

IDENTIFICAÇÃO BOTÂNICA E TOXICIDADE *IN VITRO* E *IN VIVO* DA FRAÇÃO DICLOROMETÂNICA DE FOLHAS DE *ACCA SELLOWIANA* (BERG.) BURRET¹

Gabriele Rizzato², Helissara Diefenthaler³, Juliana Roman⁴, Silvane Souza Roman⁵,
Tauane Galina⁶, Elisabete Maria Zanin⁷

¹ Projeto de Iniciação Científica da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Campus de Erechim

² Aluna do Curso de Graduação em Medicina da URI Erechim, rizzattogabriele@gmail.com - Erechim/RS/Brasil.

³ Professora Orientadora, Doutora em Nanotecnologia Farmacêutica, Curso de Farmácia URI Erechim, helissara@uricer.edu.br - Erechim/RS/Brasil.

⁴ Professora Orientadora, Mestre em Ciências Farmacêuticas, Curso de Farmácia URI Erechim, juliana@uricer.edu.br - Erechim/RS/Brasil.

⁵ Professora Orientadora, Doutora em Bioquímica Toxicológica, Curso de Medicina URI Erechim, roman@uricer.edu.br - Erechim/RS/Brasil

⁶ Aluna do Curso de Graduação em Farmácia da URI Erechim, 097704@aluno.uricer.edu.br - Erechim/RS/Brasil

⁷ Professora Orientadora, Doutora em Ecologia e Recursos Naturais, Departamento de Ciências Biológicas URI Erechim, emz@uricer.edu.br - Erechim/RS/Brasil.

Identificação botânica e toxicidade *in vitro* e *in vivo* da fração diclorometânica de folhas de *Acca sellowiana* (Berg.) Burret

Resumo

Apesar de o Brasil ser um exemplo em riqueza de biodiversidade, existem muitas plantas nativas brasileiras que não apresentam estudos completos e que são utilizadas, de forma medicinal, sem respaldo científico quanto à eficácia e segurança. Nesse sentido, levando em consideração a possibilidade de obtenção de fármacos utilizando matéria-prima vegetal e o potencial farmacológico da *Acca sellowiana*, este trabalho tem como objetivo a identificação botânica da *Acca sellowiana* e a toxicidade em modelos animais da fração de diclorometano. Os ensaios realizados com *Artemia salina* indicaram toxicidade. Além disso, os testes em camundongos promoveram sinais clínicos visíveis de toxicidade ao longo do experimento. A análise histológica não apresentou alterações nos tecidos hepático, renal e esplênico. Mediante este estudo, conclui-se que a fração diclorometano de *Acca sellowiana*, conhecida popularmente como goiabeira serrana, apresenta toxicidade nos modelos biológicos a qual foi observada nos experimentos realizados frente aos náuplios de *Artemia salina* e camundongos.

Introdução

O Brasil é exemplo em riqueza de biodiversidade. Entretanto, existe uma enorme lacuna

entre a oferta de plantas e as poucas pesquisas realizadas, uma vez que grande parte das plantas nativas brasileiras ainda não apresentam estudos completos e muitas espécies são usadas sem respaldo científico quanto à eficácia e segurança. (ELISABETSKY e COSTA-CAMPOS, 1996).

A *Acca selowiana* é cultivada em vários países, em especial o Brasil, Argentina, Paraguai, Uruguai, além da Nova Zelândia e Colômbia, sendo que estes dois últimos são os seus maiores produtores.

Hoje, todo o país está sofrendo com a escassez das plantas nativas de cada região, contudo, a região sul apresenta-se como um exemplo de riqueza em diversidade. Inúmeras espécies com sabor e características organolépticas se adaptam bem ao clima mais ameno e acabam por ter um bom desenvolvimento, em especial o gênero *Acca sellowiana*, que pertence à família das *Myrtaceae*, uma das famílias que mais se destaca por seus aspectos medicinais e de cura no Rio Grande do Sul.

A *Acca sellowiana*, por apresentar um alto potencial frutífero, é uma alternativa de renda para a agricultura familiar. Além disso, é apontada como uma planta ornamental e, desta forma, usada para reflorestamento nas margens de rios e reservatórios hidroelétricos.

