



## **Desenvolvimento esquelético de fetos expostos ao extrato seco das folhas de *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae)**

**Matheus Vinicius Mendes Pereira<sup>1\*</sup> (IC), Grazielle Alícia Batista Caixeta<sup>2</sup> (PG), Ana Laura Resende Ramos<sup>1</sup> (IC), Diego dos Santos Reis<sup>1</sup> (IC), Micaelle Cristina de Oliveira<sup>2</sup> (IC), Beatriz Kisa Suzuki<sup>1</sup> (IC), Érica Beatriz Viveiros da Luz Santos<sup>2</sup> (IC), Joelma Abadia Marciano de Paula<sup>2</sup> (PQ), Vanessa Cristiane Santana Amaral<sup>1,2</sup> (PQ).**

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

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

E-mail: matheusmendesvinicius@gmail.com

*Eugenia uniflora* L., popularmente conhecida como pitangueira, possui grande potencial terapêutico. Suas folhas possuem atividade diurética, anti-hipertensiva, antidiarreica e anti-inflamatória. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos do tratamento com o extrato seco das folhas dessa espécie vegetal sobre o desenvolvimento esquelético da prole de ratas Wistar. Primeiramente, o extrato etanólico das folhas *E. uniflora* foi preparado utilizando as técnicas de percolação e rotaevaporação. Em seguida, o extrato foi submetido à secagem por aspersão (*spray dryer*). Na sequência, o extrato seco foi administrado por via oral (gavagem) a ratas prenhes nas doses de 0, 300, 600 ou 1200 mg/kg do dia gestacional (DG) zero ao vinte. No DG 21 as fêmeas foram anestesiadas para a realização da cesariana. Os fetos foram removidos dos cornos uterinos, corados pela técnica de diafanização e analisados quanto a possíveis variações/malformações esqueléticas. Os resultados mostraram que o tratamento com o extrato seco das folhas de *E. uniflora* L. não induziu malformações esqueléticas na prole de ratas Wistar tratadas durante a gestação.

Palavras-chave: Análise Esquelética. Gestação. Ossificação. Pitangueira.

### **Introdução**

Cerca de 85% da população mundial usam medicamentos produzidos a partir de plantas medicinais (ROSA; CÂMARA; BÉRIA, 2011). Além disso, estima-se que 31% das mulheres utilizam plantas medicinais durante a gestação para alívio ou tratamento de sintomas clínicos presentes neste período (BETTIOL *et al.*, 2018).

Algumas espécies vegetais têm sido muito estudadas, como por exemplo, as da família Myrtaceae, que estão distribuídas nos trópicos e subtropicais do





mundo, principalmente na América do Sul (GOVAERTES *et al.*, 2013). No Brasil, a família é representada por 23 gêneros e 1034 espécies amplamente distribuídas em todo o país (QUEIROZ *et al.*, 2015).

*Eugenia uniflora* L., conhecida popularmente como pitangueira, é uma das espécies mais populares da família Myrtaceae e apresenta um importante potencial farmacológico atribuído às suas folhas e frutos (SOBRAL *et al.*, 2015). Dentre as suas variadas propriedades farmacoterapêuticas destacam-se as atividades antidiarreica, antipirética, anti-hipertensiva, antimicrobiana, antioxidante e antirreumática (MENDONÇA *et al.*, 2016; MONTEIRO *et al.*, 2019, MOURA *et al.*, 2018; ROVEDDER *et al.*, 2016).

Estudos pré-clínicos para avaliar a segurança do uso de substâncias durante a gestação são preconizados por agências reguladoras em todo o mundo (ANVISA, 2013; OECD, 2016). Estes estudos são empregados como parte de um conjunto de testes de triagem que avaliam as doses e os efeitos de determinadas substâncias ou compostos químicos que possuem pouca ou nenhuma informação toxicológica a seu respeito (OECD, 2016). Dentre os estudos não clínicos de segurança para o desenvolvimento de medicamentos estão incluídos o de toxicidade reprodutiva e desenvolvimental, cujo objetivo é fornecer informações iniciais sobre possíveis efeitos de substâncias ativas na reprodução e/ou desenvolvimento de mamíferos (ANVISA, 2013).

Considerando a escassez de estudos que avaliaram a segurança do uso de *Eugenia uniflora* L., este estudo investigou os possíveis efeitos do tratamento pré-natal com extrato seco das folhas desta espécie vegetal sobre o desenvolvimento esquelético fetal.

