

EMANUELA RIBEIRO MOURA

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE REPRODUTIVA E SISTÊMICA DO LÁTEX DE  
*Himatanthus sucuba* (Spruce) Woodson EM ROEDORES**

TERESINA/PI  
2016

EMANUELA RIBEIRO MOURA

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE REPRODUTIVA E SISTÊMICA DO LÁTEX DE  
*Himatanthus sucuba* (Spruce) Woodson EM ROEDORES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal do Piauí para a obtenção do título de Mestra em Ciência Animal.

**Área de Concentração:** Sanidade e Reprodução Animal.

**Orientador:** Prof. Dr. Amilton Paulo Raposo Costa

TERESINA/PI

2016

FICHA CATALOGRÁFICA  
Universidade Federal do Piauí  
Biblioteca Setorial do Centro de Ciências Agrárias  
Serviço de Processamento Técnico

**M929a** Moura, Emanuela Ribeiro

Avaliação da toxicidade reprodutiva e sistêmica do látex  
de *Himatanthus sucuba* (Spruce) Woodson em roedores  
/ Emanuela Ribeiro Moura - 2016.  
59 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) –  
Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2016.

Orientação: Prof. Dr. Amilton Paulo Raposo Costa

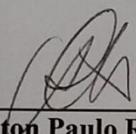
1. Roedores 2. Ciclo estral 3. Gestação 4. Implantação I. Título  
**CDD 599.323**

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE REPRODUTIVA E SISTÊMICA DO LÁTEX  
DE *HIMATHANTHUS SUCUUBA* (SPRUCE) WOODSON EM ROEDORES**

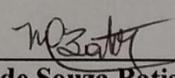
**EMANUELA RIBEIRO MOURA**

**Dissertação aprovada em: 24/02/2016**

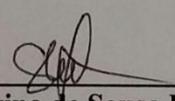
**Banca Examinadora:**



**Prof. Dr. Amilton Paulo Raposo Costa (Presidente) / DMV/CCA/UFPI**



**Profa. Dra. Maria do Carmo de Souza Batista (Interna) / DMV/CCA/UFPI**



**Profa. Dra. Silvéria Regina de Sousa Lira (Externa) / AESPI**

Aos meus pais **Maria do Socorro Ribeiro Moura** e **Manoel Pinheiro de Moura Filho**, aos meus irmãos, **Jonathan Ribeiro Moura** e **Gabriela Ribeiro Moura**, e ao meu namorado **Antônio Pires Ferreira Júnior**

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida e por se mostrar sempre tão presente nos momentos em que mais precisei e por nunca ter me abandonado.

Aos meus pais que são os meus alicerces, agradeço sinceramente por todos os ensinamentos e pela educação que vocês me deram. Aos meus familiares por todo o incentivo e apoio.

Ao meu amado, Antônio Pires Ferreira Júnior, pelo carinho e companhia em ocasiões de distração ou nos tempos de dificuldade.

A Universidade Federal do Piauí por ter sido uma boa casa de oportunidades e de momentos que guardarei eternamente.

Ao CNPq pelo financiamento da minha pós-graduação.

Ao meu orientador, Amilton Paulo Raposo Costa, por ter sido o primeiro professor a me incluir no ambiente da pesquisa científica e por sempre me auxiliar no desenvolvimento dos trabalhos.

A todos os professores, pela contribuição na minha formação. Especialmente, agradeço aos professores, Rozeverter Moreno Fernandes, Maria Zenaide de Lima Chagas Moreno Fernandes, Silvana Maria Medeiros de Sousa Silva e Maria do Carmo de Souza Batista.

Minha amiga e confidente Elis Rosélia D.F.S. Silva. Obrigada pelas horas de conversa, pelo seu apoio e estímulo.

Aos amigos do laboratório de Ciências Fisiológicas do CCA/UFPI, pela amizade e pela ajuda nos experimentos. Agradeço em especial a Marina Rebeca Soares Carneiro de Sousa, Marllós Henrique Vieira Nunes, Karoline Figueredo Rodrigues, Jamilly Erica Sousa Campelo, Ana Paula Gomes Pereira Cunha, Moema Sousa de Oliveira e a Técnica de laboratório Terysdalva Pereira da Costa.

Minha colaboradora Thays Garreto Rodrigues dos Santos e ao meu colaborador Matheus Luiggi Freitas Barbosa pelo importante auxílio na execução dos protocolos experimentais.

A todos os amigos que fiz nesses 2 anos de mestrado, em especial Anângela Ravena da Silva Leal, Adriane Camila Batista de Sousa, e Susan Emanuely Pinheiro Amorim por terem me proporcionado bons momentos ao longo desses anos de convivência.

A Médica Veterinária Silvéria Regina de Sousa Lira, pela sua disponibilidade no desenvolvimento deste trabalho.

A Silvana e Meire pelo seu serviço prestado, fornecendo os animais com presteza durante o andamento do projeto.

A todos os animais que contribuíram para realização deste trabalho.

E a todos aqueles que passaram na minha vida com sorrisos e palavras que me deram coragem e determinação para que essa etapa fosse concluída.

**O uso de animais em pesquisa é um privilégio. Estes animais que estão nos ajudando a desvendar os mistérios da Ciência merecem nosso respeito e o melhor cuidado possível. Um animal bem tratado irá proporcionar resultados científicos mais confiáveis, o que deve ser o objetivo de todos os Pesquisadores.”**

**Guimarães**

## SÚMARIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES .....	x
LISTA DE TABELAS .....	xi
RESUMO .....	xii
ABSTRACT .....	xiii
1 INTRODUÇÃO .....	14
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	17
2.1 Família <i>Apocynaceae</i> .....	17
2.2 Gênero <i>Himatanthus</i> .....	17
2.3 <i>Himatanthus sucuuba</i> .....	20
2.4 Toxicidade reprodutiva.....	22
2.5 Ciclo estral.....	26
2.6 Toxicidade sistêmica.....	29
3 CAPITULO I – .....	1
Avaliação da toxicidade reprodutiva e sistêmica do látex de <i>Himatanthus sucuuba</i> (Spruce) Woodson em roedores.....	1
RESUMO .....	1
ABSTRACT: Toxicity assessment reproductive and systemic of latex <i>Himatanthus sucuuba</i> (Spruce) Woodson in rodents.....	2
INTRODUÇÃO.....	2
MATERIAL E MÉTODO .....	4
Coleta e identificação da <i>H. sucuuba</i> .....	4
Protocolo toxicidade sistêmica e avaliação do ciclo estral em ratas linhagem Wistar .....	4
Protocolo toxicidade gestacional em ratas linhagem Wistar .....	5
Protocolo de toxicidade gestacional em camundongos linhagens Swiss e avaliação da progênie .....	6
Análise estatística.....	9
Comissão de ética em experimentação animal.....	9
RESULTADO E DISCUSSÃO .....	9
REFERÊNCIA.....	18
REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA .....	31
ANEXO A- Parecer da comissão de ética e experimentação animal .....	38
ANEXO B- Exsicata da <i>H. sucuuba</i> depositada no acervo TEPB/UFPI.....	39

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

<b>FIGURA 1</b>	Exemplar de <i>Himatanthus sucuuba</i> .....	20
<b>FIGURA 2</b>	Relação das fases do ciclo estral de ratas com a citologia vaginal.....	26
<b>FIGURA 3</b>	Variação hormonal do ciclo estral em ratas.....	27

### CAPÍTULO 1

<b>FIGURA 1</b>	Pontos de ossificação normal de feto referente ao grupo controle tratadas com água destilada durante o 8° dia ao 12° de gestação.....	7
<b>FIGURA 2</b>	Relação e localização de cortes utilizados durante a análise visceral para o estudo de malformações viscerais.....	8
<b>FIGURA 3</b>	Sequência de cortes para estudo visceral em feto do grupo controle.....	8
<b>FIGURA 4</b>	Evolução ponderal das ratas expostas ao tratamento com diferentes doses do LdHs (25, 50 e 100 mg/kg) e água destilada (controle) durante 46 dias.....	10
<b>FIGURA 5</b>	Número de ciclos estrais (A) e duração do ciclo estral (B) de ratas tratadas com água destilada (controle) e diferentes doses do LdHs (25, 50 e 100 mg/kg) durante 46 dias.....	14
<b>FIGURA 6</b>	Evolução ponderal das ratas gestantes expostas ao tratamento com LdHs (25 e 100 mg/kg) e água destilada (controle) durante o 8° dia ao 19° de gestação.....	15
<b>FIGURA 7</b>	Índice placentário (grama/grama) de camundongos fêmeas tratadas com água destilada (controle) e diferentes doses do LdHs (25, 50 e 100 mg/kg) durante o 8° dia ao 12° de gestação.....	17

**LISTA DE TABELAS**

<b>TABELA 1</b>	Consumo diário individual de ração e de água de ratas tratadas com água destilada (controle) e diferentes doses do LdHs (25, 50 e 100 mg/kg) durante 46 dias.....	10
<b>TABELA 2</b>	Parâmetros bioquímicos analisados de ratas tratadas com água destilada (controle) e diferentes doses do LdHs (25, 50 e 100 mg/kg) durante 46 dias.....	11
<b>TABELA 3</b>	Massa corporal, massa absoluta e massa relativa dos órgãos de ratas tratadas com água destilada (controle) e diferentes doses do LdHs (25, 50 e 100 mg/kg) durante 46 dias.....	12
<b>TABELA 4</b>	Número médio de folículos ovarianos e corpo lúteo de ratas submetidas aos tratamentos com água destilada (controle) e diferentes doses do LdHs (25, 50 e 100 mg/kg) durante 46 dias.....	12
<b>TABELA 5</b>	Frequência relativa (%) das fases do ciclo estral de ratas tratadas com água destilada (controle) e diferentes doses do LdHs (25, 50 e 100 mg/kg) durante 46 dias.....	13
<b>TABELA 6</b>	Parâmetros gestacionais de ratas tratadas com água destilada (controle) e nas doses 25 e 100 mg/kg do LdHs durante o 8º dia ao 19º de gestação.....	15
<b>TABELA 7</b>	Parâmetros gestacionais de camundongos fêmeas tratadas com água destilada (controle) e diferentes doses de LdHs (25, 50 e 100 mg/kg) durante o 8º dia ao 12º de gestação.....	16

## RESUMO

MOURA, E. R. **AValiação da Toxicidade Reprodutiva e Sistêmica do Látex de *Himatanthus sucuuba* (Spruce) Woodson em Roedores.** 2016. 59f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Programa de Pós Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2016.

A *Himatanthus sucuuba* é utilizada pela população para o tratamento de diversas enfermidades e seus compostos ativos exibiram propriedades biológicas tais como atividades anti-inflamatória, analgésica, atividade leishmanicida e antitumoral. Nesse contexto, objetivou-se investigar os possíveis efeitos do látex diluído de *Himatanthus sucuuba* (LdHs) nas doses de 25, 50 e 100 mg/kg sobre o sistema reprodutivo e outros sistemas orgânicos de roedores. O látex foi coletado na zona rural de Timon-MA e diluído em água. Utilizou-se ratas Wistar nos protocolos toxicidade sistêmica, avaliação do ciclo estral e toxicidade gestacional. Foram utilizados camundongos fêmeas nos protocolos toxicidade gestacional e avaliação da progênie. Esses animais receberam o LdHs por gavagem. Para a avaliação dos dados, foi aplicada ANOVA seguida pelo teste de Dunnett ( $p < 0,05$ ). Os resultados demonstraram que houve uma diminuição no consumo diário de ração e uma interferência negativa no desenvolvimento ponderal no grupo tratado com a dose 100 mg/kg e houve ainda um aumento no consumo diário de água no grupo 50 mg/kg. No entanto, não houve alteração dos parâmetros bioquímicos (ureia, creatinina e fosfatase alcalina) nem os pesos absolutos e relativos dos órgãos (fígado, rim, baço, útero, ovário, coração, pulmão e adrenais) nas doses testadas. Na análise histológica dos tecidos não houve diferença significativa em relação ao controle. O número de folículos primários, na dose 100 mg/kg de LdHs, foi superior ao do grupo controle. Foi observado ainda uma diminuição no número de ciclos estrais e um aumento na duração média do ciclo estral nesse grupo, porém nenhuma das doses afetou a frequência relativa das fases do ciclo estral. As ratas gestantes que receberam o tratamento nas doses 25 e 100 mg/kg de LdHs, durante o 8º ao 19º dia de gestação, não manifestaram diferença significativa em relação ao grupo controle nos parâmetros gestacionais analisados nem no desenvolvimento ponderal. Visando avaliar possíveis efeitos teratogênicos do LdHs, avaliaram-se as doses 25, 50 e 100 mg/kg em camundongos fêmeas gestantes. Nenhuma das doses de LdHs interferiu negativamente nos parâmetros gestacionais investigados nem na ossificação dos fetos, assim como, também não promoveu malformações viscerais na prole. Portanto, as doses 25 e 50 mg/kg de LdHs se revelaram seguras, entretanto a dose 100 mg/kg não causou interferências gestacionais mas diminuiu a eficiência reprodutiva e promoveu uma baixa toxicidade sistêmica pois causou uma diminuição no consumo de ração e interferiu no desenvolvimento ponderal.

## ABSTRACT

MOURA, E. R. **TOXICITY ASSESSMENT REPRODUCTIVE AND SYSTEMIC OF LATEX *Himatanthus sucuuba* (Spruce) Woodson IN RODENTS.** 2016. 59f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Programa de Pós Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2016.

The *Himatanthus sucuuba* is used by people for the treatment of various diseases and its active compounds exhibited biological properties such as anti-inflammatory, analgesic, antitumoral and antileishmanial activity. In this context, this study aimed to investigate the possible effects of the latex diluted *Himathanthus sucuuba* (LdHs) at doses of 25, 50 and 100 mg/kg on the reproductive system and other organ systems of rodents. The latex was collected in rural Timon-MA and diluted in water. We used Wistar rats in the protocols systemic toxicity evaluation of the estrous cycle and gestational toxicity. Mice were used in females protocols gestational toxicity and evaluation of progeny. These animals received LdHs by gavage. For the evaluation of the data was applied ANOVA followed by Dunett's test ( $p < 0.05$ ). The results showed that there was a decrease in feed intake and weight development negative interference in the group treated with the dose 100 mg/kg and there was also an increase in daily water intake in the group 50 mg/kg. However, there was no change of biochemical parameters (urea, creatinine and alkaline phosphatase) or the absolute and relative organ weights (liver, kidney, spleen, uterus, ovary, heart, lung and adrenal glands) in the tested doses. Histological analysis of the tissue there was no significant difference from the control. The number of primary follicles and in the dose 100 mg/kg LdHs was superior to the control group. It was also observed a decrease in the number of estrous cycles and an increase in the average duration of the estrous cycle in this group, but none of the doses affected the relative frequency of the phases of the estrous cycle. The rats pregnant women who received the treatment in doses 25 and 100 mg/kg of LdHs, during the 8th to 19th day of gestation, did not show significant difference in the control group on gestational parameters analyzed or the weight development. To evaluate possible teratogenic effects of LdHs, the doses be assessed 25, 50 and 100 mg/kg in mice pregnant females. None of LdHs doses interfered negatively on gestational parameters investigated or ossification of fetuses, and also did not cause visceral malformations in the offspring. Therefore, doses 25 and 50 mg/kg of LdHs have proved safe, though the dose 100 mg/kg caused no gestational interference but decreased reproductive efficiency and promoted a low systemic toxicity as caused a decrease in feed intake and interfere with the development weight.

Esta dissertação apresenta a seguinte estrutura formal: Um Introdução, revisão de literatura e um Capítulo I contendo o artigo intitulado “**Avaliação da toxicidade reprodutiva e sistêmica do látex de *Himatanthus sucuuba* (Spruce) Woodson em roedores**”, a ser encaminhado para publicação no periódico **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. O artigo foi estruturado de acordo com as normas técnicas da mesma.

## 1 INTRODUÇÃO

O homem busca, na natureza, recursos que melhorem sua condição de vida para, assim, aumentar suas chances de sobrevivência pela melhoria de sua saúde. Em todas as épocas e culturas, ele aprendeu a tirar proveito dos recursos naturais locais (BRASIL, 2006a).

Embora a medicina moderna esteja bem desenvolvida na maior parte do mundo, a Organização Mundial de Saúde (OMS) reconhece que grande parte da população dos países em desenvolvimento depende da medicina tradicional para sua atenção primária, tendo em vista que 80% desta população utilizam práticas tradicionais nos seus cuidados básicos de saúde e 85% destes utilizam plantas ou preparações destas (BRASIL, 2006b).

Até a primeira metade do século XX, o Brasil era essencialmente rural e usava amplamente a flora medicinal, tanto nativa quanto exótica. Hoje, a medicina popular do país é reflexo das uniões étnicas entre os diferentes imigrantes e os inúmeros povos autóctones que difundiram o conhecimento das ervas locais e de seus usos, transmitidos e aprimorados de geração em geração. As plantas medicinais, as preparações fitofarmacêuticas e os produtos naturais isolados representam um mercado que movimenta bilhões de dólares, tanto em países industrializados e em desenvolvimento (BRASIL, 2006a; LORENZI; MATOS, 2002).

O uso de fitoterápicos com finalidade profilática, curativa, paliativa ou com fins de diagnóstico passou a ser oficialmente reconhecido pela OMS em 1978 (BRASIL, 2011), quando recomendou a difusão mundial dos conhecimentos necessários para o seu uso (BRASIL, 2006b). Considerando-se que as plantas medicinais são importantes instrumentos da Assistência Farmacêutica, vários comunicados e resoluções da OMS expressam a posição do organismo a respeito da necessidade de valorizar o uso desses medicamentos, no âmbito sanitário (BRASIL, 2006a).

