



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências
Ciências Biológicas com ênfase em Ciências Ambientais

JOSÉ HELBERTT DA SILVA PAZ

TOXICIDADE ORAL AGUDA DO EXTRATO ETANÓLICO DAS FOLHAS DE
Croton argenteus

Recife
2024

TOXICIDADE ORAL AGUDA DO EXTRATO ETANÓLICO DAS FOLHAS DE *Croton argenteus*

Monografia apresentada à disciplina Trabalho de Conclusão de Curso, do Curso de Ciências Biológicas com Ênfase em Ciências Ambientais, da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas com Ênfase em Ciências Ambientais.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Carvalho Lira

Coorientadora: MSc. Widarlane Ângela da Silva Alves

**RECIFE
2024**

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Paz, José Helbertt .

TOXICIDADE ORAL AGUDA DO EXTRATO ETANÓLICO DAS
FOLHAS DE *Croton argenteus* / José Helbertt Paz. - Recife, 2024.

28p. : il., tab.

Orientador(a): Eduardo Carvalho Lira

Cooorientador(a): Widarlane Ângela Alves

(Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências,
, 2024.

Inclui referências, apêndices, anexos.

1. Fisiologia. 2. Farmacologia. 3. Toxicidade. 4. Saúde Humana. 5. Testes
Clínicos . 6. Fitoterapia. I. Lira, Eduardo Carvalho. (Orientação). II. Alves,
Widarlane Ângela. (Coorientação). IV. Título.

500 CDD (22.ed.)

AGRADECIMENTOS

AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE ORAL AGUDA DO EXTRATO DAS FOLHAS DE *Croton argenteus* EM CAMUNDONGOS

Monografia apresentada à disciplina Trabalho de Conclusão de Curso, do Curso de Ciências Biológicas com Ênfase em Ciências Ambientais, da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Comissão examinadora

Prof. Dr. Eduardo Carvalho Lira (Orientador/Presidente da Banca)
Departamento de Fisiologia e Farmacologia - UFPE

Prof. Dra. Dayane Aparecida Gomes (1º Titular)
Departamento de Fisiologia e Farmacologia - UFPE

Dr. Humberto de Moura Barbosa (2º Titular)
Departamento de Fisiologia e Farmacologia - UFPE

MSc. Luzia Abílio da Silva (Suplente)
Departamento de Fisiologia e Farmacologia - UFPE

AGRADECIMENTOS

Antes de tudo, aos meus pais, Edilson Ferreira e Lilian Cassimiro pelo amor, pelos exemplos de vida e o apoio constante em minha jornada acadêmica, meu alicerce, sem eles não teria sentido lutar e chegar até onde cheguei.

A todos os professores do Centro de Biociências e Centro de Ciências da Saúde da UFPE, por contribuírem com os seus ensinamentos. Ao CNPq, pelo suporte à Pesquisa Básica e pela promoção da inclusão científica.

À Universidade Federal de Pernambuco pela oportunidade de ensino, aos membros da banca, pela disponibilidade para participação de minha defesa.

Aos colegas do Laboratório, pelas incontáveis horas de colaboração, momentos de descontração e valiosas aprendizagens vivenciadas no LNEM.

Agradeço à minha coorientadora Widarlane Ângela, por sua inestimável contribuição, cuja orientação precisa e rigor científico enriqueceram substancialmente a qualidade desta pesquisa e pelos quais sempre serei imensamente grato.

Agradeço especialmente ao Professor Dr. Eduardo Carvalho Lira, pelo apoio e por aceitar generosamente a orientação deste trabalho, contribuindo de maneira decisiva para sua realização

A todos, o meu muito obrigado.

AGRADECIMENTOS

“Quão frágil e inerte é a razão. No entanto, é nosso único instrumento.”

- Bertrand Russel

RESUMO

A toxicidade oral aguda é determinada por uma série de fatores inter-relacionados, que incluem parâmetros biológicos e químicos, como a dosagem, a via de administração, a absorção e o metabolismo dos compostos. Este estudo teve como objetivo avaliar toxicidade oral aguda do extrato etanólico das folhas de *Croton argenteus* (EECa), bem como avaliar massa corporal, ingestão hídrica e alimentar e avaliar a função renal e hepática. As folhas foram pesadas, secas em uma estufa com circulação de ar, e moídas até formar um pó homogêneo. Esse pó foi utilizado para preparar extratos, que foram extraídos em um funil de separação com álcool 70%, até a completa exaustão dos compostos bioativos. Foram utilizados camundongos Swiss (*Mus musculus*) fêmeas (30 - 40g), e divididos em 3 grupos (n=3): Controle, EECa300 e EECa2000. Os grupos EECa300 e EECa2000 receberam 300mg/kg e 2000 mg/kg do extrato etanólico de *Croton argenteus* em uma única dose e observados por 14 dias. Foram quantificados diariamente massa corporal, ingestão hídrica e alimentar, e após a eutanásia, foram pesados órgãos e tecidos e dosados os níveis de transaminase oxalacética (TGO) e pirúvica (TGP), creatinina e ureia séricos. A administração de EECa nas doses de 300 mg/kg e 2.000 mg/kg não resultou em alterações significativas na massa corporal, ingestão hídrica e ingestão alimentar em comparação com o grupo controle. Os níveis de TGO e TGP dos grupos tratados com 300 mg/kg e 2.000 mg/kg do extrato não mostrou diferença significativa em comparação ao controle. Os níveis de creatinina se mantiveram estáveis, mas a ureia diminuiu no grupo EECa2000 em relação ao controle. Este estudo realizou a primeira avaliação da toxicidade aguda oral do extrato de *Croton argenteus*, demonstrando que a dose letal excede 2.000 mg/kg, indicando um perfil de segurança preliminar como fitoterápico. Estudos adicionais de toxicidade com doses repetidas são essenciais para garantir a segurança em uso crônico e viabilizar ensaios para futuras aplicações.