A utilização de plantas com fins medicinais para tratamento, cura e prevenção de doenças é uma das mais antigas formas de prática medicinal da humanidade. (MOTTA et al., 2013). As plantas possuem uma variedade de compostos químicos em suas folhas, raízes e flores com propriedades altamente atrativas e com potencial farmacológico. (BONTEMPO et al., 2007).

É inegável o quanto o reino vegetal tem contribuído para o desenvolvimento da humanidade. Uma das grandes contribuições deste reino para o homem está, sem dúvida, no uso de plantas como fontes terapêuticas. Estas plantas são utilizadas como agentes naturais de fármacos e, muitas vezes, proporcionam a obtenção de novas substâncias devido à variedade de constituintes químicos que apresentam. (NOLDIN et al., 2003).

Plantas medicinais podem desencadear efeitos indesejáveis devido a seus próprios constituintes, por presença de contaminantes químicos ou biológicos, interações com outros medicamentos ou alimentos, ou, ainda, relacionados a características intrínsecas ao paciente (idade, sexo, condições fisiológicas, características genéticas). (ALONSO-CASTRO et al., 2017). Os principais efeitos tóxicos são: náuseas e vômitos, dermatite, queimadura de pele, gastrite, dor abdominal, hepatotoxicidade, diarreia severa, aborto, cardio e nefrotoxicidade, entorpecimento, tontura e alucinações. (ALONSO-CASTRO et al., 2017). Outro risco associado ao uso das plantas medicinais é o uso do etanol como

solvente, podendo trazer riscos à saúde quando utilizados em crianças, gestantes, lactantes, pacientes com distúrbios hepáticos e dependentes em álcool. (BALBINO; DIAS, 2010).

Ensaio de toxicidade revelam o tempo e/ou a concentração em que o material em estudo é potencialmente prejudicial, pois para qualquer produto o contato com a membrana ou sistema biológico pode não produzir um efeito adverso se a concentração do produto for baixa, ou o tempo de contato for insuficiente. Importante destacar que concentração e tempo de exposição estão diretamente relacionados. (FONSECA, 1991).

Desta forma, os testes de toxicidade são elaborados com o objetivo de avaliar ou prever os efeitos tóxicos nos sistemas biológicos e dimensionar a toxicidade relativa das substâncias. (FORBES; FORBES, 1994).

O teste de toxicidade contra a *Artemia salina* (TAS) é um ensaio biológico considerado como uma das ferramentas mais utilizadas para a avaliação preliminar de toxicidade. Desta forma, *A. salina* tem sido usada como um organismo alvo para detectar compostos bioativos em extratos de plantas. (ALVES et al., 2000). Além disso, este microcrustáceo é utilizado em estudos fitoquímicos frente a extratos de plantas e seus derivados, sempre tentando buscar substâncias bioativas e sugerindo um grande potencial com atividades biológicas.

A ideia de utilização de animais em pesquisas surgiu, principalmente, por questões econômicas. Além disso, mesmo com o progresso de métodos alternativos nos últimos anos (estudos *in vitro*, culturas de células, etc.), os modelos animais ainda apresentam como principal vantagem o fornecimento de informações sobre o organismo como um todo, fato que não é conseguido com outros métodos. (HEYWOOD, 1987; RIBEIRO; CAMPOS; TIRAPGUI, 1995). Sendo assim, os camundongos são uns dos animais mais utilizados cientificamente, pois, além de ser de fácil manuseio, produz resultados rápidos e de grande valia para a ciência.

Levando em consideração a possibilidade de obtenção de fármacos utilizando matéria-prima vegetal, e como a *Acca sellowiana* vem sendo investigada com relação à presença de propriedades farmacológicas, este trabalho teve como objetivo a identificação botânica da *Acca sellowiana* e a toxicidade em modelos animais da fração de diclorometano.

Metodologia

A pesquisa passou pela aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da URI Erechim, sob o número 61.

As folhas de *Acca sellowianna* foram coletadas no período de primavera, no município de Mato Castelhana, no estado do Rio Grande do Sul. A identificação da espécie foi feita por um botânico responsável pelo Herbário Padre Balduino Rambo da URI Erechim, sob número HPBR 12.281, e uma amostra original da planta foi deixado no local.

Para a obtenção do extrato, o material vegetal foi seco em estufa de circulação de ar e mantido a temperatura de 40°C até que apresentasse peso constante. As folhas secas foram trituradas em moinho de facas e o método de maceração de acordo com Brasil, (2019); e Prista et al., (1990) e, desta forma, para a extração dos compostos foi determinado uma proporção de 1:10 (m/v), empregado como solvente uma solução etanol: água na proporção (70:30, v/v).

