



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA - UFPB
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
LABORATÓRIO DE ENSAIOS
TOXICOLÓGICOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DESENVOLVIMENTO E INOVAÇÃO
TECNOLÓGICA EM MEDICAMENTOS

Luciana da Silva Nunes Ramalho

AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE NÃO CLÍNICA DO EXTRATO ETANÓLICO
BRUTO E FRAÇÕES DE *Sida rhombifolia* L. EM ROEDORES

JOAO PESSOA
30 DE JULHO DE 2019

Luciana da Silva Nunes Ramalho

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE NÃO CLÍNICA DO EXTRATO ETANÓLICO
BRUTO E FRAÇÕES DE *Sida rhombifolia* L. EM ROEDORES**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba, para obtenção do título de Doutor Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos (Farmacologia- Toxicologia).

Orientadora: Prof^a. Dra. Margareth de Fátima Formiga Melo Diniz

Coorientadora: Profa. Dra. Caliandra Maria Bezerra Luna Lima

JOAO PESSOA

30 DE JULHO DE 201

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

R165a Ramalho, Luciana da Silva Nunes.

Avaliação da toxicidade não clínica do extrato etanólico bruto e frações de *Sida rhombifolia* L. em roedores / Luciana da Silva Nunes Ramalho. – João Pessoa, 2019.

115 f. : il.

Orientação: Margareth de Fátima Formiga Melo Diniz.
Coorientação: Caliandra Maria Bezerra Luna Lima.
Tese (Doutorado) – UFPB/CCS.

1. *Sida rhombifolia*. 2. Plantas medicinais. 3. Toxicidade aguda. 4. Toxicidade crônica. I. Diniz, Margareth de Fátima Formiga Melo. II. Lima, Caliandra Maria Bezerra Luna. III. Título.

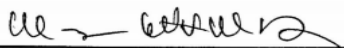
UFPB/BC

LUCIANA DA SILVA NUNES RAMALHO

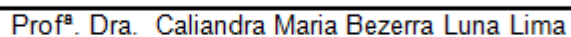
AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE NÃO-CLÍNICA DO EXTRATO
ETANÓLICO BRUTO
E FRAÇÕES DE *Sida rhombifolia* L. EM ROEDORES

Tese aprovada em: 30 de Julho de 2019.

BANCA EXAMINADORA



Profª. Dra. Margareth de F.F. M. Diniz
Orientador

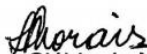


Co-orientadora



Prof. Dr. Hemerson Iury Ferreira Magalhães

Examinador Interno



Profª. Dra. Liana Clébia de Moraes Pordeus

Examinadora Interna



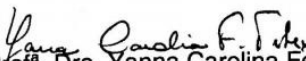
Prof. Dr. Abrahão Alves de Oliveira Filho

Examinador Externo



Profª. Dra. Clélia de Alencar Xavier Mota

Examinadora Externa



Profª. Dra. Yanna Carolina Ferreira Teles

Examinadora Externa

À meus amados pais que sempre estiveram ao meu lado, mostrando desde pequena que o conhecimento é a melhor herança que um pai pode deixar para um filho, obrigada por sempre sonharem junto comigo. Ao meu amado marido Josué, por todo amor, cumplicidade , dedicação e por sempre estar junto comigo nessa caminhada. As minhas princesas e filhas Maria Eduarda , Letícia e Raquel , que mesmo nos dias mais difíceis estavam presentes iluminando minha vida ,que tanto me incentivaram enchendo minha vida de amor e carinho.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Antes de tudo, quero agradecer a Deus, por ter abençoado todos os dias da minha vida, por iluminar meu caminho e me dar forças para seguir sempre em frente.

Aquele que habita no abrigo do Altíssimo e descansa à sombra do Todo- poderoso pode dizer ao Senhor: “Tu és o meu refúgio e a minha fortaleza,o meu Deus, em quem confio”.

Salmos 91:1-2

Ao meu grande amor e companheiro,**Josué do Amaral Ramalho**, por sempre estar ao meu lado , com paciência , amor e dedicação. Que junto com nossas filhas(**Maria Eduarda, Letícia e Raquel**(obrigada pelos ensinamentos sobre a vida de Neemias)) tem sido nosso porto seguro e fortaleza. Obrigada por sempre cuidar das suas 4 mulheres! com todo amor do mundo.

“Seja firme determinada em suas ações. Em toda nossa vida, há muitas metamorfoses e um turbilhão de pensamentos.Foque em uma ideia positiva no sentido de galgar algo para sua vida.Se sua vida der uma ré , é hora de recomeçar a sua fé . Todo tropeço, tem um novo recomeço, lembre-se : pedras que hoje bloqueiam seus caminhos , amanhã poderá servir de degraus para sua caminhada. “

Francisco S. Nunes

Aos meus amados pais, **Francisco da Silva Nunes e Terezinha da Silva Nunes** , pelos ensinamentos e por terem acreditado em mim.

Aos meus irmãos: **Renato da Silva Nunes e Rangel da Silva Nunes**, pelas palavras: de apoio , pela união e compreensão. .

A minha querida prima/irmã **Duailanne Duailibe** , por sempre me incentivar e apoiar a permanecer no doutorado.

A minha amada vovó **Onofra** , mesmo distante sempre me incentivou e me mostrou que o melhor caminho seria o conhecimento.Obrigada por toda sabedoria.

Ao meu sobrinho e sobrinhas : **João Eduardo Nunes , Clara Vitória Nunes,a pequena Isabela Nunes , Débora Ramalho , Luana Ramalho** e em especial a **Rebeca Ramalho**(por cada palavra de conforto) , com todo amor e carinho.

As minhas concunhadas **Sandra Ramalho Alves do Amaral , Sílvia da Cruz Ramalho** e cunhada **Flávia Nunes**. Ao cunhado **Moisés Ramalho** , obrigada pelo apoio.

A minha querida secretária **Valéria Alves**, obrigada por me ajudar com as crianças em tempos corridos .

À minha orientadora , **Profª Dra. Margareth de Fátima Formiga Melo Diniz**, pela admiração e, confiança. Agradeço por seus ensinamentos desde que comecei na pesquisa científica e por ser para mim, um modelo de profissional exemplar e ser humano a seguir.

À minha co-orientadora, **Profª Dra. Caliandra Maria Bezerra Luna Lima** por sempre me apoiar e cobrar e estar sempre disponível. E pela paciência e confiança neste trabalho.

À querida e batalhadora, **Profª. Dra Maria de Fátima Vanderley Souza**, como coordenadora geral desse programa de doutorado , esteve sempre pronta a ajudar e por seus valiosos ensinamentos e a sempre disponibilidade. E também , por ter cedido o extrato da planta

Às queridas coordenadora e vice-coordenadora locais :**Profª. Dr.ª Rita de Cássia da Silveira e Sá e Profª. Dr.ª Hilzeth de Luna Freire Pessôa** , pela disponibilidade e ajuda.

“Cada pessoa que passa em nossa vida, passa sozinha, é porque cada pessoa é única e nenhuma substitui a outra! Cada pessoa que passa em nossa vida passa sozinha e não nos deixa só porque deixa um pouco de si e leva um pouquinho de nós. Essa é a mais bela responsabilidade da vida e a prova de que as pessoas não se encontram por acaso.”

Charles Chaplin

Aos amigos:

Durante a minha caminhada na graduação e pós-graduação conheci muitas pessoas importantes. Estas pessoas se tornaram grandes amigos, e estes amigos ajudam a mantermos nossa sanidade mesmo nos momentos difíceis de nossa vida. A estas pessoas eu gostaria de dedicar um agradecimento muito especial:

À minha amiga e companheira de doutorado **Kardilândia Oliveira**, pelo apoio na construção dos exames laboratoriais e pela companhia nas horas de angústia e alegria. Pelas palavras de conforto e pela amizade. Você sempre será minha amiga (anjo) sem asas.

À minha amiga **Edla Julinda**, pelo incentivo, pelo apoio e amizade. Pelas palavras de conforto nos momentos de angústia e obrigada por ser meu (anjo) sem asas em momentos difíceis.

Às queridas **Silva Jales e Alessandra Estevam** companheiras de doutorado , obrigada

pelos bons momentos compartilhados e as palavras de apoio.

À minha amiga de graduação e pós-graduação **Micaelly da Silva Oliveira**, pelos bons momentos compartilhados e pelas palavras de ajuda.

À minha querida amiga **Ayla Nara**, pelas palavras de apoio e amizade.

As amigas **Andressa, Tafaela e Cintia** pelas demonstrações de amizade e importante colaboração durante todo o estudo.

À **Alexandre Rolim Paz**, pelo grande auxílio nos exames histopatológicos.

Aos funcionários do Biotério/UFPB, **José Crispim Duarte e Raimundo Nonato da Silva Filho**, pelo importante papel na execução deste trabalho.

Aos queridos professores da graduação e pós-graduação, pelos bons momentos de aprendizado.

Aos companheiros e amigos de pós-graduação, pelos bons momentos compartilhados.

Às demais pessoas que contribuíram direta ou indiretamente na elaboração deste trabalho, ou participaram da minha vida, e que, por ventura, eu tenha me esquecido de agradecer.