Palavras chave: *Croton argenteus*. Toxicidade oral aguda. Extrato etanólico. Fitoterapia.

ABSTRACT

Acute oral toxicity is determined by a series of interrelated factors, including biological and chemical parameters such as dosage, route of administration, absorption, and metabolism of the compounds. This study aimed to evaluate the acute oral toxicity of the ethanolic extract of *Croton argenteus* leaves (EECa), as well as assess body mass, water and food intake, and evaluate renal and hepatic function. The leaves were weighed, dried in an air circulation oven, and ground into a homogeneous powder. This powder was used to prepare extracts, which were extracted in a separation funnel with 70% alcohol, until the complete exhaustion of the bioactive compounds. Female Swiss mice (*Mus musculus*), weighing 30-40g, were divided into three groups (n=3): Control, EECa300, and EECa2000. The EECa300 and EECa2000 groups received 300mg/kg and 2000mg/kg of the ethanolic extract of *Croton argenteus* in a single dose and were observed for 14 days. Daily measurements of body mass, water, and food intake were recorded, and after euthanasia, organs and tissues were weighed, and serum levels of aspartate transaminase (AST), alanine transaminase (ALT), creatinine, and urea were assessed. The administration of EECa at doses of 300 mg/kg and 2000 mg/kg did not result in significant changes in body mass, water intake, or food intake compared to the control group. AST and ALT levels in the groups treated with 300 mg/kg and 2000 mg/kg of the extract showed no significant differences compared to the control. Creatinine levels remained stable, but urea decreased in the EECa2000 group compared to the control. This study conducted the first evaluation of the acute oral toxicity of *Croton argenteus* extract, demonstrating that the lethal dose exceeds 2000 mg/kg, indicating a preliminary safety profile as a phytotherapeutic agent. Additional toxicity studies with repeated doses are essential to ensure safety in chronic use and enable trials for future applications.

Keywords: *Croton argenteus*. Acute oral toxicity. Ethanolic extract. Phytotherapy.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1** - Partes da planta *Croton argenteus*. A) Flores, B) Folhas, C) Ramos 16
- Figura 2** - Efeito do extrato etanólico das folhas de *Croton argenteus* na massa corporal (A), ingestão alimentar (B) e ingestão hídrica (C). 20
- Figura 3** - Efeito da toxicidade oral aguda do EECa nos parâmetros de função renal e hepática. 22

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Peso relativo dos órgãos/tecidos dos animais submetidos a toxicidade oral aguda do EECa por 14 dias	21
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS

EECa	Extrato etanólico das folhas de <i>Croton argenteus</i>
OECD	Organization for Economic Cooperation and Development
TGO	Transaminase Glutâmico-Oxalacética
TGP	Transaminase Glutâmico-Pirúvica
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVOS	14
2 METODOLOGIA	14
3.1 COLETA E PREPARAÇÃO DO EECa	14
3.2 PROCESSAMENTO DO MATERIAL VEGETAL	15
3.3 PREPARO DO EXTRATO	16
3.4 TOXICIDADE ORAL AGUDA	16
3.5 ANÁLISES BIOQUÍMICAS	16
3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA	17
4.RESULTADOS	17
5 DISCUSSÃO	21
6 CONCLUSÃO	23

1. INTRODUÇÃO

O interesse crescente em investigar os compostos fitoquímicos presentes nas espécies vegetais e em validar cientificamente a ação destes compostos tem sido impulsionado pela constatação cada vez maior de seu potencial terapêutico (Firmo et al. 2012). É possível identificar uma variedade de classes de fitoquímicos presentes, cada uma possuindo características e potenciais para aplicações terapêuticas distintas. Dentre essas classes, podemos destacar os flavonoides, alcaloides, cumarinas, saponinas, taninos, triterpenos, polifenóis, antraquinonas e esteroides.

É importante ressaltar que a produção desses bioativos pode ser significativamente influenciada por uma diversidade de fatores, tais como variações sazonais, condições de estresse ambiental, idade e estágio de crescimento da planta. As flutuações sazonais, as adversidades ambientais e o ciclo de vida da planta desempenham um papel fundamental na regulação da biossíntese e na expressão dos seus compostos, adicionando uma variável a mais na compreensão de seu potencial terapêutico e na otimização de sua produção (Czelusniak et al., 2012)

Os estudos toxicológicos são críticos no processo de desenvolvimento de novos fármacos, servindo como alicerce ao antecipar potenciais riscos relacionados à segurança e eficácia (Dorato & Buckley, 2006). Ao avaliar os efeitos dos compostos em modelos animais e em sistemas biológicos *in vitro*, esses estudos contribuem para a identificação precoce de algum nível de toxicidade que possa existir, permitindo a tomada de decisões informadas e aprimorando a segurança dos medicamentos em desenvolvimento. Isto contribui diretamente para a redução de efeitos adversos e impactos deletérios à saúde humana (Dorato & Buckley, 2006).

Embora os testes *in vitro* tenham recebido uma considerável atenção, especialmente em resposta à crescente pressão social pela redução do uso de animais na pesquisa e no desenvolvimento de novos fármacos (Knop & Maria, 2016). O setor de fitoterápicos e produtos botânicos têm demonstrado um crescimento significativo globalmente, com um aumento de mercado que passou de 29,4 bilhões de dólares em 2017 para 151,91 bilhões de dólares em 2021 (Gutierrez, 2022). No Brasil, aproximadamente 82% da população recorre a produtos fitoterápicos (Brasil, 2012), evidenciando a ampla aceitação e uso como

alternativa. Adicionalmente, o mercado de fitoterápicos no país representa uma movimentação financeira em torno de um bilhão de reais, envolvendo diversas empresas e oferecendo emprego a milhares de indivíduos, o que reforça a relevância econômica deste setor (Ferreira et al., 2022).

