95,1mg/mL e DL₉₀ 564,76 mg/mL,
374 classificando-o como muito tóxico. Com a análise dos resultados obtidos, conclui-se que
375 pesquisas devem ser realizadas com a finalidade de obter dados sobre a toxicidade das cascas
376 do caule do barbatimão em vias diferentes da intraperitoneal, para assegurar o uso em saúde
377 humana e animal.

378

379 **PALAVRAS-CHAVE:** metabólitos secundários, ação embriotóxica, intoxicação, plantas
380 medicinais, camundongos, intraperitoneal.

381

382 **ABSTRACT:** The objective of this study was to investigate the toxicity of barbatimão bark
383 [*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville] by determining the 50% lethal dose (LD₅₀) and
384 90% (LD₉₀). For the investigation of DL₅₀ and DL₉₀, the extracts were resuspended in water for
385 injection and subjected to serial decimal dilutions using the 1:10 dilution factor, obtaining
386 extracts corresponding to 1000, 100, 10, 1, 0.1, 0.01, 0.001 and 0.0001 mg/mL, thereafter
387 inoculated intraperitoneally. Eight groups of Swiss mice of both sexes were used, five animals
388 per group, for each plant extract, totaling 90 animals per sex. After inoculation, the animals were
389 observed for a period of seven days, to verify the amount of dead, sick and survivors animals.
390 The toxicological study of the haloalcoholic extract of barbatimão bark showed in mice
391 intraperitoneally DL₅₀ equal to 95.1mg mL⁻¹ and DL₉₀ 564,76 mg mL⁻¹, classifying it as very
392 toxic. With the analysis of the results obtained, it is concluded that research should be

393 performed to obtain data on the toxicity of barbatimão bark on different pathways of the
394 intraperitoneally, to ensure the use in human and animal health.

395

396 **KEY WORDS:** secondary metabolites, embryotoxic action, intoxication, medicinal plants, mice

397

398

INTRODUÇÃO

399 A utilização dos fitoterápicos geralmente é empírica e as preparações, muitas vezes,
400 não seguem padrões rígidos de controle de qualidade. Por isso, alguns protocolos terapêuticos
401 envolvendo plantas medicinais podem resultar em efeitos adversos (Turolla; Nascimento,
402 2006).

403 A farmacologia e a toxicidade de plantas utilizadas na medicina alternativa têm
404 recebido atenção da comunidade científica. A verificação das propriedades farmacológicas
405 e/ou terapêuticas e a investigação de possíveis atividades toxicológicas são imprescindíveis
406 para garantir segurança no uso medicinal (Rebecca *et al.*, 2002).

407 O barbatimão representa cinco espécies, com distribuição geográfica em todas as
408 regiões do país, principalmente no Cerrado, como *Stryphnodendron adstringens*, *S. obovatum*,
409 *S. polyphyllum*, *S. coriaceum* e *S. rotundifolium*. Apenas *S. adstringens* é denominada
410 barbatimão verdadeiro, embora todas estas sejam empregadas como fitoterápicos. Além de
411 atuar como coadjuvante no processo cicatricial, essa planta possui outras propriedades
412 medicinais, como agente hemostático, antiinflamatório, antidiarreico, adstringente (Brandão *et*
413 *al.*, 2008), antimicrobiano (Bardal, 2011), estrogênico (Garcia *et al.*, 2010) e antiofídico (Lucena
414 *et al.*, 2009).

415 A planta sintetiza compostos secundários, como taninos, que são predominantes no
416 vegetal e os principais responsáveis por valor farmacológico (Coelho *et al.*, 2010). Sendo a
417 casca da árvore usada em várias pesquisas na forma de extratos fluidos (Barroso *et al.*, 2010),
418 cremes (Lima, 2010) e pomadas (Hernandes *et al.*, 2010). Após trabalhos etnobotânicos e
419 confirmação da eficácia terapêutica, a espécie foi inserida na lista da Relação Nacional de
420 Plantas Medicinais de Interesse do Sistema Único de Saúde (RENISUS) e no formulário de
421 fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira como produto cicatrizante (Farmacopeia Brasileira II,
422 2010; Sant'ana *et al.*, 2014).

423 São necessários mais estudos toxicológicos do extrato metanólico da casca do caule
424 de barbatimão que demonstrem a toxicidade aguda desse vegetal por via intraperitoneal em
425 animais. Essa via é predominantemente usada em testes com animais para a injeção de
426 drogas sistêmicas e fluidos, por causa da facilidade de administração quando comparada com
427 outros métodos parenterais. Essa via é eficaz, pois há aumento da superfície de absorção do
428 fármaco na cavidade peritoneal e rapidez de penetração na corrente sanguínea (Goodman;
429 Gilman, 2003). Diante desse contexto, a finalidade do trabalho foi avaliar a toxicidade do
430 extrato metanólico da casca do caule de barbatimão via intraperitoneal e descrever efeitos
431 tóxicos e mortalidade provenientes dessa administração.

432

MATERIAL E MÉTODOS

433

434 A coleta do material vegetal foi realizada em porção nativa do Cerrado do Norte do
435 Estado de Minas Gerais, na fazenda Rancho Nossa Senhora da Conceição, localizada à
436 margem direita do km 13, na rodovia BR 365, saída para Pirapora, situada no município de
437 Montes Claros. A determinação da massa, secagem, moagem e análise da umidade da planta
438 foram feitas no Laboratório de Bromatologia do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade
439 Federal de Minas Gerais, em Montes Claros. Exsiccatas foram produzidas e a espécie
440 identificada no Herbário do Departamento de Botânica da Universidade Federal de Minas
441 Gerais (Herbário BHCB 141894), em Belo Horizonte, Brasil. A realização da extração
442 hidrometanólica dos compostos ativos da planta, assim como avaliação da granulometria do
443 pó, os processos de filtração, a destilação fracionada, a concentração, a reconstituição do
444 extrato aquoso e as identificações fitoquímicas ocorreram no Laboratório de Farmacognosia
445 das Faculdades Santo Agostinho, em Montes Claros - MG (Bardal, 2011).

446 Antes da operação extrativa da casca desidratada do caule de *Stryphnodendron*
447 *adstringens*, realizou-se a padronização do diâmetro das partículas, com tamis oficial
448 correspondente a 425 µm. Este procedimento facilitou a extração pelo solvente por aumentar a
449 superfície de contato entre as fases da suspensão (Bardal, 2011).

450 A solução extrativa utilizada foi composta por água para injetáveis e metanol na
451 proporção de 1:1 (v/v). O extrato hidroalcoólico foi obtido por turbólise em homogeneizador
452 Silverson® L4R, dotado de haste e malha padrão com orifícios de 0,6 mm de diâmetro. Na
453 solução extrativa, composta por 2000 mL de água para injetáveis (condutividade 0,970 µs/cm e
454 pH 7,39) e 2000 mL de álcool etílico P.A foram previamente embebidas por 15 minutos e
455 depois suspensos 400 g das cascas pulverizadas e padronizadas em 425 µm de *S. adstringens*
456 (Sonaglio *et al.*, 2007).

457 Procedeu-se, em cabine de fluxo laminar horizontal asséptica a filtração esterilizante da
458 solução extrativa, em sistema de vazo pressurizado, para dois recipientes de vidro estéreis.
459 Para filtração utilizou-se tripla membrana filtrante, composta por dois pré-filtros e uma
460 membrana esterilizante. Os pré-filtros clarificantes apresentam membrana de microfibras de
461 vidro, com 257 mm de diâmetro (Milipore®, filtro AP152), e a outra, celulose, com poros
462 nominais de 0,45 µm e diâmetro de 293 mm (Milipore®, filtro HAWP3). O terceiro filtro com
463 membrana esterilizante de poros absolutos, de 0,45 e 0,22 µm, sintetizada em Nylon (Pall, filtro
464 Ultipor® N66). O extrato vegetal estéril foi armazenado em frasco de vidro esterilizado,
465 hermeticamente fechado, protegido da luz e sob refrigeração 5 ± 3°C (Bardal, 2011).