Deste modo, as folhas de *Acca sellowianna*, durante 14 dias (período total), ficaram em maceração, sempre com agitação diária do solvente com a mistura das folhas. Logo após ter passado os primeiros 7 dias, a diluição foi filtrada em papel filtro e o resíduo foi colocado novamente junto com o novo solvente, para assim fazer a exaustão completa do material vegetal e, posteriormente, foi filtrada novamente. O filtrado foi levado ao evaporador rotativo, sob pressão reduzida à temperatura de 55°C até eliminação total da fração orgânica do líquido extrator, em seguida, foi congelado a -80°C e após, liofilizado, resultando no extrato bruto seco, que foi armazenado em frasco de vidro e sob refrigeração ($\pm 8^\circ\text{C}$). (RIGO et al., 2019).

Utilizando-se do extrato bruto seco obtido, foi realizado o processo de particionamento/fracionamento, que tem como objetivo separar as frações pelos diferentes graus de polaridade. (RIGO et al., 2019).

Para o fracionamento foi utilizada a técnica de partição líquido/líquido, que explora a imiscibilidade de alguns solventes orgânicos com água. Para isso, utiliza-se o funil de separação.

Aplicou-se o solvente diclorometano, para extrair a maior quantidade de constituintes da planta, sendo que este solvente é de caráter polar. Foram pesados 31g do extrato e foram suspensas em 250 mL de água destilada e, em seguida, transferido para um funil de separação. Para a extração total dos compostos, foram adicionados ao resíduo aquoso um total de 1000 mL do diclorometano, onde foi armazenada em vidro âmbar.

A fração foi então levada a um evaporador rotatório, sendo que seu ponto de ebulição é de 39,6°C. Para a eliminação total do solvente a fração foi separada em placas de Petry, as quais foram levadas a uma estufa com circulação de ar. Contudo, a fração ainda não estava seca por completa, indicando ter resíduo de água, resultante da separação

anteriormente feita em funil de separação. Sendo assim, para ter um extrato totalmente seco, foi necessário levar as placas até um congelador com temperatura de aproximadamente -80°C e após liofilizadas.

A realização do experimento com *Artemia salina* foi baseado na metodologia descrita por Meyer et al. (1982) com algumas modificações.

Posteriormente à realização do ensaio, calculou-se a porcentagem da mortalidade dos náuplios de *Artemia salina* mediante a DL50, sendo que a mesma é feita a partir de uma regressão linear entre a concentração que continha o extrato da planta e os animais mortos.

Para o teste de toxicidade aguda em camundongos, utilizou-se camundongos da raça Swiss machos, com aproximadamente 60 dias de idade, com um peso entre 30 e 35 gramas, criados no Biotério Central da URI Campus de Erechim. Condições como luz, água e temperatura foram controlados durante todo o experimento.

Para a elaboração do experimento, as doses foram fundamentadas no ensaio da toxicidade frente os náuplios de *Artemia salina*. Para tanto, foram utilizados 10 animais, sendo que foram divididos em 2 grupos, o grupo controle e grupo da fração diclorometano. O grupo controle recebeu somente água destilada em uma única dose (aguda) de aproximadamente 10 mL/Kg, via gavagem (oral). Já no grupo experimental (fração diclorometano) foi administrado uma dose única (aguda) na dose de 500 mg/kg, via gavagem (oral).

Ao longo de 15 dias, foram analisados os sinais clínicos, como peso corporal, consumo de água e ração. As observações clínicas comportamentais foram de acordo com Malone e Robichaud, (1983) no tempo de 15 min, 30 min, 1 h, 2 h, 4 h e 8 h após a administração aguda e a partir de então, diariamente, até o décimo quinto dia. Sinais de toxicidade, a época do seu aparecimento, a intensidade, a duração e a progressão dos mesmos foram anotados e tabulados com ajuda de uma escala de 0 a 3 (ausente, pouco, moderado, intenso), para posterior análise estatística. Por fim, no décimo quinto dia, os animais foram eutanasiados com dose letal em câmara de CO_2 . A seguir, foi realizado a incisão no abdômen dos animais controles e experimentais para a coleta, análise macroscópica, e para a realização do exame histopatológico do fígado, rins e baço.

