

Estudo Toxicológico Reprodutivo da *Carapa guianensis* Aublet (Andiroba) em Ratas Wistar

João H. COSTA-SILVA ¹, Mariana M.A. LYRA ¹, Cristiano R. LIMA ¹, Viviane M. ARRUDA ²,
Alice V. ARAÚJO ², Almir RIBEIRO e RIBEIRO ³, Alberto. C. ARRUDA ³, Maria C.C.A. FRAGA ²,
Simone S.L. LAFAYETTE ² & Almir G. WANDERLEY ^{1,2 *}

*1 Departamento de Ciências Farmacêuticas, 2 Departamento de Fisiologia e Farmacologia,
Universidade Federal de Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego, s/n -
Cidade Universitária, PE - CEP: 50670-901, Recife, PE, Brasil.
3 Departamento de Química, Universidade Federal do Pará, Belém, PA, Brasil.*

RESUMO. Os efeitos do óleo extraído das sementes da *Carapa guianensis* (OS) foram investigados sobre variáveis reprodutivas e desenvolvimento da prole de ratas Wistar. Quatro grupos de fêmeas foram tratados *per os* com OS (0,375, 0,75 e 1,5 g/kg) ou água durante a gestação. Não houve diferenças significantes nas variáveis reprodutivas entre os grupos tratados e controle. Na prole, não foram registradas alterações, exceto aumento da atividade motora na menor dose do OS. Conclui-se que o óleo de *Carapa guianensis* não interfere na fertilidade de ratas Wistar e desenvolvimento da prole, entretanto o aumento da atividade motora pode indicar uma possível ação sobre o desenvolvimento do sistema nervoso central.

SUMMARY. "Toxicological Reproductive Study of *Carapa guianensis* Aublet (Andiroba) in Female Wistar Rats". The effects of the *Carapa guianensis* seed oil (SO) in the reproductive parameters and in the offspring development were investigated in Wistar rats. Four groups of female rats were treated orally with the SO (0,375, 0,75 and 1,5 g/kg) or water during the pregnancy. There were not significant differences in the reproductive parameters among the groups. In the offspring, there were no changes, except for an increase of the motor activity in the group SO 0,375 g/kg. It is concluded that the SO did not interfere on the fertility of Wistar rats and in the offspring development. However, the increase of the motor activity may indicate a possible action on the development of the central nervous system.

INTRODUÇÃO

A floresta amazônica é considerada a detentora da maior biodiversidade do mundo, em fauna e flora. Um grande destaque tem sido dado as espécies da família Meliaceae, como *Azadirachta indica* e a *Carapa guianensis* Aublet, árvores presentes em toda região amazônica ^{1,2}.

A *C. guianensis* foi recomendada pelo Programa de Desenvolvimento das Nações Unidas como espécie com grande potencial farmacêutico ³. No Brasil, é conhecida popularmente como "andiroba" ¹ e o seu córtex e sua semente são utilizados pelos nativos para tratar inflamações na garganta, prevenção e tratamento de picada de insetos, cortes e contusões. A semente também é utilizada para o tratamento de artrite reumatóide, infecção auricular e câncer uterino. O potencial da semente está no seu óleo,

extraído de forma artesanal, que é administrado por via oral ou tópica ³ e também tem sido utilizado pela indústria farmacêutica na formulação de cosméticos ⁴.

Embora seu amplo uso pelas populações da Amazônia, tanto na forma de chá como de óleo, usado topicamente, não há dados registrados na literatura, em relação à toxicidade da *C. guianensis*. Neste sentido, o objetivo deste estudo foi avaliar o possível efeito tóxico do óleo de sementes de *C. guianensis* sobre a fertilidade e a gestação de ratas Wistar e desenvolvimento da prole.

MATERIAL E MÉTODOS

Material botânico

A espécie vegetal foi coletada de seu habitat natural, *i.e.* na região Amazônica (Brasil) em fe-

PALAVRAS-CHAVE: Andiroba, *Carapa guianensis*, Toxicologia reprodutiva.

KEYWORDS: Andiroba, *Carapa guianensis*, Reproductive toxicology.

* Autor para correspondência: E-mail: almirgw@globo.com

vereiro de 2004. A planta foi identificada e autenticada como *Carapa guianensis* pela Dra. Ely Simone Cajueiro Gurgel (Museu Paraense Emílio Goedel, Pará, Brasil). Uma amostra foi depositada no herbário João Mussa Pires da Universidade Federal do Pará, Pará, Brasil.