466 A mistura extrativa estéril foi submetida à destilação fracionada, em pressão negativa de
467 25 PSI (1,72 bar; 1293 mm/Hg) no evaporador rotativo (Quimis® - modelo Q 344B1). A fonte de
468 aquecimento do sistema permaneceu a 65 ± 4°C durante o procedimento, mantendo em 60
469 rpm o recipiente com o extrato, por 13 horas, para remover integralmente o metanol e 97,5%
470 da fração aquosa. O produto obtido foi armazenado em vidro, fechado, resguardado da luz e
471 em ambiente refrigerado, a 5°C ± 3°C (Bardal, 2011).

472 A amostra foi diluída em 500 mL de água para injetáveis sendo então definida a solução
473 e a concentração (p/v) original utilizado em todo o experimento. O extrato aquoso obtido foi
474 previamente aquecido a $50^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e mantido em agitação durante trinta minutos. Arrefecido
475 foi esterilizado por filtração, em cabine de fluxo laminar vertical, em ambiente asséptico. Para o
476 processo de filtração empregou-se membrana hidrofílica esterilizante, composta por fluoreto de
477 polivinilideno (PVDF), com poros absolutos de $0,22 \mu\text{m}$ e diâmetro de 47 mm (Milipore®, filtro
478 DURAPORE®) (Bardal, 2011). O filtrado foi acondicionado em três frascos de vidro âmbar,
479 estéreis, com capacidade de 200 mL, fechados hermeticamente com rolhas de silicone de 24
480 mm e recravados com cápsulas de alumínio, sob refrigeração $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ (Bardal, 2011).

481 O extrato metanólico evaporado e liofilizado foi ressuscitado em água para injetáveis,
482 submetido a diluições seriadas decimais utilizando-se o fator de diluição 1:10, sendo obtidas
483 soluções correspondendo a 1000; 100; 10; 1; 0,1; 0,01; 0,001 e 0,0001 mg/mL. O controle
484 experimental foi composto por água para injetáveis. Os protocolos experimentais foram
485 aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Minas
486 Gerais (CETEA - UFMG), nº 42/2008 em 10/09/2008. No anexo A, encontra-se a cópia do
487 certificado de aprovação. O experimento *in vivo* foi realizado em 2011, no laboratório de
488 toxicologia e farmacologia do Instituto de Ciências Agrárias da UFMG.

489 Procedeu-se à inoculação de 0,5mL da diluição na cavidade intraperitoneal, em cinco
490 camundongos *Swiss* de cada sexo para cada dose do extrato, totalizando 90 animais. Os
491 camundongos apresentaram peso médio de 43,12 gramas para machos e 47,1 para fêmeas,
492 com mínimo de 32 gramas e máximo de 72,3 gramas. A quantidade de extrato aplicada para
493 cada animal foi ajustada para o peso corporal dos camundongos. O delineamento experimental
494 foi inteiramente ao acaso em esquema fatorial com oito doses e dois sexos.

495 Os animais foram observados por sete dias após a inoculação do extrato para
496 identificação de possíveis alterações orgânicas e comportamentais, que foram identificadas
497 como variáveis dicotômicas definidas como presença ou ausência ou regular ou alterada. As
498 características avaliadas foram: apetite, convulsão, movimentos de pedalagem, respiração,
499 contração abdominal, eriçamento dos pêlos, sonolência, locomoção, dispneia e morte. O
500 tempo para morte foi computado como variável binária e definida como morte em até um ou
501 após um dia da aplicação.

502 Para conhecimento da concentração letal do extrato de barbatimão capaz de causar
503 mortalidade de 50% e 90% dos indivíduos (DL_{50} e DL_{90}) foi utilizado modelo de regressão
504 considerando a morte como variável binária de resposta em função da concentração do extrato
505 e do sexo dos camundongos. A análise foi realizada por meio do procedimento *proc probit* do
506 *software* SAS 9.4 (SAS Institute, 2014).

507 Foi realizada análise de correspondência múltipla para mapeamento perceptual das
508 associações entre todas as variáveis estudadas e as doses do extrato de barbatimão. A análise
509 foi realizada por meio do procedimento *proc corresp* do *software* SAS 9.4 (SAS Institute, 2014).

510 Os camundongos sobreviventes foram anestesiados com solução de xilazina -
511 cetamina, sendo 8,75 mL de cetamina (100 mg/mL) e 1,25 mL de xilazina (100 mg/mL) e

512 necropsiados. Após necropsia, órgãos como estômago, fígado, baço, pâncreas, coração, rim,
513 intestinos e encéfalo foram pesados a fresco.

514

515

RESULTADOS E DISCUSSÃO

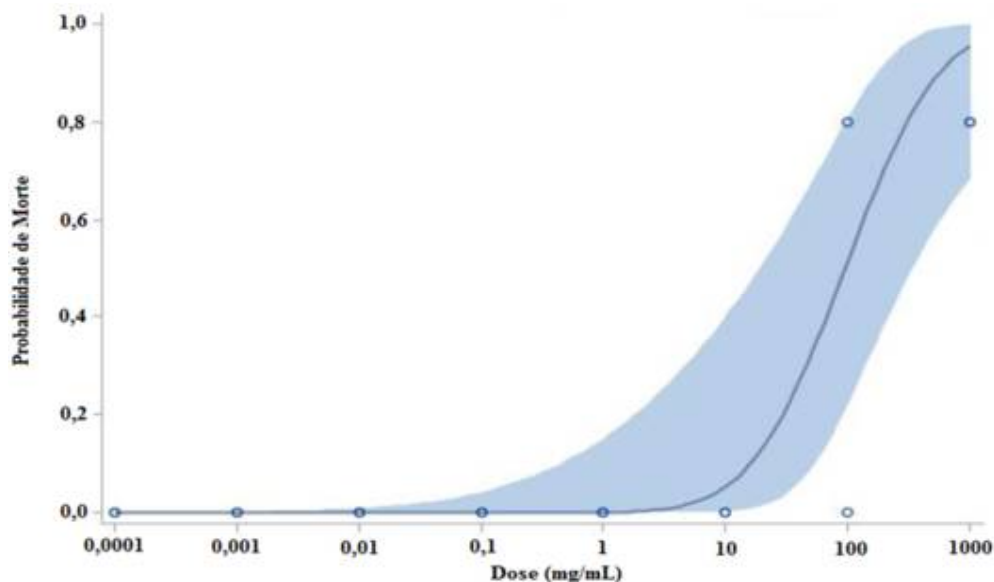
516 Animais tratados com o extrato metanólico da casca do caule de *S. adstringens*
517 apresentaram 80% de morte, após administração intraperitoneal do extrato, na concentração
518 de 1000 mg/mL. Ainda, quatro em 10 camundongos morreram para a concentração de 100
519 mg/mL, sendo eles todos do sexo feminino. Para as demais concentrações não foi observada
520 morte dos animais.

521 A concentração do extrato de 1000 mg/mL possui efeito sobre a mortalidade dos
522 camundongos. O coeficiente de regressão do logaritmo da dose de aplicação foi igual a 1,66
523 ($p < 0,05$), ou seja, quanto maior a dose, maior a mortalidade observada. As doses estimadas
524 que causam letalidade de 50% e 90% dos camundongos foram 95,15 mg/mL (intervalo de
525 confiança: 19,33 mg/mL a 346,70 mg/mL) e 564,76 mg/mL (intervalo de confiança: 177,73
526 mg/mL a 9.998 mg/mL), respectivamente (Fig.1).