A tradicionalidade de uso é uma forma de comprovação de segurança e efetividade de fitoterápicos permitida no Brasil desde a publicação da Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 17/2000 ANVISA, que foi revogada pela RDC nº 48/2004, que por sua vez foi revogada pela RDC nº 14/2010, todas referentes ao registro de medicamentos fitoterápicos. Em todas essas normas era

possível utilizar quatro formas de comprovação de segurança e eficácia de fitoterápicos: por meio de estudos não clínicos e clínicos, por dados de literatura, por registro simplificado ou por tradicionalidade. Porém, a população não tinha a informação sobre qual foi a forma utilizada para comprovação da segurança e eficácia quando o produto era registrado. Portanto, a RDC nº 14/2010 foi revogada com a publicação da RDC nº 26/2014, que separa os fitoterápicos em duas classes, Medicamento Fitoterápico (MF) e Produto Tradicional Fitoterápico (PTF), e traz o conceito de PTF, tendo a demonstração do tempo de uso por meio de literatura técnico-científica como a principal forma de comprovação de sua segurança e efetividade (BRASIL, 2014a).

Sendo assim, com a publicação da RDC nº 26/2014 foi modificada a concepção dos fitoterápicos. Essa resolução determinou que quando tratam de fitoterápicos, referem-se tanto ao Medicamento Fitoterápico (MF) quanto ao Produto Tradicional Fitoterápico (PTF). A principal diferença entre essas duas classes é que o MF comprova sua segurança e eficácia por meio de estudos clínicos, enquanto o PTF comprova a segurança e efetividade pela demonstração do tempo de uso na literatura técnico-científica. Para serem disponibilizados ao consumo, tanto o MF quanto o PTF terão que apresentar requisitos semelhantes de qualidade, diferenciando-se nos requisitos de comprovação da segurança e eficácia/efetividade, bulas/folheto informativo, embalagens, restrição de uso e de Boas Práticas de Fabricação e Controle (BPFC) (BRASIL, 2014a).

Desse modo, são considerados MF os obtidos com emprego exclusivo de matérias-primas ativas vegetais cuja segurança e eficácia sejam baseadas em evidências clínicas e que sejam caracterizados pela constância de sua qualidade. Por outro lado, são considerados PTF os obtidos com emprego exclusivo de matérias-primas ativas vegetais cuja segurança e efetividade sejam baseadas em dados de uso seguro e efetivo publicados na literatura técnico-científica e que sejam concebidos para serem utilizados sem a vigilância de um médico para fins de diagnóstico, de prescrição ou de monitorização (BRASIL, 2014b). Com essa recente publicação pode ocorrer um estímulo ao registro de PTF pois essa não requer estudos clínicos e não-clínicos e, portanto, menos gastos para o seu registro.

Apesar da riqueza da flora brasileira e da ampla utilização de plantas medicinais pela população, existe o consenso da insuficiência de estudos científicos acerca do assunto. Portanto, torna-se necessário estimular a realização desses estudos, tendo em vista a importância dos seus resultados tanto individuais como sociais (BRASIL, 2006a).

As plantas medicinais são importantes para a pesquisa farmacológica e o desenvolvimento de drogas, não somente quando seus constituintes são usados diretamente como agentes terapêuticos, mas também como matérias-primas para a síntese, ou modelos para

compostos farmacologicamente ativos (BRASIL, 2006b). Estima-se que aproximadamente 40% dos medicamentos atualmente disponíveis foram desenvolvidos direta ou indiretamente a partir de fontes naturais, assim subdivididos: 25% de plantas, 12% de micro-organismos e 3% de animais (CALIXTO et. al., 2001). Das 252 drogas consideradas básicas e essenciais pela OMS, 11% são originárias de plantas e um número significativo são drogas sintéticas obtidas de precursores naturais (RATES, 2001). Além disso, nas últimas décadas, o interesse populacional pelas terapias naturais tem aumentado significativamente nos países industrializados e desse modo encontra-se em expansão o uso de plantas medicinais e fitoterápicos (BRASIL, 2006b).

O Brasil deveria ser referência no mercado mundial de fitoterápicos, uma vez que, o país possui a maior biodiversidade do planeta (LIMA-SARAIVA et al, 2014), no entanto, o Brasil tem baixa participação no mercado de medicamentos fitoterápicos. Em novembro de 2004 foi publicada no Diário Oficial a aprovação do registro do primeiro anti-inflamatório tópico feito a partir do óleo essencial de uma planta brasileira. O Acheflan®, fabricado pelo Laboratório Farmacêutico Aché, tem em sua composição de 2,3-2,9%  $\alpha$ -humuleno obtido exclusivamente do óleo essencial de erva-baleeira (*Cordia verbenacea*), sendo indicado para o tratamento de tendinite crônica e dores miofasciais (GOMES, 2010).

Desde 2007, o Sistema Único de Saúde (SUS) fornece medicamentos fitoterápicos para população. Inicialmente, apenas dois produtos constavam na lista. Eles eram feitos à base de espinheira santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reis) para gastrites e úlceras; e guaco (*Mikania glomerata* Spreng) para tosses e gripes, em diversas apresentações. Atualmente, são 11 medicamentos (BRANDÃO, 2009). Em várias cidades brasileiras, o SUS oferece serviços que envolvem a produção e uso de plantas medicinais, de drogas vegetais de seus derivados e/ou de fitoterápicos, a partir de programas municipais e estaduais, sendo alguns regulamentados por legislação específica. No Brasil, o projeto Farmácias Vivas foi um início dessa proposta. Esse projeto, estabelecido pela Universidade Federal do Ceará, organizado sob influência da OMS, tem características de um programa de medicina social (BARRETO, 2011).

No Estado do Piauí, o município de Picos disponibiliza um Laboratório de Fitoterápico (LAFIPI), criado em 2000, que funciona em um dos postos de saúde da cidade. O programa de produção de fitoterápico é pioneiro no Estado do Piauí, baseado no emprego científico, e tem como objetivo estimular o uso correto plantas medicinais, em substituição às receitas empiricamente utilizadas pela população (BARRETO, 2011).

Em meio as inúmeras espécies vegetais de uso popular, tem-se a *Himatanthus sucuuba* (Spruce) Woodson pertencente da família *Apocynacea*. Em razão da ampla utilização empírica

e da possibilidade de uso terapêutico dessa espécie vegetal aliada aos poucos estudos dessa planta sobre os parâmetros reprodutivos, consideram-se assim relevantes os estudos nessa área uma vez que estes podem contribuir para a elucidação dos efeitos toxicológicos e sua segurança de uso.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Família *Apocynaceae*

A família *Apocynaceae* (*Dicotyledonae*) descrita por Antoine Laurent de Jussieu pertence à ordem *Gentianales*, subclasse *Asteridae* (DI STASI; HIRUMA-LIMA, 2002). Essa família possui cerca de 400 gêneros e 3700 espécies, no Brasil ocorrem 95 gêneros e 850 espécies (CAMPOS; FARINACCIO, 2011). Inclui espécies arbustivas, herbáceas, arbóreas, muitas das quais trepadeiras e suculentas (DI STASI; HIRUMA-LIMA, 2002).

É uma família vastamente disseminada em regiões tropicais e subtropicais e com poucos gêneros atingindo as regiões temperadas. Muitas espécies da família têm grande importância econômica, como fornecedoras de madeira e de alimentação sendo que algumas são utilizadas com finalidades medicinais (CAMPOS; FARINACCIO, 2011; JUDD, 2009).

Conhecida pela presença de alcaloides indólicos, a família *Apocynaceae* é uma das famílias com maior representatividade dentro das Angiospermas (PAZ et. al., 2013). Pode ser considerada uma das mais importantes fontes vegetais de constituintes químicos de utilidade na medicina moderna. Várias substâncias têm sido isoladas a partir de espécies dessa família e muitas dessas espécies representam protótipos de classes farmacológicas distintas de drogas e fazem parte da história da Farmacologia e da Terapêutica (DI STASI; HIRUMA-LIMA, 2002). O gênero *Himatanthus* está entre os gêneros importantes dessa família (DI STASI; HIRUMA-LIMA, 2002).

### 2.2 Gênero *Himatanthus*

O gênero *Himatanthus*, foi descrito por Carl Willdenow e Josef Schultes (DI STASI; HIRUMA-LIMA, 2002) e é composto de espécies nativas da América do Sul, consistindo de árvores, arbustos ou subarbustos, latescentes. As espécies descritas estão dispersas na zona tropical desde a latitude 10°N até o Trópico de Capricórnio (LARROSA; DUARTE, 2005a).

A *Himatanthus* sp. é um gênero monofilético, portanto as espécies possuem poucas diferenças morfológicas e moleculares, pois, provavelmente essas espécies tiveram origem

recente. Dentre os caracteres utilizados no reconhecimento das espécies têm-se a presença e tamanho do pecíolo, morfologia das folhas, padrão e quantidade de nervuras e morfologia do gineceu. Possui folhas simples, com lâminas inteiras, sua nervação é pinada com as nervuras secundárias unindo-se a arcos proeminentes. Os fragmentos da casca do caule têm formato plano, superfície irregular, exibindo fendas mais ou menos profundas na superfície externa. Apesar de reduzidas, são esses os caracteres morfológicos que permitem a diferenciação das espécies (CAMPOS; FARINACCIO, 2011).

Quanto a observações fenológicas, esse gênero floresce entre os meses de janeiro a maio e de agosto a novembro, e frutifica nos meses de janeiro, março, agosto e novembro (CAMPOS; FARINACCIO, 2011).

Por apresentarem características morfológicas semelhantes Mueller Argoviensis classificou os gêneros *Himatanthus* e *Plumeria* como sinônimos. Woodson em 1938, em revisão ao trabalho de Mueller, confirmou a proposta de autoria de Willdenow, que previa a separação dos gêneros *Plumeria* e *Himatanthus*. Examinando todas as espécies e as referências bibliográficas, Plumel em 1991, confirmou a separação dos gêneros em questão, fornecendo informações adicionais baseando-se na pesquisa de abundante material botânico (SOUSA, 2009). Foram catalogadas 13 espécies de *Himatanthus* sp., entre as quais, várias espécies descritas inicialmente por Mueller Argoviensis e reclassificadas por sinonímia por Woodson, sendo elas: *H. obovatus*, *H. stenophyllus*, *H. drasticus* (*H. fallax*), *H. lancifolius* (*H. fallax*), *H. fallax*, *H. phagedaenicus*, *H. articulatus* (*H. sucuuba*), *H. speciosus*, *H. sucuuba*, *H. bracteatus* (*H. speciosus*), *H. tarapotensis*, *H. semilunatus* e *H. attenuatus* (OLIVEIRA, 2013).

Exclusivo da América do Sul, *Himatanthus* sp. destaca-se por incluir espécies popularmente utilizadas como plantas medicinais e que possuem grande diversidade de compostos farmacologicamente ativos, entre eles alcaloides indólicos, iridóides e ésteres (OLIVEIRA, 2013). Os alcaloides indólicos apresentam diversas atividades farmacológicas, entre elas antimicrobiana, antitumoral, antiprotozoária e anti-inflamatória (BARATTO et. al., 2010).

Dentre algumas espécies utilizadas como planta medicinal dentro desse gênero têm-se a *H. lancifolius*, conhecida como agoniada, utilizada no tratamento de doenças da pele, asma, sífilis, estimulante de contrações uterinas e para regulação menstrual. Assim como, o látex exsudado de *H. articulatus* é utilizado como antifúngico, antibacteriano e no tratamento de úlceras, tumores, inflamações, sífilis, câncer e malária (OLIVEIRA, 2013). A *H. drasticus* é conhecida popularmente como tiborna, jasmim-manga e raivosa em Minas Gerais e Bahia, e como janaguba no Ceará, pau-de-leite no Piauí, joanaguba no Rio Grande do Norte. A casca

exsuda um látex branco bastante utilizado na medicina popular, principalmente pelos habitantes da região de ocorrência. Após a extração, o látex é diluído em água na proporção de 1:10, armazenado em recipiente de vidro para ser comercializado na região (SOUSA, 2009). O leite da janaguba, como é chamado o látex da *H. drasticus* pela população, tem uma longa história de emprego na cura do câncer no Nordeste do Brasil, porém, quase sem registro na literatura. Em um estudo de atividade antineoplásica frente ao carcinoma de Ehrlich o látex dessa planta apresentou uma redução significativa dos tumores atingindo um percentual de 76,9% de inibição (SOUSA et al, 2010).

Os metabólitos mais isolados de *Himatanthus* sp. são os iridóides (SOUSA et al, 2010). São produtos do metabolismo secundário de alguns grupos vegetais e desempenham um papel de proteção contra predadores, principalmente herbívoros, por serem venenosos ou amargos. Nas plantas, os iridóides apresentam uma pronunciada distribuição em angiospermas, sendo muitas vezes, utilizados como marcadores taxonômicos a nível de gênero e subgênero (GOMES; NOGUEIRA; MORAIS, 2011).

Os iridóides apresentam-se como uma importante classe de substâncias. Inúmeras publicações demonstram as propriedades biológicas dos iridóides tais como, antiviral, antimicrobiana, antitumoral, hemodinâmica, vasoconstritora, anti-inflamatória (GOMES; NOGUEIRA; MORAIS, 2011) e de estimular a função hepática e biliar (LÓPEZ-CARRERAS; MIGUEL; ALEIXANDRE, 2012). A grande diversidade de atividade biológica exibida pelos iridóides estimula o interesse em processos para o seu isolamento e determinação (SILVA et al., 2007). Além dessas, possuem atividades farmacológicas como: antifúngicas, antiprotozoárias, propriedades neuroprotetora, antioxidante, leishmanicida, moluscicida e antialérgica (OLIVEIRA, 2014).

Os iridóides, que pertencem à classe mais ampla dos terpenos, são formados em plantas por uma ciclização alternativa do pirofosfato de geranila. A estrutura química dessas substâncias é baseada no esqueleto ciclopentano-[C]-pirano, iridóides carbocíclicos, e a clivagem oxidativa da ligação 7,8 do anel ciclopentano fornece os chamados secoiridóides. Sob o aspecto biogenético, os iridóides são biossintetizados a partir do cátion iridodial e diversificam-se em 27 vias diferentes (SAMPAIO-SANTOS; KAPLAN, 2001). Podem ser estruturas abertas (secoiridoides) ou fechadas (Iridóides propriamente ditas) e geralmente aparecem na forma de heterósidos, principalmente como glicosídeos. Eles têm sido usados como antídotos em intoxicação após o consumo de cogumelos venenosos do gênero *Amanita*.

Atualmente, tem sido possível isolar e caracterizar alguns dos iridóides responsáveis por essa atividade (LÓPEZ-CARRERAS; MIGUEL; ALEIXANDRE, 2012).

O termo terpenóide abrange uma vasta gama de substâncias de origem vegetal e é utilizado no sentido de indicar que todas essas substâncias tem uma origem biossintética comum. Estes compostos baseiam-se na molécula de isopreno, sendo o seu esqueleto de carbono construído a partir da união de duas ou mais destas unidades em C5. Os terpenóides são então classificados de acordo com o número das unidades de isopreno. Esses compostos monoterpênicos designados iridóides possuem uma estrutura base um sistema de anel de ciclopentanodihidropirano (SAMPAIO-SANTOS; KAPLAN, 2001).

Dentre os iridóides já conhecidos têm-se o plumierídeo, isoplumierídeo, protoplumericina A, cafeoilplumierídeo e o iridóide ácido-3-metoxi-3;4- diidroplumierídeo isolados da casca de *Himatanthus sucuuba* (MORAGAS, 2006). Em outro estudo com essa planta, os compostos químicos mais isolados foram também os iridóides, encontrados no caule e no látex, como fulvoplumierina, plumericina que apresentou atividade contra o carcinoma nasofaringe epidermóide humano e a isoplumericina (SOUSA, 2009).

A Plumericina é um iridóide extraído de espécies vegetais da família *Apocynaceae*. A plumericina mostrou razoável efeito citotóxico nas linhagens celulares de adenocarcinoma murino de mama (LM3) e de pulmão (LP07) com IC50 de 0,035  $\mu\text{mol/mL}$  na linhagem LM3 e 0,025  $\mu\text{mol/mL}$  na linhagem LP07 (GOMES, 2008).

Diante do exposto, é evidente a potencialidade farmacológica das plantas medicinais. Principalmente, plantas com comprovada presença de iridóides possuem um potencial estímulo para realização de bioensaios para verificação de uma atividade antineoplásica, pois há diversos trabalhos que comprovam a presença de iridóides em algumas plantas, porém sem estudos de atividade antineoplásica. Entretanto, em qualquer espécie estudada é de fundamental importância se conhecer os efeitos toxicológicos da mesma para garantir a segurança de uso.

### **2.3 *Himatanthus sucuuba***

A planta *Himatanthus sucuuba* (Spruce) Woodson, é uma árvore de grande porte, conhecida popularmente como Sucuuba, Ucuuba e Sucuba, Janaguba e Sucuuba-verdadeira (DI STASI; HIRUMA-LIMA, 2002; OLIVEIRA, 2013). É nativa da região Amazônica e fornece madeira para a construção civil e carpintaria. É uma espécie latescente, mede de 8 a 20 metros de altura com tronco ereto e casca rugosa. Possui folhas glabras, coriáceas e de margens inteiras. As inflorescências estão dispostas em cimeiras terminais com poucas flores, grandes e brancas

(LARROSA; DUARTE, 2005b). Possui frutos deiscentes e numerosas sementes elipsóides secas, envoltas por uma ala membranosa circular bem desenvolvida. Essa estrutura reveste inteiramente a semente protegendo-a e facilitando a dispersão da espécie pelo vento, anemocoria, e/ou pela água, hidrocória (Figura 1) (FERREIRA; PIEDADE; BONATES, 2006). Anteriormente pertenceu ao gênero *Plumeria* e é confundida pela população com a espécie próxima *Himatanthus lancifolius* (Müll. Arg) Woodson (LARROSA; DUARTE, 2005b).