Esse cenário demonstra o crescente interesse e aceitação da fitoterapia como uma alternativa eficaz e reconhecida internacionalmente, refletindo a busca cada vez maior por abordagens terapêuticas mais naturais e abrangentes (Bruning et al., 2012). O aumento do consumo de fitoterápicos pela população foi impulsionado por várias razões, tais como as crescentes preocupações com a biodiversidade, a busca por uma melhor qualidade de vida e os custos elevados associados aos medicamentos (Lorenzi & Matos, 2008).

Na família Euphorbiaceae, *Croton* se destaca como o segundo maior gênero, abrangendo cerca de 1.300 espécies distribuídas na região neotropical, que se estende do Panamá ao Brasil (Xu Whu, 2018). Estudos direcionados às espécies pertencentes ao gênero, revelaram a presença de uma variedade de compostos bioativos que são amplamente empregados na medicina popular. Inúmeras substâncias ativas presentes nas plantas desse gênero contribuem para suas propriedades terapêuticas e medicinais, destacando o gênero como um promissor candidato para o desenvolvimento de novos medicamentos e tratamentos alternativos (Costa et al., 2011). Esses compostos são conhecidos por suas diversas propriedades biológicas, incluindo atividades antimicrobianas, anti-inflamatórias, antioxidantes e anticancerígenas (Palmeira Jr. et al., 2006).

No âmbito da diversidade do gênero *Croton*, as pesquisas realizadas destacam seu potencial alelopático (Silva, 2012; Sisodia, 2010), revelando, ademais, propriedades ovicidas e larvicidas (Magalhães et al., 2015), e seu potencial de atividade antimicrobiana (Costa et. al, 2008; Albuquerque et. al, (2017). Estudos conduzidos com diversas espécies de *Croton*, encontradas no território brasileiro, têm possibilitado o isolamento de 109 compostos, abrangendo distintas classes estruturais. Entre essas classes, destacam-se os diterpenos, representando 35,6%, seguidos por alcalóides, que com 24,8%, flavonoides, correspondendo a 12,8%, e triterpenos, com de 11% (Torres, 2008).

A espécie *Croton argenteus* popularmente conhecida como “velame da lagoa”, é presente em diversas regiões brasileiras como: Norte (Amazonas), Nordeste (Bahia, Maranhão, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte),

Centro-Oeste (Mato Grosso do Sul, Mato Grosso) e Sudeste (Minas Gerais, Rio de Janeiro). Este táxon se adapta a diferentes domínios fitogeográficos, incluindo Amazônia, Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica. Sua versatilidade ecológica é ainda evidenciada pelos variados tipos de vegetação que habita, tais como Caatinga (*stricto sensu*), Campo de Várzea, Cerrado (*lato sensu*), Floresta Ciliar ou Galeria e Floresta de Várzea. Essas características refletem a plasticidade fenotípica e a capacidade adaptativa da espécie. A ausência de estudos preliminares sobre os efeitos de *Croton argenteus* evidencia a necessidade de investigar sua toxicidade aguda. Essa avaliação é essencial para determinar a segurança do uso dessa espécie em possíveis aplicações terapêuticas futuras. Diante disso, o objetivo deste estudo é avaliar a toxicidade oral aguda do extrato etanólico das folhas de *Croton argenteus* em camundongos fêmeas Swiss.

2. OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

Avaliar toxicidade oral aguda do extrato etanólico das folhas de *Croton argenteus* (EECa).

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar massa corporal, ingestão hídrica e alimentar;
- Analisar os pesos dos órgãos (encéfalo, pulmões, coração, fígado, rins, baço, tecido adiposo retroperitoneal, tecido adiposo abdominal, útero e ovários)
- Avaliar função renal e hepática

3. METODOLOGIA

3.1 Coleta e preparação do EECa

As folhas do *Croton argenteus* (Figura 1), foram coletadas com o auxílio de um especialista botânico na Floresta Nacional Contendas do Sincorá, situada no Município de Contendas do Sincorá, Estado da Bahia. Posteriormente, o material vegetal foi enviado para identificação e registro no herbário da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, sob o número de autorização para atividade científica na Flona nº 67011-3.