527

528 Figura 1- Probabilidade de morte de camundongos *Swiss* segundo a dose de administração
529 intraperitoneal do extrato metanólico evaporado, liofilizado e ressuspendido em água para
530 injetáveis da casca do caule de *S. adstringens*

531



532

533

Fonte: Dos autores, 2017

534

535 Experimento realizado por Rebecca *et al.* (2002), com extratos de barbatimão por via
536 oral, obteve-se DL_{50} igual a 400 mg/kg. Segundo os mesmos autores, o extrato etanólico da
537 casca de barbatimão administrado por via oral em camundongos possui baixa toxicidade, pois
538 doses de até 2000 mg/kg não foram capazes de provocar sinais de intoxicação e morte, porém,
539 a partir de 2699 mg/kg os animais apresentaram hipotatividade e morte. No entanto, ratos

540 tratados por 30 dias, com a concentração de 1600 mg/kg do extrato de barbatimão,
541 apresentaram diminuição significativa no peso do timo, mas não nas suprarrenais, rins baço,
542 estômago e fígado (Rebecca *et al.*, 2002).

543 Em estudo semelhante realizado por Almeida *et al.* (2009) sobre a toxicidade aguda do
544 extrato hidroalcoólico das folhas do barbatimão, administrado por via intraperitoneal em
545 camundongos, para as doses diluídas 1:10 e 1:100, foram relatadas reações estimulantes
546 como agitação, reação de fuga, movimentos estereotipados, piloereção, tremores finos e
547 grosseiros, alteração da marcha, aumento da frequência respiratória, espasmos, entre outros.
548 Após cinco minutos da administração do extrato, os efeitos observados passaram de
549 estimulantes para depressores, caracterizados por dispneia, sedação, palidez, prostração,
550 cianose e morte. Sendo então, determinada a dose letal de 50% igual a 0,25mg/mL,
551 caracterizando o extrato hidroalcoólico das folhas do barbatimão como muito tóxico para
552 animais. Nesse estudo, obteve - se dose letal (DL₅₀) para extratos metanólicos da casca do
553 caule do barbatimão administrados intraperitonealmente igual 95,15 mg/mL, podendo
554 classifica-o como muito tóxico, segundo metodologia proposta por Schuartsman (1980) . Para
555 Repetto (1997), os extratos podem ser considerados de alta toxicidade quando a DL50% for
556 superior ou igual a 25mg/kg.

557 Nos oito grupos de fêmeas de camundongos, foi possível observar que nenhum dos
558 animais se interessou pela ração após a aplicação do extrato, independente da concentração
559 utilizada nessa pesquisa. A maior concentração do extrato metanólico da casca do caule de *S.*
560 *adstringens* (1000 mg/mL) administrado intraperitonealmente provocou a morte de quatro
561 animais desse grupo e todas as cinco fêmeas apresentaram dificuldade de locomoção após a
562 administração do mesmo.

563 Ao aplicar a concentração de 100 mg/mL do extrato, todos os animais apresentaram
564 dificuldade de locomoção. Houve morte, porém no intervalo de 24 a 48 h após o extrato ser
565 aplicado, diferentemente do primeiro grupo com maior concentração, no qual as mortes
566 puderam ser observadas quatro horas após a aplicação. Para as fêmeas do grupo três, no qual
567 utilizou-se 10 mg/mL de extrato, foi possível relatar dificuldades de locomoção e um animal
568 apresentou contração abdominal e sonolência. Para os animais que receberam 1mg/mL,
569 observou-se uma fêmea com convulsão, movimento de pedalagem e dificuldade respiratória.
570 Provavelmente, as saponinas por serem capazes de formar complexos com esteróides e
571 fosfolipídeos das membranas das células da mucosa intestinal, causam irritação na mesma.
572 Essa propriedade irritante sobre a mucosa possivelmente justifica o aumento das contorções
573 abdominais à medida que há aumento da dose na administração intraperitoneal (Mello *et al.*,
574 2010).

575 Nesse experimento, ao administrar a concentração de 0,1 mg/mL, foi possível verificar
576 uma fêmea morrendo imediatamente após a aplicação do extrato. As outras quatro fêmeas do
577 grupo, representando 80% dos indivíduos, não apresentaram tais sintomas. Assim como os
578 animais que receberam doses de 0,1; 0,001 e 0,0001 respectivamente, não manifestaram
579 quadro clínico semelhante aos citados acima.

580 Algumas alterações comportamentais dos camundongos foram iguais para machos e
 581 fêmeas. A exceção foi que a maioria dos machos se interessou pela ração, apresentarem
 582 dispneia e movimentos de pedalagem. Após aplicação do tratamento de 1000 mg/mL, 100%
 583 dos machos apresentaram pêlos arrepiados, podendo ser verificado posteriormente à aplicação
 584 que 80% dos animais foram a óbito neste grupo. Entretanto, para a dose de 0,1 mg/mL
 585 somente 25% dos animais apresentaram sinais de intoxicação, mas de todos os grupos
 586 testados houve morte apenas de um camundongo. Possivelmente, as doses testadas
 587 demonstraram ser estimulantes por causarem liberação de neurotransmissores excitatórios
 588 e/ou inibição da recaptção desses. Com a inibição da receptação, há o aumento na
 589 concentração dos neurotransmissores em contato com os receptores, potencializando, assim, a
 590 atividade do circuito neuronal e, conseqüentemente a manifestação das alterações citadas
 591 anteriormente (Goodman; Gilman, 2003).

592 Com a concentração de 0,001 mg/mL, dos cinco camundongos machos, apenas dois
 593 apresentaram interesse pelo alimento. Em ambos os sexos, os sintomas da intoxicação
 594 puderam ser percebidos à medida que as concentrações do extrato foram aumentadas, sendo
 595 a resposta considerada dose-dependente.

596 Além de modificações comportamentais, para a maioria das concentrações do extrato
 597 administradas nos camundongos, foi possível verificar, após necropsia, alterações quanto ao
 598 peso do fígado, rins, pulmões, coração, baço, encéfalo e intestinos, tanto em machos quanto
 599 em fêmeas (Tab. 1 e 2), demonstrando que possivelmente, os órgãos avaliados foram
 600 lesionados pelo tratamento com o extrato metanólico da casca do barbatimão. O peso corporal
 601 também é um dos principais dados utilizados em avaliações toxicológicas para indicar o
 602 aparecimento de efeitos tóxicos de substâncias no organismo animal (Pires Júnior *et al.*, 2012).