A *H. sucuuba* é uma das espécies que habitam as áreas inundáveis da Amazônia Central. Essa espécie distribui-se predominantemente na bacia amazônica, sendo facilmente encontrada na terra firme ou habitando as áreas de várzea em suas porções mais baixas, locais onde a planta pode ser submetida a uma inundação de até seis metros de altura, com a duração de cerca de cinco meses (FERREIRA; PIEDADE; BONATES, 2006).

**Figura 1-** Exemplar de *Himatanthus sucuuba*. A) Vista geral da árvore b) Casca e látex; c) Frutos; d) Pagina inferior da folha; e) Flor



Fonte: MOURA, 2016; OLIVEIRA, 2013.

Essa árvore desperta grande interesse na economia regional, especialmente pelo valor fitoterápico atribuído a seu látex (FERREIRA; PIEDADE; BONATES, 2006). Na medicina popular, as folhas são utilizadas na forma de decocto contra constipação, dores e irritação do estômago, enquanto o látex é empregado topicamente contra afecções de pele (LARROSA; DUARTE, 2005b). O látex e as folhas também são utilizados como antitumoral, antifúngico, antianêmico, vermífugo e no tratamento de gastrites e artrites (DI STASI; HIRUMA-LIMA, 2002). A infusão feita a partir da casca do caule tem sido usada para tratamento de tumores, furúnculos, edemas, artrites e ainda como vermífugo e laxativo (FERNANDES et al., 2000).

Os compostos químicos frequentemente isolados dessa planta são iridóides, encontrados no caule e no látex, como fulvoplumierina, isoplumericina, ácido confluêntico, plumericina e ácido metilperlatólico (LARROSA; DUARTE, 2005a). Dentre os iridóides encontrados, os fulvoplumierina, isoplumericina e plumericina possuem comprovada ação antineoplásica,

antiflogística e antimicrobiana (OLIVEIRA, 2013). Em outro trabalho foi descrito o isolamento e a determinação estrutural do novo iridóide, ácido 15-desmetilisoplumierídeo presente no látex (BARRETO, et al., 2007). Estudos também revelaram a presença de depsídeos e terpenos em *H. sucuuba*. Os depsídeos isolados de *H. sucuuba* apresentaram atividade como inibidores da enzima beta monoamino-oxidase (MAO-B). No entanto, como foram encontrados nas cascas podem não ser provenientes da planta e sim de líquens infestantes. Por meio do estudo fitoquímico do extrato hexânico das cascas do caule de *H. sucuuba* foi demonstrado a presença basicamente de uma mistura de ésteres triterpênicos, que corresponde aproximadamente a 7% do peso do extrato. Esses ésteres triterpênicos já foram descritos no gênero *Himatanthus* (OLIVEIRA, 2013).

Com base em estudos farmacológicos, foram evidenciadas as atividades anti-inflamatória e analgésica dos iridóides presentes na casca do caule e no látex, efeito cicatrizante e atividade antibacteriana para *Clostridium histolyticum* e *Bacteroides fragilis* (LARROSA; DUARTE, 2005b) além disso foram observados atividade sobre a pressão sanguínea, musculatura lisa e permeabilidade capilar (SOUSA et al, 2010) Estudos realizados com a decoção de casca de caule de *H. sucuuba* sugerem que há uma baixa toxicidade reprodutiva e teratogênica, revelando que seu consumo é seguro para a espécie humana (GUERRA; PETERS, 1991).

A atividade antifúngica, principalmente para o fungo *Cladosporium shaerospermum*, apresentou halo de inibição satisfatório, apresentando, na porção bioativa, iridoídes, plumericina e isoplumericina com atividade cinco vezes maior que a observada na droga padrão, o antibiótico nistatina. (PAZ et. al., 2013). O látex da *H. sucuuba* apresentou uma atividade leishmanicida potente contra amastigotas intracelulares de *Leishmania amazonensis*, um agente causador da leishmaniose cutânea (SOARES et. al., 2010). No entanto, foi relatado popularmente que a *H. sucuuba* pode ser abortiva (RODRIGUES et al, 2011).

Por ser uma planta nativa e de fácil acesso, a *H. sucuuba* é muito utilizada tradicionalmente pela população sendo frequente o uso de várias partes da planta como folhas, casca e o látex para o tratamento de diversas enfermidades. Contudo, o seu uso indiscriminado pode ser potencialmente perigoso pois plantas podem conter substâncias tóxicas.

## **2.4 Toxicidade reprodutiva**

O emprego de ratas como modelo experimental para estudos que envolvem reprodução humana justifica-se pela existência de algumas similaridades no comportamento reprodutivo das duas espécies, que não são compartilhadas por todos os mamíferos. Dentre essas semelhanças, podem ser ressaltadas: o intervalo temporal entre o coito e a implantação do

blastocisto no útero, de 4 a 6 dias, e a decíduação, que é a formação do componente maternal da placenta, caracterizada por uma íntima relação entre as circulações materna e fetal (GRAY; OTSBI; KELCE, 2004). As fêmeas de roedores e humanos compartilham também o tipo de placenta, denominada hemocorial, caracterizada por uma maior invasão tissular da mucosa uterina pelos vilos coriônicos e íntimo contato entre placenta e tecido uterino, o que favorece a passagem de algumas substâncias químicas lipossolúveis e de baixo peso molecular da circulação materna para a fetal (FLORIO; SOUSA, 2006).

O comportamento sexual feminino de uma forma geral e, em especial, na ovulação, é influenciado por componentes neuroendócrinos complexos. O estudo do ciclo estral de ratas é responsável por muito do que já se sabe hoje, devido à grande semelhança existente, bem como evidências sobre o controle endócrino e desenvolvimento da função reprodutiva. Assim, da mesma forma que as mulheres, a ovulação das ratas acontece por um mecanismo endógeno e depende de uma flutuação hormonal bastante precisa (MARCONDES; BIANCHI e TANNO, 2002).

Estudos mostram que são várias as plantas que afetam de alguma maneira a reprodução animal e esses vegetais podem ser agrupadas, em função de seus efeitos tóxicos em: plantas de ação teratogênica, aquelas que afetam diretamente o feto, produzindo má-formações congênitas; e plantas de ação estrogênica, que contém fitoestrógenos que afetam animais adultos e em desenvolvimento (NUNES et al., 2010).

As plantas de ação teratogênica podem ser investigadas por meio de pesquisa no ramo da teratologia. A teratologia é a parte da ciência que estuda as causas, os mecanismos e os padrões de desenvolvimento anormal. Sendo que o conceito fundamental da teratologia é que certos estágios de desenvolvimento embrionário são mais vulneráveis a perturbação do que outros. Esses defeitos podem ser deformidades, rupturas, displasias ou malformações. É importante notar que malformação não significa apenas formação anormal de tecidos, mas também anormalidades bioquímicas, podendo ser causadas pela ação direta de um agente tóxico sobre o feto ou através de ação sobre o organismo materno (SÁ, 2014).

Em 1941, foram publicados os primeiros casos bem documentados de que um agente ambiental (vírus da rubéola) poderia provocar perturbações graves do desenvolvimento embrionário. Outro caso publicado, diz respeito a anomalias graves dos membros e de outras perturbações do desenvolvimento que foram encontradas em crianças de mães que tinham consumido o sedativo talidomida durante o início da gestação (MOORE; PERSAUD, 2008) no qual foi desenvolvido comercialmente pela companhia farmacêutica Chemie Grunenthal, da

Alemanha Ocidental, e alcançou grande sucesso a partir do final de 1957 como sonífero e antiemético (LEANDRO; SANTOS, 2015).

Hoje, sabe-se que a empresa farmacêutica foi relapsa na condução de testes com animais e simplesmente não monitorou testes em humanos (LEANDRO; SANTOS, 2015). Uma das dificuldades em detectar a ação teratogênica da talidomida foi devido a inexistência, na época, de uma metodologia experimental adequada de toxicidade reprodutiva (ADOLPH, 2014).

No Brasil, foi publicado em 2013 o “Guia para a Condução de Estudos Pré-clínicos de Segurança Necessários ao Desenvolvimento de Medicamentos” versão 2, elaborado pela Gerência de Avaliação de Segurança e Eficácia – GESEF, que é uma unidade da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Esse documento orienta os estudos pré-clínicos de segurança para o desenvolvimento de novos medicamentos e é fundamentado em documentos de agências reconhecidas pela vigilância sanitária de medicamentos dos Estados Unidos: Alimentação e Administração de Drogas (FDA) e Europa: Agência Europeia de Medicamentos (EMA), Conferência Internacional sobre Harmonização (ICH), Organização de Cooperação e de Desenvolvimento Econômico. (OECD), Instituto Nacional do Câncer (NCI), Organização Mundial de Saúde (WHO), visando a uma padronização com a regulamentação internacional. Nesse documento contém orientações para a condução de estudos não clínicos de toxicidade reprodutiva (BRASIL, 2013).

O objetivo dos estudos de toxicidade reprodutiva é revelar algum efeito de uma ou mais substâncias ativas na reprodução de mamíferos. Para este propósito, investigações e interpretações dos resultados devem ser relacionadas com outros dados farmacológicos e toxicológicos disponíveis, para determinar situações em que riscos potenciais para a reprodução humana são maiores, menores ou iguais àqueles relativos a outras manifestações toxicológicas. Os estudos de toxicidade reprodutiva devem contemplar principalmente avaliações nas seguintes fases: fertilidade e desenvolvimento embrionário inicial; desenvolvimento pré e pós-natal, incluindo função materna; e desenvolvimento embrio-fetal (BRASIL, 2013).

Portanto, o período gestacional requer preocupação quanto à ingestão de medicamentos, visto que a exposição materna a agentes químicos, em determinadas fases deste período, pode resultar em alterações no desenvolvimento do conceito, dependendo de fatores inerentes ao organismo materno, à funcionalidade placentária ou à ação direta no próprio organismo embriofetal (BERNARDI, 2006; NAVA; ROMAN, 2010). Muitos compostos químicos têm a capacidade de atravessar a barreira placentária e expor o feto a efeitos que podem ir de terapêuticos a teratogênicos (NAKAMURA; KULAY JR; PASQUALE, 2008).

O transporte placentário desempenha um papel fundamental nos processos de desenvolvimento, crescimento e programação fetais e na manutenção de uma gestação saudável. Essa função é mediada por uma rede complexa de transportadores membranares que se distribuem de uma forma polarizada no sinciotrofoblasto, que é a unidade funcional da placenta (KEATING, 2007). Os fatores que afetam a transferência placentária e que podem interferir com o feto estão relacionados a: propriedades físico-químicas do fármaco, velocidade com que atravessa a placenta e alcança o feto; estágio de desenvolvimento placentário e fetal, características da distribuição nos tecidos fetais, mecanismos de eliminação materna e fetal, duração da exposição e efeitos de outras substâncias usadas em associação (KOREN, 2006).

Muitos compostos, incluindo plantas consideradas medicinais, podem interferir nessa travessia da barreira mãe-feto e aumentar ou diminuir risco de teratogenicidade, pois uma única exposição da gestante a um agente teratogênico pode afetar as estruturas que se encontram em rápido desenvolvimento (BROLIO et al., 2010).

A partir da crença popular de que fitoterápicos e plantas medicinais, por serem produtos naturais, não são prejudiciais à saúde, muitas vezes são utilizados indiscriminadamente durante o período gestacional. Por isso, há necessidade de que sejam realizados estudos de toxicidade, em atenção a essa classe de usuários (LOURENÇO et al., 2009; MATOS, 2009).

Produtos de origem vegetal possuem constituição química complexa, sendo possível que alguns dos seus constituintes não tenham sido identificados ou que ainda não se conheça suas ações sobre o organismo. Isso faz com que seja necessário um maior cuidado na administração desses produtos. Deve-se levar em conta, também, que as plantas medicinais podem interferir na atividade de outros medicamentos sintéticos eventualmente utilizados pela gestante (SÁ, 2014).

Muitas espécies têm demonstrado toxicidade reprodutiva como o *Coleus barbatus* B. cujo o tratamento com 880 mg/kg/dia do seu extrato hidroalcoólico antes da implantação do embrião causou atraso no desenvolvimento fetal e um efeito anti-implantação, o que justifica o uso popular desse extrato com fins abortivos. Em outro estudo com plantas foi observado um aumento na taxa de reabsorções por implantação na dose 6000 mg/kg do extrato de *Artemisia vulgaris* L, que causou um efeito embriotóxico. No entanto, em doses abaixo de 6000 mg/kg não foram observados efeitos adversos que pudessem ser a ela associados (SÁ, 2014). Em outro experimento com material vegetal, foi avaliado a toxidade do extrato de *Pradosia huberi* durante o período de pré-implantação de ratos Wistar nas doses de 1,22, 6,1, e 30,5 mg/kg. Os resultados obtidos revelaram que tal extrato compromete a capacidade reprodutiva durante a fase de pré-implantação embrionária, sugerindo um possível efeito tóxico sobre o sistema

reprodutivo de ratos Wistar (ROCHA et al. 2013). Desse modo, esses resultados evidenciam a necessidade de estudos para averiguar uma possível toxicidade reprodutiva de plantas medicinais.

Têm-se ainda a angélica (*Angelica archangelica*), sucuúba (*Himathantus sucuuba*), alecrim (*Rosmarinus officinales*), arnica (*Arnica montana*), cânfora (*Cinnamomum canphora*), confrei (*Symphytum officinale L.*), eucalipto (*Eucaliptus globulus*) e sene (*Cassia angustifolia* e *Cassia acutifolia*) são abortivos, pois podem estimular a motilidade uterina e provocar aborto (RODRIGUES et al, 2011). No entanto, um estudo publicado demonstrou que a administração via oral do chá das cascas do caule da *H. sucuuba* (40 mg/kg, 2 vezes ao dia) durante o sexto ao décimo quinto dia de gestação não provocou alterações significativas apresentando uma baixa toxicidade reprodutiva e teratogênica em ratas, indicando que seu consumo é seguro (GUERRA; PETERS, 1991). Porém, um outro estudo demonstrou que o tratamento com o extrato etanólico da casca de *H. sucuuba* na dose 250 mg/kg, durante o primeiro 1º ao 14º dia de gestação, causou uma redução na eficiência placentária, um aumento nas perdas pré-implantação e no peso placentário. O tratamento com a dose de 500 mg/kg desse extrato provocou uma diminuição significativa na eficiência placentária, no peso corporal dos fetos, no ganho de peso materno (excluído o peso do útero gravídico) e no ganho de peso materno. Essa dose também promoveu um aumento significativo das perdas pré-implantação (SOARES et al, 2015). Portanto, outros estudos na área de toxicologia reprodutiva envolvendo doses menores e outras formas de preparo ou partes da planta são interessantes para o estabelecimento de doses seguras e assim poder explorar os efeitos benéficos dos compostos ativos presentes nessa espécie vegetal.

## 2.5 Ciclo estral

Em ratas, o ciclo estral é constituído de quatro fases: proestro, estro, metaestro (diestro I) e diestro (diestro II) (FORTES, 2010). Ele tem duração em média de 4 a 5 dias. A ovulação ocorre durante o estro, quando a fêmea está receptiva ao macho, porém se a fecundação não ocorrer, um corpo lúteo, pequeno e transitório, forma-se durante o metaestro e regride em diestro. O útero, que se apresenta rosado e preenchido por fluidos durante a fase estro, torna-se fino e anêmico no diestro. Durante a fase proestro, novos folículos se formam e o útero novamente aumenta de volume, preparando para uma possível implantação durante o estro seguinte (SEVERI, 2006).

As fases do ciclo estral podem ser identificadas pelos tipos celulares observados por uma citologia vaginal (FORTES, 2010). O proestro começa com a fase folicular do ovário no qual ocorre predomínio de células epiteliais nucleadas e arredondadas, que culmina no estro, em que o predomínio é de células queratinizadas anucleadas. As fases metaestro e diestro caracterizam a fase luteínica do ovário. Na fase diestro observa-se predomínio de leucócitos e na fase metaestro encontra-se os três tipos celulares em iguais proporções (Figura 2) (USHIROBI, 2015).

O ciclo estral típico é do tipo poliéstrico com ovulação espontânea, e é caracterizado por duas fases fundamentais: a fase proliferativa ou folicular, e a fase progestacional ou secretora. Na rata não há uma fase progestacional típica (a menos que haja fecundação ou coito (USHIROBI, 2015).

Os estudos iniciais de Long e Evans publicados em 1922 revelaram a relação entre os hormônios ovarianos e a citologia vaginal e está descrita na figura 2 (MARCONDES; BIANCHI e TANNO, 2002).

**Figura 2-** Relação das fases do ciclo estral de ratas com a citologia vaginal

	<b>Metaestro</b>	<b>Diestro</b>	<b>Proestro</b>	<b>Estro</b>
<b>Fase</b>	Transitória	Pré-ovulatória	Ovulatória	Pós- ovulatória
<b>Duração</b>	6-8 horas	55-57 horas	12-14 horas	25-27 horas
<b>Características</b>	Igual proporção das diferentes células	Predomínio de leucócitos	Predomínio de células nucleadas	Predomínio de células não nucleadas (queratinizadas)
<b>Ilustração das células predominantes</b>				
<b>Efeito</b>	Progesterônico		Estrogênico	

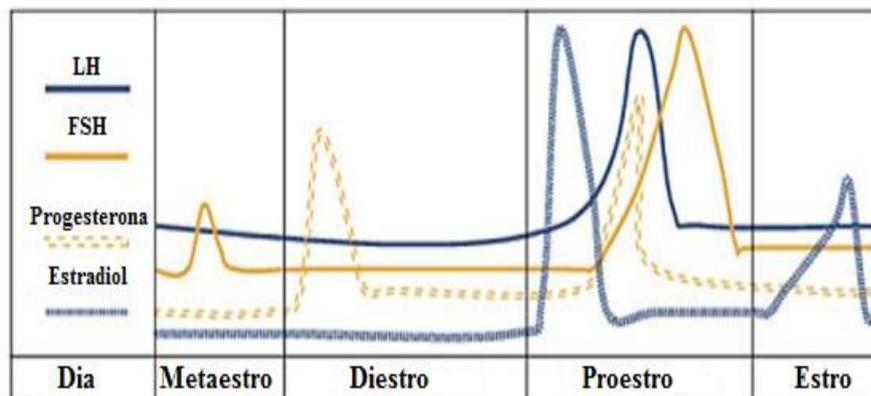
Fonte: MARCONDES; BIANCHI e TANNO, 2002; PINTO, 2016.