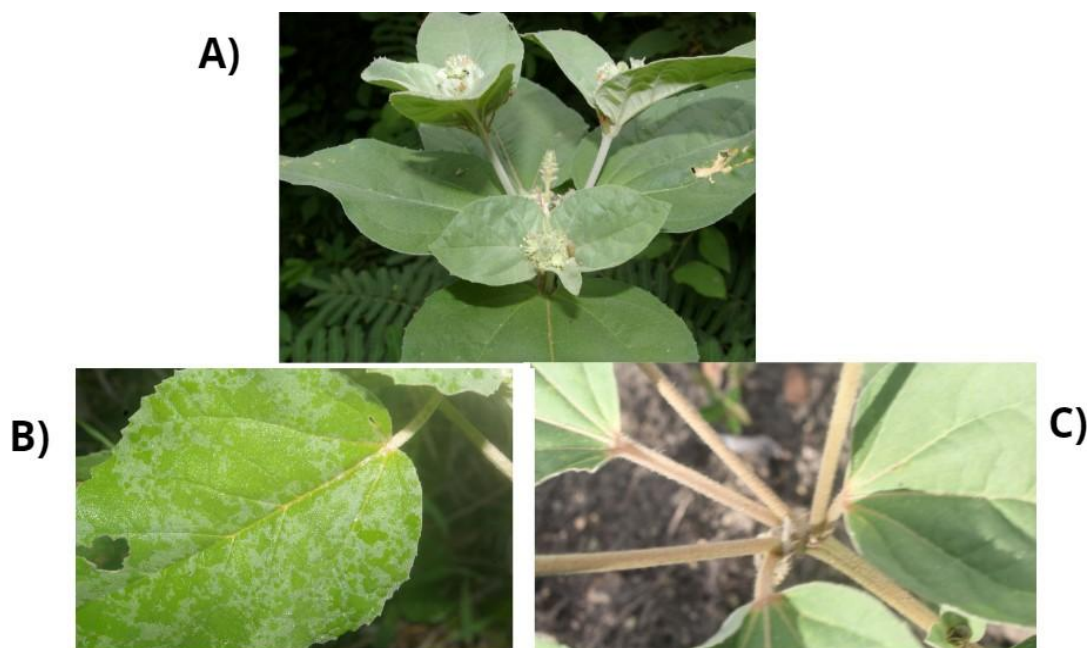


Figura 1: Estruturas vegetais da planta *Croton argenteus*. A) Flores, B) Folhas, C) Ramos. Fonte: Nelson Villalobos - Plantnet.

3.2 Processamento do material vegetal

A planta, após identificação e registro, foi encaminhada para o Laboratório de Produtos Naturais (LAPRON). As partes aéreas frescas foram pesadas e levadas para uma estufa de circulação de ar, regulada a uma temperatura constante de 40°C. Após a secagem completa, as partes secas foram processadas para a obtenção do extrato etanólico. Todo o procedimento de secagem foi realizado conforme os protocolos padronizados, garantindo a preservação dos compostos bioativos. Subsequentemente, o material seco foi moído até obter um pó homogêneo.

3.3 Preparação do extrato

O pó seco foi submetido ao processo de extração em um funil de separação, utilizando álcool 70% como solvente, até completa exaustão dos compostos bioativos. Para assegurar a eficiência do processo de extração, foram realizados controles periódicos da concentração dos compostos ativos no solvente.

3.4 Toxicidade oral aguda

Camundongos da linhagem *Swiss* (*Mus musculus*) fêmeas (n = 9) com 6 semanas de idade (30 - 40g), foram utilizados para os estudos de toxicologia aguda, segundo a OECD 423. Os animais foram obtidos no Biotério do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal de Pernambuco. Os animais foram aclimatados às condições de laboratório durante 5 dias antes dos experimentos, com livre acesso a dieta e água, temperatura $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ em ciclo 12/12hs. Todos os procedimentos neste estudo foram realizados de acordo com o Comitê de Ética em Animais da Universidade Federal de Pernambuco, nº 0080/2023.

Os animais foram divididos em 3 grupos (n=3): Controle, EECa2000 (2000mg/kg de EECa, v.o.) e EECa300 (300mg/kg de EECa, v.o.), onde foi administrado uma única dose de EECa ou salina (mesmo volume) após um jejum de 4hs via gavagem. Os animais foram observados nas 4 horas subsequentes a administração para a identificação de sinais de toxicidade como inquietação, higiene, tremores, convulsões, dilatação pupilar, reflexo do pavilhão auricular, salivação ou lacrimejamento. O peso corporal, ingestão hídrica e alimentar foram verificados diariamente por 14 dias, e após esse período, os animais foram anestesiados e eutanasiados para coleta de sangue e pesagem de órgãos/tecidos, sendo eles: encéfalo, pulmões, coração, fígado, rins, baço, tecido adiposo retroperitoneal, tecido adiposo abdominal, útero e ovários. O peso dos órgãos foi normalizado pela tibia.

3.5 Análises bioquímicas

Após a administração de EECa (300 mg/kg ou 2000 mg/kg) ou salina (controle), os animais foram observados continuamente por 4 horas para sinais de toxicidade aguda. Sinais como inquietação, tremores, salivação ou outros indicadores de toxicidade foram monitorados. Diariamente, peso corporal, ingestão alimentar e ingestão hídrica dos animais foram monitorados, sem análises bioquímicas até o final do experimento. Após o período de observação de 14 dias, os animais foram anestesiados e eutanasiados. A coleta de sangue foi realizada para dosagem dos níveis de TGO (transaminase oxalacética) e TGP (transaminase pirúvica), creatinina e ureia. Esses dados foram comparados entre os grupos (controle, EECa300 e EECa2000) para avaliar se houve impacto da administração do extrato etanólico de *Croton argenteus* (EECa) nas funções hepáticas e renais, segundo os kits comerciais (Labtest, Minas Gerais, Brasil).

3.6 Análise estatística

Os dados foram expressos como média $\pm$ erro padrão da média (EPM). Diferenças estatisticamente significativas foram determinadas usando análise de variância unidirecional *ANOVA ONE WAY*, comparando as médias de três ou mais grupos independentes para determinar se existem diferenças significativas entre elas, avaliando o peso relativo dos órgãos/tecidos e análises bioquímicas (TGO/TGP, creatinina e ureia). E *ANOVA TWO WAY*, para inferir diferenças significativamente estatísticas sobre massa corporal, ingestão alimentar e ingestão hídrica, analisando dois fatores simultaneamente. As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando $p < 0,05$.