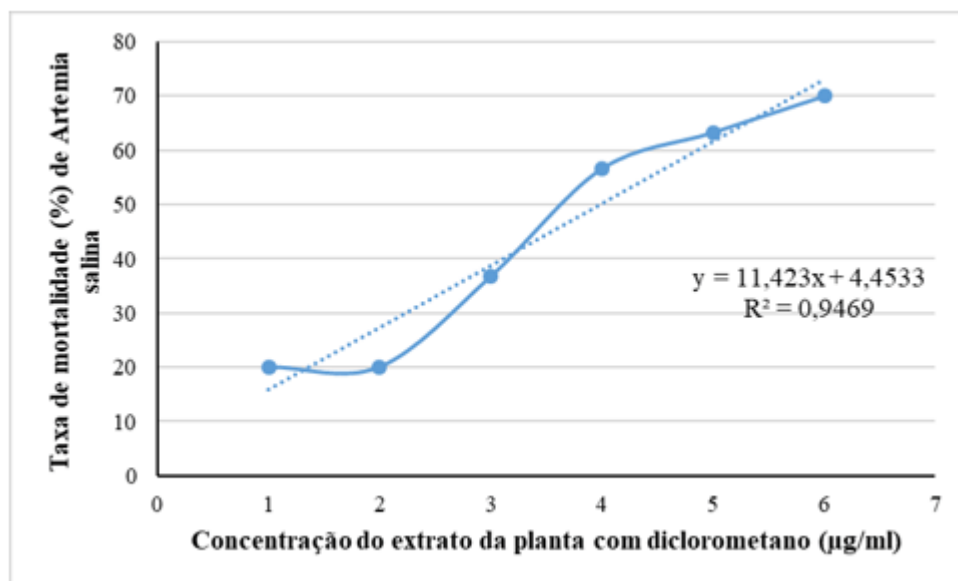
Os resultados obtidos da toxicidade aguda foram analisados em programa estatístico bioestat (versão 5.3) utilizando-se o teste T. Foram considerados estatisticamente significativos resultados com valores de $p < 0,05$.

Resultados

A Figura 1 representa os resultados do ensaio realizado com *Artemia salina*. Neste experimento pode-se notar que em todas as concentrações utilizadas ocorreram mortes, porém, é visto com maior intensidade a partir da concentração 6 µg/ml (57%), indicando, assim, que possui alta toxicidade, pois valores de DL50 menores de 1000 µg/mL indicam toxicidade da substância estudada. (MEYER et al.,1982).

O cálculo da DL50 obtido a partir da equação da reta gerada com os dados das concentrações utilizadas foi de 5,98 µg/ml, comprovando a toxicidade. Além disso, observa-se que conforme a concentração da fração diclorometano é aumentada, mais mortes ocorrem dos náuplios.

Figura 1. Taxa de mortalidade da *Artemia salina* em diferentes concentrações do extrato goiaba serrana com a fração diclorometano.



Fonte: o autor (2020).

No experimento em camundongos machos, o tratamento de 500 mg/kg do extrato da planta em estudo com administração aguda (dose única), via gavagem (oral), inicialmente não provocou morte. Sendo assim, os testes de toxicidade aguda realizados, mostram que ao longo dos 15 dias de experimento não ocorreu nenhuma morte logo após a exposição aguda dos animais ao extrato da planta, mas promoveu sinais clínicos visíveis de toxicidade ao longo do experimento.

Assim sendo, notou-se alterações comportamentais nos animais tratados com o extrato da planta (grupo experimental) quando comparados ao grupo controle, indicando que possui uma leve toxicidade, interferindo nos reflexos e na coordenação motora, além de influenciar no Sistema Nervoso Autônomo promovendo piloereção. Resultados estatisticamente significativos ($p < 0,05$) com relação ao período observado e a observação clínica (ganho de peso corporal, consumo de ração e de água) estão representados nas tabelas 2, 3 e 4.

A tabela 1 relaciona as alterações comportamentais e sinais clínicos dos animais em estudo. O eriçamento de pelos (piloereção) foi significativo nos períodos de 2, 4 e 8h no grupo experimental em relação ao grupo controle. Notou-se, também, que o grupo experimental teve o escore 1, indicando pouco sinal clínico, mas que mostra que tem uma leve toxicidade, fato que pode ser explicado por ter sido utilizado uma dose relativamente baixa da fração diclorometano.