O proestro é a fase em que os níveis de hormônios gonadotrópicos, Luteinizante (LH), Prolactina (PRL) e folículo estimulante (FSH), estão elevados e a estimulação do ovário é máxima, o que se traduz num aumento progressivo na produção dos estrógenos, fenômeno

observado indiretamente pela proliferação do epitélio vaginal. Isso confere ao esfregaço um grande número de células nucleadas pequenas, poucas células cornificadas e tipos celulares intermediários, sendo característica dessa fase a ausência quase total de leucócitos, sendo que a ovulação ocorre na noite desse dia (MARCONDES; BIANCHI e TANNO, 2002).

O estro corresponde à fase em que a fêmea está receptiva ao macho. Nessa fase é observado um aumento máximo no grau de cornificação do epitélio, o que reflete altos níveis estrogênicos, especialmente se comparados ao de progesterona. A grande maioria das células apresentam-se cornificadas e não se observa presença de células nucleadas ou de leucócitos, sendo esta fase pós-ovulatória. O metaestro e o diestro são fases não férteis do ciclo, caracterizadas pela presença predominante de leucócitos e muco. Nessas fases o estradiol, progesterona, FSH e LH encontram-se diminuídos. Portanto, além dos tipos celulares, os níveis hormonais também podem ser responsáveis pela determinação da ciclicidade estral (FORTES, 2010). A figura 3, retrata as oscilações dos níveis hormonais em ratas.

**Figura 3** - Variação hormonal do ciclo estral em ratas



Fonte: FORTES, 2010.

O hormônio estradiol é detectado em concentrações altas atingindo um pico máximo durante o proestro, tornando a diminuir no final do estro, permanecendo em concentrações basais até o final do metaestro e diestro (FORTES, 2010). A progesterona, por sua vez, tem aumento de sua concentração entre as fases metaestro e diestro, apresentando-se diminuída posteriormente na fase de estro (OLIVEIRA, 2008).

Diante do conhecimento do ciclo estral das ratas é muito frequente a utilização desses animais em experimentos. O uso de roedores em pesquisas científicas deve-se, principalmente, ao fato de ser um animal pequeno, muito prolífero (8 a 15 filhotes), ter período de gestação

curto (20 a 23 dias), ser de fácil domesticação e manutenção e a alta possibilidade de procriação com expectativa de vida de 2,5 anos (USHIROBI, 2015).

As ratas possuem ciclos reprodutivos curtos, são animais ideais para verificar alterações que ocorrem durante o ciclo reprodutivo (FORTES, 2010). Assim como na fisiologia humana, elas apresentam integração de sistemas neuroendócrino, nervoso central e ovários, constituindo o eixo hipotálamo-hipófise-ovário. As ratas tornam-se aptas à reprodução rapidamente ( $50 \pm 10$  dias de idade), sendo que os efeitos hormonais já estão presentes em torno de 30 dias de vida, quando pode ser observada a abertura do canal vaginal. O ciclo hormonal (ciclo estral) regular inicia-se após cerca de uma semana (USHIROBI, 2015).

## **2.6 Toxicidade sistêmica**

A toxicidade sistêmica de substâncias pode ser avaliada por modificações comportamentais, variações no consumo alimentar, evolução ponderal, avaliação biométrica dos órgãos e alterações orgânicas visualizáveis macro e microscopicamente. Do ponto de vista toxicológico, deve-se considerar que um material vegetal não tem somente efeitos imediatos e facilmente correlacionados com a sua ingestão, mas que os efeitos podem se manifestar em longo prazo e de forma assintomática, como os carcinogênicos, hepatotóxicos e nefrotóxicos. As determinações hematológicas e bioquímicas sanguíneas são importantes para prever a influência da substância teste sobre a homeostase e o estado das funções hepática e renal (OECD, 2001).

Diversos fatores influenciam o consumo de água entre eles: temperatura do ambiente, nível de atividade física, ritmo diurno, conteúdo de proteínas, minerais e umidade, bem como limpeza ou adulteração da água com substâncias tóxicas. Em experimentos animais, alguns investigadores atribuem alterações no paladar devido ao composto testado quando ocorre redução no consumo de água e quando conseqüente desidratação é observada nos grupos testes (CAMPBELL et al., 2009).

Um outro importante requisito em experimentos toxicológicos é a capacidade para avaliar efeitos de xenobióticos em órgãos específicos realizada através de exames macroscópicos, biometria dos órgãos e histopatologia dos tecidos (BAILEY; ZIDELL; PERRY, 2004). Alterações nas massas dos órgãos têm sido aceitas como indicadores de efeitos relacionados ao tratamento, até mesmo na ausência de mudanças morfológicas. Fato que contribui para identificação de órgãos associados aos efeitos tóxicos de uma substância (WOLFSEGGER et al., 2009).

No “Guia para a Condução de Estudos Pré-clínicos de Segurança Necessários ao Desenvolvimento de Medicamentos” versão 2 informa que os estudos de toxicidade de doses repetidas têm como objetivo, caracterizar o perfil toxicológico da substância pela administração repetida. A partir deles é possível a obtenção de informações sobre os efeitos tóxicos, identificação de órgãos alvos, efeitos na fisiologia do animal evidenciados pelas alterações nos parâmetros hematológicos, bioquímicos, anatômicos e histopatológicos. As doses utilizadas nesses estudos geralmente são estabelecidas a partir das informações produzidas em estudos de toxicidade aguda ou testes piloto para indicação de doses. Geralmente 3 doses são utilizadas, sendo a mais alta escolhida com a expectativa de produzir efeitos tóxicos observáveis, mas não morte nem sofrimento intenso e respeitando-se o limite máximo de 1000 mg/kg/dia em roedores e não-roedores. As demais doses são estabelecidas em sequência descendente sugerindo-se intervalos de 2 a 4 vezes (BRASIL, 2013).

Já os estudos de toxicidade aguda são aqueles utilizados para avaliar a toxicidade produzida por uma substância teste quando esta é administrada em uma ou mais doses durante um período não superior a 24 horas (BRASIL, 2013). Com o estudo de toxicidade aguda oral é possível evidenciar risco de intoxicações agudas, inadvertidas ou não, e a forma de preveni-las. Os resultados obtidos no ensaio agudo também dão suporte à escolha das doses para os demais testes de toxicidade. Portanto, as informações obtidas por meio do estudo de toxicidade aguda oral são de crucial importância na avaliação da segurança de substâncias químicas para uso humano e animal, entre as quais também se encontram as drogas vegetais e fitoterápicos (MADALOSSO, 2011).

A toxicidade aguda, anteriormente conhecida como dose letal 50 (DL50), é o primeiro teste pré-clínico a ser realizado. A DL50 expressa a toxicidade relativa da substância, ou seja, é a dose capaz de levar 50% da população em estudo à morte. Atualmente, o termo DL50 está dando lugar ao termo “toxicidade aguda”, pois os protocolos não se baseiam na morte de 50% dos animais (MADALOSSO, 2011).

O ensaio biológico da DL50 do látex e do extrato aquoso da casca de *H. sucuuba* em camundongos pela via oral não revelou ocorrência de mortes no período de 72 horas após a administração de 1,0 mL do látex ou do extrato, correspondentes a 1100mg/24 gramas e 1280 mg/24 gramas, respectivamente. Esses resultados sugerem uma baixa toxicidade para a planta testada por administração via oral, principalmente se for comparada com o resultado obtido pela via intraperitoneal em um volume médio de 0,25 mL do látex e do extrato da casca,

correspondentes a 275 e 285 mg/24 gramas, respectivamente, foi suficiente para induzir 100 % de mortalidade (FERNANDES et al, 2000).

### 3 CAPITULO I –

#### **Avaliação da toxicidade reprodutiva e sistêmica do látex de *Himatanthus sucuuba* (Spruce) Woodson em roedores**

MOURA, E. R.<sup>1</sup>; SANTOS, T. G. R.<sup>1</sup>; SOUSA, M.R.S.C<sup>1</sup>; LIRA, S. R. DE S.<sup>1</sup>; SILVA, S. M. M. DE S.<sup>1</sup>; OLIVEIRA, J. M. G. DE<sup>2</sup>; FERNANDES, M. Z. De L. C. M.<sup>1</sup>; FERNANDES, R. M.<sup>1</sup>; COSTA, A.P.R.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Piauí, Campus Universitário Ministro Petrônio Portela, Campus Socopo-CCA, Teresina, PI, CEP 64049-550.

<sup>2</sup>Universidade Federal do Piauí, Campus Universitário Campus Professora Cinobelina Elvas, Bom Jesus, PI. \*Autor para correspondência:

[emanuelaribeiro89@hotmail.com](mailto:emanuelaribeiro89@hotmail.com)

#### **RESUMO**

Objetivou-se investigar os possíveis efeitos do látex diluído de *Himatanthus sucuuba* (LdHs) nas doses de 25, 50 e 100 mg/kg sobre o sistema reprodutivo e outros sistemas orgânicos de roedores. O látex foi coletado na zona rural de Timon-MA e diluído em água. Utilizou-se ratas Wistar nos protocolos toxicidade sistêmica, avaliação do ciclo estral e toxicidade gestacional. Foram utilizados camundongos fêmeas nos protocolos toxicidade gestacional e avaliação da progênie. Esses animais receberam o LdHs por gavagem. Para a avaliação dos dados, foi aplicada ANOVA seguida pelo teste de Dunnett ( $p < 0,05$ ). Os resultados demonstraram que houve uma diminuição no consumo diário de ração e uma interferência negativa no desenvolvimento ponderal no grupo tratado com a dose 100 mg/kg e houve ainda um aumento no consumo diário de água no grupo 50 mg/kg. No entanto, não houve alteração dos parâmetros bioquímicos (ureia, creatinina e fosfatase alcalina) nem os pesos absolutos e relativos dos órgãos (fígado, rim, baço, útero, ovário, coração, pulmão e adrenais) nas doses testadas. Na análise histológica dos tecidos não houve diferença significativa em relação ao controle. O número de folículos primários, na dose 100 mg/kg de LdHs, foi superior ao do grupo controle. Foi observado ainda uma diminuição no número de ciclos estrais e um aumento na duração média do ciclo estral nesse grupo, porém nenhuma das doses afetou a frequência relativa das fases do ciclo estral. As ratas gestantes que receberam o tratamento nas doses 25 e 100 mg/kg de LdHs, durante o 8º ao 19º dia de gestação, não manifestaram diferença significativa em relação ao grupo controle nos parâmetros gestacionais analisados nem no desenvolvimento ponderal. Visando avaliar possíveis efeitos teratogênicos do LdHs, avaliaram-se as doses 25, 50 e 100 mg/kg em camundongos fêmeas gestantes. Nenhuma das doses de LdHs interferiu negativamente nos parâmetros gestacionais investigados nem na ossificação

dos fetos, assim como, também não promoveu malformações viscerais na prole. Portanto, as doses 25 e 50 mg/kg de LdHs se revelaram seguras, entretanto a dose 100 mg/kg não causou interferências gestacionais mas diminuiu a eficiência reprodutiva e promoveu uma baixa toxicidade sistêmica pois causou uma diminuição no consumo de ração e interferiu no desenvolvimento ponderal.

**Palavras-chave:** Ciclo estral; gestação; implantação.

**ABSTRACT: Toxicity assessment reproductive and systemic of latex *Himatanthus sucuuba* (Spruce) Woodson in rodents**

This study aimed to investigate the possible effects of the latex *diluted Himatanthus sucuuba* (LdHs) at doses of 25, 50 and 100 mg/kg on the reproductive system and other organ systems of rodents. The latex was collected in rural Timon-MA and diluted in water. We used Wistar rats in the protocols systemic toxicity evaluation of the estrous cycle and gestational toxicity. Mice were used in females protocols gestational toxicity and evaluation of progeny. These animals received LdHs by gavage. For the evaluation of the data was applied ANOVA followed by Dunnett's test ( $p < 0.05$ ). The results showed that there was a decrease in feed intake and weight development negative interference in the group treated with the dose 100 mg/kg and there was also an increase in daily water intake in the group 50 mg/kg. However, there was no change of biochemical parameters (urea, creatinine and alkaline phosphatase) or the absolute and relative organ weights (liver, kidney, spleen, uterus, ovary, heart, lung and adrenal glands) in the tested doses. Histological analysis of the tissue there was no significant difference from the control. The number of primary follicles and in the dose 100 mg/kg LdHs was superior to the control group. It was also observed a decrease in the number of estrous cycles and an increase in the average duration of the estrous cycle in this group, but none of the doses affected the relative frequency of the phases of the estrous cycle. The rats pregnant women who received the treatment in doses 25 and 100 mg/kg of LdHs, during the 8th to 19th day of gestation, did not show significant difference in the control group on gestational parameters analyzed or the weight development. To evaluate possible teratogenic effects of LdHs, the doses be assessed 25, 50 and 100 mg/kg in mice pregnant females. None of LdHs doses interfered negatively on gestational parameters investigated or ossification of fetuses, and also did not cause visceral malformations in the offspring. Therefore, doses 25 and 50 mg/kg of LdHs have proved safe, though the dose 100 mg/kg caused no gestational interference but decreased reproductive efficiency and promoted a low systemic toxicity as caused a decrease in feed intake and interfere with the development weight.

**Key words:** estrous cycle; gestation; implantation.

## INTRODUÇÃO

O Brasil possui uma ampla biodiversidade distribuída por vários biomas e ecossistemas. Além da biodiversidade, o país apresenta rica heterogeneidade cultural e tradição de uso das plantas com potencial bioativo (Ferreira et al., 2016). Essas plantas são importantes para a pesquisa farmacológica e o desenvolvimento de fármacos (Brasil, 2006).

A utilização da *Himatanthus sucuuba* pela população para o tratamento de diversas enfermidades propiciou o emprego desse material em pesquisas científicas. A *H. sucuuba*, que pertence à família *Apocynaceae*, é uma espécie vegetal encontrada na América do Sul e popularmente conhecida como sucuuba, sucuba ou janaguba. Seu látex é utilizado popularmente como anti-inflamatório, analgésico, antitumoral, antiulceroso e tuberculostático (Oliveira, 2013). Na região norte do Brasil, seu látex é muito difundido na medicina popular e é utilizado como fungicida, antianêmico e principalmente como antineoplásico (Barreto et al., 2007). Várias partes desse gênero botânico são comumente vendidos em bancas e curandeiros de ervas na região Norte, Nordeste e Centro-oeste do Brasil sendo que o consumo do látex diluído em água é uma forma comum de uso pela população (Rebouças et al., 2012).

Estudos fitoquímicos foram realizados a partir de extratos da casca, folhas e látex da *H. sucuuba* e neles foram relatados o isolamento e a identificação de diversas substâncias. Do látex da *H. sucuuba* já foram isolados os iridóides fulvoplumierina, plumericina e isoplumericina, que possuem atividade antifúngica, antibiótica e citotóxica, além de isoplumierídeo, desmetilplumierídeo, plumierídeo e desmetilisoplumierídeo. Os triterpenos cinamato e acetato de lupeol, cinamato de  $\alpha$ -amirina e de  $\beta$ -amirina também foram encontrados nas cascas e no látex de *H. sucuuba*, esses possuem atividades anti-inflamatória e analgésica (Oliveira, 2013).

Pesquisas revelaram que substâncias ativas, presentes no látex de *H. sucuuba* possuem propriedades biológicas importantes tais como atividades: anti-inflamatória e analgésica (Rebouças et al., 2012) atividade leishmanicida (Castillo et al., 2007; Soares, et al, 2010) antiviral, antimicrobiana, antitumoral, hemodinâmica, vasoconstritora e hepatoprotetora (Gomes, Nogueira & Morais,

2011). Estudos farmacológicos evidenciaram efeito cicatrizante e atividade antibacteriana para *Clostridium histolyticum* e *Bacteroides fragilis* (Larrosa & Duarte, 2005).

Diante da grande diversidade de compostos ativos da *H. succuba* com efeitos biológicos diferentes aliado ao uso indiscriminado pela população objetivou-se investigar os possíveis efeitos induzidos pela administração oral do látex diluído de *H. succuba* em roedores sobre o sistema reprodutivo e outros sistemas orgânicos.

## **MATERIAL E MÉTODO**

### **Coleta e identificação da *H. succuba***

O látex de *H. succuba* foi coletado na zona rural de Timon-Ma, no povoado Cabeceira do Inhuma (Lat. -5.09417, log. -42.8367, err: ± 44730 WGS84), em janeiro de 2015. Há exsicata dessa espécie de número 30291 (Voucher Number) depositada no acervo do Herbário Graziela Barroso (TEPB) da Universidade Federal do Piauí, identificada por Roseli Farias Melo de Barros. O látex coletado apresentou uma concentração de 348 mg/ml, em seguida foi adicionado água e preparado a sua diluição na concentração de 40 mg/ml.