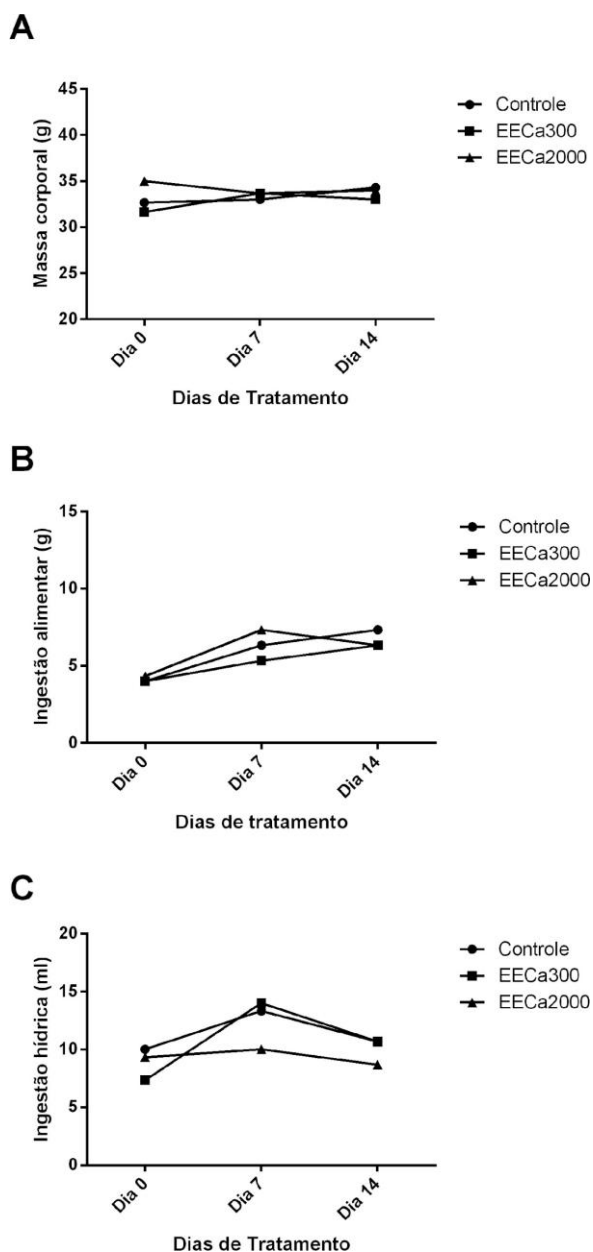
4. RESULTADOS

4.1. Efeito da toxicidade oral aguda do EECa nos parâmetros comportamentais e metabólicos (massa corporal, ingestão alimentar e hídrica)

A administração do EECa nas doses 300mg/kg e 2000mg/kg não ocasionou sinais e/ou alterações comportamentais relacionados a toxicidade, como inquietação, higiene, tremores, convulsões, dilatação pupilar, reflexo do pavilhão auricular, salivação ou lacrimejamento durante as 4 horas de observação. Após os 14 dias,

nenhuma mortalidade foi observada em todos os grupos experimentais. Não houve diferença significativa nos parâmetros de peso corporal, ingestão alimentar e ingestão hídrica nos grupos que receberam EECa em comparação ao grupo controle (figura 2).

Figura 2. Efeito do extrato etanólico das folhas de *Croton argenteus* na massa corporal (A), ingestão alimentar (B) e ingestão hídrica (C). Dados foram expressos como média $\pm$ EPM. Número de animais: 3.



4.2. Efeito da toxicidade oral aguda do EECa no peso de órgãos e tecidos

Após 14 dias, nenhum dos órgãos/tecidos (encéfalo, pulmão, coração, fígado, rins,

Órgãos	Controle	EECa300	EECa2000
Encéfalo(mg/mm)	22,7 ± 0,5	23,2 ± 1,1	22,7 ± 0,7
Pulmão (mg/mm)	10,5 ± 1,1	11,04 ± 0,75	11,3 ± 0,2
Coração (mg/mm)	9,7 ± 0,6	8,51 ± 1,01	8,6 ± 0,2
Fígado(mg/mm)	101,7±16,0	84,48 ± 6,1	92,7 ± 11,4
Rim (mg/mm)	24,6 ± 2,6	24,0 ± 1,5	23,2 ± 0,4
Baço (mg/mm)	6,5 ± 0,7	5,8 ± 0,7	6,7 ± 0,8
RETRO (mg/mm)	15,1 ± 7,9	22,6 ± 11,8	37,1 ± 11,9
ABDO (mg/mm)	26,4 ± 15,7	33,2 ± 15,2	60,3 ± 17,2
Útero(mg/mm)	12,0 ± 4,7	12,2 ± 1,1	8,2 ± 1,8
Ovários(mg/mm)	2,4 ± 0,4	2,7 ± 0,1	2,6 ± 0,3