Extração

A uma massa de 2 kg de sementes de *C. guianensis*, previamente secas e trituradas, foram adicionados 2 L de n-hexano. O sistema ficou em repouso durante 60 min, em seguida, realizou-se a filtração a vácuo. O solvente foi renovado até o esgotamento do óleo na amostra botânica e posteriormente evaporado em rota evaporador sob pressão reduzida. O óleo teve sua densidade aparente determinada (0,833 g/mL), a qual foi utilizada para o cálculo dos volumes administrados. O material foi dividido em pequenas alíquotas que foram conservadas a -2 °C até sua utilização. Quando necessário o óleo foi suspenso em água de tal forma que todos os grupos recebessem o mesmo volume.

Animais

Foram utilizados ratos Wistar entre 3-5 e 2-3 meses de idade respectivamente para machos e fêmeas. Os animais foram mantidos sob condições controladas de iluminação (ciclo 12 h claro/escuro) e temperatura (22-25 °C) recebendo água e dieta (Labina, Purina, Agribands do Brasil, Paulínia, SP, Brasil) *ad libitum*. O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Pernambuco (Processo n° 23076.006909/2004-25).

Administração do óleo de *C. guianensis* durante a gestação

A observação da presença de espermatozoides no esfregaço vaginal foi usada para definir o 1° dia de gestação. As ratas prenhes foram divididas randomicamente em quatro grupos (n=6-8/grupo). O grupo 1 (grupo controle) recebeu água destilada (1mL, p.o). Os grupos 2-4 receberam, por via oral, óleo de sementes de *C. guianensis* (OS) durante o período integral da gestação (1° ao 21° dia) ⁵, nas doses 0,375, 0,75 e 1,5 g/kg. Durante a prenhez, as ratas foram observadas diariamente quanto a sinais clínicos de toxicidade, como redução do consumo de ração, piloereção, diarreia, alteração da atividade locomotora e sangramento vaginal. O ganho de massa corporal materno foi registrado semanalmente. Após o nascimento da prole, as se-

guintes variáveis reprodutivas foram determinadas: relação feto/mãe, índice de fertilidade (n° de ratas prenhes/n° de ratas acasaladas), índice de gestação (% de fêmeas prenhes com todos os fetos vivos), índice de viabilidade (% de sobrevivida após 4 dias), índice de lactação (% de sobrevivida do 4° ao 21° dia de vida) e massa corporal no 1°, 4°, 7°, 14° e 21° dia de vida. Aspectos macroscópicos externos também foram avaliados a fim de detectar a existência de possíveis má-formações ⁶.

Parâmetros comportamentais da prole

Após o nascimento, um terço da prole dos grupos controle e tratados (0,375, 0,75 e 1,5 g/kg) foi avaliada em relação às variáveis: reflexo postural, dia da abertura dos olhos, dia de andar adulto e ambulação espontânea. O reflexo postural foi avaliado no 1° e no 7° dia de vida da prole, através da colocação do filhote sobre uma superfície plana, em decúbito dorsal, sendo o reflexo de endireitamento medido em segundos. A determinação do dia da abertura dos olhos foi realizada através da observação do deslocamento parcial da fissura palpebral, a partir do 7° dia do nascimento, em pelo menos um olho. Foi considerado dia de andar adulto, o dia da observação de que o filhote ambulava sem arrastar as patas traseiras e sem encostar o ventre no chão. A ambulação espontânea foi determinada no 20° dia, utilizando-se de um quadrado delimitado medindo 30 x 30 cm dividido em nove espaços iguais. O filhote foi colocado na divisão central e registrou-se, por dois minutos, o número de quadrados invadidos. Foi considerada invasão do quadrado, a colocação de pelo menos, três patas sobre a área do quadrado ⁷.

Análise estatística

Os valores foram expressos como média ± erro padrão da média (E.P.M.). A diferença entre os grupos foi verificada, através da análise de variância (ANOVA), seguida quando necessário do teste de Newman-Keuls. O teste Qui-quadrado foi utilizado nos índices de fertilidade, gestação, viabilidade e lactação. O nível de significância para rejeição da hipótese de nulidade foi sempre \geq a 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o período de tratamento com o óleo de sementes de *C. guianensis* não foram registradas mortes, nem foram visualizados sinais clínicos de toxicidade materna, como redução do consumo de ração, piloereção, diarreia, alte-

