



Compreendendo os efeitos do tratamento com o extrato seco das folhas de *Azadirachta indica* A. Juss. (Meliaceae) durante a gestação

Diego dos Santos Reis^{1*} (IC), Carlos Eduardo Lacerda Ramalho² (PG), Grazielle Alícia Batista Caixeta² (PG), Micaelle Cristina de Oliveira¹ (IC), Danielle Milany Fernandes da Silva¹ (IC), Joelma Abadia Marciano de Paula² (PQ), Vanessa Cristiane Santana Amaral^{1,2} (PQ).

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

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

E-mail: diego.reis@aluno.ueg.br

Azadirachta indica A. Juss (Meliaceae), popularmente conhecida como Neem, apresenta várias propriedades biológicas e farmacológicas que justificam o seu uso para fins medicinais. Poucos estudos avaliaram a segurança do uso desta espécie durante a gestação. O objetivo deste estudo foi investigar os possíveis efeitos do tratamento com o extrato seco das folhas de *A. indica* sobre os parâmetros de toxicidade materna. Para tanto, ratas Wistar prenhes foram tratadas por via oral com o veículo ou extrato seco das folhas de *A. indica* nas doses de 300, 600 ou 1200 mg/kg durante a gestação. Foram analisados diariamente os sinais clínicos de toxicidade, ganho de massa corporal, consumo de ração e água das progenitoras. Os resultados parciais não mostraram diferença significativa entre os grupos em relação aos parâmetros analisados, o que sugere baixa toxicidade materna do extrato seco nas doses avaliadas.

Palavras-chave: Neem. Ratos. Toxicidade materna.

Introdução

Azadirachta indica é uma espécie originária da Índia e de países do sudoeste asiático, e encontra-se atualmente distribuída por todo o mundo, principalmente em regiões de clima tropical e semiárido como o Brasil (SALEEM *et al.*, 2018). Na medicina popular as folhas e as cascas desta planta são utilizadas na preparação de chás e infusões para tratamento de constipação, urticária, úlceras de pele, reumatismo e infecção (FERNANDES *et al.*, 2019).

Além disso, várias propriedades farmacológicas das folhas de *A. indica* foram identificadas (BELLO *et al.*, 2018) e incluem atividade anti-inflamatória (UMAR *et al.*, 2014), protetora gástrica (DHARMENDRA *et al.*, 2017) e hipoglicemiante (PONNUSAMY *et al.*, 2015). Estudo clínico realizado com pacientes diabéticos de ambos os sexos, com idade entre 30 e 65 anos, observou





melhora significativa da hiperglicemia nos indivíduos que receberam o extrato aquoso das folhas e galhos de *A. indica* nas doses de 250, 500 e 1000 mg/dia quando comparado ao tratamento com metformina, um hipoglicemiante oral (PINGALE *et al.*, 2020).

Quanto às propriedades dos frutos e flores da espécie, estes apresentam atividade anti-helmíntica (AGGARWAL *et al.*, 2016), enquanto as sementes são utilizadas como repelente (BENELLI *et al.*, 2017).

Dados sobre a segurança do uso de *A. indica* durante a gestação ainda são escassos (DALLAQUA *et al.*, 2013; LYRA *et al.*, 2005; SILVA *et al.*, 2015). Além disso, os resultados dos estudos realizados com o óleo da semente (DALLAQUA *et al.*, 2013; LYRA *et al.*, 2005) e o extrato etanólico das folhas (SILVA *et al.*, 2015) são controversos e ressaltam a importância de mais investigações sobre o uso pré-natal desta espécie. Frente a ampla tradição do uso popular e das reconhecidas propriedades terapêuticas de *A. indica*, este estudo avaliou a possível ocorrência de toxicidade materna do extrato seco das folhas desta espécie vegetal em ratas Wistar.

Material e Métodos

Preparação do extrato seco: Folhas de *A. indica* coletadas na cidade de Santo Antônio, Goiás (S16° 30' 26,0994"; O 49° 16' 58,8720"; Altitude: 821 m), foram lavadas em água corrente e água destilada e, em seguida, submetidas à secagem em estufa com circulação forçada de ar. Posteriormente, as folhas foram trituradas em moinho de facas e o material vegetal pulverizado foi deixado em maceração em etanol 30% p/p. O extrato líquido foi obtido por percolação e concentrado em rotaevaporador. O extrato foi seco em *spray dryer*.

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

Animais: Ratos Wistar machos e fêmeas, adultos, sexualmente maduros, foram mantidos em salas separadas no biotério, com temperatura e umidade controladas, ciclo claro/escuro de 12 h (luzes acesas das 7 às 19 h). Durante todo





o estudo os animais foram alimentados com água e ração (Presence®) à vontade.