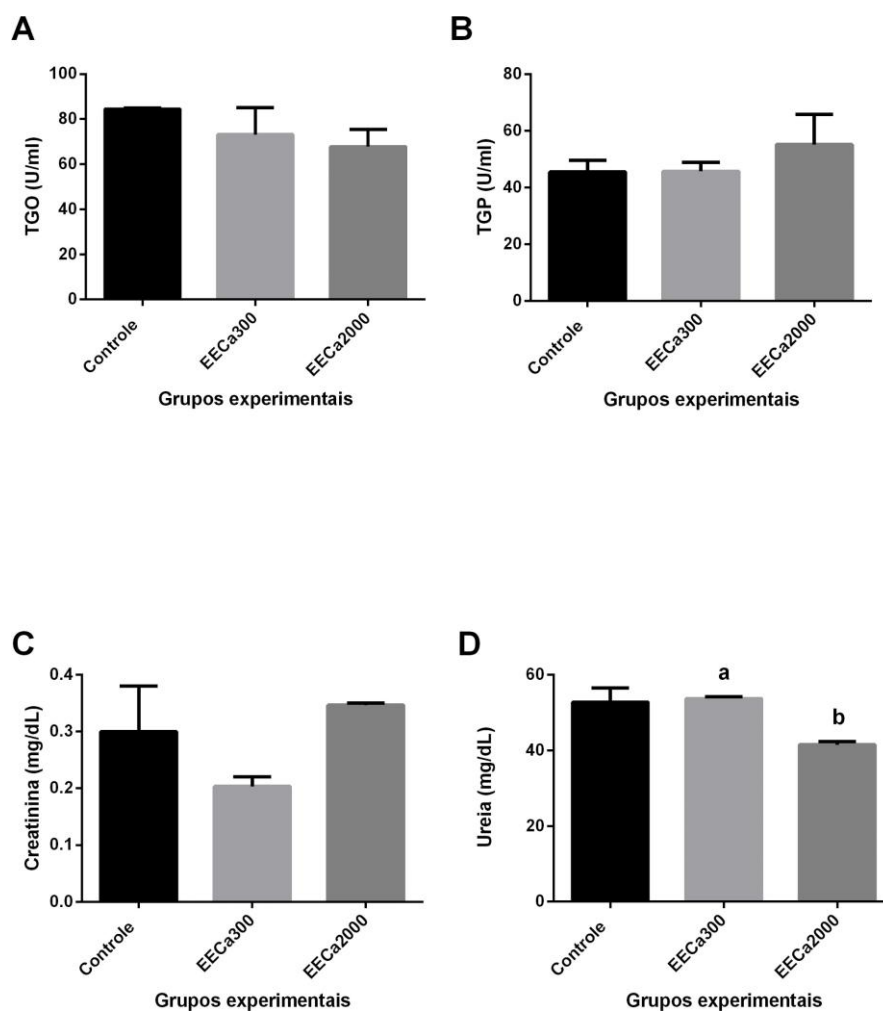
Tabela 1: Peso relativo dos órgãos/tecidos dos animais submetidos a toxicidade oral aguda do EECa por 14 dias. Os dados foram expressos em média ± EPM (n=3). Abreviaturas: RETRO – tecido adiposo retroperitoneal; ABDO – tecido adiposo abdominal.

baço, tecido adiposo retroperitoneal, tecido adiposo abdominal, útero e ovários) teve alteração em seu peso (tabela 1), como também quaisquer mudanças macroscópicas em comparação ao grupo controle.

4.3. Efeito da toxicidade oral aguda na função hepática e renal

Os resultados dos efeitos toxicológicos doEECa através das análises bioquímicas não revelaram alterações na atividade enzimática de TGO e TGP dos animais do grupo controle e dos que receberam a dose de 2000mg/kg de EECa(p>0,05; figura 3A e 3B). Os níveis séricos de creatinina permaneceram

Figura 3. Efeito da toxicidade oral aguda do EECa nos parâmetros de função renal e hepática.



inalterados, contudo, os níveis de ureia estavam diminuídos apenas no grupo EECa2000 em relação ao grupo controle ($p < 0,05$), e apresentou diferença significativa quando comparado as duas doses de EECa ($p < 0,05$).

5. DISCUSSÃO

No presente estudo, os animais que receberam as doses de 2.000mg/kg e 300mg/kg de EECa não tiveram diferença significativa em relação ao peso corporal, ingestão alimentar e ingestão hídrica, assim como nos órgãos avaliados, não demonstrando sinais de toxicidade. Esses resultados foram previamente constatados nos estudos de Cordeiro (2012), após administrar 2.000 mg/kg do extrato metanólico da casca de *Croton urucurana* por via oral. Contrapondo-se aos nossos resultados, Da Cruz et al., (2020) observou uma diminuição do peso corporal dos animais, administrando 2.000 mg/kg do óleo essencial de *Croton argyrophyllus*, por via oral. A ausência de alterações significativas no peso corporal dos camundongos tratados pode indicar que a exposição a substâncias potencialmente tóxicas foi baixa (Teo et al. 2002). Uma perda de peso corporal superior a 10% do peso inicial constitui um critério importante para indicar potenciais efeitos adversos decorrentes da exposição a determinadas substâncias (Raza et al., 2002), o que não foi observado em nosso estudo, reforçando a não toxicidade aguda do EECa. Além disso, não foi observado alterações na ingestão alimentar e hídrica em nosso estudo, corroborando com os achados de não toxicidade aguda, já que a redução do consumo alimentar e hídrico pode indicar que houve uma perturbação no metabolismo de carboidratos, proteínas ou lipídios (Wang, 2017; Klaassen, 2001).

Medicamentos ou extratos de plantas podem ocasionar lesão no fígado, resultando em aumentos nos níveis de TGO e TGP e um prejuízo na função hepática, sendo assim importante para a avaliação da toxicidade *in vivo* (Henneh, 2022; Limdi, Hyde, 2003). No presente trabalho, a administração aguda do extrato etanólico das folhas de *Croton argenteus* não induziu alteração significativa nas enzimas hepáticas TGO e TGP. Corroborando com nossos resultados, o extrato etanólico de *Croton blanchetianus* (Freitas et al., 2020) não demonstrou alterações nos níveis de TGO e TGP mesmo em dose elevada (2.000mg/kg). Os estudos de Cordeiro, (2012) não demonstraram alterações nos níveis de TGO e TGP mesmo administrando extrato metanólico da casca da *Croton urucurana* em doses elevadas (2.000mg/kg) por via oral. A importância dessas investigações reside no fato de que a utilização de agentes farmacológicos não ocasiona lesão hepática sem que haja repercussão significativa na atividade habitual dessas enzimas. (Vijayalakshmi et al., 2000). O TGP é considerada

um indicador mais sensível de hepatotoxicidade, uma vez que sua presença é quase exclusiva do fígado, enquanto a TGO é também identificada em concentrações elevadas em outros órgãos, como rins, pulmões e coração, o que pode resultar em interpretações complexas em contextos clínicos. (AL-HABORI et al., 2002). Mesmo com os valores dentro da normalidade no presente estudo, medicamentos ou extratos hepatotóxicos podem lesar o fígado, resultando em aumentos nos níveis de TGO e TGP, conforme observado por Henneh (2022) e Limdi & Hyde (2003). A invariabilidade dos níveis das transaminases séricas nos grupos EECa 300 e EECa 2.000 mostraram que uma estabilidade nesses valores, reflete na integridade da membrana celular, uma vez que a variação dos níveis de TGO evidencia a destruição hepática.