Tabela 1. Número de animais controles e experimentais apresentando alterações clínicas referente aos escores de 0 a 3 (0 ausente; 1 pouco; 2 moderado; 3 intenso) ao longo de 15 dias de experimento.

Parâmetros	Controle				Experimental				Valor de p
	0	1	2	3	0	1	2	3	
Escore	0	1	2	3	0	1	2	3	-
Eriçamento de pelos 2h	0	-	-	-	-	5	-	-	0,0053
Eriçamento de pelos 4h	0	-	-	-	-	5	-	-	0,0053
Eriçamento de pelos 8h	0	-	-	-	-	5	-	-	0,0053

* Diferença significativa em relação ao grupo controle.

Fonte: o autor (2020).

A partir de dados obtidos em relação ao ganho de peso dos animais, notou-se que ao longo do experimento ocorreu uma redução significativa do terceiro ao sexto dia, quando comparado o grupo experimental ao grupo controle, indicando que o extrato produz um efeito quase que imediato após a administração.

Tabela 2. Ganho de peso corporal (g) dos grupos controle e experimental ao longo de 15 dias de experimento.

Dias / Grupos	0	0 - 9	3 - 6	9 - 14	0 - 14	14
Controle	39,66 ± 2,98	-1,60 ± 2,12	16,86 ± 1,72	0,58 ± 1,29	-1,2 ± 1,69	38,63 ± 2,90
Experimental	39,56 ± 2,05	-1,72 ± 1,17	-1,68 ± 1,98*	0,87 ± 0,18	-1,03 ± 1,05	38,71 ± 1,54
Valor de p	0,9523	0,9189	< 0,0001	0,6464	0,9931	0,9600

* Diferença significativa em relação ao grupo controle.

Fonte: o autor (2020).

No estudo em questão, quando avaliados os hábitos fisiológicos diários, sendo o consumo de água e ração ao longo dos 15 dias do experimento, com a administração aguda do extrato da planta na dose de 500 mg/kg via gavagem (oral), promoveu uma redução significativa no consumo de ração, conforme mostra a tabela 3. Já para o consumo de água, ocorreu um aumento importante no consumo de água nos primeiros dias de experimento. Entretanto, ao longo do experimento ocorreu uma redução neste consumo no grupo experimental, quando comparado ao grupo controle, embora não significativa, fortalecendo, desta forma, a hipótese de que o extrato da planta nesta concentração possui uma baixa toxicidade, segundo a tabela 4.

Tabela 3. Consumo da ração (g) dos grupos controle e experimental ao longo de 15 dias de experimento.

Dias / Grupos	0 - 3	0 - 9	3 - 6	9 - 14	14	0 - 14
Controle	15,76±0,62	12,56 ±2,22	14,12 ± 2,51	11,31±1,31	4,58 ± 0,13	58,35 ± 6,54
Experimental	15,90±1,75	9,74 ± 0,43 *	13,37 ± 0,46	10,91±0,46	4,40 ± 0,18	54,33 ± 2,38
Valor de p	0,8761	0,0496	0,5475	0,5392	0,1270	0,2329

* Diferença significativa em relação ao grupo controle.

Fonte: o autor (2020).

Tabela 4. Consumo da água (g) dos grupos controle e experimental ao longo de 15 dias de experimento.

Dias / Grupos	0 - 3	0 - 9	3 - 6	9 - 14	0 - 14
Controle	21,54 ± 0,58	18,59 ± 5,42	40,97 ± 28,28	27,22 ± 1,40	106,62 ± 28,90
Experimental	20,90 ± 2,51	18,09 ± 10,57	22,19 ± 0,39	34,61 ± 4,91*	90,91 ± 4,68
Valor de p	0,6076	0,9273	0,2118	0,0318	0,2962

* Diferença significativa em relação ao grupo controle.

Fonte: o autor (2020).

A análise histológica do fígado dos animais dos grupos controle e experimental não apresentaram alterações nos cordões de hepatócitos ao redor da veia centro lobular, os quais se mostraram com arquitetura celular normal. Da mesma forma, o tecido renal dos animais dos grupos controle e experimental não apresentaram alterações glomerulares e nos túbulos contorcidos distal e proximal, se mantendo com a arquitetura normal. Além disso, o tecido esplênico dos animais dos grupos controle e experimental não apresentaram alterações nas polpas vermelhas e brancas, se mantendo com histologia normal.