O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.”
(José de Alencar)

RESUMO

RAMALHO, LUCIANA DA SILVA NUNES. **Avaliação da Toxicidade não-clínica do Extrato Etanólico Bruto e Frações de *Sida rhombifolia* L. em roedores.** (Tese). Programa de Pós-graduação em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos -PPgDITM.

Sida rhombifolia (Malvaceae), é uma planta usada na medicina popular indiana para o tratamento da hipertensão arterial, diabetes e gota. O objetivo deste trabalho foi realizar avaliação da toxicidade não-clínica do extrato etanólico bruto e frações de *Sida rhombifolia* L., com base no “Guia para a condução de estudos não-clínicos de toxicologia e segurança farmacológica” necessária ao desenvolvimento de medicamentos. Os testes de toxicidade aguda do extrato etanólico bruto (EEB) e frações de *Sida rhombifolia* L., foram realizados utilizando-se ratos Wistar na dose de 2000 mg/kg. As avaliações comportamentais não apresentaram interferência do extrato e frações sobre o SNC. Na toxicidade aguda com EEB de *Sida rhombifolia* L., houve diminuição no consumo de água e ração dos animais machos. A análise bioquímica dos machos evidenciou alterações nos parâmetros Aspartato Amino Transferase (AST), Alanina Aminotransferase (ALT) e creatinina. Os parâmetros hematológicos alterados dos animais machos foram hemácias, Volume Corpuscular Médio (VCM), Hemoglobina Corpuscular Média (HCM) e eosinófilos. A fração diclorometano de EEB de *Sida rhombifolia* L., a evolução ponderal mostrou-se com diferenças significativas apenas na primeira semana. Observou-se diminuição do consumo de ração para ambos os sexos. As análises hematológicas houve um aumento dos neutrófilos machos e uma baixa de linfócitos em animais machos e eosinófilos em fêmeas. Na bioquímica tivemos um aumento de Fosfatase alcalina e fósforo apenas em fêmeas. Na toxicidade aguda do EEB da fração Hidroalcoólica a evolução ponderal mostrou-se como um aumento de peso das fêmeas. O consumo de água e ração apresentou uma diminuição do consumo de água em machos tratados. Os parâmetros hematológicos, houve uma diminuição do VCM dos animais machos. Na avaliação bioquímica observou-se em ratos machos baixa nos níveis de creatinina e nas fêmeas foi observado aumento significativo de AST, Ácido Úrico e em Glicose. Para a fração N-Butanólica obtivemos uma alteração no consumo de água e ração e na evolução ponderal dos machos na segunda semana. As análises bioquímicas para os animais machos demonstraram diminuição dos triglicerídeos e AST, como também aumento do cálcio, fósforo e albumina. Nas fêmeas houve aumento dos níveis da glicose. Na toxicidade crônica os animais foram tratados por via oral (v.o) com as doses de 16, 80 e 400 mg/kg do EEB de *Sida rhombifolia* L. e um grupo controle, durante 90 dias. diminuiu o consumo de água e ração nos machos e fêmeas, para o teste comportamental campo aberto, aumentou a ambulação e o grooming nas fêmeas. Os parâmetros bioquímicos houve diminuição da albumina nas fêmeas e aumento nos níveis de glicose. Os animais machos, aumentaram a albumina e glicose, como também ocorreu diminuição nos níveis de triglicerídeos. Para os parâmetros hematológicos, um aumento dos hematócrito e neutrófilos dos animais fêmeas, como também diminuiu o CHCM e linfócitos. Na avaliação crônica histopatológica dos órgãos, o coração e rins não apresentaram particularidades histológicas. Os estudos toxicológicos não clínico agudo e crônico do extrato etanólico bruto e frações de *Sida rhombifolia* L., apresentaram uma baixa toxicidade, sendo necessárias maiores investigações para atestar a segurança de seu uso.

Palavras-chaves: *Sida rhombifolia*; plantas medicinais ;toxicidade aguda ; toxicidade crônica

ABSTRACT

Sida rhombifolia (Malvaceae), is a plant used in Indian folk medicine for the treatment of high blood pressure, diabetes and gout. The aim of this study was to perform the non-clinical toxicity assessment of crude ethanolic extract and fractions of *Sida rhombifolia* L., based on the “Guide for conducting non-clinical toxicology and pharmacological safety studies” required for drug development. Acute toxicity tests of crude ethanol extract (CEE) and fractions of *Sida rhombifolia* L. were performed using Wistar rats at a dose of 2000 mg / kg. Undescribed behavioral assessments interference of extraction and fractions on the CNS. In acute CEE toxicity of *Sida rhombifolia* L., there was a decrease in water consumption and proportion of male animals. A biochemical analysis of males showed changes in the parameters Amino Transferase Aspartate (AST), Alanine Aminotransferase (ALT) and creatinine. The altered hematological parameters of male animals were erythrocytes, Mean Corpuscular Volume (MCV), Mean Corpuscular Hemoglobin (HCM) and eosinophils. The dichloromethane CEE fraction of *Sida rhombifolia* L., the weight evolution showed significant differences only in the first week. It was observed a decrease in feed intake for both sexes. Hematological analyzes showed an increase in male neutrophils and a decrease in lymphocytes in male animals and eosinophils in females. In biochemistry we had an increase of alkaline phosphatase and phosphorus only in females. . In the acute toxicity of CEE of the hydroalcoholic fraction the weight evolution was shown as a weight increase of females. Water and feed intake showed a decrease in water consumption in treated males. Hematological parameters, there was a decrease in MCV of male animals. In the biochemical evaluation it was observed in male rats low in creatinine levels and in females a significant increase in AST, Uric Acid and Glucose was observed. For the N-Butanolic fraction we obtained a change in water and feed intake and in weight evolution of males in the second week. Biochemical analyzes for male animals showed decreased triglycerides and AST, as well as increased calcium, phosphorus and albumin. In females there was an increase in glucose levels. In chronic toxicity, the animals were treated orally (v.o) at the doses of 16, 80 and 400 mg / kg CEE of *Sida rhombifolia* L. and a control group for 90 days. decreased water and feed intake in males and females, for the open field behavioral test, increased ambulation and grooming in females. Biochemical parameters showed a decrease in albumin in females and an increase in glucose levels. Male animals increased albumin and glucose, as well as decreased triglyceride levels. For hematological parameters, an increase in hematocrit and neutrophil of the female animals, as well as decreased the CHCM and lymphocytes. In the chronic histopathological evaluation of the organs, the heart and kidneys did not present histological particularities. Acute and chronic non-clinical toxicological studies of crude ethanolic extract and fractions of *Sida rhombifolia* L. showed low toxicity and further investigation is needed to confirm the safety of its use.

Keywords: *Sida rhombifolia*; medicinal plants; acute toxicity; chronic toxicity

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 01 – Imagem da espécie <i>Sida rhombifolia</i> L.....	28
Figura 02 -Estrutura de compostos isolados de <i>S. rhombifolia</i> L. (Malvaceae).....	29
Figura 03 -Aparelho de Rota-rod.....	33
Figura 04 -Aparelho de campo aberto.....	33
Figura 05: Ratas fêmeas :A-Fígado controle (HE 200X); B - Fígado dose 16 mg/Kg (HE 200X); C - Fígado dose 80 mg/Kg (HE 200X); D - Fígado dose 400 mg/Kg (HE 200X).....	Erro!
Indicador não definido.	
Figura 06: Ratas fêmeas :A-Rim controle (HE 200X); B - Rim dose 16 mg/Kg (HE 200X); C - Rim dose 80 mg/Kg (HE 200X); D - Rim dose 400 mg/Kg (HE 200X).....	93
Figura 07: Ratos machos :A-Fígado controle (HE 200X); B - Fígado dose 16 mg/Kg (HE 200X); C - Fígado dose 80 mg/Kg (HE 200X); D - Fígado dose 400 mg/Kg (HE 200X).....	93
Figura 08: Ratos machos :A-Rim controle (HE 200X); B - Rim dose 16 mg/Kg (HE 200X); C - Rim dose 80 mg/Kg (HE 200X); D - Rim dose 400 mg/Kg (HE 200X).....	94