### **Protocolo toxicidade sistêmica e avaliação do ciclo estral em ratas linhagem**

#### **Wistar**

Foram utilizadas 28 ratas linhagem Wistar, 180 a 250 gramas, que foram distribuídos ao acaso em 4 grupos (n=6 a 8) sendo o grupo controle tratado com água destilada e três grupos tratados nas doses 25, 50 e 100 mg/kg do látex diluído de *H. succuba* (LdHs) por 46 dias seguidos. Diariamente as ratas foram submetidas a citologia vaginal para constatação da fase do ciclo de acordo com método publicado por Marcondes; Bianchi & Tanno (2002). Assim, foi

estimado a frequência relativa das fases do ciclo estral através da frequência absoluta (números de ocorrências de cada fase) dividido pelo total de dias de observação do ciclo estral (47 dias) e em seguida transformado em porcentagem. Também foi calculado a duração média do ciclo estral (Intervalo entre estros) a partir da divisão do total de dias de observação do ciclo estral com número de ciclos estrais observados nesse período de análise do ciclo estral. Concomitantemente com a avaliação do ciclo estral, avaliaram-se os seguintes parâmetros: massa corporal (g), consumo diário de ração (g) e consumo de água (mL). Ao final do tratamento, as ratas foram anestesiadas (associação de 80 mg de Cetamina + 10 mg de Xilazina por kg de PC, via intraperitoneal) e procedida a coleta de sangue por meio de punção cardíaca para avaliação dos parâmetros bioquímicos. Em seguida, foram eutanasiados por sobredose de anestésico (Tiopental sódico 100mg/kg) para coleta, pesagem e avaliação dos órgãos (coração, pulmão, baço, fígado, rins, adrenais, ovários e útero). Prepararam-se os segmentos destes órgãos para processamento histopatológico (Sá et al, 2013).

#### **Protocolo toxicidade gestacional em ratas linhagem Wistar**

Utilizaram-se 16 ratas Wistar adultas, que foram acasaladas com ratos Wistar na proporção de 2:1. Foram feitas citologias vaginais diárias de acordo com Marcondes; Bianchi & Tanno (2002). A presença do tampão vaginal, ou de espermatozoides na citologia vaginal confirmou a cópula e foi considerado primeiro dia da gestação (D1). As ratas gestantes foram divididas em grupo controle (água destilada, n=7, por gavagem) e dois grupos tratados por gavagem com LdHs nas doses 25 (n= 4) e 100 mg/kg (n=5), alojadas em gaiolas individualmente, do 8º ao 19º dia de gestação, período de pós-implantação. Diariamente, foi feita a avaliação quanto a sinais de toxicidade e foi registrada

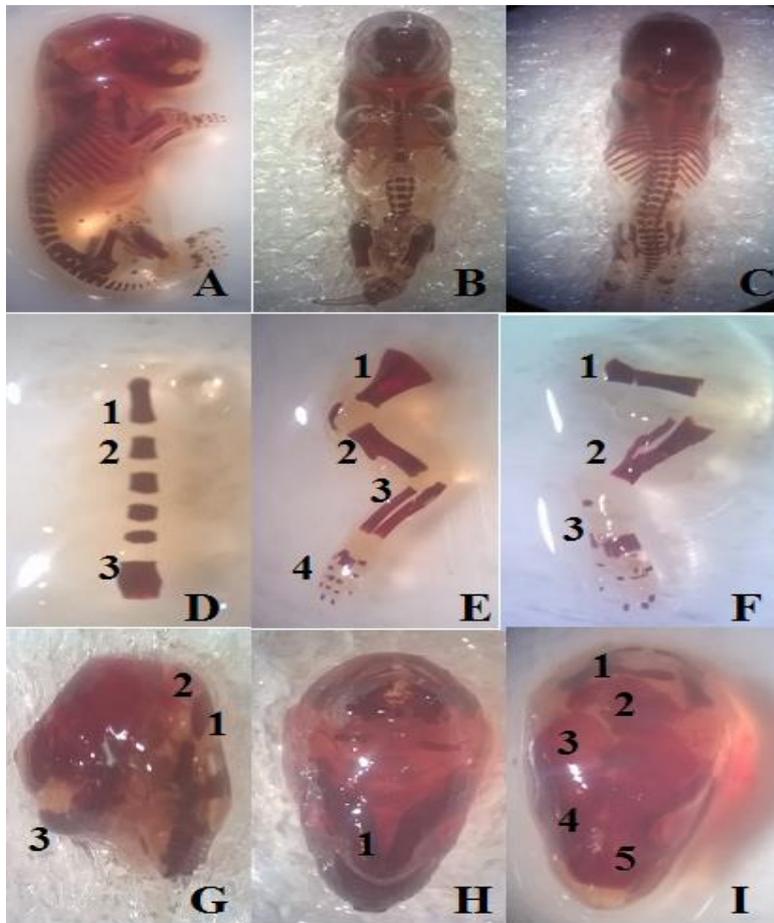
a massa corporal de cada progenitora, semanalmente. No 20º dia de gestação, as ratas foram eutanasiadas por sobredose de anestésico (Tiopental sódico 100mg/kg + mesmo volume de lidocaína a 10%) e, em seguida, foi realizada a laparotomia com remoção do útero gravídico e os ovários, verificando-se o número total de fetos, de fetos vivos (nativos), implantações, de placentas e de corpos lúteos e assim, calcularam-se os parâmetros gestacionais (Laura, 2009). Após os registros dos dados, os fetos foram eutanasiados por inalação de isofluorano.

### **Protocolo de toxicidade gestacional em camundongos linhagens Swiss e avaliação da progênie**

Foram utilizados 54 camundongos fêmeas adultas, as quais foram acasaladas com camundongos machos adultos, na proporção de um 2:1. Foram feitas citologias vaginais diárias de acordo com Marcondes; Bianchi & Tanno (2002). A presença do tampão vaginal ou de espermatozoides na citologia vaginal confirmou a cópula e foi considerado primeiro dia da gestação (D1). As fêmeas gestantes foram distribuídas aleatoriamente em 4 grupos experimentais. Os animais do grupo controle receberam água destilada e três grupos de animais receberam por via gavagem o LdHs, nas doses 25, 50 e 100 mg/kg, do 8º ao 12º dia de gestação, período de organogênese da espécie. No 18º dia de gestação os animais foram eutanasiados por sobredose de anestésicos descrito acima e em seguida, foi realizada a laparotomia. O útero com fetos foi removido e pesado. O conteúdo uterino das fêmeas foi analisado, verificando-se o peso fetal, placentário, útero gravídico e do útero vazio, quantidade de filhotes e de placentas. Desse modo, foi calculado o índice placentário (Peso placentário/ peso fetal). Após pesagem dos fetos, eles foram eutanasiados por inalação de isofluorano. Após a eutanásia, metade dos fetos foi submetida à técnica

de *Alizarina red* para a realização da análise esquelética através da verificação dos pontos de ossificação em microscópio estereoscópico (Figura 1). A outra metade dos fetos foi fixada na mistura de Bodian para a análise visceral em que foi conduzida através da combinação de cortes/microdissecação (Figura 2) e visualizados em microscópio estereoscópico, para observação de possíveis alterações viscerais (Figura 3) (Laura, 2009).

**FIGURA 1**– Pontos de ossificação normal de feto referente ao grupo controle tratadas com água destilada durante o 8º dia ao 12º de gestação



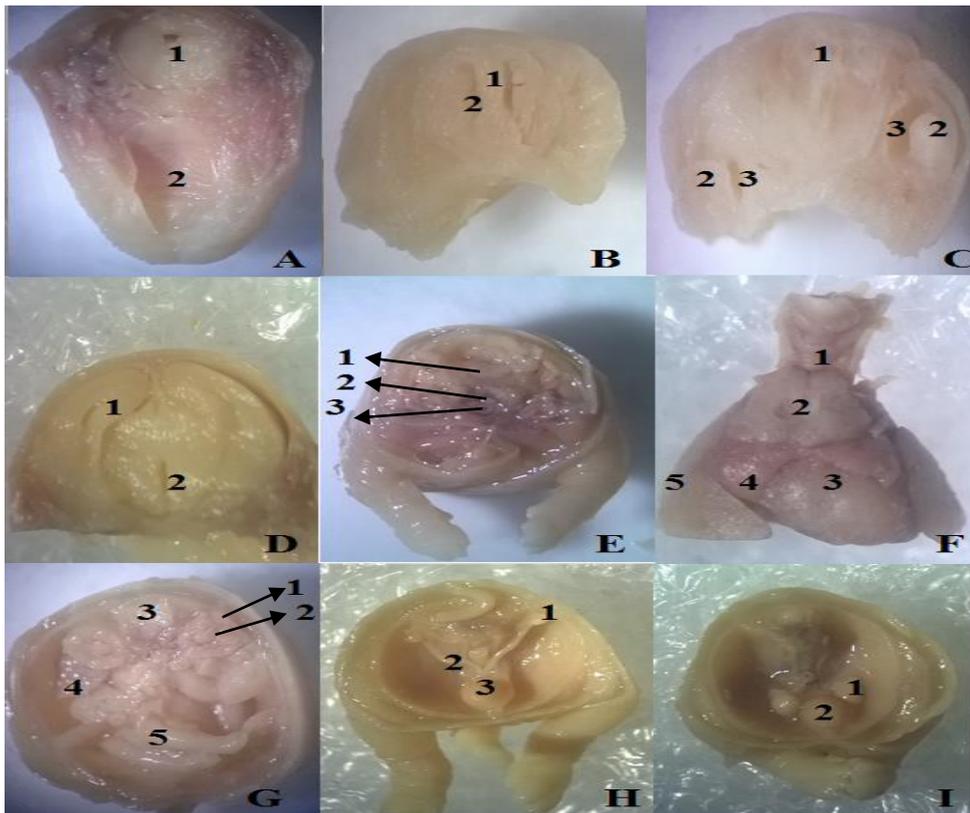
Nota: a) Vista lateral; b) Vista ventral; c) Vista dorsal; d) Esterno: 1- Manúbrio, 2- Centros esternais (Esternébras), 3- Processo xifoide; e) Membro anterior: 1- Escápula, 2- Úmero, 3- Rádio e ulna, 4-Carpos, metacarpos e falanges; f) 1-Fêmur, 2- Tíbia e fíbula, 3- Tarsos, metatarsos e falanges; g) Vista lateral crânio: 1- Supraoccipital, 2- Interparietal, 3- mandíbula; h) Vista ventral crânio: 1- Mandíbula; i) Vista dorsal crânio: 1- Supraoccipital, 2- Interparietal, 3- Parietal, 4- Frontal, 5- Nasal.

**FIGURA 2** - Relação e localização de cortes utilizados durante a análise visceral para o estudo de malformações viscerais



Nota: 1- Corte transversal na altura da cavidade oral; 2- Corte transversal na região do pescoço; 3- Corte transversal na região do terço médio torácico; 4- Corte transversal na região abdominal inferior; 5 - Corte transversal na região pélvica; a- Corte frontal na região pré-gabelar; b- Corte frontal na região orbital; c- Corte frontal na região da vértex.

**FIGURA 3**- Sequência de cortes para estudo visceral em feto do grupo controle.



Nota: a) Corte transversal na altura da cavidade oral: 1- Palato, 2- Cérebro; b) Corte frontal na região pré-gabelar: 1- Septo nasal; 2- Coana; c) Corte frontal na região orbital: 1- Cérebro; 2- Cristalino; 3- Retina; d) Corte frontal na região do vértex: 1- Ventriculo lateral, 2- terceiro Ventriculo, 3- Hemisfério cerebral; e) Corte transversal na região de pescoço: 1- Medula espinhal, 2- esôfago, 3- Traquéia; f) Corte transversal na região do terço médio torácico: 1- Traquéia, 2- Timo, 3- Coração, 4- Aurícula direita, 5- Pulmão; g) Corte transversal na região abdominal inferior: 1- Rim, 2- Pelve renal; 3- Medula espinhal, 4- Fígado, 5- Alças intestinais; h) Corte transversal na região pélvica de uma fêmea: 1- Ovários, 2- Cornos uterinos, 3- Bexiga; i) Corte transversal na região pélvica de um macho: 1- Testículos, 2- Bexiga.

### **Análise estatística**

Os dados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média. Foi utilizada Análise de Variância (ANOVA) seguida pelo teste de Dunnett ( $p < 0,05$ ) analisado pelo GraphPad Prism® 5.03 (Sá et al, 2013).

### **Comissão de ética em experimentação animal**

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética e experimentação animal no uso de animais em pesquisa da Universidade Federal do Piauí (CEEA/UFPI) com parecer nº 094/2014.

## **RESULTADO E DISCUSSÃO**

Os resultados obtidos neste estudo demonstraram que houve uma diminuição no consumo diário de ração (Tabela 1) e uma interferência negativa no desenvolvimento ponderal das ratas tratadas 100 mg/kg (Figura 4). Também houve um aumento no consumo diário de água no grupo 50 mg/kg (Tabela 1), entretanto, a evolução ponderal das ratas tratadas com essa dose foi superior ao grupo controle (Figura 4). Em geral, mortes, redução no ganho de peso corporal e alteração na ingestão de alimentos e água são índices simples, porém, sensíveis de toxicidade após exposição a substâncias tóxicas (Volpato et al, 2015). A diminuição do consumo de ração pelo grupo tratado com a maior dose de LdHs, por 46 dias, gerou uma diferença significativa na evolução ponderal desses animais que pode ser consequência de substâncias ativas presentes no LdHs que promovem a alteração do apetite. Em outro estudo, não foi observado alteração no consumo de água e ração em ratas tratadas do primeiro ao décimo quarto dia de gestação com extrato etanólico da casca de *H. succuba* nas doses de 250 e 500 mg/kg, porém, a maior dose reduziu o ganho de peso materno (Soares et al, 2015). Aparentemente, neste estudo, a maior duração do tratamento, foi a responsável pela redução do apetite. Portanto, são

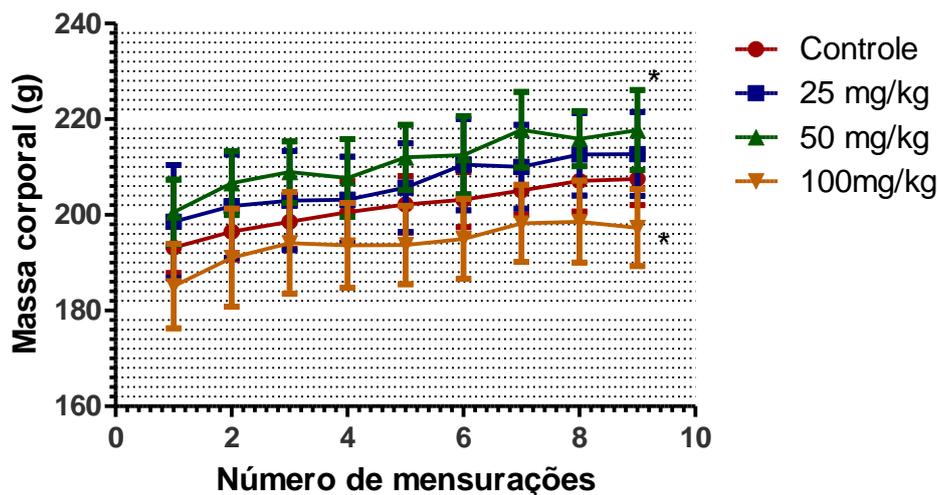
necessárias outras pesquisas que evidenciem qual/ quais fatores influenciou/ influenciaram a diminuição no apetite.

**TABELA 1-** Consumo diário individual de ração e de água de ratas tratadas com água destilada (controle) e diferentes doses do LdHs (25, 50 e 100 mg/kg) durante 46 dias

	Consumo diário de ração (g)	Consumo diário de água (mL)
<b>Controle n=8</b>	14,7 ± 0,301	27,3 ± 0,570
<b>25 mg/kg n=7</b>	14,3 ± 0,377	27,0 ± 1,15
<b>50 mg/kg n=7</b>	14,8 ± 0,400	31,4 ± 0,938*
<b>100mg/kg n=6</b>	13,2 ± 0,422*	24,9 ± 0,797

NOTA: Resultados expressos em média ± erro padrão médio (EPM) analisados pela ANOVA One-Way seguido pelo Dunnett. P<0,05; \*Diferença significativa em relação ao grupo controle.

**FIGURA 4-** Evolução ponderal das ratas expostas ao tratamento com diferentes doses do LdHs (25, 50 e 100 mg/kg) e água destilada (controle) durante 46 dias



NOTA: Resultados expressos em média ± EPM analisados pela ANOVA One-Way seguido pelo Dunnett; P<0,05; N= 8 a 6; Controle (202 ±1,61), 25 mg/kg (206±1,72), 50 mg/kg (211±1,90), 100 mg/kg (194±1,39\*) \*Diferença significativa em relação ao grupo controle.

A toxicidade sistêmica de determinada substância pode se manifestar, também, por meio da alteração comportamental, apatia, má condição de pelagem e alteração da massa relativa dos órgãos (Pires Jr et al., 2012). Assim como, sinais de toxicidade podem se expressar pelas alterações hematológicas e bioquímicas sanguíneas (Silva et al, 2016). O peso corporal é um dos parâmetros mais empregados em avaliações toxicológicas para indicar o

aparecimento, muitas vezes precoce, de efeitos tóxicos de uma determinada substância no organismo animal (Pires Jr, et al., 2012). O tratamento com diferentes doses de LdHs (25, 50 e 100 mg/kg) durante 46 dias, não alterou os parâmetros bioquímicos (uréia, creatinina e fosfatase alcalina) (Tabela 2) nem nos pesos absolutos e relativos dos órgãos fígado, rim, baço, útero, ovário, coração, pulmão e adrenais (Tabela 3). A ausência de alterações nos parâmetros fisiológicos avaliados enfatiza a baixa toxicidade do LdHs nas doses testadas.

**TABELA 2-** Parâmetros bioquímicos analisados de ratas tratadas com água destilada (controle) e diferentes doses do LdHs (25, 50 e 100 mg/kg) durante 46 dias

	<b>Uréia (mg/dL)</b>	<b>Creatinina (mg/dL)</b>	<b>Fosfatase alcalina (U/L)</b>
<b>Controle (n=8)</b>	63,7 ±3,08	0,898 ±0,0572	375 ±41,2
<b>25 mg/kg (n=7)</b>	54,9 ±3,32	0,877 ±0,0534	433 ±58,1
<b>50 mg/kg (n=7)</b>	53,5 ±4,2	0,794 ±0,0583	335 ±51,1
<b>100mg/kg (n=6)</b>	57,3 ±3,31	0,800 ± 0,0426	339 ±39,3

NOTA: Resultados expressos em média ± EPM analisados pela ANOVA One-Way seguido pelo Dunnett; P<0,05.