603

604 Tabela 1 - Peso médio dos órgãos internos de camundongos machos inoculados
 605 intraperitonealmente com extrato metanólico evaporado, liofilizado e ressuspendido em água
 606 para injetáveis de *S. adstringens* em diferentes concentrações

Concentração (mg/mL)	Órgãos										Média Peso Corporal (g)
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	
0	0,4335	0,2215	3,9686	0,2319	1,4435	0,4139	6,6541	0,8785	0,5610	1,1763	45,25
1000	0,4172	0,3301	2,8541	0,2772	0,8561	0,4281	4,5391	0,9468	0,5175	1,4445	61,28
100	0,4046	0,2921	3,2011	0,2565	0,9797	0,4557	5,3827	0,7988	0,5046	1,5581	50,50
10	0,4438	0,2637	4,0155	0,1957	1,5353	0,3956	6,3372	0,7975	0,5762	1,4080	46,80
1	0,3972	0,2214	2,910	0,1969	0,5070	0,2852	3,9533	0,7028	0,5326	1,3027	50,41
0,1	0,4805	0,2891	4,3622	0,2007	0,8181	0,4169	5,5153	1,0259	0,6127	1,3163	37,68
0,01	0,6104	1,5716	4,6342	0,2668	0,7663	0,4169	6,5558	0,9646	0,5567	1,0940	58,15
0,001	0,5953	0,3368	4,3808	0,2688	0,7578	0,4804	6,8509	0,9699	0,5852	1,7294	68,87
0,0001	0,4742	0,2220	3,2489	0,2133	0,5221	0,3207	4,7222	0,7622	0,5663	1,3679	45,58

607 Legenda: A = Aparelho Respiratório_(g); B = Coração_(g); C = Fígado_(g); D = Baço_(g); E = Estômago Cheio_(g); F = Estômago
 608 Vazio_(g); G = Intestinos_(g); H = Rins_(g); I = Encéfalo e Medula_(g); J = Gordura Mesentérica_(g)

609 Fonte: Dos autores, 2017

610

611 Tabela 2 - Média dos órgãos internos de camundongos fêmeas inoculados
 612 intraperitonealmente com extrato metanólico evaporado, liofilizado e ressuspendido em água
 613 para injetáveis de *S. adstringens* em diferentes concentrações

614

Concentração (mg/mL)	Órgãos										Média do Peso Corporal (g)
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	
0	0,3934	0,1985	2,0427	0,1806	1,4443	0,4140	6,6875	0,7844	0,5615	1,1726	40,75
1000	0,3227	0,2107	2,749	0,1894	0,8561	0,4281	4,5391	0,9471	0,5175	1,4445	47,92
100	0,5051	0,2979	2,3774	0,1272	0,9795	0,4552	5,3827	0,7988	0,5169	1,5580	54,46
10	0,3698	0,1849	2,2257	0,1939	1,5353	0,3956	6,3372	0,7988	0,5762	1,1481	42,73
1	0,3972	0,2479	2,7943	0,2211	0,5070	0,2852	3,9533	0,8003	0,5326	1,3027	54,86
0,1	0,4322	0,2472	3,0756	0,2407	0,8181	0,4169	5,5753	0,7028	0,6127	1,3163	52,60
0,01	0,3712	0,2125	2,4493	0,1661	0,9663	0,4763	6,5586	0,9646	0,6428	1,0939	44,74
0,001	0,4332	0,2597	2,7076	0,2063	0,7557	0,4802	6,8509	0,9712	0,5835	1,7293	43,76
0,0001	0,4262	0,4268	2,3308	1,0751	0,5221	0,3207	4,7222	0,7622	0,5663	1,3679	42,89

615

616 Legenda: A = Aparelho Respiratório_(g); B = Coração_(g); C = Fígado_(g); D = Baço_(g); E = Estômago Cheio_(g); F = Estômago
 617 Vazio_(g); G = Intestinos_(g); H = Rins_(g); I = Encéfalo e Medula_(g); J = Gordura Mesentérica_(g)

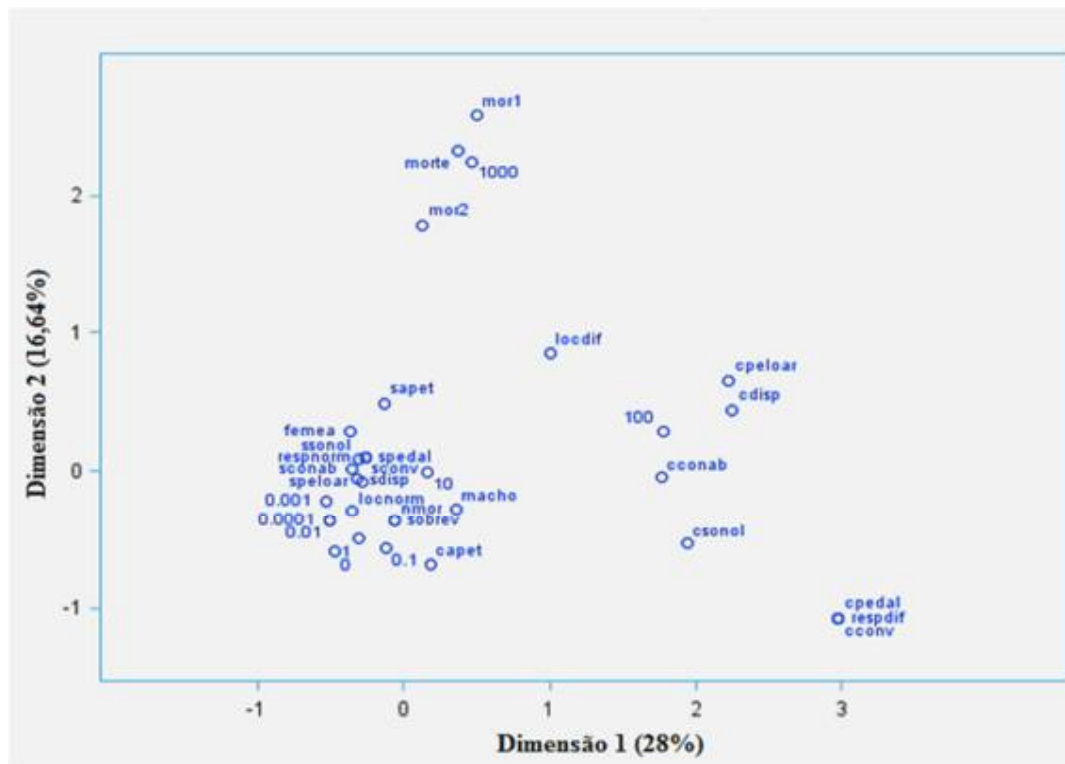
618 Fonte: Dos autores, 2017

619

620 Por meio da análise de correspondência foi possível observar que as duas primeiras
 621 dimensões obtidas concentram 44,65% da variabilidade do mapa de correspondência (Fig. 2).
 622 Pode-se notar com o mapa perceptual clara relação entre a morte e as alterações orgânicas
 623 dos em camundongos de acordo com o aumento das dosagens administradas. Avaliando
 624 conjuntamente as primeiras dimensões formadas, percebe - se três conjuntos de variáveis bem
 625 definidas. Esses conjuntos definem associação entre as variáveis que os constituem. O
 626 primeiro conjunto, formado pela concentração 100 mg/mL e a presença de contração
 627 abdominal, sonolência, locomoção alterada, dispneia e pêlo eriçado. O segundo, formado pela
 628 concentração 1000 mg/mL e a morte dos animais. O terceiro, composto pelas demais doses e
 629 a ausência da maioria das alterações estudadas (Fig. 2).

630

631 Figura 2 - Gráfico da análise de correspondência das doses de administração intraperitoneal do
 632 extrato metanólico evaporado, liofilizado e ressuspendido em água para injetáveis da casca do
 633 caule de *S. adstringens*, em contraste com alterações orgânicas e comportamentais



634

635

636

637

638

639

640

641

642

643

644

Legenda: c apetite = presença de apetite; s apetite = ausência de apetite; c convulsão = presença de convulsão; s convulsão = ausência de convulsão; c pedal c pedal = presença de movimentos de pedalagem; s pedal = s pedal = ausência de movimentos de pedalagem; resp norm = respiração regular; resp dif = respiração alterada; c conab = presença de contração abdominal; s conab = ausência de contração abdominal; c peloar = presença de eriçamento dos pelos; s peloar = ausência de eriçamento dos pêlos; c sonol= presença de sonolência; s sonol = ausência de sonolência; loc norm = locomoção regular; loc dif = locomoção alterada; c disp = presença de dispneia; s disp = ausência de dispneia; sobrev = sobreviveu; óbito = morreu; n mor = sobreviveu; mor 1= morreu no primeiro dia; mor 2= morreu após o primeiro dia.