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 01. ALT dos Machos tratados com o EEB de <i>Sida rhombifolia</i> L. na dose de 2000 mg/kg por via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda.....	42
GRÁFICO 02. AST dos Machos tratados com o EEB de <i>Sida rhombifolia</i> L. na dose de 2000 mg/kg por via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda.....	42
GRÁFICO 03. Creatinina dos Machos tratados com o EEB de <i>Sida rhombifolia</i> L. na dose de 2000 mg/kg por via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda	43
GRÁFICO 04. Hemácias dos Machos tratados com o EEB de <i>Sida rhombifolia</i> L. na dose de 2000 mg/kg por via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda.....	44
GRÁFICO 05. VCM dos Machos tratados com o EEB de <i>Sida rhombifolia</i> L. na dose de 2000 mg/kg por via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda.	44
GRÁFICO 06. HCM dos Machos tratados com o EEB de <i>Sida rhombifolia</i> L. na dose de 2000 mg/kg por via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda.....	45
GRÁFICO 07. Eosinófilos dos Machos tratados com o EEB de <i>Sida rhombifolia</i> L. na dose de 2000 mg/kg por via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda..	45
GRÁFICO 08. Evolução ponderal de ratos <i>wistar</i> , fêmeas, tratadas com a dose de 2000 mg/kg com fração diclorometano do extrato etanólico bruto de <i>Sida rhombifolia</i> L., por via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda.....	47
GRÁFICO 09. Evolução ponderal de ratos <i>wistar</i> , machos, tratados com a dose de 2000 mg/kg com a fração diclorometano do extrato etanólico bruto de <i>Sida rhombifolia</i> L., por via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda.....	48
GRÁFICO 10. Consumo de ração de ratos <i>wistar</i> , fêmeas, tratadas com a dose de 2000 mg/kg com fração diclorometano do extrato etanólico bruto de <i>Sida rhombifolia</i> L., por via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda.....	49
GRÁFICO 11. Consumo de ração de ratos <i>wistar</i> , machos, tratadas com a dose de 2000 mg/kg com fração diclorometano do extrato etanólico bruto de <i>Sida rhombifolia</i> L., por via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda.....	50
GRÁFICO 12. Neutrófilos de ratos <i>wistar</i> , machos, tratados com a dose de 2000 mg/kg com a fração diclorometano do extrato etanólico bruto de <i>Sida rhombifolia</i> L, via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda.....	52
GRÁFICO 13. Linfócitos de ratos <i>wistar</i> , machos, tratados com a dose 2000 mg/kg com a fração diclorometano do extrato etanólico bruto de <i>Sida rhombifolia</i> L, via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda.....	52
GRÁFICO 14. Eosinófilos de ratos <i>wistar</i> , fêmeas, tratadas com a dose de 2000 mg/kg com a fração diclorometano do extrato etanólico bruto de <i>Sida rhombifolia</i> L, via oral, durante o ensaio	

de toxicidade aguda.....	53
GRÁFICO 15. Fósforo de ratos <i>wistar</i> , fêmeas, tratadas com a dose de 2000 mg/kg com a fração diclorometano do extrato etanólico bruto de <i>Sida rhombifolia</i> L, via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda.....	55
GRÁFICO 16. Fosfatase Alcalina de ratos <i>wistar</i> , fêmeas, tratadas com a dose de 2000 mg/kg com a fração diclorometano do extrato etanólico bruto de <i>Sida rhombifolia</i> L, via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda.....	55
GRÁFICO 17. Evolução ponderal de ratos <i>wistar</i> , fêmeas, tratadas com a dose de 2000 mg/kg com fração hidroalcoólica do extrato etanólico bruto de <i>Sida rhombifolia</i> L., por via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda.....	57
GRÁFICO 18. Consumo de água de ratos <i>wistar</i> , machos, tratadas com a dose de 2000 mg/kg com fração hidroalcoólica do extrato etanólico bruto de <i>Sida rhombifolia</i> L., por via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda.....	58
GRÁFICO 19. VCM de ratos <i>wistar</i> , machos, tratados com a dose de 2000 mg/kg com a fração hidroalcoólica do extrato etanólico bruto de <i>Sida rhombifolia</i> L, via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda.....	60
GRÁFICO 20. Creatinina de ratos <i>wistar</i> , machos, tratadas com a dose de 2000 mg/kg com a fração hidroalcoólica do extrato etanólico bruto de <i>Sida rhombifolia</i> L, via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda.....	62
GRÁFICO 21. AST de ratos <i>wistar</i> , fêmeas, tratadas com a dose de 2000 mg/kg com a fração hidroalcoólica do extrato etanólico bruto de <i>Sida rhombifolia</i> L, via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda.....	62
GRÁFICO 22. Ácido Úrico de ratos <i>wistar</i> , fêmeas, tratadas com a dose de 2000 mg/kg com a fração hidroalcoólica do extrato etanólico bruto de <i>Sida rhombifolia</i> L, via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda.....	63
GRÁFICO 23. Glicose de ratos <i>wistar</i> , fêmeas, tratadas com a dose de 2000 mg/kg com a fração hidroalcoólica do extrato etanólico bruto de <i>Sida rhombifolia</i> L, via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda.....	63
GRÁFICO 24. Evolução ponderal de ratos <i>wistar</i> , machos, tratados com a dose de 2000 mg/kg com fração n-butanólica do extrato etanólico bruto de <i>Sida rhombifolia</i> L., por via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda.....	65
GRÁFICO 25 . Consumo de água de ratos <i>wistar</i> , machos, tratados com a dose de 2000 mg/kg com fração n-butanólica do extrato etanólico bruto de <i>Sida rhombifolia</i> L., por via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda.	67

GRÁFICO 26. Consumo de ração de ratos <i>wistar</i> , machos, tratados com a dose de 2000 mg/kg com fração n-butanólica do extrato etanólico bruto de <i>Sida rhombifolia</i> L., por via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda.	67
GRÁFICO 27. Consumo de água de ratos <i>wistar</i> , fêmeas, tratadas com a dose de 2000 mg/kg com fração n-butanólica do extrato etanólico bruto de <i>Sida rhombifolia</i> L., por via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda.	68
GRÁFICO 28. Consumo de ração de ratos <i>wistar</i> , fêmeas, tratadas com a dose de 2000 mg/kg com fração n-butanólica do extrato etanólico bruto de <i>Sida rhombifolia</i> L., por via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda.	68
GRÁFICO 29. Triglicerídeos dos machos tratados com a fração n-butanólica do extrato etanólico de <i>Sidarhombifolia</i> L. na dose de 2000 mg/kg por via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda.	71
GRÁFICO 30. Cálcio dos machos tratados com a fração n-butanólica do extrato etanólico de <i>Sidarhombifolia</i> L. na dose de 2000 mg/kg por via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda.	71
GRÁFICO 31. Fósforo dos machos tratados com a fração n-butanólica do extrato etanólico de <i>Sidarhombifolia</i> L. na dose de 2000 mg/kg por via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda.	72
GRÁFICO 32. Albumina dos machos tratados com a fração n-butanólica do extrato etanólico de <i>Sidarhombifolia</i> L. na dose de 2000 mg/kg por via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda.	72
GRÁFICO 33. AST dos machos tratados com a fração n-butanólica do extrato etanólico de <i>Sidarhombifolia</i> L. na dose de 2000 mg/kg por via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda.	73
GRÁFICO 34. Glicose das fêmeas tratadas com a fração n-butanólica do extrato etanólico de <i>Sidarhombifolia</i> L. na dose de 2000 mg/kg por via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda.	74
GRÁFICO 35 - Consumo de Água de ratos <i>wistar</i> tratados com o EEB de <i>Sida rhombifolia</i> L. durante o ensaio de toxicidade crônico. Os valores estão expressos em média.	76
GRÁFICO 36 - Consumo de Água de ratas <i>wistar</i> tratadas com o EEB de <i>Sida rhombifolia</i> L.durante o ensaio de toxicidade crônico.....	76
GRÁFICO 37 - Consumo de ração de ratas <i>wistar</i> tratadas com o EEB de <i>Sida rhombifolia</i>	

L.durante o ensaio de toxicidade crônico.....	78
GRÁFICO 38- Consumo de ração de ratos wistar tratados com o EEB de <i>Sida rhombifolia</i> L.durante o ensaio de toxicidade crônico.	
.....	79
GRÁFICO 39 - Evolução ponderal de ratos wistar tratados com o EEB de <i>Sida rhombifolia</i> L. durante o ensaio de toxicidade crônico.	
.....	79
GRÁFICO 40 - Evolução ponderal de ratas wistar tratadas com o EEB de <i>Sida rhombifolia</i> L. durante o ensaio de toxicidade crônico.	
.....	79
GRÁFICO 41: Número de execuções de comportamento “ Ambulação” no experimento de campo aberto de ratos Wistar fêmeas tratados com EEB de <i>Sida rhombifolia</i> L.	
.....	82
GRÁFICO 42: Número de execuções de comportamento “ Grooming” (limpeza) no experimento de campo aberto de ratas Wistar fêmeas tratadas com EEB de <i>Sida rhombifolia</i> L.	
.....	82
GRÁFICO 43: Tempo de Permanência (em segundos) na barra giratória do Rota–Rod de ratas Wistar tratadas com EEB de <i>Sida rhombifolia</i> L. durante o ensaio de toxicidade crônica .	
.....	83
GRÁFICO 44: Tempo de Permanência (em segundos) na barra giratória do Rota–Rod de ratos Wistar tratados com EEB de <i>Sida rhombifolia</i> L. durante o ensaio de toxicidade crônica	
.....	83
GRÁFICO 45. Dosagem de albumina em ratas Wistar tratados com diferentes doses do EEB de <i>Sida rhombifolia</i> L durante o ensaio de toxicidade crônica.....	85
GRÁFICO 46. Dosagem de glicose em ratas Wistar tratados com diferentes doses do EEB de <i>Sida rhombifolia</i> L durante o ensaio de toxicidade crônica.....	86
GRÁFICO 47. Dosagem de triglicerídeos em ratas Wistar tratados com diferentes doses do EEB de <i>Sida rhombifolia</i> L durante o ensaio de toxicidade crônica.....	86
GRÁFICO 48. Dosagem de albumina em ratos Wistar tratados com diferentes doses EEB de <i>Sida rhombifolia</i> L. Durante o ensaio de toxicidade crônica.....	87
GRÁFICO 49. Dosagem de glicose em ratos Wistar tratados com diferentes doses EEB de <i>Sida rhombifolia</i> L. durante o ensaio de toxicidade crônica.....	87
GRÁFICO 50. Dosagem de triglicerídeos em ratos Wistar tratados com diferentes doses EEB de <i>Sida rhombifolia</i> L. durante o ensaio de toxicidade crônica.....	88