A análise histológica dos tecidos demonstrou características semelhantes entre os grupos testados. O número de folículos ovarianos e de corpos lúteos foi contabilizado e não foi observado diferença estatística em relação ao grupo controle exceto no grupo tratado com a dose 100 mg/kg de LdHs, que apresentou maior número de folículos primários (P<0,05) (Tabela 4). Visando investigar uma possível causa das alterações do ciclo estral, foi avaliada a presença de cistos foliculares no tecido ovariano, que são condições patológicas caracterizadas pela presença de folículos que falham em ovular e persistem no ovário, o que altera a atividade ovariana cíclica (Palhão et al., 2014), porém não foram observadas essas estruturas nas ratas tratadas com LdHs nas doses 25, 50 e 100 mg/kg. Esses resultados não evidenciam efeito significativo do LdHs sobre a foliculogênese e a luteogênese, nas doses testadas e no período de tratamento utilizado.

**TABELA 3-** Massa corporal, massa absoluta e massa relativa dos órgãos de ratas tratadas com água destilada (controle) e diferentes doses do LdHs (25, 50 e 100 mg/kg) durante 46 dias

Variáveis	Controle (n=8)	25 mg/kg (n=7)	50 mg/kg (n=7)	100 mg/kg (n=6)
<b>Massa corporal (g)</b>	205 ± 6,35	209 ± 8,29	217 ± 9,56	192 ± 8,20
<b>Massa absoluta</b>				
<b>Fígado (g)</b>	6,91 ± 0,747	6,54 ± 0,682	7,03 ± 0,926	6,09 ± 0,908
<b>Rim (g)</b>	0,853 ± 0,0906	0,828 ± 0,133	0,893 ± 0,0811	0,802 ± 0,149
<b>Útero (g)</b>	0,46 ± 0,126	0,529 ± 0,161	0,607 ± 0,132	0,472 ± 0,150
<b>Ovário (g)</b>	0,0508 ± 0,00985	0,0544 ± 0,0134	0,0541 ± 0,0049	0,0513 ± 0,0115
<b>Baço (g)</b>	0,739 ± 0,135	0,792 ± 0,188	0,766 ± 0,137	0,655 ± 0,0419
<b>Pulmão (g)</b>	1,4 ± 0,193	1,37 ± 0,224	1,61 ± 0,450	1,3 ± 0,0677
<b>Coração(g)</b>	0,744 ± 0,086	0,733 ± 0,108	0,760 ± 0,0752	0,684 ± 0,0654
<b>Adrenal (g)</b>	0,0329 ± 0,005	0,0263 ± 0,006	0,0295 ± 0,005	0,0260 ± 0,005
<b>Massa relativa (peso do órgão/peso corporal x 100)</b>				
<b>Fígado (%)</b>	3,37 ± 0,0428	3,14 ± 0,100	3,25 ± 0,125	3,16 ± 0,123
<b>Rim (%)</b>	0,417 ± 0,00993	0,401 ± 0,0309	0,415 ± 0,0170	0,415 ± 0,0186
<b>Útero (%)</b>	0,224 ± 0,0201	0,255 ± 0,0326	0,284 ± 0,0266	0,242 ± 0,0226
<b>Ovário (%)</b>	0,0248 ± 0,00142	0,0261 ± 0,00236	0,0252 ± 0,00135	0,0267 ± 0,00234
<b>Baço (%)</b>	0,359 ± 0,0167	0,385 ± 0,0434	0,352 ± 0,0118	0,343 ± 0,0148
<b>Pulmão (%)</b>	0,684 ± 0,0253	0,666 ± 0,0538	0,738 ± 0,0490	0,680 ± 0,0229
<b>Coração(%)</b>	0,363 ± 0,00758	0,355 ± 0,0254	0,355 ± 0,0203	0,357 ± 0,0109
<b>Adrenal (%)</b>	0,0161 ± 0,00076	0,0128 ± 0,00133	0,0138 ± 0,00111	0,0135 ± 0,000967

NOTA: Resultados expressos em média ± EPM analisados pela ANOVA One-Way seguido pelo Dunnett; P<0,05.

**TABELA 4:** Número médio de folículos ovarianos e corpo lúteo de ratas submetidas aos tratamentos com água destilada (controle) e diferentes doses do LdHs (25, 50 e 100 mg/kg) durante 46 dias

	Controle (n=8)	25 mg/kg (n=7)	50 mg/kg (n=7)	100 mg/kg (n=6)
<b>Folículo primordial</b>	3,83 ± 0,601	3,71 ± 0,747	4,17 ± 1,19	4,83 ± 0,872
<b>Folículo primário</b>	3,83 ± 0,477	4,14 ± 0,884	6,17 ± 0,872	6,83 ± 0,654*
<b>Folículo secundário</b>	5,83 ± 0,477	6,57 ± 0,841	6,67 ± 0,667	6,83 ± 0,946
<b>Folículo terciário</b>	1,33 ± 0,494	0,857 ± 0,340	1 ± 0	1 ± 0,258
<b>Folículo degenerado</b>	1,83 ± 0,401	2,71 ± 0,522	1,83 ± 0,477	2,67 ± 0,494
<b>Corpo lúteo</b>	4,33 ± 0,615	5,71 ± 0,421	4,67 ± 0,919	3,83 ± 0,307

NOTA: Resultados expressos em média ± EPM analisados pela ANOVA One-Way seguido pelo Dunnett; P<0,05; \*Diferença significativa em relação ao grupo controle.

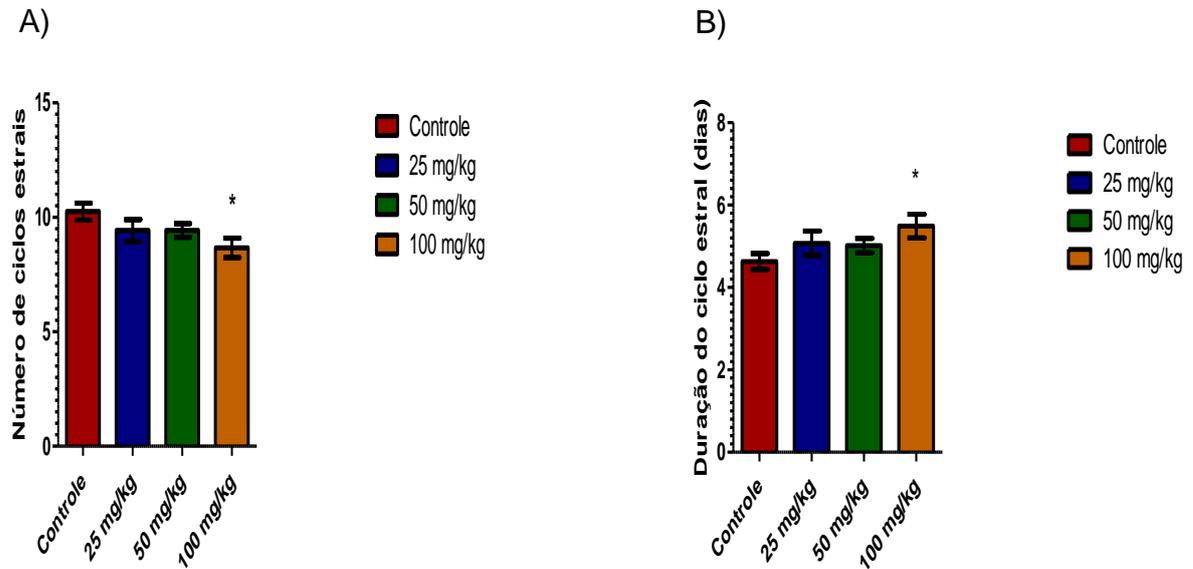
A citologia vaginal é um método simples, rápido e eficaz, observando-se variações dos tipos celulares vaginais, coincidente com a fase hormonal correspondente, sofrendo modificações ao longo do ciclo estral, sob influência dos hormônios esteroides estradiol e progesterona. O epitélio vaginal é responsivo as mudanças do estrógeno circulante e a citologia vaginal pode ser interpretada como uma mensuração indireta das concentrações de estrógeno (Pimentel et al., 2014). Foi observado uma diminuição no número de ciclos estrais e um aumento na duração média do ciclo estral nos animais tratados com a dose 100 mg/kg de LdHs (Figura 5), sem afetar a frequência relativa das fases, em nenhuma das doses testadas (Tabela 5). Esse resultado pode ser devido a uma redução do crescimento folicular, observado pelo aumento do número de folículos primários, segundo a análise histológica e pode ser consequência da alteração nutricional observado na redução do apetite e do desenvolvimento ponderal (Bisinotto et al., 2012).

**TABELA 5-** Frequência relativa (%) das fases do ciclo estral de ratas tratadas com água destilada (controle) e diferentes doses do LdHs (25, 50 e 100 mg/kg) durante 46 dias

	<b>Proestro</b>	<b>Estro</b>	<b>Metaestro</b>	<b>Diestro</b>
<b>Controle (n=8)</b>	32,4 ± 1,88	28,7 ± 1,84	9,31 ± 1,75	29,5 ± 1,82
<b>25 mg/kg (n=7)</b>	29,2 ± 1,95	26,7 ± 1,85	15,2 ± 1,27	28,9 ± 2,17
<b>50 mg/kg (n=7)</b>	32,2 ± 1,70	26,1 ± 1,78	12,5 ± 2,10	29,2 ± 2,44
<b>100mg/kg (n=6)</b>	35,1 ± 1,63	23,1 ± 1,50	10,6 ± 2,20	31,2 ± 2,10

NOTA: Resultados expressos em média ± EPM analisados pela ANOVA One-Way seguido pelo Dunnett; P<0,05.

**FIGURA 5-** Número de ciclos estrais (A) e duração do ciclo estral (B) de ratas tratadas com água destilada (controle) e diferentes doses do LdHs (25, 50 e 100 mg/kg) durante 46 dias



NOTA: Resultados expressos em média  $\pm$  EPM analisados pela ANOVA One-Way seguido pelo Dunnett;  $P < 0,05$ ;  $N = 8$  a  $6$ ; \*Diferença significativa em relação ao grupo controle.

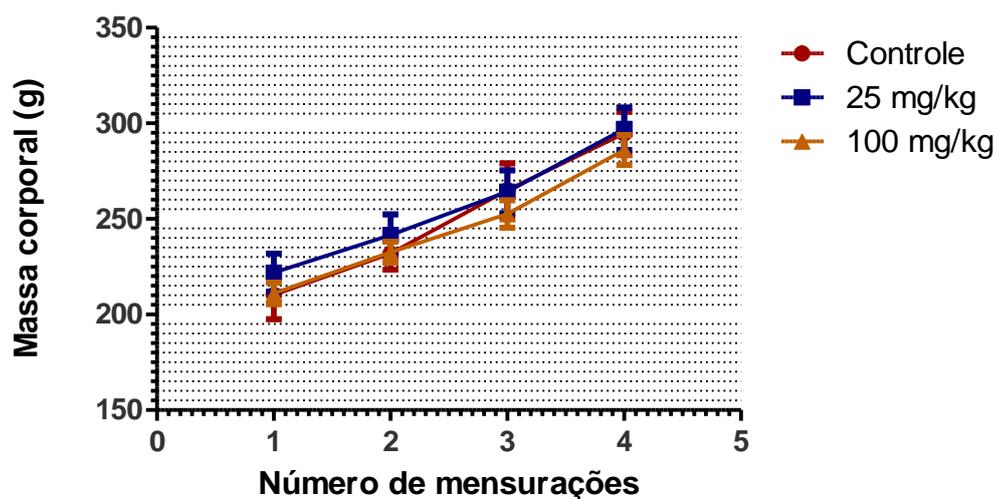
As ratas gestantes que receberam o tratamento nas doses 25 e 100 mg/kg de LdHs, durante o 8<sup>o</sup> dia ao 19<sup>o</sup> de gestação, não manifestaram diferença significativa nos parâmetros gestacionais analisados em comparação ao grupo controle (Tabela 6). Também o tratamento com LdHs não interferiu no desenvolvimento ponderal das ratas em nenhuma das doses analisadas (Figura 6). Todavia, um estudo com doses superiores às utilizadas neste estudo, demonstrou efeitos tóxicos, no qual o tratamento com o extrato etanólico da casca de *H. succuba* na dose de 250 mg/kg, durante o primeiro 1<sup>o</sup> ao 14<sup>o</sup> dia de gestação, causou uma redução na eficiência placentária, um aumento nas perdas pré-implantação e no peso placentário. O tratamento com a dose de 500 mg/kg desse extrato provocou uma diminuição significativa na eficiência placentária, no peso corporal dos fetos, no ganho de peso materno (excluído o peso do útero gravídico) e no ganho de peso materno. Essa dose também promoveu um aumento significativo das perdas pré-implantação (Soares et al, 2015).

**TABELA 6-** Parâmetros gestacionais de ratas tratadas com água destilada (controle) e nas doses 25 e 100 mg/kg do LdHs durante o 8<sup>o</sup> dia ao 19<sup>o</sup> de gestação

	Controle (n=7)	25 mg/kg (n=4)	100mg/kg (n=5)
Número de fetos	10,1 ±0,340	8,25± 1,18	9 ±0,632
Número de fetos vivos	10 ±0,309	7,5±1,04	8,8±0,8
Número de implantações	10,1±0,340	9±1,08	9,2±0,374
Número de placentas	10,1±0,340	8,25±1,18	8,8±0,583
Número de corpo lúteo	10,4±0,429	11,3±0,25	10,2±0,49
Índice de implantação	97,6±1,57	80±9,3	91±5,57
Índice de reabsorção	0	8,75±6,98	2,6±4,34
Número de reabsorções	0	0,75±0,629	0,2±0,374
Perdas pré-implantação (%)	2,43±1,57	20±9,3	9±5,57
Perdas pós-implantação(%)	1,29±1,29	15,5±9,77	5±6,09
Relação prole/Progenitora	10±0,309	7,5±1,04	8,8±0,8
Índice de viabilidade	98,7±1,29	92,5±7,5	97,2±2,8

NOTA: Resultados expressos em média ± EPM analisados pela ANOVA One-Way seguido pelo Dunnett;  $P < 0,05$ . Índice de implantação =  $(n^{\circ} \text{ implantações} / n^{\circ} \text{ corpos lúteos}) \times 100$ ; Índice de reabsorções =  $(n^{\circ} \text{ reabsorções}^* / n^{\circ} \text{ implantações}) \times 100$ ; \*  $n^{\circ}$  de reabsorções =  $(n^{\circ} \text{ implantações}) - (n^{\circ} \text{ fetos})$ ; Perdas pré-implantes =  $(n^{\circ} \text{ de corpos lúteos} - n^{\circ} \text{ de implantações} / n^{\circ} \text{ de corpos lúteos}) \times 100$ ; Perdas pós-implante =  $(n^{\circ} \text{ de implantações} - n^{\circ} \text{ de nativos} / n^{\circ} \text{ de implantações}) \times 100$ ; Relação prole/mãe: representada pelo número de fetos vivos por fêmea prenhe; e Índice de viabilidade: representado pela divisão do número de fetos vivos pelo número total de filhotes multiplicado por cem.

**FIGURA 6 -** Evolução ponderal das ratas gestantes expostas ao tratamento com LdHs (25 e 100 mg/kg) e água destilada (controle) durante o 8<sup>o</sup> dia ao 19<sup>o</sup> de gestação



NOTA: Resultados expressos em média ± EPM analisados pela ANOVA One-Way seguido pelo Dunnett;  $P < 0,05$ ; (N=4 a 7).

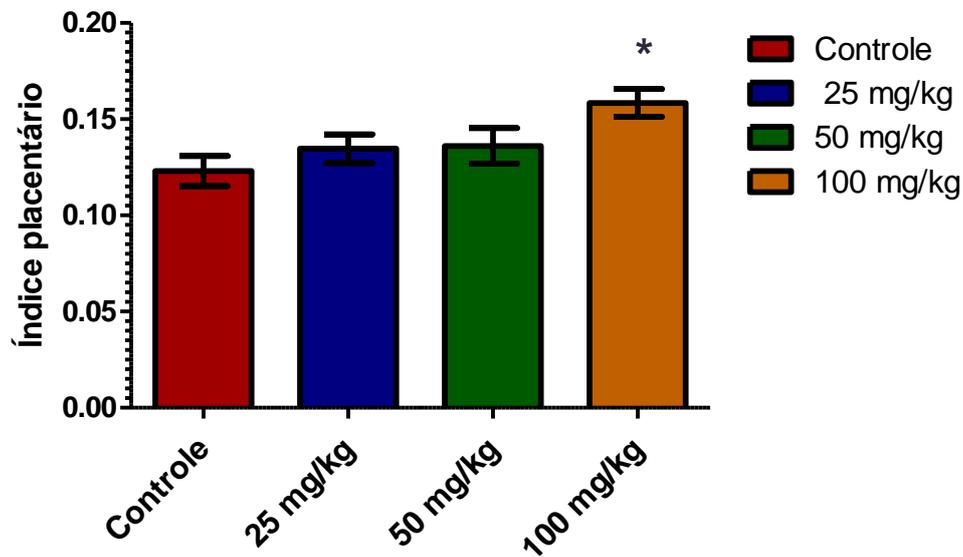
Nenhuma das doses testadas de LdHs (25, 50 e 100 mg/kg) interferiu negativamente nos parâmetros gestacionais de camundongos fêmeas que foram tratadas durante o 8º ao 12º dia de gestação (Tabela 7). No índice placentário (eficiência placentária) observou-se um aumento significativo na dose 100 mg/kg de LdHs quando comparado com o grupo controle (Figura 7). O índice placentário (IP) é comumente definido como peso (em gramas) de feto produzido por peso (em gramas) de placenta (Guimarães, Meirelles & Fernandes, 2015). Um IP elevada significa que as placentas mantêm um desenvolvimento fetal adequado, sem afetar sua viabilidade (Panzardi et al., 2009). Placentas pequenas estão associadas a menores valores de permeabilidade placentária por quilograma de peso fetal. Então, a capacidade do feto para crescer e amadurecer no útero presume-se estar relacionada com a habilidade da placenta em oferecer nutrientes. Recém-nascidos ligados a uma placenta pequena apresentam maior incidência de sofrimento fetal (Duarte et al., 2014). Portanto, esse aumento do IP do grupo tratado com a maior dose de LdHs não promove consequência negativa para o feto.