## Material e Métodos

### *Preparação do extrato seco*

Folhas de *Eugenia uniflora* L. foram coletadas no município de Joanópolis - Goiás [(16°16'13.53"S 48°49'14.76"W)]. Em seguida, foram secas em estufa com ventilação forçada de ar e trituradas em moinho de facas. O extrato líquido foi





obtido por percolação e 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 protocolo nº 004/2018.

### *Animais*

Foram utilizados ratos da linhagem Wistar, adultos 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 (Presence®) à vontade.

### *Protocolo experimental*

Ratas Wistar prenhes foram distribuídas em quatro grupos: um controle, que recebeu apenas o veículo utilizado na diluição do extrato seco das folhas de *Eugenia uniflora* L., e três grupos experimentais que receberam as doses de 300, 600 ou 1200 mg/kg do extrato. Os tratamentos com o veículo e extrato foram realizados do dia gestacional 0 ao 20, por via oral (gavagem), e o volume de administração foi de 0,5 mL/100 g (OECD, 2016).

No 21º dia gestacional as fêmeas foram anestesiadas e a cesariana realizada. Os fetos foram removidos dos cornos uterinos, corados pela técnica de diafanização e analisados quanto a possíveis variações/malformações esqueléticas (KELLY; BRYDEN, 1983; MANSON; ZENICK; COSTLOW, 1982). Foi utilizado o teste do qui-quadrado de Pearson para a avaliação das variações/malformações esqueléticas fetais.

## **Resultados e Discussão**

Não foi observada diferença significativa entre os grupos em relação às alterações esqueléticas como ossificação incompleta de ossos do crânio e do esterno. O teste do qui-quadrado mostrou que a ocorrência de falanges anteriores





com ossificação completa (8 sítios de ossificação) foi menos frequente no grupo 300 mg/kg quando comparada ao veículo (controle). Quanto a ocorrência de metatarsos com ossificação completa (10 sítios de ossificação), esta foi menos frequente no grupo 1200 mg/kg em relação ao veículo.

### Considerações Finais

Os resultados mostraram que o tratamento com o extrato seco das folhas de *Eugenia uniflora* L. nas doses de 300, 600 e 1200 mg/kg não induziu malformações esqueléticas na prole de ratas Wistar tratadas durante a gestação. A maioria das alterações observadas são consideradas variações, porque não interferem com a sobrevivência da espécie e desaparecem após o nascimento.

### Agradecimentos

Ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica da UEG (BIC/UEG) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG).

### Referências

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

BETTIOL, A. *et al.* The impact of previous pregnancy loss on lactating behaviors and use of herbal medicines during breastfeeding: a post hoc analysis of the herbal supplements in Breastfeeding InvesTigation (HaBit). **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2018. 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/1035875>.

GOVAERTS, R. *et al.* **World Checklist of Myrtaceae.** Royal Botanic Gardens, Kew. 2013.

KELLY, W.L.; BRYDEN, M.M. A modified differential stain for cartilage and bone in whole mount preparations of mammalian fetuses and small vertebrates. **Stains Technology**, v.58, n.3, p.131-134, 1983.





MANSON, J.M.; ZENICK, H.; COSTLOW, R.D. Principles and methods of toxicology. In: WALLACE, H. **Teratology. Test Methods for Laboratory Animals**. New York: Raven Press, 1982.

MENDONÇA, A.T. *et al.* A utilização dos extratos hidroalcoólicos e alcoólicos de *Eugenia uniflora* L. como agente antibacteriano. *Revista da Universidade Vale do Rio Verde*, v. 14, n. 1, p. 826-833, 2016.

MONTEIRO, J. R. B. *et al.* Anti-*Helicobacter pylori* and anti-inflammatory properties of *Eugenia uniflora* L. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.62: e19180285, 2019.

MOURA, G.S. *et al.* *Eugenia uniflora* L: potential uses as a bioactive plant. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 85, p. 1-9, e0752017, 2018.

OECD's. Guideline for the Testing of Chemicals - no 421: "**Reproduction/Developmental Toxicity Screening Test**". July, p. 1–11, 2016.

QUEIROZ, J.M.G. *et al.* Aspectos populares e científicos do uso de espécies de *Eugenia* como fitoterápico. **Rev. Fitos**, v. 9, p. 87–100, 2015.

ROVEDDER, A.P.M. *et al.* Potential medicinal use of forest species of the deciduous seasonal forest from Atlantic Forest biome, South Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.59, p.1-11. 2016.

SOBRAL, M. *et al.* **Myrtaceae. Lista de espécies da flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 2015. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br>>

ROSA, C.; CÂMARA, S.G.; BÉRIA, J.U. Representações e intenção de uso da fitoterapia na atenção básica à saúde. **Ciências & Saúde Coletiva**, v, 16, n. 1, p. 311-318, 2011.