GRÁFICO 51. Dosagem dos hematócrito obtidas do sangue de ratas tratadas com diferentes doses EEB de <i>Sida rhombifolia</i> L. durante o ensaio de toxicidade crônica.....	90
GRÁFICO 52. Dosagem dos neutrófilos obtidas do sangue de ratas tratadas com diferentes doses EEB de <i>Sida rhombifolia</i> L. durante o ensaio de toxicidade crônica.....	90
GRÁFICO 53. Dosagem de CHCM obtidas do sangue de ratas tratadas com diferentes doses EEB de <i>Sida rhombifolia</i> L. durante o ensaio de toxicidade crônica.....	91
Gráfico 54: Dosagem dos linfócitos obtidas do sangue de ratas tratadas com diferentes doses EEB de <i>Sida rhombifolia</i> L. durante o ensaio de toxicidade crônica.....	91

LISTA DE TABELAS

TABELA 01. Consumo de água e ração de Ratos <i>Wistar</i> , machos e fêmeas, tratados com o EEB de <i>nSida rhombifolia</i> L. na dose de 2000 mg/kg por via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda.	40
TABELA 02. Parâmetros bioquímicos obtidos do soro dos ratos tratados com o EEB de <i>Sida rhombifolia</i> L. na dose de 2000 mg/kg por via oral,durante o ensaio de toxicidade aguda.....	41
TABELA 03. Parâmetros hematológicos obtidos do plasma dos ratos tratados com o EEB de <i>Sida rhombifolia</i> L. na dose de 2000 mg/kg por via oral,durante o ensaio de toxicidade aguda..	43
TABELA 04. Evolução ponderal de ratos <i>wistar</i> , fêmeas e machos, tratados por via oral com 2000mg/kg, dose única, da fração diclorometano do extrato etanólico bruto de <i>Sida rhombifolia</i> L.....	47
TABELA 05. Consumo de água e ração de ratos <i>wistar</i> , fêmeas e machos, tratados com a dose de 2000 mg/kg, com a a fração diclorometano do extrato etanólico bruto de <i>Sida rhombifolia</i> L.....	49
TABELA 06. Parâmetros Hematológicos obtidos do sangue de ratos <i>wistar</i> , fêmeas e machos, tratados com as doses de 2000 mg/kg com a fração diclorometano do extrato etanólico bruto de <i>Sida rhombifolia</i> L.....	51
TABELA 07. Parâmetros bioquímicos obtidos do sangue de ratos <i>wistar</i> , fêmeas e machos, tratados com as doses de 2000 mg/kg com a fração diclorometano do extrato etanólico bruto de <i>Sida rhombifolia</i> L.....	54
TABELA 08. Evolução ponderal de ratos <i>wistar</i> , fêmeas e machos, tratados por via oral com 2000mg/kg, dose única, da fração hidroalcoólica do extrato etanólico bruto de <i>Sida rhombifolia</i> L., durante o ensaio de toxicidade aguda.....	57
TABELA 09. Consumo de água e ração de ratos <i>wistar</i> , fêmeas e machos, tratados com a dose de 2000 mg/kg, com a a fração hidroalcoólica do extrato etanólico bruto de <i>Sida rhombifolia</i> L, via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda.....	58
TABELA 10. Parâmetros Hematológicos obtidos do sangue de ratos <i>wistar</i> , fêmeas e machos, tratados com as doses de 2000 mg/kg com a fração hidroalcoólica do extrato etanólico bruto de <i>Sida rhombifolia</i> L., via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda.....	59
TABELA 11. Parâmetros Bioquímicos obtidos do sangue de ratos <i>wistar</i> , fêmeas e machos, tratados com as doses de 2000 mg/kg com a fração hidroalcoólica do extrato etanólico bruto de <i>Sida rhombifolia</i> L.....	61
TABELA 12. Evolução ponderal de ratos <i>Wistar</i> , fêmeas e machos, tratados por via oral com 2000mg/kg,dose única, da fração n-butanólica do extrato etanólico bruto de <i>Sida rhombifolia</i> L.....	65

TABELA 13. Consumo de água e ração de ratos <i>wistar</i> , fêmeas e machos, tratados com a dose de 2000 mg/kg, com a fração n-butanólico extrato etanólico bruto de <i>Sida rhombifolia</i> L.....	66
TABELA 14. Parâmetros Hematológicos obtidos do sangue de ratos <i>wistar</i> , machos e fêmeas, tratados com as doses de 2000 mg/kg com a fração n-butanólico extrato etanólico bruto de <i>Sida</i> <i>rhombifolia</i> L.....	69
TABELA 15: Parâmetros bioquímicos obtidos do soro dos ratos tratados com a fração n-butanólica do extrato etanólico de <i>Sidarhombifolia</i> L. na dose de 2000 mg/kg por via oral,durante o ensaio de toxicidade aguda.....	70
TABELA 16: Consumo semanal de água por ratos Wistar durante os 90 dias de tratamento crônico com diferentes doses do EEB de <i>Sida rhombifolia</i> L.....	75
TABELA 17: Consumo semanal de ração por ratos Wistar durante os 90 dias de tratamento crônico com diferentes doses do EEB.....	77
TABELA 18: Número de “Ambulações” no experimento de campo aberto, em ratos tratados com diferentes doses do EEB de <i>Sida rhombifolia</i> L.....	80
TABELA 19: Número de execuções de comportamento “ Grooming” (limpeza) no experimento de campo aberto, em ratos tratados com diferentes do EEB de <i>Sida rhombifolia</i> L.....	81
TABELA 20 - Parâmetros bioquímicos obtidos do sangue de ratos Wistar tratados com o Extrato Etanólico Bruto de <i>Sida rhombifolia</i> L.durante o ensaio de toxicidade crônica.....	84
TABELA 21 - Parâmetros hematológicos obtidos do sangue de ratos Wistar tratados com o Extrato Etanólico Bruto de <i>Sida rhombifolia</i> L.durante o ensaio de toxicidade crônica.	89

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 – Particionamento e cromatografia líquida-líquida do extrato etanólico bruto das partes aéreas de <i>Sida Rhombifolia</i> L.....	31
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALT	alanina aminotransferase
ANVISA	Agência Nacional da Vigilância Sanitária
AST	Aspartato Amino Transferase
AU	ácido úrico
CEE	Extrato Etanólico Bruto da Sida rhombifolia L.
CEUA	Comitê de Ética no Uso de Animais
CK	Creatinoquinase
CNS	Conselho Nacional de Saúde
DHL	lactato desidrogenase
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
GGT	Gama glutamiltransferase
HCM	Hemoglobina Corpuscular Média
HDL	High Density Lipoprotein (Lipoproteína de Alta Densidade)/Lactato Desidrogenase
MCV	Volume Corpuscular Médio
NO	óxido nítrico
OMS	Organização Mundial da Saúde
PUC	Pontifícia Universidade Católica
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada

SIDA	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
SNA	Sistema Nervoso Autônomo
SNC	Sistema Nervoso Central
TGO	Transaminase glutâmico-oxalacética
TGP	Transaminase glutâmico-pirúvica
UFPB	Universidade Federal da Paraíba

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	23
1.1	Objetivo	24
2	OBJETIVO GERAL	24
2.1	Objetivo específico	24
2.2	REFERENCIAL TEÓRICO	25
3.	<i>SIDA RHOMBIFOLIA L.</i>	26
4.	MATERIAL E MÉTODOS	30
4.1	Local da pesquisa	30
4.2	Material botânico	30
4.2.1	Droga utilizada	30
4.2.1.2	Preparação do extrato etanólico bruto e frações de <i>Sida rhombifolia L.</i>	30
4.2.2	Animais	32
4.2.2.1	Ratos Wistar	32
4.2.3	Aparelhagem	32
4.3	METODOLOGIA	34
4.3.1	Ensaio toxicológico não clínico agudo	34
4.3.1.1	Análise laboratorial do sangue	35
4.3.1.2	Parâmetros bioquímicos:	35
4.3.1.3	Parâmetros hematológicos:	35
4.3.2	Ensaio toxicológico não clínico crônico	35
4.3.2.1	Consumo de água, alimento e avaliação ponderal	36
4.3.2.2	Avaliação comportamental	36
4.3.2.3	Teste do Campo Aberto	36
4.3.2.4	Motora - Teste no Rota-rod	37
4.3.2.5	Avaliação laboratorial do sangue	37
4.3.2.6	Parâmetros Hematológicos:	37
4.3.2.7	Parâmetros Bioquímicos:	38
4.3.2.8	Exame anatomopatológico	38
4.3.2.9	Análise Estatística	38
4.4	Resultados	38
5.1	Ensaio toxicológico não-clínico agudo	38
5.1.1	Extrato etanólico bruto de <i>Sida Rhombifolia l.</i>	38
5.1.1.1	Avaliação comportamental e letalidade	38
5.1.1.2	Evolução ponderal	39