Discussão

De acordo com a literatura, o ensaio frente a *Artemia salina* é visto como um bioensaio de extrema importância para estudos que contêm extratos e produtos com origem vegetal com um grande potencial de atividade biológica.

O ensaio de toxicidade preliminar, utilizando o microcrustáceo *Artemia salina*, é um dos métodos que são associados ao uso de animais e empregado para triagem de substâncias com origem vegetal e que tenha toxicidade. Ele é considerado um bioindicador devido ao seu reduzido grau de tolerância e nítida resposta a pequenas variações ambientais. (BAROSA et al., 2003). Esse teste é viável devido à semelhança dos limites dos efeitos tóxicos produzidos em *Artemia salina* com aqueles produzidos no ser humano. (KLASSEN; WATKINS, 2001).

A toxicidade aguda está relacionada a exposição a uma substância química por menos de 24 horas, mesmo sendo realizada apenas uma administração. (KLASSEN; WATKINS, 2012). Segundo Valadares (2006), os testes que avaliam a toxicidade aguda são utilizados para classificar e rotular apropriadamente as substâncias de acordo com o seu potencial

de toxicidade ou letalidade.

Para Brito (1994), dentro de uma avaliação estimativa das propriedades tóxicas de uma substância química, a determinação da toxicidade pode ser efetuada após a obtenção de dados de toxicidade aguda em doses simples ou repetidas.

Segundo Malone e Robichaud (1983), o *screening* hipocrático fornece uma estimativa geral da toxicidade da substância sobre o estado consciente e a disposição geral, atividade e coordenação do sistema motor, reflexos e atividades sobre o sistema nervoso central e sobre o sistema nervoso autônomo.

Já para Lúcio et al., (2000) o *screening* hipocrático é um ensaio bastante útil e comumente usado na triagem preliminar de plantas para determinar atividades toxicológicas e farmacológicas.

Os sinais clínicos de toxicidade são ensaios bastante úteis e comumente usados na triagem preliminar de plantas para detectar atividades farmacológicas e toxicológicas. (LUCIO et al., 2000). No caso da toxicidade aguda, os sinais devem aparecer nas primeiras 24 horas após a administração. (OLIVEIRA, 2009).

Raza et al., e Teo et al. (2002), propuseram que a alteração do peso corporal é um parâmetro utilizado nos ensaios toxicológicos como um indicador dos efeitos adversos de drogas e substâncias químicas, sendo importante que os animais sobreviventes não percam mais do que 10% do seu peso corporal inicial. (KLAASSEN; WATKINS, 2012). A redução na massa corporal nos animais experimentais pode estar relacionada diretamente a sinais de toxicidade aguda. (RAZA et al., 2002; TEO et al., 2002).

As alterações no peso corporal de animais tratados com diversas substâncias têm sido utilizadas como indicadores de toxicidade. (OLIVEIRA et al., 2013). A partir disso, muitos protocolos recomendam a necessidade de avaliar os indícios de toxicidade pela presença de perda de peso corporal, acompanhada ou não de redução do consumo de ração e água. (LOUZADA et al., 2008).

A variação na massa corporal e o consumo de água e de ração são dados de fácil obtenção e são também variáveis de extrema importância no que se refere à toxicidade. Alterações nesses parâmetros de modo diferente do esperado podem ser sinais do desenvolvimento de doenças e alterações tanto centrais como periféricas. (SUCKOW et al., 2006).

Segundo Mukinda e Eagles (2010), a análise do consumo de alimentos e água em uma experimentação animal é importante para investigar a segurança das substâncias

estudadas com intuito terapêutico, pois além da redução do desenvolvimento ponderal, a toxicidade sistêmica se manifesta através da redução destes consumos. Desta forma, as análises de controle de consumo de água e ração são importantes indicadores de toxicidade. (TEIXEIRA et al., 2008)

As plantas medicinais são frequentemente usadas como recurso terapêutico em doenças, pois normalmente são consideradas pela medicina popular desprovidas de toxicidade. Porém, como para muitas plantas não existem estudos científicos para embasamento, assim como os medicamentos convencionais, as plantas medicinais possuem em sua composição química substâncias que são causadoras dos efeitos biológicos em conformidade com sua indicação.