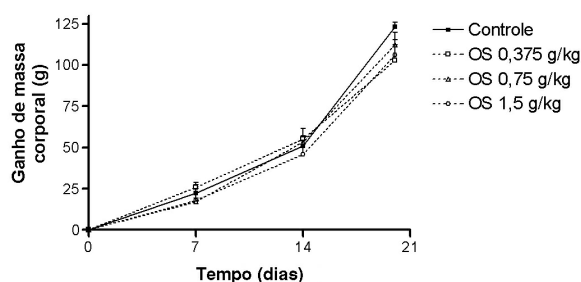


Figura 1. Ganho de massa corporal de ratas Wistar tratadas, por via oral, com óleo de sementes de *C. guianensis* (OS). Os valores representam a média ± E.P.M. (n=6-8/grupo).

ração da atividade locomotora ou sangramento vaginal. Também não foram registradas diferenças estatisticamente significantes entre os grupos tratados e o grupo controle em relação ao ganho de massa corporal durante a gestação, como mostra a Fig. 1. Estes resultados sugerem ausência de toxicidade materna mesmo com doses cerca de 1,8 a 7,5 vezes maiores do que aquela necessária para produzir inibição máxima de edema de pata induzido em camundongos⁸.

Após o nascimento da prole, não foi constatada a presença de natimortos, nem de qualquer má-formação fetal, através do exame macroscópico externo dos filhotes dos grupos tratados e do grupo controle, indicando ausência de efeitos teratogênicos visíveis externamente.

O tratamento com óleo de sementes de *C.*

guianensis não alterou, de forma estatisticamente significativa, as variáveis reprodutivas analisadas quando estas foram comparadas com o grupo controle (Tabela 1). Sabe-se que o óleo de sementes de outras espécies da família Meliaceae como a *Azadirachta indica* (Neem) interfere na fertilidade⁹ e no desenvolvimento da prenhez¹⁰ em roedores. Embora existam semelhanças na composição fitoquímica dos óleos de *A. indica* e de *C. guianensis*¹¹, os resultados mostram que não houve qualquer alteração no processo de fertilidade, nem no desenvolvimento da prenhez de ratas tratadas com o óleo de sementes de *C. guianensis*.

Também não foi constatada diferença significativa no perfil de crescimento corporal dos filhotes do 1° ao 21° dia de vida (Tabela 1). Um desenvolvimento pós-natal normal é geralmente observado quando o percentual de sobrevivência dos recém-nascidos e seu crescimento são semelhantes aos obtidos nos animais controle¹². Os resultados são sugestivos de que a administração do óleo de *C. guianensis* a ratas prenhes não interfere com o processo de desenvolvimento dos filhotes.

Os parâmetros comportamentais analisados neste estudo foram utilizados para verificar possíveis ações deletérias do óleo de sementes de *C. guianensis* sobre o desenvolvimento comportamental e neurológico da prole⁷. Conforme mostrado na Tabela 2, os parâmetros não diferi-

Variáveis Reprodutivas	Controle	OS		
		0,375 g/kg	0,75 g/kg	1,5 g/kg
Ratas acasaladas	8	8	8	8
Relação feto/Mãe*	12,7 ± 0,7	10,4 ± 0,8	12,0 ± 0,7	11,3 ± 1,2
Percentagem de Natimortos	0	0	0	0
Ratas prenhes/Índice de fertilidade (%)	6/75	8/100	6/75	6/75
Índice de gestação (%) (% de fêmeas prenhes com todos os fetos vivos)	100	100	100	100
Índice de viabilidade (%) (% de sobrevivida após 4 dias)	100	100	98,6	100
Índice de lactação (%) (% de sobrevivida do 4° ao 21° dia de vida)	100	100	100	100
Massa corporal dos filhotes 1° dia (g)*	5,6 ± 0,1g	6,2 ± 0,4g	6,1 ± 0,2g	6,3 ± 0,1g
Massa corporal dos filhotes 4° dia (g)*	7,8 ± 0,5g	8,0 ± 0,9g	9,1 ± 0,5g	9,1 ± 0,5g
Massa corporal dos filhotes 7° dia (g)*	10,9 ± 0,7g	11,4 ± 1,5g	13,5 ± 0,9g	12,5 ± 0,7g
Massa corporal dos filhotes 14° dia (g)*	25,4 ± 2,1g	24,8 ± 3,4g	29,3 ± 1,3g	26,0 ± 0,9g
Massa corporal dos filhotes 21° dia (g)*	39,5 ± 2,2g	40,2 ± 5,0g	46,7 ± 2,4g	41,6 ± 1,6g

Tabela 1. Variáveis reprodutivas obtidas de ratas Wistar tratadas, por via oral, durante o período de prenhez com óleo de sementes de *C. guianensis* (OS, 0,375, 0,75 e 1,5 g/kg).

* Resultado expresso em média ± E.P.M. (n= prole de 6-8 animais).