5.1.1.3	Consumo de água e ração	39
5.1.1.4	Parâmetros bioquímicos	40
5.1.1.5	Parâmetros hematológicos.....	43
5.2	Fração diclorometano do extrato etanólico bruto de <i>Sida Rhombifolia</i>.....	46
5.2.1	Triagem comportamental e letalidade	46
5.2.1.2	Evolução ponderal.....	46
5.2.1.3	Consumo de água e ração.....	48
5.2.1.4	Análise laboratorial do sangue	50
5.2.1.5	Parâmetros bioquímicos	53
5.3	Fração hidroalcoólica do extrato etanólico bruto de <i>Sida Rhombifolia</i> l.....	56
5.3.1	Triagem comportamental e letalidade	56
5.3.1.1	Evolução ponderal.....	56
5.3.1.2	Consumo de água e ração.....	58
5.3.1.3	Análise laboratorial do sangue	59
5.3.1.4	Parâmetros bioquímicos	60
5.4	Fração n-butanólica do extrato etanólico bruto de <i>Sida Rhombifolia</i> l.....	64
5.4.1	Avaliação comportamental e letalidade	64
5.4.1.1	Evolução ponderal.....	64
5.4.1.2	Consumo de água e ração.....	66
5.4.1.3	Análise laboratorial do sangue	69
5.4.1.4	Parâmetros hematológicos.....	69
5.4.1.5	Parâmetros bioquímicos	70
6.1	Ensaio toxicológico não-clínico crônico.....	74
6.1.1	Consumo de água e ração.....	74
6.1.2	Variação da evolução ponderal.....	79
6.1.3	Avaliação comportamental (teste do campo aberto) e Motora (teste de rota-rod):	80
6.1.4	Avaliação laboratorial do sangue	84
6.1.4.1	Parâmetros bioquímicos	84
6.1.4.2	Parâmetros hematológicos	88
7	ESTUDO ANATOMOPATOLÓGICO	92
8	DISCUSSÃO	95
9	CONCLUSÃO	106
	REFERÊNCIAS	107

1.INTRODUÇÃO

As plantas são consumidas para fins medicinais desde os tempos antigos e se tornaram recursos valiosos para os sistemas de atenção primária ao longo dos séculos, especialmente nas áreas rurais e nos países em desenvolvimento (Heinrich 2010 ; Ullah et al. 2010). Nos últimos anos, as doenças e seus desdobramentos vêm acelerando a pesquisa nas indústrias farmacêuticas, bem como, em diversos centros universitários do mundo, buscando desse modo, identificar e desenvolver novas substâncias, dotadas de potencial farmacológico, visando consagrar-se como bioativos promissores (NAG; MUKHERJEE, 2014) e contribuir para o progresso na assistência ao paciente, seu tratamento e cura (BRANCH; AGRANAT, 2014).

Sendo assim temos uma estimativa que cerca de 20.000 espécies vegetais no mundo são conhecidas por diferentes povos e regiões graças aos seus usos e eficácia em tratamentos de diversas doenças. No nosso país, as comunidades indígenas, europeias e africana desempenharam um papel marcante na prática da utilização de plantas com fins medicinais (REZENDE; COCCO, 2002; CAVAGLIER; MESSEDER, 2014).

Os obstáculos presentes no desenvolvimento de fármacos baseados em derivados de plantas, o interesse da indústria farmacêutica pela procura de substâncias vegetais biologicamente ativas foi reativada da década de 90 (WALSH; FISCHBACH, 2010). Além disso, a utilização de técnicas modernas de isolamento e identificação de compostos químicos obtidos de fontes naturais tem propiciado um aumento na descoberta de novas estruturas químicas (BRANDÃO *et al.* 2010).

O desenvolvimento de novos medicamentos envolve uma sequência de experimentos que incluem triagens toxicológicas e farmacológicas. Entre os estudos toxicológicos, citam-se os estudos de toxicidade não-clínica. No Brasil, uma das normas regulamentadoras é a Resolução da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) com a RDC nº 26, de 13 de maio de 2014, que dispõe sobre o registro de medicamento fitoterápico e a notificação de produtos fitoterápicos (BRASIL, 2014). Além disso, a Instrução Normativa (ANVISA) nº4, de 18 de junho de 2014, que determina a publicação do Guia de orientação para registro de medicamento fitoterápico e registro e notificação de produto tradicional fitoterápico preconiza que para a realização dos estudos não clínicos deverá seguir o Guia para a condução de estudos não clínicos de toxicologia e segurança farmacológica necessária ao desenvolvimento de medicamentos.

A OMS classifica 250 medicamentos como essenciais e básicos. Dentre estes, 11% são exclusivamente obtidos de plantas medicinais, e um número significativo é de fármacos sintéticos obtidos a partir de fonte natural. Apesar desta cifra, das cerca de quase 550.000

espécies de plantas existentes no mundo, apenas uma pequena parte tem sido objeto de estudo fitoquímico e farmacológico; e menos de 2500 foram caracterizadas com relação aos metabólitos secundários (SHU, 1998; CALIXTO, 2000).

Esses dados exemplificam como ainda é alto o potencial das plantas, como fonte de pesquisa para novos medicamentos, com novos modos de ação, bem como com alta seletividade e atividade e que ainda são precariamente explorados. Apesar de já existirem diversos estudos para identificar os componentes ativos de cada planta em utilização, sua indicação médica, sua dosagem terapêutica segura e os seus efeitos colaterais; vale ressaltar que apesar de terem seu potencial curativo, em alguns casos podem ser bastante tóxicas ou mesmo mortais. Vários desses compostos podem ser tóxicos e existe já um relativo número de estudos que relataram os efeitos tóxicos dos medicamentos à base de plantas (TAZIEBOU *et al.* 2008).

No caso do Brasil, este se encontra em posição privilegiada, pois é o país com a maior diversidade vegetal do mundo, contando com mais de 55.000 espécies catalogadas de um total estimado entre 350.000 e 550.000 (GUERRA; NODARI, 2003). Com a consagração, por uma importante parcela da população, do uso das plantas como medicamentos, ainda são muito poucos os estudos científicos existentes que confirmam a ausência de toxicidade e/ou justifiquem o uso terapêutico dessas plantas (DINIZ, 2000). É nesse panorama que apresentamos nosso estudo de avaliação toxicológica não clínica do extrato etanólico bruto e frações de *Sida rhombifolia* L., pertencente a família das Malvaceae.

1.1 Objetivo

2. OBJETIVO GERAL

- Realizar ensaios toxicológicos não-clínico agudo e crônico da *Sida rhombifolia* L. com base no “Guia para a condução de estudos não clínicos de toxicologia e segurança farmacológica” (ANVISA).

2.1 Objetivo específico

- Investigar efeitos tóxicos e/ou ocorrência de mortes utilizando ensaios toxicológicos não-clínico agudo e crônico do extrato etanólico bruto e das frações da *Sida rhombifolia* L.;
- Avaliar a toxicidade aguda com o extrato etanólico bruto e das frações (diclometano, hidroalcoólica e n-butanólica) das partes aéreas da *Sida rhombifolia* L.,

utilizando ratos *Wistar* através da observação de parâmetros comportamentais, ponderais, hematológicos e bioquímicos;

- Avaliar a toxicidade crônica com o extrato etanólico bruto das partes aéreas da *Sida rhombifolia* L., utilizando ratos *Wistar* através da observação de parâmetros comportamentais (campo aberto e rota-rod), ponderais, hematológicos, bioquímicos e anatomopatológicos.

2.2 Referencial teórico

A pesquisa de novas drogas envolve uma sequência de experimentos que compreendem estudos não clínicos e clínicos. De acordo com a Resolução CNS 251/97, a pesquisa pré-clínica deve gerar informações que permitam justificar a realização de pesquisas em seres humanos. Os relatos dos estudos experimentais devem especificar o método utilizado, os modelos celulares, teciduais ou animais utilizados, os testes laboratoriais, os dados de farmacocinética e toxicologia. Os resultados não clínicos devem permitir demonstrar a relevância dos achados, as possíveis aplicações terapêuticas e antever alguns dos riscos com o seu uso (BERKOWITZ, 2005; EATON; GOLDIM, 2007; GILBERT, 2008).