Fonte: Dos autores, 2017

645

646

647

648

649

650

651

652

653

654

655

656

657

Fica evidente com a observação da mortalidade dos animais, a definição da dose letal média (Fig. 1) e a análise de correspondência (Fig. 2) que a toxicidade aguda do extrato metanólico evaporado, liofilizado e ressuspendido em água para injetáveis da casca do caule de *S. adstringens* aplicado intraperitonealmente em camundongos é dose dependente. A morte rápida causada pela aplicação do extrato está principalmente associada à concentração de 1000 mg/mL. O baixo tempo para morte dos animais não possibilitou a observação de alterações orgânicas e comportamentais para a concentração 1000 mg/mL, as quais foram observadas com maior intensidade para a concentração 100 mg/mL, pois nesta os camundongos sobreviveram por mais tempo.

Segundo Ferreira *et al.* (2009), dentre os compostos secundários presentes na casca do barbatimão, provavelmente as saponinas e os taninos são os responsáveis por alterações nervosas e digestivas nos animais intoxicados por via oral. A toxicidade está relacionada à inibição enzimática, à indisponibilização de substratos e à ação nas membranas celulares, pois

658 são capazes de se ligarem a proteínas, polissacarídeos e íons, como ferro, manganês,
659 vanádio, cobre, alumínio e cálcio (Sanches *et al.*, 2007).

660 As reações comportamentais após aplicação intraperitoneal do extrato metanólico
661 evaporado, liofilizado e ressuspendido em água para injetáveis da casca do caule de *S.*
662 *adstringens* podem decorrer de alterações do equilíbrio dos neurotransmissores excitatórios e
663 inibitórios. No entanto, quando administrado por via oral, é possível observar diminuição da
664 excreção fecal pode ser observada com o aumento das doses do extrato vegetal,
665 provavelmente pela presença de taninos. Por causa do alto peso molecular, essas moléculas
666 estão relacionadas com a inibição da digestibilidade (Monteiro *et al.*, 2005).

667 Rodrigues *et al.* 2005 observaram que a *causa mortis* na intoxicação por *S. fissuratum*
668 em caprinos, na administração via oral, se relaciona diretamente com a ação de princípios
669 tóxicos presentes nas favas da planta, tais como saponinas triterpênicas. Esses compostos são
670 sintetizados por variadas espécies de plantas, e possuem estrutura anfipática formada por
671 resíduos hidrofílicos de açúcares ligados a aglicona hidrofóbica composta por átomos de
672 carbono organizados em forma de anéis (Ferreira *et al.*, 2009).

673 A combinação de saponinas apolares, derivadas do metabolismo das saponinas
674 triterpênicas e de moléculas hidrossolúveis contidas em algumas espécies de plantas podem
675 causar desde irritação até necrose severa e inflamação na parede do trato digestório, por
676 causa da ação lítica sobre as membranas celulares (Mendonça *et al.*, 2010). Ferreira *et al.*
677 (2009), demonstraram que além da ação citotóxica, a presença de saponinas triterpênicas,
678 designadas stryphnosídeos em plantas, as quais possuem capacidade de abrir canais de cálcio
679 e potássio-dependentes nas membranas celulares de neurônios e de células musculares,
680 causando hiperpolarização e supressão da atividade elétrica dessas células. Possivelmente,
681 esse mecanismo possa ter relação com os distúrbios nervosos e com as alterações
682 identificadas nas provas de função muscular dos animais intoxicados por espécies do gênero
683 *Stryphnodendron* (Mello, 2008) e que foram verificadas nesta pesquisa.

684

685

CONCLUSÃO

686 O extrato metanólico evaporado, liofilizado e ressuspendido em água para injetáveis da
687 casca do caule de *S. adstringens* e administrado por via intraperitoneal em camundongos
688 fêmeas e machos apresentou-se tóxico, pois as doses estimadas para letalidade de 50% e
689 90% dos camundongos foram 95,15 mg/mL e 564,76 mg/mL, respectivamente. Observaram -
690 se alterações comportamentais e lesões de órgãos internos, ocorrendo aumento da
691 mortalidade com a elevação progressiva da concentração do extrato, sendo esta considerada
692 dose-dependente. Apesar de comprovados benefícios da utilização de *Stryphnodendron*
693 *adstringens* em fármacos, é necessário ter precaução pois esse pode ser tóxico e até causar a
694 morte de animais.

695

696

REFERÊNCIAS

- 697 ALMEIDA, A. C. *et al.* Toxicidade aguda dos extratos hidroalcoólicos das folhas de alecrim-
698 pimenta, aroeira e barbatimão e do farelo da casca de pequi administrados por
699 via intraperitoneal. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n.1, p. 200-203, 2009. Disponível em:
700 <pdf/cr/v40n1/a415cr1346.pdf >. Acesso em: 20 out. 2015.
- 701 BARDAL, D. **Atividade antimicrobiana de barbatimão *Stryphnodendron adstringens***
702 **(Martius) Coville em agentes causadores da mastite**. 2011. 180 f. Dissertação (Mestrado em
703 Ciências Agrárias) - Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Minas Gerais,
704 Montes Claros. 2011. Disponível em: <bibliotecadigital.ufmg.br>. Acesso em: 14 out. 2015.
- 705 BARROSO, J. E. M. *et al.* Comparação entre os efeitos de diferentes tratamentos na
706 cicatrização de pele por segunda intenção em ovinos. **Acta Veterinaria Brasília**, Mossoró, v.
707 4, n. 4, p. 298-302, 2010. Disponível em: <periodicos.ufersa.edu.br/revistas/index.php
708 /acta/article/view/1675>. Acesso em: 14 out. 2015.
- 709 BRANDÃO, M. G. L. *et al.* Brazilian medicinal plants described by 19th century European
710 naturalists and in the Official Pharmacopoeia. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v.
711 120, p. 141 - 148, 2008. Disponível em: <sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874113001396>. Acesso em: 12 de out. 2015.
- 713 BRASIL. **Farmacopéia Brasileira**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: ANVISA,
714 v. 2. p. 120 - 126, 2010. Disponível em:
715 <anvisa.gov.br/farmacopeiabrasileira/conteúdo/Formulario_de_Fitoterapicos_da_Farmacopeia_Brasileira.pdf>. Acesso em: 04 fev. 2017.
- 717 COELHO, J. M. *et al.* O efeito da sulfadiazina de prata, extrato de ipê-roxo e extrato de
718 barbatimão na cicatrização de feridas cutâneas em ratos. **Revista do Colégio Brasileiro de**
719 **Cirurgia**, Rio de Janeiro, v. 37, n. 1, p. 45 -51, 2010. Disponível em:
720 <php?script=sci_arttext&pid=S0100-69912010000100>. Acesso em: 14 fev. 2017.
- 721 FERREIRA, E. V. *et al.* Poisoning by *Stryphnodendron fissuratum* (Mimosoideae) in cattle.
722 **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 29, n. 11, p. 951 – 957, 2009. Disponível
723 em: <pdf/pvb/v29n11/a15v2911.pdf>. Acesso em: 20 jun. 2017.
- 724 GARCIA, R. C. *et al.* Ensaios biológicos do almeirão-roxo (*Cichorium intybus*) e barbatimão
725 (*Stryphnodendron Barbatiman* Martius) em ratas com menopausa cirúrgica. **Revista Eletrônica**
726 **de Farmácia**, Goiânia, v. 7, n. 1, p. 65 - 80, 2010. Disponível em: <
727 ufg.br/index.php/REF/article/viewFile/9596/6652>. Acesso em: 08 de out. 2015.
- 728 GOODMAN, L.; GILMAN, A. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 10. ed. Rio de Janeiro:
729 Guanabara Koogan, p. 579-582, 2003.
- 730 HERNANDES, L. *et al.* Woundhealing evaluation of ointment from *Stryphnodendron*
731 *adstringens* (barbatimão) in rat skin. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, São
732 Paulo, v. 46, n. 3, p. 431 - 436, 2010. Disponível em: <sphpscript=sci_arttext&pid=S198482
733 502010000300005>. Acesso em 11 ago. 2015.
- 734 LIMA, C. R. O. **Reparação de feridas cutâneas incisionais em coelhos após o tratamento**
735 **com barbatimão e quitosana**. 2010. 104 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) –