Inúmeros fatores podem estar relacionados com a toxicidade das plantas medicinais, indo desde a sua composição química, passando por influências biogeográficas, o preparo do extrato e até a dose administrada, que estão relacionados com uma alíquota da planta manipulada, o solvente que foi empregado, assim como a espécie da planta aplicada. Neste contexto, numerosos efeitos adversos ou colaterais podem ocorrer, como também podendo causar interações ou intoxicações medicamentosas, relacionadas as aplicações daquela substância.

Além disso, existem vários estudos na literatura demonstrando que as plantas medicinais são associadas com medicamentos sintéticos, caracterizando-se uma automedicação, descumprindo, muitas vezes, o que médicos haviam indicado, aumentando assim inúmeros riscos para a saúde.

Desta forma, os constituintes químicos das plantas medicinais de atividade tóxica ao organismo não se diferenciam de qualquer outro xenobiótico sintético. Sua preconização ou autorização oficial do seu uso medicamentoso deve ser fundamentada em evidências experimentais comprobatórias e a segurança do seu uso deve ser comprovada. (SIMÕES et al., 2010).

Conclusão

A fração diclorometano de *Acca sellowiana* induz a toxicidade nos modelos biológicos avaliados.

Observou-se que quando submetidos, os náuplios de *Artemia salina* a volumes de 6 µg/mL ocorrem mortes, cerca de 57%, indicando uma alta toxicidade, uma vez que a DL 50 foi menor de 10 µg/mL. A partir desse resultado, pode-se notar que esta fração possui uma toxicidade.

Além disso, a fração diclorometano de *Acca sellowiana* possui toxicidade, mesmo que baixa, em camundongos.

Palavras-chave

Goiabeira-serrana; *Artemia salina*; camundongos.

Referências Bibliográficas

ALONSO-CASTRO, A. J., et al. Medicinal plants from North and Central America and the Caribbean considered toxic for humans: the other side of the coin. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine: eCAM**, 2017.

BALBINO, E. E.; DIAS, M. F. Farmacovigilância: um passo em direção ao uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 6, p. 992–1000, dez. 2010.

BAROSA, J.; FERREIRA, A.; FONSECA, B.; SOUZA, I. Teste de toxicidade de cobre para *Artemia salina*. **Poluição e Ecotoxicologia Marinha**, 2003.

BONTEMPO, P., et al. *Feijoa sellowiana* derived natural Flavone exerts anti-cancer action displaying HDAC inhibitory activities. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**. vol. 39, p. 1902–1914, 2007.

BRASIL. Agencia nacional de vigilância sanitária. **Farmacopeia Brasileira**, vol. 1. 6^a ed. Brasília, 2019. Disponível em: < <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33832/259143/Plantas+medicinais+Pronto.pdf/1b7220eb-a371-4ad4-932c-365732a9c1b8>>. Acesso em: 13 julho 2020.

BRITO, A. S. Manual de ensaios toxicológicos *in vivo*. **Manual de ensaios toxicológicos in vivo**. p. 122, 1994.

ELISABETSKY, E.; COSTA-CAMPOS, L.; ‘Medicinal plant genetic resources and international cooperation: the Brazilian perspective’. **Journal of Ethnopharmacology**, vol. 51. 1996.

FONSECA, AL. **A biologia das espécies *Daphnia laevis*, *Ceriodaphnia dubi silvestris* (Crustacea, Cladocera) e *Poecilia reticulata* (Piscis, Poeciledae) e o comportamento destes em testes de toxicidade aquática com efluente industriais**. Dissertação de Mestrado em Hidráulica e Saneamento, 1991.

FORBES, V. E.; FORBES, T. L. Ecotoxicology in theory and practice. **Londres: Chapman and Hall**, p. 247, 1994.

HEYWOOD, R. The use of animals in testing. **Alternatives to Laboratory Animals**, vol. 14, p. 329-333, 1987.

KLAASSEN, C. D.; WATKINS, J. B. **Fundamentos em toxicologia de Casarett e Doull (Lange)**. 2ª ed, 2012.

KLASSEN, C. O.; WATKINS, J. B. **Toxicologia, A Ciência Básica Dos Tóxicos de Casarett e Doull's**. 5ª ed, 2001.

LOUZADA, A. F.; RAMOS, H.; RODRIGUES, J. K.; SILVA, L. R.; GUERRA, M. D. O.; PETERS, V. M. Desenvolvimento embrionário em ratas tratadas com tracrolimus durante a fase pré-implantação. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, vol. 30, p. 219-23, 2008.