Os testes de toxicidade aguda são aqueles utilizados para avaliar a toxicidade produzida por uma substância teste quando esta é administrada em uma ou mais doses durante um período não superior a 24 horas, seguido de observação dos animais por 14 dias após a administração (ANVISA, 2013). Os testes de toxicidade aguda avaliam a toxicidade após exposição a uma dose única ou dose fracionada administrada no período de 24 horas, conforme a resolução RE nº 90. São realizados em uma espécie de mamíferos, machos e fêmeas. Após a administração, os animais são observados por 24 horas para avaliação do estado geral onde são analisadas possíveis alterações sobre os sistemas: nervoso central, autônomo e locomotor. O consumo de água e ração e evolução ponderal são avaliados diariamente por um período de 14 dias. Ao final deste período, os animais são sacrificados para análise macroscópica e histológica dos órgãos (BRITO, 1994; CARVALHO, 2006). Os ensaios para a avaliação da toxicidade aguda incluem parâmetros como alterações comportamentais, variações de peso corpóreo, parâmetros hematológicos e bioquímicos do sangue. Os estudos de toxicidade crônica estão concebidos para caracterizar os efeitos tóxicos das drogas mediante a administração repetidas das mesmas, diariamente por períodos de tempo variando entre 13 semanas a 1 ano e para determinar qualquer efeito tóxico (BHARDWAJ, 2012; GUPTA). Os sinais clínicos, o peso do corpo, e consumo de alimentos pode ser indicadores sensíveis de toxicidade. Um perfil completo da hematologia e química do soro são determinados, pelo menos, no fim do período de

administração e, em alguns casos em intervalos durante o período de administração. Exames físicos completos são conduzidas por um veterinário ou um técnico treinado em intervalos regulares. No final do período de administração do medicamento, todos os animais são submetidos a uma necropsia completa sob a supervisão de um patologista. Os tecidos são então submetidos a exame microscópico completar por um patologista veterinário para detectar alterações morfológica no tecido, que possam ter resultado da administração da droga (BHARDWAJ, 2012; GUPTA).

São utilizadas no mínimo três doses (a dose que produza efeito terapêutico, a menor dose que produza um efeito adverso detectável e uma dose intermediária). Nesse estudo os animais devem ser tratados diariamente sem qualquer interrupção e, durante esse período, são observados parâmetros como: alterações comportamentais, evolução ponderal, consumo de água e ração. Ao final do tratamento, o sangue é retirado para análises hematológicas e bioquímicas. Os animais são eutanasiados e seus órgãos retirados e enviados para análise histopatológica (BRITO, 1994; CARVALHO, 2006).

Foram respeitados as medidas para diminuir dor, estresse ou outro sofrimento dos animais assim como os tempos limites de exposição do animal aos estímulos dos testes, a fim de evitar lesão tecidual e após os testes os animais serão eutanasiados por administração de excesso de anestésico (Xilazina e Quetamina nas doses de 80 e 5 mg/kg, respectivamente) como recomendado pela comunidade científica.

Os protocolos experimentais são baseados na RDC nº 26, de 13 de maio de 2014, que dispõe sobre o registro de medicamento fitoterápico e a notificação de produtos fitoterápicos na Instrução Normativa nº4, de 18 de junho de 2014, que determina a publicação do Guia de orientação para registro de medicamento fitoterápico e registro e notificação de produto tradicional fitoterápico preconiza que para a realização dos estudos não clínicos deverá seguir o Guia para a condução de estudos não clínicos de toxicologia e segurança farmacológica necessária ao desenvolvimento de medicamentos.

3. *SIDA RHOMBIFOLIA L*

Mundialmente a família Malvaceae compreende nove subfamílias (Bombacoideae, Brownlowioideae, Byttnerioideae, Dombeyoideae, Grewioideae, Helicteroideae, Malvoideae, Sterculioideae e Tilioideae) as quais ocorrem predominantemente nas regiões tropicais. Com sua distribuição pelo mundo, possui catalogados 250 gêneros e mais de 4230 espécies (STEVENS, 2003; TAIA, 2009).

Os gêneros distribuídos pelo mundo, que detém maior número desta família são:

Hibiscus (300 espécies), *Sida* (250 espécies), *Pavonia* (150 espécies), *Abutilon* (100 espécies), *Nototriche* (100 espécies), *Cristaria* (75 espécies) e *Gossypium* (40 espécies) (STEVENS, 2003 *apud* COSTA *et al.* 2007). No Brasil, foram identificados 70 gêneros, sendo 9 endêmicos e 765 espécies, dos quais 406 são endêmicas (BOVINI *et al.* 2015a).

A realização de estudos químicos sobre os metabólitos secundários de espécies da família Malvaceae, permitiram identificar a ocorrência de flavonoides, sendo alguns destes sulfatados, além de triterpenos, ácidos graxos, cumarinas, alcaloides, entre outros (CHAVES *et al.* 2013; TELES *et al.* 2015a; SILVA *et al.* 2009).

Sida é um gênero botânico inserido na família Malvaceae, pertence à ordem Malvales e esta constituída por 243 gêneros e 4225 espécies (STEVENS, 2003; WI-KIPEDIA, 2007), que se apresentam como ervas subarbustos, arbustos e raramente arvores (BARACHO, 1998). Espécies desta família são amplamente distribuídas em quase todo o mundo, com exceção de regiões muito frias, ocorrendo predominante- mente nas regiões tropicais, principalmente na America do Sul (HEYWOOD, 1993).

No Brasil, este gênero possui cerca de 35 gêneros e 400 espécies, muitos representantes nas regiões Nordeste e Sul e, em menor proporção, nas regiões Norte, Centro-Oeste e Sudeste (BARROSO *et al.* 1991; SILVA *et al.* 2006a). De espécies do gênero *Sida* foram isolados e identificados alcaloides indólicos e quinazolínicos, β -feniletilaminas (PRAKASH, *et al.* 1981), alcaloides indoquinolínicos, lignoides, alcanidas (KAROU, *et al.* 2007), esteroides, flavonoides, ácidos fenólicos e compostos porfirínicos (SILVA, *et al.* 2006).

A espécie *Sida rhombifolia*, conhecida popularmente como guanxuma, mata-pasto e/ou relógio (Figura 01) é nativa do continente americano, sendo amplamente distribuída por todo o mundo. No Brasil, esta espécie encontra-se presente em todo o país, sendo mais comum na região Sul e Nordeste. É uma espécie infestante em diversas lugares, como pastagens e áreas desocupadas (BIANCO *et al.* 2008).

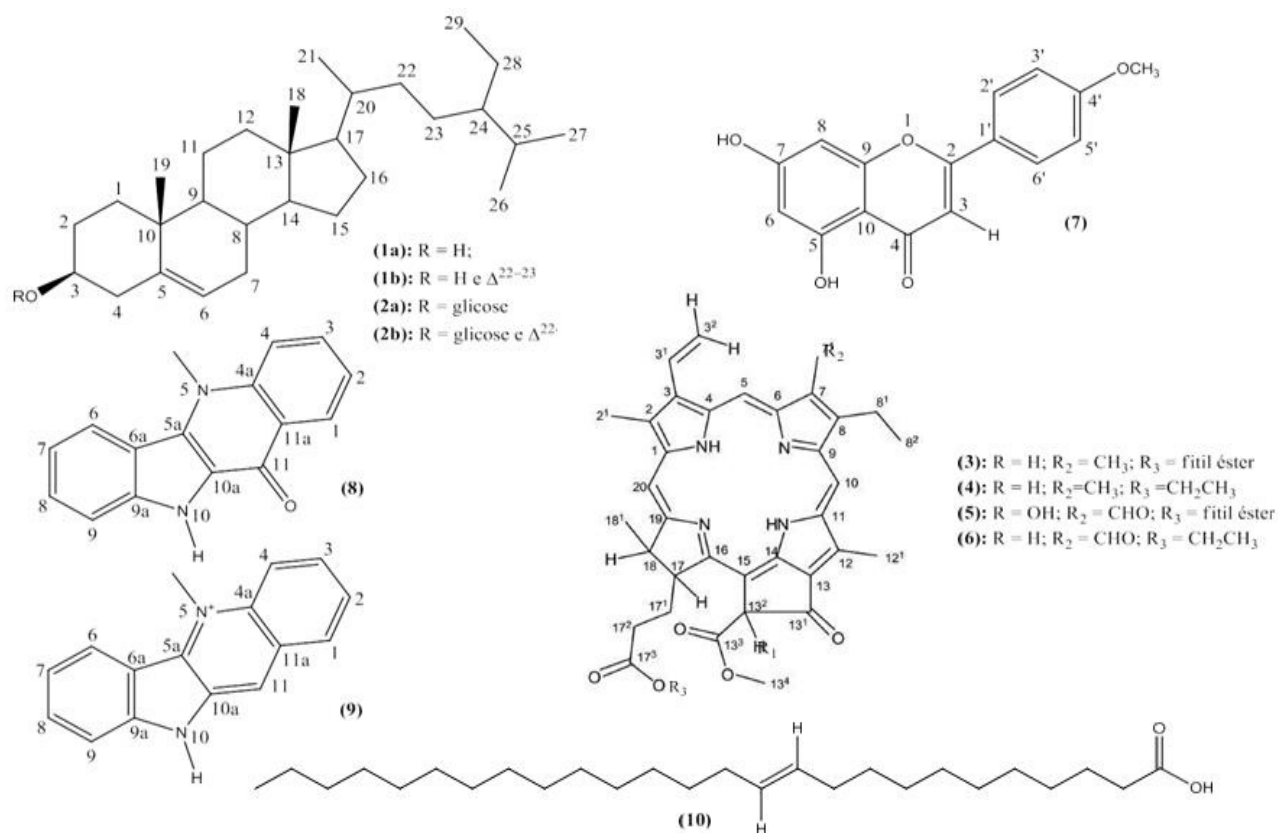
Fig. 01 – Imagem da espécie *Sida rhombifolia* L.



Fonte: PHYTOIMAGES, 2018.