- 736 Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia. 2010. Disponível
737 em: <up/67/o/Dissertacao2010CarolineRocha.pdf>. Acesso em: 18 de out. 2015.
- 738 LUCENA, M. N. *et al.* Avaliação da estabilidade da pomada à base de *Stryphnodendron*
739 *adstringens* (Mart.) Coville e sua eficácia na neutralização dos efeitos locais induzidos pela
740 peçonha de *Bothrops pauloensis*. **Horizonte Científico**, Uberlândia, v. 3, n. 1, p. 1 - 29, 2009.
741 Disponível em: <index.php/horizontecientifico/article/download/4314/3196>. Acesso em: 18 de
742 out. 2015.
- 743 MELLO, R. R. *et al.* Plantas tóxicas para ruminantes e eqüídeos no Norte Piauiense. **Pesquisa**
744 **Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 30, n.1, p. 1- 9, 2010. Disponível em: <
745 pdf/pvb/v30n1/v30n1a01.pdf>. Acesso em: 10 mai. 2017.
- 746 MELLO, J. R. B.; MELLO, F. B.; LANGELOH, A. Toxicidade pré-clínica de fitoterápico
747 contendo *Gentiana lutea*, *Rheum palmatum*, *Aloe ferox*, *Cynara scolymus*, *Atropa belladonna*,
748 *Peumus boldus* e *Baccharis trimera* em coelhos Nova Zelândia. **Latin American Journal of**
749 **Pharmacy**, Buenos Aires, v.27, n.5, p.752 - 756, 2008.
- 750 MENDONÇA, F. S. *et al.* Pathological aspects of experimental poisoning of goats
751 by *Stryphnodendron fissuratum* pods (*Fabaceae*). **Acta Veterinaria Brasilica**, Mossoró, v. 30,
752 n. 3, p. 203 -210, 2010. Disponível em: <actavet.vfu.cz/media/pdf/avb_2013082010049.pdf>.
753 Acesso em: 18 jun. 2017.
- 754 MONTEIRO, J. M. *et al.* Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Química Nova**, São
755 Paulo, v. 28, n. 5, p. 892 - 896, 2005. Disponível em: <pdf/qn/v28n5/25920.pdf>. Acesso em:
756 18 out. 2016.
- 757 PIRES-JUNIOR, H. B. *et al.* Avaliação da toxicidade aguda do extrato de frutos de *Melia*
758 *azedarach* (*Meliaceae*) em camundongos. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 13, n. 4, p.
759 512 - 519, 2012. Disponível em: <ufg.br/vet/article/view/15179/12727>. Acesso em: 08 jun.
760 2017.
- 761 REBECCA, M. A. *et al.* Toxicological studies on *Stryphnodendron adstringens*. **Journal of**
762 **Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 83, n. 1/2, p. 101-104, 2002. Disponível em:
763 <sciencedirect.com/Sciencesarticle.pdf>. Acesso em: 08 fev. 2017.
- 764 REPETTO, M. Toxicologia experimental. In: REPETTO, M. **Toxicologia fundamental**. 3. ed
765 Madrid: Diaz de Santos, p. 291 – 300, 1997.
- 766 RODRIGUES, A. S. *et al.* Aspectos clínicos da intoxicação experimental de bovinos pelos
767 frutos de *Stryphnodendron fissuratum* Mart. ("Rosquinha"). **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia,
768 v. 6, n. 2, p. 119-126, 2005. Disponível em: <aspectosclínicos_da_intoxicação_experimental_
769 de_bovinos_pelos_frutos_de_stryphnodendron_fissuratum_mart_rosquinha>. Acesso
770 em: 08 out. 2016.
- 771 SANCHES, A. C. C. *et al.* Estudo morfológico comparativo das cascas e folhas de
772 *Stryphnodendron adstringens*, *S. polyphyllum* e *S. obovatum* - *Leguminosae*. **Latin American**
773 **Journal of Pharmacy**, Buenos Aires, v. 26, n. 3, p. 362 - 368, 2007. Disponível em:
774 <latamjpharm.org/trabajos/26/3/LAJOP_26_3_1_6_1_S_Y_H_Z_H_3_G_B_M.pdf>. Acesso
775 em: 08 out. 2016.

- 776 SANTANA *et al.* Toxic plants for ruminants in Southwestern Goiás, Brazil. **Ciência Rural**,
777 Santa Maria, v. 44, n. 5, p. 865 - 871, 2014. Disponível em: <pdf/cr/v44n5/ a13014cr2013 -
778 1092.pdf>. Acesso em: 28 fev. 2017.
- 779 SONAGLIO, D. *et al.* Desenvolvimento tecnológico e produção de fitoterápicos. In: TUROLLA,
780 M. S. R.; NASCIMENTO, E. S. Informações toxicológicas de alguns fitoterápicos utilizados no
781 Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 42, n. 2, p. 289 - 306,
782 2007. Disponível em: < pdf/rbcf/v42n2/a15v42n2.pdf>. Acesso em: 02 out. 2015.
- 783 SCHUARTSMAN, S. **Produtos químicos de uso domiciliar: segurança e riscos toxicológicos**.
784 1. ed. São Paulo: Almed, p. 80 - 92, 1980.
- 785 TUROLLA, M. S. R.; NASCIMENTO, E. S. Informações toxicológicas de alguns fitoterápicos
786 utilizados no Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 42, n. 2, p.
787 289 - 306, 2006. Disponível em: <http://pdf/rbcf/v42n2/a15v42n2.pdf >. Acesso em: 02 out.
788 2015.

**ANEXO A – CERTIFICADO DO COMITÊ DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL
- CETEA -**

CERTIFICADO

Certificamos que o **Protocolo nº 42/2008**, relativo ao projeto intitulado *"Epidemiologia e controle alternativo da helmintose ovina no norte mineiro com extratos de plantas e de fungos: experimentos (in vivo)"*, que tem como responsável(is) **Eduardo Robson Duarte**, está(ão) de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal, adotados pelo **Comitê de Ética em Experimentação Animal (CETEA/UFMG)**, tendo sido aprovado na reunião de **10/ 09/2008**.

Este certificado expira-se em **10/ 09/ 2013**.

CERTIFICATE

We hereby certify that the **Protocol nº 42/2008**, related to the project entitled *"Epidemiology and alternative control of ovine helminthosis in the north of Minas Gerais with extracts of plants and fungi"*, under the supervisors of **Eduardo Robson Duarte**, is in agreement with the Ethical Principles in Animal Experimentation, adopted by the **Ethics Committee in Animal Experimentation (CETEA/UFMG)**, and was approved in **September 10, 2008**.

This certificate expires in **September 10, 2013**.

Belo Horizonte, 15 de Setembro de 2008.

