



Exposição pré-natal ao extrato seco das folhas de *Azadirachta indica* A. Juss. (Meliaceae): influência sobre o desempenho reprodutivo

Micaelle Cristina de Oliveira^{1*} (IC), Carlos Eduardo Lacerda Ramalho² (PG), Grazielle Alícia Batista Caixeta² (PG), Danielle Milany Fernandes Silva¹ (IC), Diego dos Santos Reis¹ (IC), Joelma Abadia Marciano de Paula² (PQ), Vanessa Cristiane Santana Amaral^{1,2} (PQ)

¹ Laboratório de Farmacologia e Toxicologia de Produtos Naturais e Sintéticos. Universidade Estadual de Goiás (UEG). Câmpus Central: Anápolis - GO.

² Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciências Aplicadas a Produtos para Saúde. Universidade Estadual de Goiás (UEG). Câmpus Central: Anápolis - GO.

E-mail: oliveiramicaelle@outlook.com

Azadirachta indica A. Juss. (Meliaceae), popularmente conhecida como Nim ou Neem, é uma planta nativa da Índia muito utilizada como fertilizante de solos e para o controle de pragas. Esta espécie apresenta numerosas aplicabilidades medicinais, visto que quase todas as suas partes possuem propriedades farmacológicas. Este estudo avaliou os efeitos do tratamento materno com Neem sobre o desenvolvimento fetal. Ratas Wistar prenhes foram tratadas por via oral com o veículo ou com o extrato seco das folhas de *A. indica* nas doses de 300, 600 ou 1200 mg/kg durante a gestação. No 21º dia gestacional foi realizada a cesariana das fêmeas e registrados o número total de fetos (vivos e mortos), o peso fetal individual e das placentas, os sítios de reabsorção e implantação e o número de corpos lúteos. Além disso, foram calculadas as perdas pré e pós-implantação. Os resultados parciais não apontaram diferença significativa entre os grupos em relação aos parâmetros analisados, o que sugere que o tratamento com as três doses do extrato seco das folhas de *A. indica* não induz efeitos embriotóxicos e fetotóxicos.

Palavras-chave: Nim. Neem. Embriotoxicidade. Fetotoxicidade.

Introdução

Nos países em desenvolvimento, o uso de plantas medicinais como alternativa terapêutica tem se tornado comum por boa parte da população (BRAGA; SILVA, 2021). Nesse sentido, a facilidade de obtenção de várias espécies vegetais e o custo mais acessível dos medicamentos fitoterápicos têm contribuído para o uso indiscriminado dessas substâncias/produtos (CARVALHO *et al.*, 2020).

Dentre as numerosas espécies vegetais utilizadas pela população destaca-se a *Azadirachta indica* A. Juss. (Meliaceae), planta nativa da Índia, conhecida como Nim ou Neem (GUPTA *et al.*, 2017). Esta espécie tem sido utilizada há





séculos como fertilizante de solos e para o controle de pragas agrícola e pecuária (SILVA, 2010). Ademais, estudos identificaram que o Neem possui atividade anticâncer (MOGA *et al.*, 2018), antibacteriana (BHARITKAR *et al.*, 2014), antifúngica (RODRIGUES *et al.*, 2019), antileishmania (CARNEIRO *et al.*, 2012), antiviral (BHARITKAR *et al.*, 2014), anti-helmíntica (CHAGAS *et al.*, 2008), anti-inflamatória (PINGALI *et al.*, 2020), antidiabética (DALLAQUA *et al.*, 2012; PINGALI *et al.*, 2020), neuroprotetora (XIANG *et al.*, 2018), cardioprotetora (PEER *et al.*, 2008) e anticárie (MANDAVA *et al.*, 2019).

Todavia, além da aplicabilidade terapêutica que muitas espécies vegetais possuem, é importante salientar a ocorrência de possíveis efeitos tóxicos com o seu uso. Assim, a investigação da segurança do uso de plantas medicinais é de suma importância, especialmente em crianças, idosos e gestantes. Diante disso, este estudo avaliou se o tratamento com o extrato seco das folhas de *A. indica* altera os parâmetros de desempenho reprodutivo de ratas prenhes.