Doze substâncias foram isoladas das partes aéreas e raízes de *Sida rhombifolia*: sitosterol (**1a**), estigmasterol (**1b**), sitosterol-3-*O*-D-glicopiranosídeo (**2a**), estigmasterol-3-*O*-D-glicopiranosídeo (**2b**), feofitina a (**3**), 17³-etoxi feoforbídeo (**4**), 13²-hidroxifeoftina b (**5**), 17³-etoxi feoforbídeo b (**6**), 5,7-dihidroxi-4'-metoxiflavona (acacetina) (**7**), criptolepinona (**8**), sal da criptoleptina (**9**) e o ácido (E)-hexacos-11-enoico (**10**) (Figura 02) (CHAVES et al., 2013; WOLDEYES et al., 2012).

O uso medicinal da *Sida rhombifolia* está bem fundamentado na literatura. No qual, a população em geral utiliza as folhas contra a diarreia, infusão das raízes para reumatismo, ação anti-inflamatória, entre outras (LORENZI; MATOS, 2008).

Figura 02 – Estrutura de compostos isolados de *S. rhombifolia* L. (Malvaceae).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Local da pesquisa

As atividades da pesquisa foram desenvolvidas no Laboratório de Ensaios Toxicológicas não clínicos e clínicos (LABETOX) e no biotério Prof. Thomas George do Centro de Biotecnologia - CBIOTEC da Universidade Federal da Paraíba (UFPB).

4.2 Material botânico

As partes aéreas de *Sida rhombifolia* L.(Malvaceae) foram coletadas no município de Santa Rita-PB e sua identificação botânica foi realizada pela Prof^a Dr^a Maria de Fátima Agra da PgPNSB/CCS/UFPB. Uma exsicata do material encontra-se arquivada no Herbário Prof. Lauro Pires Xavier (CCEN/UFPB) sob a numeração Agra7045.

4.2.1 Droga utilizada

Extrato Etanólico Bruto e frações(diclorometano, n-butanólica e hidroalcoólica) de *Sida rhombifolia* L.

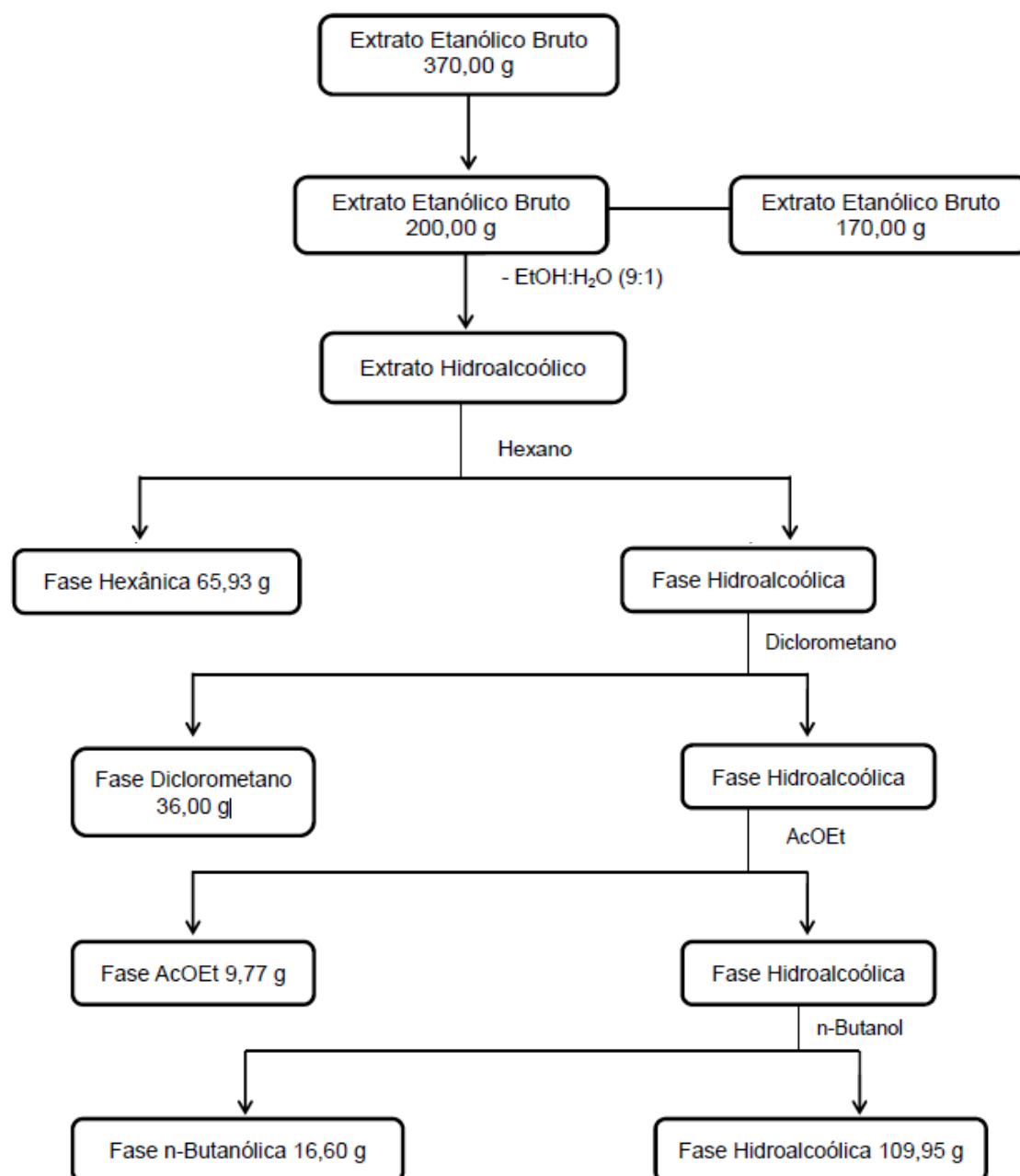
4.2.1.2 Preparação do extrato etanólico bruto e frações de *Sida rhombifolia* L.

O Extrato Etanólico e suas frações foi fornecido pela equipe do Laboratório de Fitoquímica da Professora Dra. Maria de Fátima Vanderlei de Souza -UFPB. As partes aéreas de *Sida rhombifolia* L. foram desidratadas em estufa, com ar circulante, à temperatura média de 40 °C durante 96 horas, em seguida foram triturados em moinho mecânico, obtendo aproximadamente 5,5 Kg de pó. No qual, foi macerado em etanol (EtOH) a 95% por 72 horas para a extração dos constituintes orgânicos. A solução extrativa foi concentrada em rotaevaporador a 40 °C, fornecendo aproximadamente 370,0 g do extrato etanólico bruto (EEB). A partir do extrato etanólico bruto (EEB) obteve-se as frações: diclorometano, hidroalcoólica e n-butanólica.

- ✓ **Cromatografia líquida-líquida do extrato etanólico bruto das partes aéreas de *Sida rhombifolia* L.**

Outra parte do extrato etanólico bruto das partes aéreas de *Sida rhombifolia* L. (200,0 g) foi dissolvido em EtOH:H₂O (9:1) e submetido a cromatografia líquida-líquida, extraída com Hexano, Diclorometano, Acetato de Etila e n-Butanol, obtendo suas respectivas fases, além da fase hidroalcoólica (Esquema 1).

Esquema 1 – Particionamento e cromatografia líquida-líquida do extrato etanólico bruto das partes aéreas de *Sida Rhombifolia* L.(SOUZA; SILVA, 2006)



Fonte: “NOVAS SUBSTÂNCIAS PARA MALVACEAS: *Sida rhombifolia* L.” (CHAVES, 2012)

4.2.2 Animais

4.2.2.1 Ratos Wistar

Durante os ensaios, foram utilizados ratos *Wistar (Ratus norvegicus)*, albinos, adultos, machos e fêmeas (nulíparas e não grávidas), pesando entre 180 e 220 gramas, fornecidos pelo biotério Prof. Thomas George do Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos (IPeFarM-UFPB). Os animais foram agrupados em gaiolas de polietileno, mantidos sob condições controladas de temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, sem uso de qualquer medicamento, tendo livre acesso à comida (tipo pellets de ração da marca Purina®) e água potável disponível em garrafas graduadas de polietileno, colocadas nas grades metálicas das gaiolas na sua parte superior. Os animais foram mantidos em ciclo claro-escuro de doze horas. Projeto aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal sob número 029/2015.