Prof. Humberto Pereira Oliveira
Coordenador do CETEA/UFMG

Universidade Federal de Minas Gerais
Avenida Antônio Carlos, 6627 – Campus Pampulha
Unidade Administrativa II – 2º Andar, Sala 1005
31270-901 - Belo Horizonte, MG - Brasil
Telefone: (31) 3498-4816 - Fax: (31) 3495-4592
www.ufmg.br/comite/cetea - cetea@prmg.ufmg.br

ANEXO B

INSTRUÇÕES PARA SUBMISSÃO DE ARTIGOS**Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia***(Brazilian Journal of Veterinary and Animal Sciences)***Política Editorial**

O periódico *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia (Brazilian Journal of Veterinary and Animal Science)*, ISSN 1678-4162 (on-line), é editado pela FEPMVZ Editora, CNPJ: 16.629.388/0001-24, e destina-se à publicação de artigos científicos sobre temas de medicina veterinária, zootecnia, tecnologia e inspeção de produtos de origem animal, aquacultura e áreas afins.

Os artigos encaminhados para publicação são submetidos à aprovação do Corpo Editorial, com assessoria de especialistas da área (relatores). Os artigos cujos textos necessitem de revisões ou correções serão devolvidos aos autores. Os aceitos para publicação tornam-se propriedade do Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia (ABMVZ) citado como *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* Os autores são responsáveis pelos conceitos e informações neles contidos. São imprescindíveis originalidade, ineditismo e destinação exclusiva ao ABMVZ.

Reprodução de artigos publicados

A reprodução de qualquer artigo publicado é permitida desde que seja corretamente referenciado. Não é consentido o uso comercial dos resultados.

A submissão e tramitação dos artigos é feita exclusivamente on-line, no endereço eletrônico <<http://mc04.manuscriptcentral.com/abmvz-scielo>>.

Não serão fornecidas separatas. Os artigos encontram-se disponíveis no endereço www.scielo.br/abmvz

Orientações Gerais

- Toda a tramitação dos artigos é feita exclusivamente pelo Sistema de Publicação on-line do Scielo - Scholar One, no endereço <http://mc04.manuscriptcentral.com/abmvz-scielo> sendo necessário o cadastramento no mesmo.
- Toda a comunicação entre os diversos autores do processo de avaliação e de publicação (autores, revisores e editores) será feita apenas de forma eletrônica pelo Sistema, sendo que o autor responsável pelo artigo será informado automaticamente por e-mail sobre qualquer mudança de status do mesmo.
- Fotografias, desenhos e gravuras devem ser inseridos no texto e quando solicitados pela equipe de editoração também devem ser enviados, em separado, em arquivo com extensão JPG, em alta qualidade (mínimo 300dpi), zipado, inserido em "Figure or Image" (Step 6).
- É de exclusiva responsabilidade de quem submete o artigo certificar-se de que cada um dos autores tenha conhecimento e concorde com a inclusão de seu nome no texto submetido.

- O ABMVZ comunicará a cada um dos inscritos, por meio de correspondência eletrônica, a participação no artigo. Caso um dos produtores do texto não concorde em participar como autor, o artigo será considerado como desistência de um dos autores e sua tramitação encerrada.

Comitê de Ética

É indispensável anexar cópia, em arquivo PDF, do Certificado de Aprovação do Projeto da pesquisa que originou o artigo, expedido pelo CEUA (Comitê de Ética no Uso de Animais) de sua Instituição, em atendimento à Lei 11794/2008. O documento deve ser anexado em “Ethics Conmittee” (Step 6). Esclarecemos que o número do Certificado de Aprovação do Projeto deve ser mencionado no campo Material e Métodos.

Tipos de artigos aceitos para publicação:

- **Artigo científico**

É o relato completo de um trabalho experimental. Baseia-se na premissa de que os resultados são posteriores ao planejamento da pesquisa.

Seções do texto: Título (português e inglês), Autores e Afiliação (somente na “Title Page” – Step 6), Resumo, Abstract, Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão (ou Resultados e Discussão), Conclusões, Agradecimentos (quando houver) e Referências.

O número de páginas não deve exceder a 15, incluindo tabelas, figuras e Referências.

O número de Referências não deve exceder a 30.

- **Relato de caso**

Contempla principalmente as áreas médicas em que o resultado é anterior ao interesse de sua divulgação ou a ocorrência dos resultados não é planejada.

Seções do texto: Título (português e inglês), Autores e Afiliação (somente na “Title Page” - Step 6), Resumo, Abstract, Introdução, Casuística, Discussão e Conclusões (quando pertinentes), Agradecimentos (quando houver) e Referências.

O número de páginas não deve exceder a dez, incluindo tabelas e figuras.

O número de Referências não deve exceder a 12.

- **Comunicação**

É o relato sucinto de resultados parciais de um trabalho experimental digno de publicação, embora insuficiente ou inconsistente para constituir um artigo científico.

Seções do texto: Título (português e inglês), Autores e Afiliação (somente na “Title Page” - Step 6). Deve ser compacto, sem distinção das seções do texto especificadas para “Artigo científico”, embora seguindo àquela ordem. Quando a Comunicação for redigida em português deve conter um “Abstract” e quando redigida em inglês deve conter um “Resumo”.

O número de páginas não deve exceder a oito, incluindo tabelas e figuras.

O número de Referências não deve exceder a 12.

Preparação dos textos para publicação

Os artigos devem ser redigidos em português ou inglês na forma impessoal.

Formatação do texto

- O texto **NÃO** deve conter subitens em nenhuma das seções do artigo, deve ser apresentado em arquivo Microsoft Word e anexado como “Main Document” (Step 6), no formato A4, com margem de 3cm (superior, inferior, direita e esquerda), na fonte Times New Roman, no tamanho 12 e no espaçamento de entrelinhas 1,5, em todas as páginas e seções do artigo (do título às referências), **com linhas numeradas**.

- Não usar rodapé. Referências a empresas e produtos, por exemplo, devem vir, obrigatoriamente, entre parêntesis no corpo do texto na seguinte ordem: nome do produto, substância, empresa e país.

Seções de um artigo

- **Título.** Em português e em inglês. Deve contemplar a essência do artigo e não ultrapassar 50 palavras.

- **Autores e Afiliação.** Os nomes dos autores são colocados abaixo do título, com identificação da instituição a qual pertencem. O autor e o seu e-mail para correspondência devem ser indicados com asterisco somente no “Title Page” (Step 6), em arquivo Word.

- **Resumo e Abstract.** Deve ser o mesmo apresentado no cadastro contendo até 200 palavras em um só parágrafo. Não repetir o título e não acrescentar revisão de literatura. Incluir os principais resultados numéricos, citando-os sem explicá-los, quando for o caso. Cada frase deve conter uma informação completa.

- **Palavras-chave e Keywords.** No máximo cinco e no mínimo duas*.

* na submissão usar somente o *Keyword* (Step 2) e no corpo do artigo constar tanto *keyword* (inglês) quanto palavra-chave (português), independente do idioma em que o artigo for submetido.

Introdução. Explicação concisa na qual os problemas serão estabelecidos, bem como a pertinência, a relevância e os objetivos do trabalho. Deve conter poucas referências, o suficiente para balizá-la.

Material e Métodos. Citar o desenho experimental, o material envolvido, a descrição dos métodos usados ou referenciar corretamente os métodos já publicados. Nos trabalhos que envolvam animais e/ou organismos geneticamente modificados **deverão constar obrigatoriamente o número do Certificado de Aprovação do CEUA**. (verificar o Item Comitê de Ética).

Resultados. Apresentar clara e objetivamente os resultados encontrados.