Material e Métodos

Preparação do extrato seco

A coleta das folhas de *A. indica* foi realizada na cidade de Santo Antônio – GO (S16° 30' 26,0994"; O 49° 16' 58,8720"; Altitude: 821 m). Depois de lavadas com água e submetidas à secagem em estufa com circulação forçada de ar, as folhas foram trituradas em moinho de facas. A droga vegetal pulverizada foi colocada em maceração em etanol 30% (p/p). Em seguida, utilizou-se a percolação e a rotaevaporação para a preparação do extrato líquido. O extrato foi seco em *spray dryer*.

Aspectos éticos

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Estadual de Goiás sob o protocolo nº. 002/2020.

Animais

Foram utilizados ratos machos e fêmeas da linhagem Wistar, adultos, vir-





gens e sexualmente maduros, provenientes do Biotério do Laboratório de Farmacologia e Toxicologia de Produtos Naturais e Sintéticos da UEG. Os animais permaneceram em salas com temperatura e umidade controladas, em ciclo claro/escuro de 12 horas e receberam durante todo o estudo água e ração (Presença®) à vontade.

Protocolo experimental

Na fase do pró-estro as fêmeas foram colocadas para acasalar com os machos na proporção de 1:1. No dia seguinte, a presença de espermatozoide no lavado vaginal foi considerada como dia gestacional zero (DG 0). Após a constatação da prenhez as fêmeas foram mantidas individualmente até o DG 21.

As ratas prenhes foram distribuídas em quatro grupos (n=5/grupo): o controle, que recebeu apenas o veículo utilizado na dissolução do extrato seco das folhas de *A. indica*, e os outros três grupos receberam as doses de 300, 600 ou 1200 mg/kg do extrato. O tratamento foi realizado do DG 0 ao DG 20, por via oral (gavagem). No DG 21, as fêmeas foram anestesiadas e a cesariana foi realizada. Após a abertura da cavidade abdominal e a exposição dos cornos uterinos, foram registrados: o número total de fetos (vivos e mortos), o peso fetal individual e das placentas, o número de sítios de reabsorção e implantação e os corpos lúteos. Além disso, foram calculadas as perdas pré e pós-implantação (OECD, 2016).

Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) de uma via.

Resultados e Discussão

Os resultados parciais não apontaram diferença significativa entre os grupos em relação ao número total de fetos ($F_{3,16} = 0,85$; $p=0,49$), número de fetos vivos ($F_{3,16} = 0,55$; $p=0,66$) e mortos ($F_{3,16} = 0,17$; $p=0,91$), número de sítios de implantação ($F_{3,16} = 1,04$; $p=0,40$), reabsorções pré-implantação ($F_{3,16} = 2,41$; $p=0,10$) e pós-implantação ($F_{3,16} = 0,33$; $p=0,80$), número de corpos lúteos ($F_{3,16} = 1,38$; $p=0,28$), perdas pré-implantação ($F_{3,16} = 1,96$; $p=0,16$) e pós-implantação





($F_{3,16} = 0,27$; $p=0,84$), peso dos fetos ($F_{3,16} = 0,20$; $p=0,89$) e das placentas ($F_{3,16} = 0,42$; $p=0,74$). Os resultados parciais sugerem que o tratamento com as três doses do extrato seco de *A. indica* não induz efeitos embriotóxicos e fetotóxicos.

Considerações Finais

Os resultados parciais ($n= 5$ /grupo) sugerem ausência de embriotoxicidade e fetotoxicidade do extrato seco das folhas de *A. indica* nas doses de 300, 600 ou 1200 mg/kg, pois não foram observadas alterações significativas nos parâmetros de desempenho reprodutivo materno.

Agradecimentos

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) e à Universidade Estadual de Goiás pelas bolsas de iniciação científica concedidas aos alunos que realizaram este estudo.