Protocolo experimental: Fêmeas na fase do pró-estro foram colocadas individualmente em caixas na presença de um macho para o acasalamento. No dia seguinte, a presença de espermatozoide no lavado vaginal foi utilizada como indicativo do dia gestacional zero (DG 0). As fêmeas prenhes foram mantidas individualmente em caixas de polietileno e distribuídas em quatro grupos (n=5/grupo): um controle, que recebeu apenas o veículo utilizado na dissolução do extrato seco de *A. indica* e, três grupos experimentais que foram tratados com as doses de 300, 600 ou 1200 mg/kg do extrato durante a gestação (DG 0 ao DG 20). Todos os tratamentos foram realizados por via oral (gavagem) e o volume administrado foi de 0,5 mL/100 g de animal. Do DG 0 ao 21, as ratas foram monitoradas diariamente quanto ao consumo de ração, água, ganho de massa corporal e presença de sinais clínicos de toxicidade (OECD, 2016).

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

Resultados e Discussão

Não foram observados sinais clínicos de toxicidade como diarreia, convulsões, sangramentos e alterações comportamentais nas fêmeas. Além disso, a Anova unifatorial não apontou diferença significativa entre os grupos em relação ao ganho de massa corporal ($F_{3,16} = 0,30$; $p = 0,83$), consumo de ração ($F_{3,16} = 0,03$; $p = 0,99$) e água ($F_{3,16} = 0,19$; $p = 0,90$), o que sugere que o extrato apresenta baixa toxicidade materna.

Considerações Finais

Os resultados parciais sugerem que o extrato seco das folhas de *A. indica* nas doses de 300, 600 e 1200 mg/kg apresenta baixa toxicidade materna. Entretanto, é necessária a continuidade dos estudos para uma avaliação mais robusta dos efeitos do tratamento com o extrato seco durante a gestação.



Agradecimentos

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

Referências

AGGARWAL, R. *et al.* Anthelmintic potential of *Calotropis procera*, *Azadirachta indica* and *Punica granatum* against *Gastrothylax indicus*. **Journal of Parasitic Diseases**, v. 40, n. 4, p. 1230–1238, 2016.

BELLO, O. A. *et al.* Pharmacological and therapeutic potential of Neem (*Azadirachta indica*). **Pharmacognosy Reviews**, v. 1, n. 2, p. 8-15, 2018.

BENELLI, G. *et al.* Neem (*Azadirachta indica*): towards the ideal insecticide? **Natural Product Research**, v. 31, n. 4, p. 369-386, 2017.

DALLAQUA, B. *et al.* *Azadirachta indica* treatment on the congenital malformations of fetuses from rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 150, n. 3, p. 1109-1113, 2013.

DHARMENDRA, K. Y. *et al.* Tamarixetin glucopyranoside from *Azadirachta indica* leaves: Gastroprotective role through inhibition of matrix metalloproteinase activity in mice. **Journal of Natural products**, v. 80, n. 5, p. 1347-1353, 2017.

FERNANDES, S. *et al.* Chemistry, bioactivities, extraction and analysis of azadirachtin: State-of-the-art. **Fitoterapia**, v. 134, p. 141-150, 2019.

LYRA, M. M. A. *et al.* Toxicological reproductive study of (*Azadirachta indica*) A. Juss (Neem) in female Wistar rats. **Revista Fitos**, v. 1, p. 53-57, 2005.

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

PINGALE, 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**, v. 13 p. 4401 – 4410, 2020.

PONNUSAMY, S. *et al.* Gedunin and azadiradione: Human pancreatic alpha-amylase inhibiting limonoids from Neem (*Azadirachta indica*) as anti-diabetic agents. **PloS one**, v. 10, n. 10, p. 13-23, 2015.



SALEEM, S. *et al.* A comprehensive review of phytochemical profile, bioactives for pharmaceuticals, and pharmacological attributes of *Azadirachta indica*. **Phytotherapy Research**, v 32, n. 7, p. 1241-1272, 2018.

SILVA, V. C. L. *et al.* Post-natal development of rats offspring treated with the ethanol extract of neem leaves (*Azadirachta indica* A. Juss) during pregnancy and lactation. **Acta Scientiarum - Biological Sciences**, v. 37, n. 2, p. 219-224, 2015.

UMAR, M. I. *et al.* Multi-constituent synergism is responsible for anti-inflammatory effect of *Azadirachta indica* leaf extract. **Pharmaceutical Biology**, v. 52, n. 11, p. 1411-1422, 2014.