**TABELA 7-** Parâmetros gestacionais de camundongos fêmeas tratadas com água destilada (controle) e diferentes doses LdHs (25, 50 e 100 mg/kg) durante o 8º dia ao 12º de gestação

<b>Parâmetros gestacionais</b>	<b>Controle (n=13)</b>	<b>25 mg/kg (n=15)</b>	<b>50 mg/kg (n=13)</b>	<b>100mg/kg (n=13)</b>
<b>Útero gravídico (g)</b>	13,2±2,03	12,5±3,03	13,1 ± 2,3	13,3±2,95
<b>Útero vazio (g)</b>	0,911±0,155	0,950±0,186	1,01±0,144	1,06±0,316
<b>Quantidade de filhotes</b>	9,85 ± 2,12	9,08 ± 1,5	9,20 ± 2,27	9,15 ± 1,46
<b>Peso filhote (g)</b>	1,06 ± 0,159	0,964±0,156	1,06± 0,112	0,955±0,078
<b>Quantidade de placentas</b>	9,08 ± 1,5	9,33 ± 2,32	9,08 ± 1,5	9,85 ± 2,12
<b>Peso placenta (g)</b>	0,128±0,025	0,127± 0,017	0,142±0,031	0,150±0,024

NOTA: Resultados expressos em média ± EPM analisados pela ANOVA One-Way seguido pelo Dunnett; P<0,05.

**FIGURA 7-** Índice placentário (grama/grama) de camundongos fêmeas tratadas com água destilada (controle) e diferentes doses do LdHs (25, 50 e 100 mg/kg) durante o 8<sup>o</sup> dia ao 12<sup>o</sup> de gestação



NOTA: Resultados expressos em média ± EPM analisados pela ANOVA One-Way seguido pelo Dunnett;  $P < 0,05$ ; N= 13 a 15; \*Diferença significativa em relação ao grupo controle.

Na análise esquelética da prole de ratas prenhes tratadas com LdHs (25, 50 e 100 mg/kg), durante 8<sup>o</sup> ao 12<sup>o</sup> dia de gestação, não foi observada malformação esquelética significativa nos fetos quando comparados com a avaliação do esqueleto dos fetos gerados pelas ratas do grupo controle (água destilada). Essa análise foi realizada através da verificação dos pontos de ossificação em 56 fetos do grupo controle, 66 fetos do grupo 25 mg/kg, 55 fetos do grupo 50 mg/kg e 60 fetos do grupo 100 mg/kg.

Na análise visceral também não foi observada nenhuma alteração significativa dos órgãos analisados dos fetos, cujas progenitoras foram tratadas com LdHs nas doses 25, 50 e 100 mg/kg durante 8<sup>o</sup> ao 12<sup>o</sup> dia de gestação quando comparados com a análise visceral dos fetos gerados pelas ratas do grupo controle (água destilada). Essa análise foi realizada através de cortes/microdissecações em 63 fetos do grupo controle, 70 fetos do grupo 25 mg/kg, 62 fetos do grupo 50 mg/kg e 67 fetos do grupo 100 mg/kg.

Portanto, as doses 25 e 50 mg/kg de LdHs se revelaram seguras, entretanto a dose 100 mg/kg não causou interferências gestacionais mas diminuiu a eficiência reprodutiva e promoveu uma baixa toxicidade sistêmica pois causou uma diminuição no consumo de ração e interferiu no desenvolvimento ponderal. Dessa forma, sugere-se a continuação de estudos relacionados à segurança do LdHs, utilizando outras doses e outras espécies de animais.

## AGRADECIMENTO

Ao Herbário Graziela Barroso (TEPB) da Universidade Federal do Piauí por identificar a espécie botânica utilizada nesta pesquisa.

## REFERÊNCIA

BARRETO, A. S.; AMARAL, A.C.F.; SILVA, J. R. A.; SCHRIPSEMA, J. Ácido 15-desmetilisoplumierídeo, um novo iridóide isolado das cascas de *Plumeria rubra* e do látex de *Himatanthus sucuuba*. *Química Nova*, v. 30, n. 5, p. 1133-1135, Set. Out., 2007.

BISINOTTO, R. S., GRECO, L. F., RIBEIRO, E. S., MARTINEZ, N., LIMA, F. S., STAPLES, C. R.; THATCHER, W. W.; SANTOS, J. E. P. Influences of nutrition and metabolism on fertility of dairy cows. ***Animal Reproduction***, v.9, n.3, p.260-272, Jul. Set., 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos. Brasília: Ministério da Saúde, Brasília, DF, 2006. 60p.

CASTILLO, D.; AREVALO, J.; HERRERA, F.; RUIZ, C.; ROJAS, R.; RENGIFO, E.; VAISBERG, A.; LOCK, O.; LEMESRE, J.-L.; GORNITZKA, H.; SAUVAIN, M. Spirolactone iridoids might be responsible for the antileishmanial activity of a Peruvian traditional remedy made with *Himatanthus sucuuba* (Apocynaceae). ***Journal of Ethnopharmacology***, v. 112, n. 2, p. 410-414, Jun., 2007.

DUARTE, S.M.S.; REZENDE, T.V.; SANTOS, A.A.; RODRIGUES, M. R.; ARAÚJO, T.H. Alterações no peso fetal, fígado, placenta e cordão umbilical de ratas induzidas pela administração de gentamicina durante a prenhez. ***Revista da Universidade Vale do Rio Verde***, v.12, n.2, p. 668-675, 2014.

FERREIRA, P.I.; GOMES, J.P.; STEDILLE, L.I.; BORTOLUZZI, R.L.C.; MANTOVANI, A. Potencial Terapêutico de Espécies Arbóreas em Fragmentos de Floresta Ombrófila Mista. **Floresta e Ambiente**, 2016.

GOMES, S. V. F.; NOGUEIRA, P. C. L.; MORAES, V. R. S. Aspectos químicos e biológicos do gênero *Lippia* enfatizando *Lippia gracilis* Schauer. **Ecletica Química**. [online], São Paulo, v.36, n.1, 2011.

GUIMARÃES, C.F.; MEIRELLES, M.G.; FERNANDES, C.B. Eficiência placentária na espécie equina: Quais fatores podem estar relacionados? **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 52, n. 2, p. 98-105, 2015.

LARROSA, C.R.R; DUARTE, M.R. Morfoanatomia de folhas de *Himatanthus sucuuba* (Spruce) Woodson, Apocynaceae. **Acta Farmacéutica Bonaerense**. v.24, n.2, p. 165-71, 2005.

LAURA, A. L. C. **Efeitos da ingestão de extrato hidroacetônico de *Maytenus ilicifolia* e hidroetanólico de *Achyrocline alata* em ratas prenhes e seus fetos**. 2009. 196f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Mato grosso do Sul, Campo Grande, 2009.

MARCONDES, F. K.; BIANCHI, F. J.; TANNO, A. P. Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful considerations. *Brazilian Journal of Biology*. São Carlos [online]. 2002, v.62, n.4, p. 609-614, Nov., 2002.

OLIVEIRA, A. A. **Análise fitoquímica dos extratos e frações obtidos de *Himatanthus sucuuba***. 2013. 93 f. Dissertação (Mestrado)- Universidade Federal do Amazonas. Instituto de Ciências Exatas e da Terra. Manaus, 2013.

PALHÃO, M. P.; PAGANINI FILHO, W.; VIANA, J. H. M.; GUIMARÃES, C. R. B.; FIGUEIREDO, A. C. S.; LUDGERO, B. F. A.; FERNANDES, C. A de C. Acurácia da ultrassonografia e da avaliação comportamental na determinação das características funcionais de estruturas ovarianas císticas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.49, n.10, p.823-827, Out., 2014.

PANZARDI, A.; MARQUES, B.M.F.P.P.; HEIM,G.; BORTOLOZZO, F.P.;WENTZ, I. Fatores que influenciam o peso do leitão ao nascimento. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 37, n. Supl 1, p. 49-60, 2009.

PIMENTEL, M. M. L.; SANTOS, F. A. dos; DIAS, R. V. D.; MACÊDO, L. B. de; FONSECA, Z. A. A. de S.; ANDRÉ, W. P. P.; RIBEIRO, W. L. C. Monitoramento do ciclo estral de fêmeas equinas por meio de citologia vaginal, ultrassonografia e dosagem hormonal. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, Umuarama, v. 17, n. 1, p. 69-75, 2014.

PIRES JR, H.B.; BORGES, L.M.F., SOUSA, L.A.D. de; CUNHA, L.C.; LINO JR, R. de S.; MELO, D.F. dos A.; PEREIRA, M. E. Avaliação da toxicidade aguda do extrato hexânico de frutos de *Melia azedarach* (Meliaceae) em camundongos. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v.13, n.4, p. 512-519, Out. Dez., 2012.

REBOUÇAS, S. de O.; SILVA, J. da; GROFF, A. A.; NUNES, E. A.; IANISTCKI, M.; FERRAZ, A. de B. F. The antigenotoxic activity of latex from *Himatanthus articulatus*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, n. 22, v. 2, p. 389-396, Mar. Abr., 2012.

SÁ, M. C.; OLIVEIRA, J. M. G. DE; SILVA, S. M. M. DE S.; SALES, P. A. B.; SOUSA, M. R. S. C. DE; COSTA, T. N.; NUNES, P. H. M.; COSTA, A. P. R. Acute and sub-acute toxicity of *Terminalia fagifolia* Mart. & Zucc. (Combretaceae) in rodents. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**. v. 7, n. 39, p. 2680-2685, 2013.

SILVA, S. L.; NASCIMENTO, A. A. do; RIBEIRO, E. F. B.; RIBEIRO, R. B.; ALVES, C. M.; SANTOS, A. M. dos; MIRA NETO, R. de. A. Avaliação da toxicidade aguda pré-clínica do extrato metanólico das cascas do caule de *Parahancornia amapa* (Apocynaceae). **Acta Amazonica**, v.46, n.1, p. 73-80, 2016.

SOARES, D.C.; ANDRADE, A.L.; DELORENZI, J.C.; SILVA, J.R.; FREIRE-DE-LIMA, L.; FALCÃO, C.A.; PINTO, A.C.; ROSSI-BERGMANN, B.; SARAIVA, E.M.; Leishmanicidal activity of *Himatanthus sucuuba* latex against *Leishmania amazonensis*. **Parasitology International**. v. 59, n.2, p.173-7, Jun., 2010.

SOARES, T.; DAMASCENO, D. C.; KEMPINAS, W. D. G.; RESENDE, F. M. C.; SANTOS, M. A. C. DOS; HIRUMA-LIMA, C. A.; VOLPATO, G. T. Effect of *Himatanthus sucuuba* in Maternal Reproductive Outcome and Fetal Anomaly Frequency in Rats. **Birth Defects Research Part B: Developmental and Reproductive Toxicology**, v. 104, n. 5, p. 190-195, Out., 2015.

VOLPATO, G. T.; FRANCA-FARJE, L. A.; DAMASCENO, D. C.; OLIVEIRA, R. V.; HIRUMA-LIMA, C. A.; KEMPINAS, W. G. Effect of essential oil from *Citrus aurantium* in maternal reproductive outcome and fetal anomaly frequency in rats. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v.87, n.1, p. 407-415, Mar., 2015.

## REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

ADOLPH, S.; PIMENTEL, R. Contexto atual do mercado consumidor e as tendências legais em relação ao uso de testes de animais. **Caderno Organização Sistêmica**, v. 4, n. 3, p. 64-76, 2014.

BAILEY, S.A.; ZIDELL, R.H.; PERRY, R.W. Relationships Between Organ Weight and Body/ Brain Weight in the Rat: What Is this Best Analytical Endpoint? **Toxicologic Pathology**, v. 32, n. 4, p.448-466, Jul. Ago., 2004.

BARATTO, L. C.; HOHLEMWERGER, S. V.; GUEDES, M. L. S.; DUARTE, M. R.; SANTOS, C. A. *Himatanthus lancifolius* (Müll. Arg.) Woodson, Apocynaceae: estudo farmacobotânico de uma planta medicinal da Farmacopeia brasileira 1ª edição. **Revista Brasileira de Farmacognosia** [online], v.20, n.5, p. 651-658, Out. Nov., 2010.

BARRETO, A. S.; AMARAL, A.C.F.; SILVA, J. R. A.; SCHRIPSEMA, J. Ácido 15-desmetilisoplumierídeo, um novo iridóide isolado das cascas de *Plumeria rubra* e do látex de *Himatanthus sucuuba*. **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1133-1135, Set. Out., 2007.

BARRETO, B. B. **Fitoterapia na atenção primária à saúde – a visão dos profissionais envolvidos**. 2011. 94f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2011.

BERNARDI, M.M. Exposição aos medicamentos durante o período perinatal.: In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIACK, S.L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária**. 4 ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, Cap 63: p.807-816, 2006.

BRANDÃO, A. Novos fitoterápicos na rede pública. **Pharmacia Brasileira**, Set./ Dez., 2009.

BRASIL, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Resolução Da Diretoria colegiada - RDC N° 26, de 13 de maio de 2014, Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos e o registro e a notificação de produtos tradicionais fitoterápicos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2014b. Disponível em <[http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/a9e43d0044140f579b5affb9cd167b7c/rdc0026\\_13\\_05\\_2014.pdf?MOD=AJPERES](http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/a9e43d0044140f579b5affb9cd167b7c/rdc0026_13_05_2014.pdf?MOD=AJPERES)> . Acesso em: 10/02/2016.

BRASIL, Ministério da Saúde. ANVISA. Instrução Normativa nº 4, de 18 de junho de 2014. Determina a publicação do Guia de orientação para registro de Medicamento Fitoterápico e registro e notificação de Produto Tradicional Fitoterápico. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2 de junho de 2014a. Disponível em <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/10f7288044703a8bbbf8fffe3a642e80/Guia+final+dicol+180614.pdf?MOD=AJPERES>>. Acesso em: 10/02/16.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) - **Guia para a Condução de Estudos Não-clínicos de Segurança Necessários ao Desenvolvimento de Medicamentos**. Brasília, DF, 2013. 48p.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Formulário de Fitoterápicos da Farmacopéia Brasileira**. Brasília, DF, 2011, 126p.

BRASIL. Ministério da Saúde. **A fitoterapia no SUS e o Programa de Pesquisa de Plantas Medicinais da Central de Medicamentos**. Brasília, DF, 2006a. 148p.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos. Brasília: Ministério da Saúde**, Brasília, DF, 2006b. 60p.

BROLIO, M.P; AMBROSIO, C.E; FRANCIOLLI, A.R; MORINI, A.C; GUERRA, R.R; MIGLINO, M.A. A barreira placentária e sua função de transferência nutricional. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. v. 34, n.4, p.222-232, Out. Dez. 2010.

CALIXTO, J.B.; SCHEIDT, C.; OTUKI, M.; SANTOS, A.R. Biological activity of plant extracts: novem analgesic drugs. **Expert Opinion Emerging Drugs**. v. 6, n. 2, p. 261-279, Out., 2001.

CAMPBELL, M.A.; GOLUB, M.S.; IYER, P.; KAUFMAN, F.L.; LI, L.H.; MORAN MESSEN, F., MORGAN, J.E.; DONALD, J.M. Reduced water intake: implications for rodents developmental and reproductive toxicity studies. **Birth Defects Research (Parte B)**, v. 86, n.3, p. 157-175, Jun., 2009.

CAMPOS, D. A.; FARINACCIO, M. A. *Himatanthus (Apocynaceae)*: reconhecimento das espécies, informações fenológicas e distribuição do gênero em Sergipe. In. X Congresso de Ecologia do Brasil, 10, 2011, **Anais**. São Lourenço, MG, 2011.

DI STASI, L.C.; HIRUMA-LIMA, C.A. **Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica**. 2. ed. São Paulo: Editora Universidade Estadual Paulista, 2002. 604p.

FERNANDES, M.Z.L.C.M.; FERNANDES, R.M.; SOUSA, M.C.B.B.; LOPES, J.B. Determinação da toxicidade aguda da *Himatanthus sucuuba* (Spruce) Woodson (Apocynaceae) em camundongos. **Revista Brasileira de Farmácia**. v.81, n.3 /4, p.98-100, 2000.

FERREIRA, C. S; PIEDADE, M.T.F; BONATES, L.C. Germinação de sementes e sobrevivência de plântulas de *Himatanthus sucuuba* (Spruce) Wood. em resposta ao alagamento, nas várzeas da Amazônia Central. **Acta amazônica**. v. 36, n.4, p. 413-418, Out. Dez., 2006.

FLORIO; J.C; SOUSA, A.B.S. Farmacocinética. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIACK, S.L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária**. 4 ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2006, Cap 4: p.29-48.

FORTES, L. H. S. **Efeito da ovariectomia sobre o balanço autonômico cardíaco de ratas submetidas à desnutrição proteica [manuscrito]**. 2010. 119 f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Ouro Preto. Instituto de Ciências Exatas e Biológicas. Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas. Ouro Preto. 2010.

GOMES, J. P. M. **Pesquisa da atividade antitumoral e mutagênica in vitro de produtos naturais**. 2008, 86 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista Júlio Mesquita Filho, Araraquara, 2008.