Referências

ANVISA. **Guia para a condução de estudos não clínicos de toxicologia e segurança farmacológica necessários ao desenvolvimento de medicamentos**. Versão 2. [S. l.], p. 1-48, 2013.

BHARITKAR, Y. P. *et al.* Antibacterial and antiviral evaluation of sulfonoquinovosyldiacylglyceride: A glycolipid isolated from *Azadirachta indica* leaves. **Letters in Applied Microbiology**, [S. l.], v. 58, n. 2, p. 184–189, 2014.

BRAGA, J. C. B.; SILVA, L. R. Consumption of medicinal plants and herbal medicines in Brazil: consumer profile and its relationship with the COVID-19 pandemic. **Brazilian Journal of Health Review**, [S. l.], v.4, n.1, p. 3831-3839, 2021.

CARNEIRO, S. M. P. *et al.* The cytotoxic and antileishmanial activity of extracts and fractions of leaves and fruits of *Azadirachta indica* (A Juss.). **Biological Research**, [S. l.], v. 45, n. 2, p. 111–116, 2012.

CARVALHO, N. S. *et al.* Percepção de gestantes quanto ao uso de plantas medicinais e fitoterápicos: uma revisão integrativa da literatura. **Brazilian Journal of Health Review**, [S. l.], v. 3, n. 4, p. 9282-9298, 2020.





CHAGAS, A. C. S. *et al.* Anthelmintic efficacy of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) and the homeopathic product Fator Vermes® in Morada Nova sheep. **Veterinary Parasitology**, [S. l.], v. 151, n. 1, p. 68–73, 2008.

DALLAQUA, B. *et al.* Treatment with *Azadirachta indica* in diabetic pregnant rats: Negative effects on maternal outcome. **Journal of Ethnopharmacology**, [S. l.], v. 143, n. 3, p. 805–811, 2012.

GUPTA, S. C. *et al.* Neem (*Azadirachta indica*): An Indian traditional panacea with modern molecular basis. **Phytomedicine**, [S. l.], v. 34, p. 14-20, 2017.

MANDAVA, K. *et al.* Design and study of anticaries effect of different medicinal plants against *S. mutans* glucosyltransferase. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, [S. l.], v. 19, n. 1, p. 1–8, 2019.

MOGA, M. A. *et al.* An overview on the anticancer activity of *Azadirachta indica* (Neem) in gynecological cancers. **International Journal of Molecular Sciences**, [S. l.], v. 19, n. 12, 2018.

OECD's - **Guideline for the Testing of Chemicals – nº 421: “Reproduction/ Developmental Toxicity Screening Test”**. (Adopted: 29th July 2016).

PEER, P. A. *et al.* Cardioprotective effect of *Azadirachta indica* A. Juss. on isoprenaline induced myocardial infarction in rats. **International Journal of Cardiology**, [S. l.], v. 126, n. 1, p. 123–126, 2008.

PINGALI, U. *et al.* Evaluation of the effect of an aqueous extract of *Azadirachta indica* (Neem) leaves and twigs on glycemic control, endothelial dysfunction and systemic inflammation in subjects with type 2 diabetes mellitus – a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical study. **Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy**, [S. l.], v. 13, p. 4401–4412, 2020.

RODRIGUES, M. P. *et al.* In vitro activity of neem (*Azadirachta indica*) oil on growth and ochratoxin a production by aspergillus carbonarius isolates. **Toxins**, [S. l.], v. 11, n. 10, p. 1–12, 2019.

SILVA, V. C. L. **Avaliação da toxicidade reprodutiva de ratas wistar submetidas à ingestão do extrato etanólico das folhas de Nim (*Azadirachta indica* A. Juss)**. Recife, 2010.

XIANG, X. *et al.* Anti-oxidative and anti-apoptotic neuroprotective effects of *Azadirachta indica* in Parkinson-induced functional damage. **Molecular Medicine Reports**, [S. l.], v. 17, n. 6, p. 7959–7965, 2018.