Parâmetros Comportamentais	Controle	OS	OS	OS
		0,375 g/kg	0,75 g/kg	1,5 g/kg
Reflexo postural 1º dia (seg)	14,0 ± 1,9	21,9 ± 5,6	15,8 ± 3,1	14,1 ± 1,9
Reflexo postural 7º dia (seg)	2,5 ± 0,6	3,0 ± 1,0	5,5 ± 2,9	2,1 ± 0,5
Dia da abertura dos olhos (dia)	15,5 ± 0,1	15,7 ± 0,2	15,3 ± 0,1	15,5 ± 0,1
Dia de andar adulto (dia)	14,7 ± 0,2	14,3 ± 0,1	14,2 ± 0,1	14,7 ± 0,2
Ambulação (nº quadrado invadido)	15,1 ± 1,7	24,1 ± 2,0*	19,5 ± 1,6	18,0 ± 1,7

Tabela 2. Parâmetros comportamentais da prole de ratos Wistar tratadas, por via oral, durante o período da gestação com óleo de sementes de *C. guianensis* (OS, 0,375, 0,75 e 1,5 g/kg). Os valores representam a média ± E.P.M. (n= 15 animais).

* Indica estatisticamente diferente do grupo controle (ANOVA seguido de Newman-Keuls, p < 0,05).

ram significativamente entre os grupos tratados e o grupo controle, exceto em relação ao parâmetro ambulação espontânea. A prole das ratas que receberam a menor dose do óleo de *C. guianensis* durante a prenhez apresentaram aumento significativo da atividade motora, sugerindo uma possível ação central. Um efeito ansiolítico, semelhante ao do diazepam, foi descrito com o extrato de folhas da *A. indica* (Meliaceae) em baixas doses (10-200 mg/kg) ¹³, entretanto, até o momento, nenhuma ação central tinha sido descrita na literatura para a *C. guia-*

nensis. Testes mais específicos são necessários para esclarecer estes possíveis efeitos centrais.

Baseado nos resultados obtidos pode-se concluir que a administração do óleo de sementes de *C. guianensis* não induziu toxicidade materna, não produziu efeito abortivo e também não alterou o desenvolvimento normal da prole e nem os parâmetros comportamentais. Contudo, o aumento da atividade motora observada na prole de ratas tratadas sugere uma possível ação central, que deve ser investigada em maior detalhe.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Teske, M. & A.M.M. Trentini (1997) "*Herbarium: Compêndio de Fitoterapia*". Ed. Herbarium Laboratório Botânico, Paraná, pág. 35.
2. Xuan, T.D., T. Eiji, T. Hiroyuki, M. Mitsuhiro, T.D. Khanh & I.M. Chung (2004) *Crop Prot.* **23**: 335-45.
3. Hammer, M.L.A. & E.A. Johns (1993) *J. Ethnopharmacol.* **40**: 53-75.
4. Bombard, F. (2001) *Cosm. Technol.* **4**: 39-44.
5. Almeida, E.R., A.M. Melo & H. Xavier (2000) *Phytother. Res.* **14**: 99-102.
6. Paumgarten, F.J.R., R.R. Carvalho, K. Chahoud & I. Madi (1998) *Braz. J. Med. Biol. Res.* **31**: 955-65.
7. Carlini, E.A., C.P. Macaúbas, M.M. Oliveira & V.P. Barbosa (1988) "Toxicologia pré-clínica da espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia*)", em Brasil. Ministério da Saúde, Central de Medicamentos. Estudo de Ação Antiúlcera Gástrica de Plantas Brasileiras (*Maytenus ilicifolia* "espinheira-santa" e outras). S.I, Central de Medicamentos (Brasil), págs. 49-66.
8. Penido, C., K.A. Costa, R.J. Pennaforte, M.F.S. Costa, J.F.G. Pereira, A.C. Siani & M.G.M.O. Henriques (2005) *Inflamm. Res.* **54**: 295-303.
9. Lal, R., M. Gandhi, A. Sankaranarayanan, V.S. Mathur & P.L. Sharma (1987) *Fitoterapia* **58**: 239.
10. Mukherjee, S. & G.P. Talwar (1996) *Am. J. Reprod. Immunol.* **35**: 51-6.
11. Banerji, B, S.K. Nigam (1984) *Fitoterapia* **55**: 3-36.
12. Peters, V.M. & M.O. Guerra (1995) *J. Ethnopharmacol.* **46**: 161-5.
13. Jaiswal, A.K., S.K. Bhattacharya & S.B. Acharya (1994) *Indian J. Exp. Biol.* **32**: 489-91.