A utilidade de alguns marcadores para avaliar a função renal são importantes, pois visam alterações na taxa de filtração glomerular, monitoramento da progressão de doenças renais, na avaliação da eficácia de tratamentos e na detecção de possíveis efeitos tóxicos de substâncias (Bastos, 2011). Nossos achados demonstraram que não houve diferença significativa nos níveis de creatinina nos grupos tratados e controle, entretanto, houve diminuição estatisticamente significativa nos níveis de ureia na dose de 2.000mg/kg de EECa, quando comparado ao grupo 300mg/kg e controle. Assim como em nosso estudo, foi reportado no trabalho de Silva et al., (2020), níveis de creatinina sem alterações, contudo a ureia estava aumentada, após administrar o extrato etanólico da casca de *Croton heliotropiifolius* na dose de 2.000 mg/kg. Já no estudo de Cordeiro (2012), não foram relatadas alterações nos níveis de creatinina e ureia após a administração do extrato metanólico da casca da *Croton urucurana* na dose de 2.000mg/kg. Possivelmente isso se deve pela diferença da parte da planta utilizada na avaliação da toxicidade oral aguda. A principal utilidade clínica da ureia é sua determinação junto com a creatinina. A ureia é um indicador importante na avaliação da função renal. Embora os níveis de ureia estejam abaixo da faixa normal, no presente estudo, não houve comprometimento refletindo impacto significativo na função renal, já que a função hepática encontra-se normal.

Este foi o primeiro trabalho a avaliar a toxicidade oral aguda utilizando o extrato das folhas de *Croton argenteus*, demonstrando que seu possível uso como fitoterápico é seguro e não apresenta toxicidade, tendo sua dose letal acima de 2.000mg/kg.

Estudos de toxicidade de doses repetidas são necessários para demonstrar a segurança da administração do EECa de forma mais crônica.

6. CONCLUSÃO

O estudo demonstrou que não houve sinais de toxicidade do extrato etanólico das folhas de *Croton argenteus*, demonstrando ser seguro para investigações de possíveis efeitos biológicos benéficos.

REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE YE, Danelon M, Salvador MJ, Rueda RYR, Gontijo AVL, Delbem ACB, Koga-Ito CY, Brighenti FL. Avaliação de um enxaguatório bucal contendo óleo essencial de *Croton doctoris* S. Moore contra biofilmes polimicrobianos. Rev. odontol. UNESP, vol.46, Especial, p.0, 2017.

AL-HABORI, M.; AL-AGHBARI, A.; AL-MAMARY, M.; BAKER, M. Toxicological evaluation of *Catha edulis* leaves: a long term feeding experiment in animals. Journal of Ethnopharmacology, v. 83, 2002. p. 209-217.

BASTOS, M.G. . Biomarcadores na nefrologia: Biomarcadores de Função Renal na DRC. São Paulo: Hugo Abensur, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Práticas integrativas e complementares: plantas medicinais e fitoterapia na Atenção Básica/Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. – Brasília : Ministério da Saúde, 2012.

BRUNING, M. C. R.; MOSEGUI, G. B. G.; VIANNA, C. M. M. A utilização da fitoterapia e de plantas medicinais em unidades básicas de saúde nos municípios de Cascavel e Foz do Iguaçu - Paraná: a visão dos profissionais de saúde. Ciência & Saúde Coletiva, v. 17, n. 10, p. 2675-2685, 2012.

CORDEIRO, K. W. Atividade da casca da *Croton urucurana* na prevenção e cura de úlcera gástrica induzida em ratos. 2012. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal da Grande Dourados, Faculdade de Ciências da Saúde, Dourados, 2012.

COSTA, J. G. M.; RODRIGUES, F. F. G.; ANGÉLICO, E. C.; PEREIRA, C. K. B.; DE SOUZA, E. O.; CALDAS, G. F. R.; SILVA, M. R.; SANTOS, N. K. A.; MOTA, M. L.; DOS SANTOS, P. F. Composição química e avaliação da atividade antibacteriana e toxicidade do óleo essencial de *Croton zehntneri* (variedade Estragol). Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy 18(4): 583-586, Out./Dez. 2008.

COSTA, A. C. V. et al. Perfil químico e atividade antibacteriana in vitro e em matriz alimentar do óleo essencial de *Croton rhamnifolioides* Pax & Hoffm., 2011.

CZELUSNIAK, K. E. et al. Farmacobotânica, fitoquímica e farmacologia do Guaco: revisão considerando *Mikania glomerata* Sprengel e *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker. Revista Brasileira de Plantas Medicinais, v. 14, n. 2, p. 400-409, 2012.

DA CRUZ, Rômulo Carlos Dantas et al. Phytochemical and toxicological evaluation of a blend of essential oils of *Croton* species on *Aedes aegypti* and *Mus musculus*. South African Journal of Botany, v. 132, p. 188-195, 2020.

DORATO, M. A.; BUCKLEY, L. A. Toxicology in the Drug Discovery and Development Process. Current Protocols in Pharmacology, v. 32, p. 10.3.1-10.3.35, 2006.

FERREIRA, E. E; CARVALHO, E. S; SANTANNA, C. C. A importância do uso de fitoterápicos como prática alternativa ou complementar na atenção básica: revisão da literatura. Research, Society And Development, v. 11, n. 1, p. 1-15, 11 jan. 2022.

FIRMO, W. C. A. et al. Contexto histórico, uso popular e concepção científica sobre plantas medicinais. Cadernos de Pesquisa, 2012.