GOMES, P. A. **Óleo essencial da erva-baleeira (*Cordia verbenacea* L.) de áreas nativas**. 2009. 69f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Goytacazes, 2010.

GOMES, S. V. F.; NOGUEIRA, P. C. L.; MORAES, V. R. S. Aspectos químicos e biológicos do gênero *Lippia* enfatizando *Lippia gracilis* Schauer. **Ecletica Química**. [online]. São Paulo. v.36, n.1, 2011.

GRAY, L.E.; OTSBI, J.; KELCE, W,R. Use of the laboratory rat as a model in endocrine disruptor screening and testing. **Institute for Laboratory Animal Research Journal**.v.45, n.4, p. 425-437, 2004.

GUERRA, M. O; PETERS V. M. Screening for reproductive toxicity in rats for a decoction of *Himatanthus sucuuba* stem bark. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 34, n. 2-3, p.195-199, Set., 1991.

JUDD, W.S. **Sistemática vegetal: um enfoque filogenético**. 3. ed. Porto Alegre, RS: Artmed. 2009.

KEATING, EOB. **Transport of bioactive substances in the human placenta**. 2007. 191 f. Tese (Doutorado)- Faculdade de Medicina da Universidade do Porto. Porto. 2007.

KOREN, G. Aspectos especiais da farmacologia perinatal e pediátrica. In: KATZUNG,B.G (Ed.) **Farmacologia Básica & Clínica**. 9.ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, Cap. 60: p.833-846, 2006.

LARROSA, C.R.R; DUARTE, M.R . Morfoanatomia de folhas de *Himatanthus sucuuba* (Spruce) Woodson, Apocynaceae . **Acta Farmacéutica Bonaerense**. v.24, n.2, p. 165-71, 2005b.

LARROSA, C.R.R; DUARTE, M.R. Contribuição ao estudo anatômico do caule de *Himatanthus sucubus* (Spruce ex Müll. Arg.) Woodson, Apocynaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. Joao Pessoa, v.15, n.2, p. 110-114, Abr. Jun., 2005a.

LEANDRO, J. A.; SANTOS, F. L. História da talidomida no Brasil a partir da mídia impressa (1959-1962). **Saúde e Sociedade**, São Paulo, v. 24, n. 3, p. 991-1005, 2015.

LIMA-SARAIVA, S. R. G. DE; SARAIVA, H. C. C.; OLIVEIRA-JÚNIOR, R. G.S DE; SILVA, J. C.; DAMASCENO, C. M. D.; ALMEIDA, J. R. G. S.; AMORIM, E. L. C. A implantação do programa de plantas medicinais e fitoterápicos no sistema público de saúde no Brasil: uma revisão de literatura. **Revista Interdisciplinar de Pesquisa e Inovação**, n. 1, v.1, 2014.

LÓPEZ-CARRERAS, N.; MIGUEL, M.; ALEIXANDRE, A. Propiedades benéficas de los terpenos iridoides sobre la salud. **Nutrición clínica y dietética hospitalaria**, v.32, n.3, 2012.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa-SP: Instituto Plantarum, p. 544, 2002.

LOURENÇO, A.C.S.; MIGUEL, L.K.; GUARIDO, K.L.; SENSIATE, L.A.; SALLES, M.J.S. Óleo de copaíba (*Copaifera langsdorfii* Desf.) em padrões reprodutivos de camundongos e no desenvolvimento embrionário. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v.11, n.4, p.407-413, 2009.

MADALOSSO, R. C.; **Avaliação da toxicidade aguda e da atividade gastroprotetora de extratos de *Campomanesia lineatifolia* Ruiz & Pav. em roedores**. 2011. 116f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2011.

MARCONDES, F. K.; BIANCHI, F. J.; TANNO, A. P. Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful considerations. **Brazilian Journal of Biology**. São Carlos [online]. 2002, v.62, n.4, p. 609-614, Nov., 2002.

MATOS, F. J. A; **Introdução a fitoquímica Experimental**; 3 edição, Edições UFC, Fortaleza, 2009.

MOORE, K. L.; PERSAUD, T. V. N. **Embriologia Clínica**. 8ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. 536 p.

MORAGAS, C. J. **Estudo do gênero *Himatanthus*: anatomia vegetal, fitoquímica, farmacologia e biotransformação**, 2006, 290 f. Tese (Doutorado)- Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2006.

NAKAMURA, M.U.; KULAY JUNIOR, L.; PASQUALE, L. Uso de fármacos na gravidez: benefício e custo. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**. v. 30, n 1, p.1-4, v, Jan., 2008.

NAVA, A.; ROMAN, S.S. Efeito do Antimoniato de Meglumina durante o período fetal sobre o desenvolvimento físico da prole em camundongos. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**. v. 14, n.1. p.37-42, 2010.

NUNES, H. M. M.; PAIVA, J. A. de; RAMOS, A. T.; MAIORKA, P. C.; MARUO, V. M. Effects of *Buchenavia tomentosa* consumption on female rats and their offspring. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, v. 32, n. 4, p. 423-429, 2010.

OECD (ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT). Guidelines for the Testing of Chemicals. OECD 425. Acute Oral Toxicity-Modified Up and Down Procedure. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris. 2001.

OLIVEIRA, A. A. **Análise fitoquímica dos extratos e frações obtidos de *Himatanthus sucuuba***. 2013. 93 f. Dissertação (Mestrado)- Universidade Federal do Amazonas. Instituto de Ciências Exatas e da Terra. Manaus, 2013.

OLIVEIRA, P. de L. L. **Efeito das isoflavonas de soja sobre os epitélios mamário e endometrial de ratas ooforectomizada**. São Luís, 2008. 61 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Maranhão, Programa de Pós-Graduação em Saúde Materno-Infantil, 2008.

OLIVEIRA, P. L. DE. **Contribuição ao estudo de espécies da família Rubiaceae: gênero *Amaioua***. 2014. 274f. Tese (Doutorado)- Universidade Federal de Goiás. Goiânia. 2014.

PAZ, M. F. C. J.; ALENCAR, M.V.O.B.; SOARES, R.L.L.; COSTA, D. A. F.; NUNES, A.T.; CAVALCANTE, A.A.C.M. Avaliação tóxica, citotóxica, mutagênica e genotóxica do látex da *Himatanthus sucuuba*: uma questão de saúde pública. **Revista Interdisciplinar**. v.6, n.1, p.52-61, 2013.

PINTO, C. E. C. Disponível em <[www.uff.br/animaislab/ap2.doc](http://www.uff.br/animaislab/ap2.doc)>. Acesso em: 10/02/2016.

RATES, S.M.K. Plants as source of drugs. **Toxicon**. v. 39, n. 5, p. 603-13, Maio, 2001.

ROCHA, A. O. B.; SOUSA, L. Q.; MOTA, C. A. X.; SANTOS, E. C. S.; DINIZ, M. F. F. M.; SILVA, M. S.; PIMENTA, M. B. F.; SÁ, R.C.S. Evaluation of the Toxicity of *Pradosia huberi* Extract during the Preimplantation in Wistar Rats. **BioMed Research International**. v. 2013, p.1-6, Dez., 2013.

RODRIGUES, H.G.; MEIRELES, C.G.; LIMA, J.T.S.; TOLEDO, G.P.; CARDOSO, J.L.; GOMES, S.L. Efeito embriotóxico, teratogênico e abortivo de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas medicinais** [online]. Botucatu, v.13, n.3, p. 359-366, 2011.

SÁ, B. M. **Estudo da toxicidade não clínica do extrato hidroetanólico das cascas do caule de Endopleura uchi (Huber) Cuatrec.** 2014. 145 f. Dissertação (Mestrado)- Fundação Universidade Federal do Amapá, Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Tropical, Macapá, 2014.

SAMPAIO-SANTOS, M. I.; KAPLAN, M. A. C. Significado biossintese de iridóides na quimiosistemática. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 12, n.2, Mar. Abri., 2001.

SEVERI, M. T. M. **O efeito do cipionato de estradiol na limitação funcional induzida pela desnervação neuromuscular e ovariectomia em ratas.** 2006. 134 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Fisioterapia, Universidade Metodista de Piracicaba. Piracicaba. 2006.

SILVA, J. R. D. A.; AMARAL, A. C. F.; SILVEIRA, C. V. D.; REZENDE, C. M.; PINTO, A. C. Quantitative determination by HPLC of iridoids in the bark and latex of *Himatanthus sucuuba*. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 37, n. 1, 2007.

SOARES, D.C.; ANDRADE, A.L.; DELORENZI, J.C.; SILVA, J.R.; FREIRE-DE-LIMA, L.; FALCÃO, C.A.; PINTO, A.C.; ROSSI-BERGMANN, B.; SARAIVA, E.M.; Leishmanicidal activity of *Himatanthus sucuuba* latex against *Leishmania amazonensis*. **Parasitology International**. v. 59, n.2, p.173-7, Jun., 2010.

SOARES, T.; DAMASCENO, D. C.; KEMPINAS, W. D. G.; RESENDE, F. M. C.; SANTOS, M. A. C. DOS; HIRUMA-LIMA, C. A.; VOLPATO, G. T. Effect of *Himatanthus sucuuba* in Maternal Reproductive Outcome and Fetal Anomaly Frequency in Rats. **Birth Defects Research Part B: Developmental and Reproductive Toxicology**, v. 104, n. 5, p. 190-195, Oct., 2015.

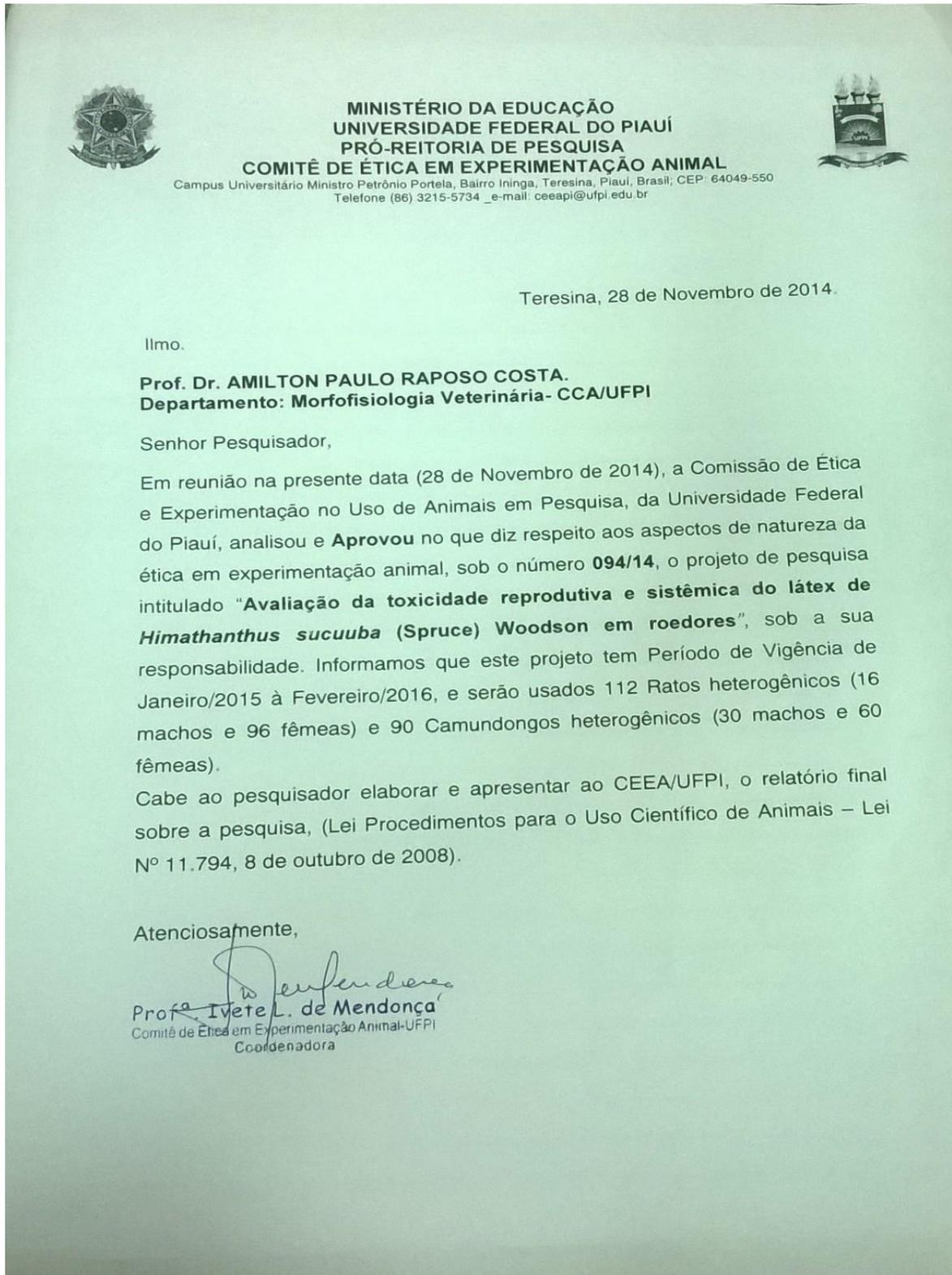
SOUSA, E. L DE. **Avaliação da atividade antitumoral de *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel – Apocynaceae (Janaguba).** 2009. 95f. Dissertação (Mestrado) -Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2009.

SOUSA, E. L. DE; GRANGEIRO, A. R. S.; BASTOS, I. V. G. A; RODRIGUES, G. C. R.; SILVA, M. J. E; ANJOS, F. B. R. DOS; SOUZA, I. A. DE; SOUSA, C. E. L. DE. Antitumor activity of leaves of *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel-Apocynaceae (Janaguba) in the treatment of Sarcoma 180 tumor. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**. São Paulo, v. 46, n. 2, Abr./Jun., 2010.

USHIROBIRA, T. M. A. **Avaliação etnofarmacológica e toxicológica pré-clínica *in vivo***

**do extrato bruto dos rizomas de *Limonium brasiliense*. 2015. 113f. Tese (Doutorado)-** Universidade Estadual de Maringá. Departamento de Farmácia, Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas. Maringá, 2015.

WOLFSEGGGER, M. J.; JAKI, T.; DIETRICH, B.; KUNZLER, J. A.; BARKER, K. A note on statistical analysis of organ weights in non-clinical toxicological studies. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 240, n. 1, p.117-122, Out., 2009.

**ANEXO A- Parecer da comissão de ética e experimentação animal**

## ANEXO B- Exsicata da *H. sucuuba* depositada no acervo TEPB/UFPI

16/02/2016 speciesLink Network - Herbario Virtual da Flora e dos Fungos

plantas e fungos notícias a rede provedores como participar indicadores dataCleaning ferramentas

INCT-Herbario Virtual da Flora e dos Fungos desde 2009 { ver como citar, condições de uso dos dados ... }

abrir formulário de busca

resumo mapa gráfico download

mostrando registros de 1 a 1 dos 1 encontrados em 0.01 s

**Atenção**  
Os nomes das espécies e gêneros ao lado são comparados com alguns dicionários de acordo com o grupo biológico. Em **negrito verde** aparecem os aceitos em **negrito cinza** os sinônimos em **laranja** os não encontrados. Nomes em **magenta** aparecem nos dicionários com mais de um status por diferentes motivos. Nomes de **famílias** são apenas checados quanto a constarem ou não dos dicionários. No inventário de espécies, o nome aparece em **azul** quando o espécime tem **identificação só até gênero**. Veja dicas de uso para informações mais detalhadas.

**Herbário Graziela Barroso - TEPB**  
Universidade Federal do Piauí, UFPI

**PLANTAE APOCYNACEAE**  
**Himatanthus sucuuba** (Spruce) Woodson  
TEPB 30291 Coletas: Emanuela Ribeiro Moura  
Loc: Povoado Cabeceira do Inhuma, Timon, Maranhão, Brasil  
Coord munic: [lat: -5.09417 long: -42.8367 err: #44730 WGS84]  
Notas: arbusto de médio porte, flores brancas Ambiente: Cerrado  
Tipo de registro: espécime preservado

comentários  
nenhum comentário para esse registro

Notas: Os comentários não são checados quanto à sua origem. O CRIA não se responsabiliza pelo conteúdo ou origem dos comentários. Use com cautela.

outras informações associadas ao nome (*Himatanthus sucuuba*)

in **Encyclopedia of Life**

1. *Himatanthus sucuuba*; *Himatanthus tarapotensis*; *Plumeria sucuuba*; *Himatanthus lancifolius*; *Himatanthus sucuuba* (Spruce ex Mull. Arg.) Woodson; *Plumeria tarapotensis*; *Plumeria tarapotensis* K. Schum. ex Markgr.; *Himatanthus tarapotensis* (K. Schum. ex Markgr.) Plumel; *Himatanthus sucuuba* (Spruce ex Muell. Arg.) Woodson; *Himatanthus sucuuba* (Spruce ex Mull. Arg.) Woodson; *Himatanthus sucuuba* (Spruce) Woodson

in **Biodiversity Heritage Library**

1. *Annals of the Missouri Botanical Garden* Missouri Botanical Garden Press, v. 25 1938, 1914-  
2. *Contributions from the United States National Herbarium* Smithsonian Institution Press, v. 55 (2007), 1890-  
3. *Flora of Peru / Field Museum of Natural History*, v.13:pt.5:no.1 (1959) [Haloragaceae], [1959]  
4. *Rapid biological inventories*, Field Museum, no.11 (2003), ©2000-©2007.  
5. *Rapid inventories, biological and social*, Field Museum, no.25 (2013), ©2008-  
6. *SIDA, contributions to botany*, W. F. Mahler, etc.; v.21 (2004), 1962-

Disponível em

<[http://www.splink.org.br/index?lang=pt&group=plantas&ts\\_collectioncode=TEPB&action=openform](http://www.splink.org.br/index?lang=pt&group=plantas&ts_collectioncode=TEPB&action=openform)>.