- **Tabela.** Conjunto de dados alfanuméricos ordenados em linhas e colunas. Usar linhas horizontais na separação dos cabeçalhos e no final da tabela. O título da tabela recebe inicialmente a palavra Tabela, seguida pelo número de ordem em algarismo arábico e ponto (ex.: Tabela 1.). No texto, a tabela deve ser referida como Tab seguida de ponto e do número de ordem (ex.: Tab. 1), mesmo quando referir-se a várias tabelas (ex.: Tab. 1, 2 e 3). Pode ser apresentada em espaçamento simples e fonte de tamanho menor que 12 (o menor tamanho aceito é oito). A legenda da Tabela deve conter apenas o indispensável para o seu entendimento. As tabelas devem ser obrigatoriamente inseridas no corpo do texto de preferência após a sua primeira citação.

- **Figura.** Compreende qualquer ilustração que apresente linhas e pontos: desenho, fotografia, gráfico, fluxograma, esquema etc. A legenda recebe inicialmente a palavra Figura, seguida do número de ordem em algarismo arábico e ponto (ex.: Figura 1.) e é citada no texto como Fig seguida de ponto e do número de ordem (ex.: Fig.1), mesmo se citar mais de uma figura (ex.: Fig. 1, 2 e 3). Além de inseridas no corpo do texto, fotografias e desenhos devem também ser enviados no formato JPG com alta qualidade, em um arquivo zipado, anexado no campo próprio de submissão, na tela de registro do artigo. As figuras devem ser obrigatoriamente inseridas no corpo do texto de preferência após a sua primeira citação.

- **Nota:** Toda tabela e/ou figura que já tenha sido publicada deve conter, abaixo da legenda, informação sobre a fonte (autor, autorização de uso, data) e a correspondente referência deve figurar nas Referências.

Discussão. Discutir somente os resultados obtidos no trabalho. (Obs.: As seções Resultados e Discussão poderão ser apresentadas em conjunto a juízo do autor, sem prejudicar qualquer uma das partes).

Conclusões. As conclusões devem apoiar-se nos resultados da pesquisa executada e serem apresentadas de forma objetiva, **SEM** revisão de literatura, discussão, repetição de resultados e especulações.

Agradecimentos. Não obrigatório. Devem ser concisamente expressados.

Referências. As referências devem ser relacionadas em ordem alfabética, dando-se preferência a artigos publicados em revistas nacionais e internacionais, indexadas. Livros e teses devem ser referenciados o mínimo possível, portanto, somente quando indispensáveis. São adotadas as normas gerais da ABNT, **adaptadas** para o ABMVZ, conforme exemplos:

Como referenciar:

1. Citações no texto

- A indicação da fonte entre parênteses sucede à citação para evitar interrupção na sequência do texto, conforme exemplos:

- autoria única: (Silva, 1971) ou Silva (1971); (Anuário..., 1987/88) ou Anuário... (1987/88);

- dois autores: (Lopes e Moreno, 1974) ou Lopes e Moreno (1974);

- mais de dois autores: (Ferguson *et al.*, 1979) ou Ferguson *et al.* (1979);

- mais de um artigo citado: Dunne (1967); Silva (1971); Ferguson *et al.* (1979) ou (Dunne, 1967; Silva, 1971; Ferguson *et al.*, 1979), sempre em ordem cronológica ascendente e alfabética de autores para artigos do mesmo ano.

- **Citação de citação.** Todo esforço deve ser empreendido para se consultar o documento original. Em situações excepcionais pode-se reproduzir a informação já citada por outros autores. No texto, citar o sobrenome do autor do documento não consultado com o ano de publicação, seguido da expressão **citado por** e o sobrenome do autor e ano do documento consultado. Nas Referências deve-se incluir apenas a fonte consultada.

- *Comunicação pessoal.* Não faz parte das Referências. Na citação coloca-se o sobrenome do autor, a data da comunicação, nome da Instituição à qual o autor é vinculado.

2. Periódicos (até quatro autores citar todos. Acima de quatro autores citar três autores *et al.*):
 ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL. v.48, p.351, 1987-88.

FERGUSON, J.A.; REEVES, W.C.; HARDY, J.L. Studies on immunity to alphaviruses in foals. *Am. J. Vet. Res.*, v.40, p.5-10, 1979.

HOLENWEGER, J.A.; TAGLE, R.; WASERMAN, A. et al. Anestesia general del canino. *Not. Med. Vet.*, n.1, p.13-20, 1984.

3. Publicação avulsa (até quatro autores citar todos. Acima de quatro autores citar três autores *et al.*):

DUNNE, H.W. (Ed). Enfermedades del cerdo. México: UTEHA, 1967. 981p.

LOPES, C.A.M.; MORENO, G. Aspectos bacteriológicos de ostras, mariscos e mexilhões. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 14., 1974, São Paulo. *Anais...* São Paulo: [s.n.] 1974. p.97. (Resumo).

MORRIL, C.C. Infecciones por clostridios. In: DUNNE, H.W. (Ed). Enfermedades del cerdo. México: UTEHA, 1967. p.400-415.

NUTRIENT requirements of swine. 6a ed. Washington: National Academy of Sciences, 1968. 69p.

SOUZA, C.F.A. *Produtividade, qualidade e rendimentos de carcaça e de carne em bovinos de corte.* 1999. 44f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

4. Documentos eletrônicos (até quatro autores citar todos. Acima de quatro autores citar três autores *et al.*):

QUALITY food from animals for a global market. Washington: Association of American Veterinary Medical College, 1995. Disponível em: <<http://www.org/critca16.htm>>. Acessado em: 27 abr. 2000.

JONHNSON, T. Indigenous people are now more cambative, organized. Miami Herald, 1994. Disponível em: <<http://www.summit.fiu.edu/MiamiHerld-Summit-RelatedArticles/>>. Acessado em: 5 dez. 1994.

Taxas de submissão e de publicação:

SOMENTE PARA ARTIGOS NACIONAIS

- **Taxa de submissão:** A taxa de submissão de R\$50,00 deverá ser paga por meio de boleto bancário emitido pelo sistema eletrônico do Conveniar <http://conveniar.fepmvz.com.br/eventos/#servicos> (necessário preencher cadastro). Somente artigos com taxa paga de submissão serão avaliados.

Caso a taxa não seja quitada em até 30 dias será considerado como desistência do autor.

- **Taxa de publicação:** A taxa de publicação de R\$150,00 por página, por ocasião da prova final do artigo. A taxa de publicação deverá ser paga por meio de depósito bancário, cujos dados serão fornecidos na aprovação do artigo.

OBS.: Quando os dados para a nota fiscal forem diferentes dos dados do autor de contato deve ser enviado um e-mail para abmvz.artigo@abmvz.org.br comunicando tal necessidade.

SOMENTE PARA ARTIGOS INTERNACIONAIS

- **Submission and Publication fee.** The publication fee is of US\$100,00 (one hundred dollars) per page, and US\$50,00 (fifty dollars) for manuscript submission and will be billed to the corresponding author at the final proof of the article. The publication fee must be paid through a bank slip issued by the electronic article submission system. When requesting the bank slip the author will inform the data to be intle invoice issuance.

Recursos e diligências:

- No caso de o autor encaminhar resposta às diligências solicitadas pelo ABMVZ ou documento de recurso o mesmo deverá ser anexado em arquivo Word, no item "Justification" (Step 6), e também enviado por e-mail, aos cuidados do Comitê Editorial, para abmvz.artigo@abmvz.org.br.

- No caso de artigo não aceito, se o autor julgar pertinente encaminhar recurso o mesmo deve ser feito pelo e-mail abmvz.artigo@abmvz.org.br.