FREITAS, Anderson Felipe Soares et al. Toxicity assessment and antinociceptive activity of an ethanolic extract from *Croton blanchetianus* (Euphorbiaceae) leaves. *South African Journal of Botany*, v. 133, p. 30-39, 2020.

GUTIERREZ, G. Associação Brasileira das Empresas do Setor Fitoterápico, Suplemento Alimentar e de Promoção da Saúde. Curitiba: Abifisa, p. 5, 2022.

HENNEH, T. I.; AHLIDJA, W.; ALAKE, J. et al. Acute toxicity profile and gastroprotective potential of ethanolic leaf extract of *Manihot esculenta* Crantz. *Scientific African*, v. 17, Article ID 1284, 2022.

KLASSEN, C. D. Principles of Toxicology. In: CASARETT, L. J.; DOULL, J. (Eds.). Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons, 5th ed. New York: McGraw-Hill, P. 13, 2001.

KNOP, L. B.; MARIA, D. A. Métodos Substitutivos e a Experimentação Animal: um Enfoque Inovador. *Revista da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório*, v. 4, n. 2, p. 101-114, 2016.

LIMDI, K. J.; HYDE, G. M. Evaluation of abnormal liver function tests. *Postgraduate Medical Journal*, v. 79, n. 932, p. 307-312, 2003.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. de A. Plantas Medicinais no Brasil: Nativas e Exóticas, 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008.

MAGALHÃES, C. R. I. et al. Potencial inseticida de óleos essenciais sobre *Tribolium castaneum* em milho armazenado. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, v. 17, n. 4, p. 1150-1158, 2015.

PALMEIRA JUNIOR, S. F.; ALVES, F. S. M.; VIEIRA, L. F. A.; CONSERVA, L. M.; LEMOS, R. P. L. Constituintes químicos das folhas de *Croton sellowii* (Euphorbiaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 16, n. 3, p. 397-402, 2006.

RAZA M, AL-SHABANAH AO, EL-HADIYAH TM, AL-MAJED AA. Effect of prolonged vigabatrin treatment on haematological and biochemical parameters in plasma, liver and kidney of Swiss albino mice. *Scientia Pharmaceutica*, v. 70, p. 135-145, 2002.

SILVA, P. S. S. Atuação dos aleloquímicos no organismo vegetal e formas de utilização da alelopatia na agronomia. *Biotemas*, v. 25, n. 3, p. 65-74, set. 2012. ISSN 2175-7925.

SILVA, Willams Alves da. Perfil fitoquímico e atividade toxicológica do extrato etanólico da casca do caule de *Croton heliotropiifolius* Kunth (Euphobiaceae). 2020. Dissertação (Mestrado em Morfotecnologia) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2020.

SISODIA, S.; SIDDIQUI, M.B. Allelopathic effect by aqueous extracts of different parts of *Croton bonplandianum* Baill. on some crop and weed plants. *Journal of Agricultural Extension and Rural Development* .Vol. 2(1). pp. 022-028, January, 2010. ISSN: 2141-2170.

TEO, S. D.; STIRLING, S.; THOMAS, A.; KIORPES, A.; VIKRAM, K. A 90-day oral gavage toxicity study of D-methylphenidate and D, L methylphenidate in Sprague-dawley rats. *Toxicology*, v. 179, p. 183-196, 2002.

TORRES, M. C. M. Estudo Químico e Biológico de *Croton regelianus* Var. *matosii* (Euphorbiaceae). Dissertação (Mestrado em Química Orgânica) - Universidade Federal do Ceará, 2008.

VILLALOBOS, N. *Croton argenteus* - Flora mundial. Planet.org, 2014. Disponível em: <https://identify.plantnet.org/pt-br/k-world-flora/observations/1015458477>. Acesso em: 26 jun. 2024.

VIJAYALAKSHMI, T.; MUTHULAKSHMI, V.; SACHDANANDAM, P. Toxic studies on biochemical parameters carried out in rats with Serankottai nei, a siddha drug-milk extract of *Semecarpus anacardium* nut. *Journal of Ethnopharmacology*, v.69, p. 9-15, 2000.

WANG, J. et al. Safety assessment of vitacoxib: acute and 90-day sub-chronic oral toxicity studies. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, v. 86, p. 49-58, 2017.

XU, W. H.; LIU, W. Y.; LIANG, Q. Chemical constituents from *Croton* species and their biological activities. *Molecules*, v. 23, n. 9, art. 2333, 2018. DOI: 10.3390/molecules23092333.



Universidade Federal de Pernambuco

Centro de Biociências
 Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
 50670-420 / Recife – PE – Brasil
 Fones: 2126 8842
 ceua@ufpe.br

Recife, 01 de novembro de 2023

Ofício nº89 /23

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE Para:

Prof. Eduardo Carvalho Lira,

Departamento de Fisiologia e Farmacologia/CB

Processo nº 0080/2023

Certificamos que a proposta intitulada “**Avaliação da toxicidade oral aguda do Extrato etanólico das folhas de *Croton Argenteus* (euphorbiaceae) contra *aedes aegypti* (diptera: culicidae)**”. Registrado com o nº 0080/2023 sob a responsabilidade de **Prof. Eduardo Carvalho Lira**, o que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE), em reunião de 26/09/2023

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	01/11/2023 a 31/12/2028
Espécie/linhagem/raça	Camundongos heterogêneos Swiss (Mus musculus)
Nº de animais	24 animais
Peso/Idade	30 - 33 g / 8-12 semanas
Sexo	Fêmea (24)
Origem: Biotério de Criação	Biotério do Departamento de Fisiologia e Farmacologia UFPE
Destino: Biotério de Experimentação	Biotério do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da UFPE

Atenciosamente


 Prof. Sebastião R. F. Silva
 Presidente CEUA/UFPE
 SIAPE 2345691