LUCIO, E. M. R. A., et al. Avaliação toxicológica aguda e *screening* hipocrático da epiisopilosina, alcalóide secundário de *Pilocarpus microphyllus* Stapf. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, vol. 9, p. 23-35, 2000.

MALONE M. H.; ROBICHAUD R. C. The pharmacological evaluation of natura products - General and specific approaches to *screening* ethnopharmaceuticals. **Journal of Ethnopharmacology**. vol. 8. p. 127-147, 1983.

MEYER B. N., et al. Brine shrimp, a convenient general bioassay for active-plant constituents. **Planta Medica** vol. 45. p. 31-34. 1982.

MOTTA., et al. Atividades antioxidante, antinociceptiva e anti-inflamatória das folhas de *Mucuna pruriens* (L.) dc. **Revista brasileira de plantas medicinais**. Campinas, vol. 15. n. 2. p. 264-272. 2013. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/rbpm/v15n2/15.pdf>>. Acesso em: 13 julho 2020.

MUKINDA, J. T.; EAGLES, P. F. K. Acute and sub-chronic oral toxicity profiles of the aqueous extract of *Polygala fruticosa* in female mice and rats. **Journal of Ethnopharmacology**, vol. 128, p. 236-240, 2010.

NOLDIN, V. F.; et al. Composição química e atividades biológicas das folhas de *Cynara scolymus* L.(alcachofra) cultivada no Brasil. **Química nova**, v. 26, p. 331-334, 2003.

OLIVEIRA, A. C. B.; OLIVEIRA, A. P.; GUIMARAES, A. L.; OLIVEIRA, R. A.; SILVA, F.

S.; REIS, S. A. G. B; RIBEIRO, L. A. A.; ALMEIDA, J. R. G. S. Avaliação toxicológica pré-clínica do chá das folhas de *Morus nigra* L. (Moraceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, vol. 15, p. 244-249, 2013.

OLIVEIRA, F. R. M. **Intoxicação em pequenos animais**. Relatório de final de curso. 2009.

PRISTA, L. N.; ALVES, A. C.; MORGADO, R. M. R. **Técnica farmacêutica e farmácia galênica**. 3a ed, v. II. Lisboa. Fundação Calouste Gulbenkian, p. 183-207, 1990.

QUEIROZ, S., et al. Métodos de extração e/ou concentração de compostos encontrados em fluidos biológicos para posterior determinação cromatográfica. **Química Nova**. vol. 24, n. 1, p. 68-76, 2001. Disponível em: < <http://usuarios.upf.br/~friedrich/especilaiza/prepara4.pdf>>. Acesso em: 13 julho 2020.

RAZA, M.; AL-SHABANAH, O. A.; EL-HADIYAH, T. M.; AL-MAJED, A. A. Effect of prolonged vigabatrin treatment on hematological and biochemical parameters in plasma, liver and kidney of Swiss albino mice. **Scientia Pharmaceutica**, vol. 70, p. 135-145, 2002.

RIBEIRO, S. M. L.; CAMPOS, P.; TIRAPEGUI, J. Rato como animal de laboratório: histórico, dados biológicos e análise crítica de seu uso. **Revista de Farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo**, vol. 31, p. 21-8, 1995.

RIGO, C. G., et al. **Caracterização parcial de frações obtidas de extratos das folhas de *Acca sellowiana* (o. Berg) burret**. Erechim. 2019.

SIMÕES, C. M. O. (Org.) et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6ª ed. Porto Alegre: UFRGS. p. 1102, 2010.

TEIXEIRA, C.; SILVA, E.; CRUZ, M.; NAVARRO, A. C. A eficácia da Chlorella como inibidor de apetite associada ao exercício físico e dieta balanceada alterando a composição corporal. **Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento**, vol. 2, p. 423-433, 2008.

TEO, S.; STIRLING, D.; THOMAS, S.; HOBBERMAN, A.; KIORPES, A.; KHETANI, V. A 90 day oral gavage toxicity study of D-methylphenidate and D, Lmethylphenidate in Sprague dawley rats. **Toxicology**, vol. 179, p. 183-96, 2002.

VALADARES, M. C. Avaliação de toxicidade aguda: estratégias após a “era do teste dl50”. **Revista Eletrônica de Farmácia**, Goiânia, vol. 3, 2006.