4.2.3 Aparelhagem

- Analisador bioquímico automatizado Chemwell-T. - para determinações bioquímicas no soro dos animais em experimentação;
- Analisador de íons seletivos, AVL 9180- Electrolyte Analyzer AVLAB®, para determinações dos íons sódio, potássio, cálcio, magnésio e cloreto no soro dos animais testados nos experimentos toxicológicos;
- Analisador hematológico celular automático de uso veterinário – SCIL Vet abx-Homba ABX®, para obtenção de hemograma e contagem de plaquetas. Os esfregaços sanguíneos serão corados pelo Giemsa;
- Balança analítica marca AID® – HR – 120g – Japão, para pesagem das substâncias testadas e órgãos;
- Balança eletrônica BG – 8000 GEHAKA®, para pesagem dos animais e determinação do consumo de água e ração;
- Campo aberto – aparelho desenvolvido no LTF, consistindo em uma arena circular de material metálico, de cor branca, dividida em 16 segmentos, com uma lâmpada suspensa de 100W de potência, para avaliação de alterações na atividade motora;
- Cânula de Gavagem, para administração dos extratos;
- Centrífuga BIO ENG® BE 4000, para separação do soro em dez minutos, a 3500 rp;
- Glicosímetro ACCU- CHEK PERFORMA NANO - monitor de glicemia com fitas reativas, para determinação quinzenal da glicemia dos animais no experimento de

toxicidade crônica;

- HEMATEL 200® e microscópio Nikon®, para confirmação e controle da contagem das células sanguíneas;
- Microscópio RML5® Askmania-Germany, utilizado nas análises histopatológicas;
- Rota rod, fabricado por Ugo Basile (Itália), modelo 7750. Consiste de uma barra giratória de cinco cm de circunferência e 40 cm de comprimento, dividida em compartimentos iguais, separados por cinco discos de 48 cm de diâmetro, posicionada a 40 cm do balcão e regulada a uma velocidade constante de 7 rotações por minuto (rpm), para avaliação de alterações motoras.

Termômetro digital, modelo MC – 3BC®, OMRON/China, para determinação da temperatura dos animais semanalmente.



FIGURA 03: Aparelho de Rota-rod



FIGURA 04: Aparelho de campo aberto

4.3 Metodologia

4.3.1 Ensaio toxicológico não clínico agudo

Os testes de toxicidade aguda são obrigatórios para toda substância em teste, independente do tempo de uso proposto para a espécie humana, pois, evidenciam o risco de intoxicações agudas, inadvertidas ou não, e a forma de preveni-las (LARINI, 1999; BARROS; DAVINO, 2003). Os protocolos experimentais são baseados na RDC nº 26, de 13 de maio de 2014, que dispõe sobre o registro de medicamento fitoterápico e a notificação de produtos fitoterápicos na Instrução Normativa nº4, de 18 de junho de 2014, que determina a publicação do Guia de Orientação para Registro de Medicamento Fitoterápico e Registro e Notificação de Produto Tradicional Fitoterápico preconiza, para a realização dos estudos não clínicos deverá seguir o Guia para a Condução de Estudos Não Clínicos de Toxicologia e Segurança Farmacológica necessária ao desenvolvimento de medicamentos, utilizando ratos *Wistar*.

Os ratos *Wistar* selecionados foram divididos em dois grupos: grupo controle e grupo tratado. Cada grupo foi formado por 12 animais, sendo 6 machos e 6 fêmeas. O grupo controle foi distribuído em duas caixas, separando os animais por sexo, e a estes animais foi administrado o veículo de diluição do extrato, a água. Os grupos que foram tratados estavam distribuídos da mesma maneira e foram submetidos à dose de 2000 mg/kg do EEB de *Sida rhombifolia* L. e suas frações, por via oral (gavagem).

Após a administração do EEB e suas frações na dose de 2000mg/kg, foi realizada a observação de parâmetros comportamentais através da triagem farmacológica, para se detectar sinais de atividade no Sistema Nervoso Central nos intervalos: 30, 60, 90, 120, 180 e 240 minutos, segundo protocolo experimental elaborado pelo Setor de Psicofarmacologia do Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos (IPeFarM-UFPB) e descrito por Almeida *et al.*, (1999). Diariamente, foram avaliados o consumo de água e de ração na forma de pellets pelos animais, em ambos os sexos, desde a 24ª hora e até 14 dias após a administração da dose única.

Após o 14º dia, os animais foram sacrificados por excesso de anestésico seguido por tração cervical, sendo retirado o sangue para análise laboratorial de parâmetros hematológicos e bioquímicos.

4.3.1.1 Análise laboratorial do sangue

A coleta das amostras foi realizada através de sangria do plexo braquial, e o sangue foi coletado em tubos com o anticoagulante ácido etilenodiamino tetracético (EDTA), para a determinação dos parâmetros hematológicos, e em tubos com gel separador- Microtainer Becton Dickson - para a obtenção do soro e posterior determinação dos parâmetros bioquímicos.

4.3.1.2 Parâmetros bioquímicos:

As análises bioquímicas foram realizadas em amostras de soro utilizando analisador bioquímico automatizado ChemWell-T. Foram determinadas as dosagens da glicose, uréia, colesterol total, triglicerídios, ácido úrico, creatinina, transaminases: Aspartato Amino Transferase (AST) e Alanina Amino Transferase (ALT), fosfatase alcalina (FAL), proteínas totais e frações, lactato-desidrogenase (LDH), amilase e creatina quinase (CK) e cálcio.

4.3.1.3 Parâmetros hematológicos

As análises hematológicas constaram de estudos das séries vermelhas (eritograma), branca (leucograma) e contagem de plaquetas. No eritograma foi realizada a contagem de hemácias, determinação do hematócrito, da hemoglobina, do volume corpuscular médio (VCM), da hemoglobina corpuscular média (HCM), e da concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM). No leucograma realizou-se a contagem global dos leucócitos e da diferenciação celular. Estas determinações foram realizadas no analisador celular Vet abx- Homba ABX®. Os esfregaços sanguíneos foram corados automaticamente no HEMATEL 200 e analisados em MICROSCÓPIO Olympus, 40x, para confirmação e controle da contagem de células.

4.3.2 Ensaio toxicológico não clínico crônico

No ensaio crônico, o EEB de *Sida rhombifolia* L. foi administrada diariamente, em diferentes doses a vários grupos de animais por um período de 90 dias (BRITO, 1994). Os parâmetros avaliados foram orientados conforme “Guia de orientação para registro de medicamento fitoterápico e registro e notificação de produto tradicional fitoterápico” da

ANVISA. No presente ensaio, a substância foi administrada diariamente, em diferentes doses a vários grupos de animais por um período de 3 meses (BRITO, 1994). Os Animais pré-selecionados foram distribuídos em 4 grupos contendo 20 animais por grupo (10 machos e 10 fêmeas). Cada grupo foi composto por 10 machos e 10 fêmeas, e foram tratados da seguinte maneira:

- ✓ Três grupos foram tratados diariamente, no turno da manhã, por via oral (gavage), com 3 doses do extrato etanólico bruto: 16 mg/kg ; 80 mg/kg e 400 mg/kg, respectivamente.

Os efeitos da administração prolongada do EEB de *Sida rhombifolia* foram avaliados sobre o consumo de água e alimentos, evolução ponderal, atividade exploratória (teste de campo aberto) e motora dos animais (Teste no aparelho de Rota-rod), parâmetros hematológicos, bioquímicos, comparando-se com os padrões para roedores descritos por Diniz (2000); e ainda foram realizados exames histopatológicos de órgãos dos ratos em estudo. Os resultados foram comparados com os dados obtidos no grupo controle e foram comparados com os dados obtidos no grupo controle e com dados da literatura (CASTELLO BRANCO, 2011).

4.3.2.1. Consumo de água, alimento e avaliação ponderal

Neste experimento avaliou-se o consumo de água e de ração na forma de pellets pelos animais, em ambos os sexos, nos 90 dias de tratamento. Diariamente, eram colocados 250g de ração e mamadeiras graduadas contendo 500 mL de água nas gaiolas e, no dia seguinte, sempre pela manhã, o volume de água ingerido pelo animal era registrado e contabilizado o peso consumido de ração. A pesagem dos animais foi realizada semanalmente para ajuste da dose testada.

4.3.2.2 Avaliação comportamental

4.3.2.3 Teste do Campo Aberto

Na avaliação comportamental foi utilizado o aparelho de campo aberto, seguindo o descrito por Carlini *et al.*, (1986) para analisar a atividade exploratória dos animais através:

- Da movimentação espontânea (ambulação), registrada pelo número de cruzamentos, com às quatro patas, entre às divisões do campo;
- Da quantificação dos comportamentos de auto limpeza, de levantar e a defecação (número de bolos fecais).

Este teste foi realizado quinzenalmente, uma hora após a administração do extrato, com animais tratados e animais controle que foram expostos (durante 3 minutos para cada animal) ao aparelho para a observação dos parâmetros acima descritos (MANSUR *et al.* 1971)

4.3.2.4 Motora - Teste no Rota-rod

O ensaio foi realizado quinzenalmente, uma hora após administração do EEB, os animais do grupo controle e tratado foram colocados na barra giratória do aparelho Rota-rod, com velocidade constante de 9,0 rpm, e registrado o tempo de permanência dos mesmos, com três reconduções ao aparelho. Destaca-se que cada teste foi realizado com metade do grupo, ou seja, 10 animais por dose (5 machos e 5 fêmeas) e que antes de iniciar o experimento crônico, os animais selecionados foram submetidos ao aparelho de rota-rod com a finalidade de observar aqueles que estivessem aptos a participarem dos testes.

4.3.2.5 Avaliação laboratorial do sangue

Após o término do experimento para avaliação da toxicidade crônica, foram coletadas amostras de sangue, através de sangria do plexo braquial, dos animais, machos e fêmeas, dos grupos tratados com o EEB (doses 16, 80 e 160 mg/kg/dia) .

4.3.2.6 Parâmetros Hematológicos:

O sangue foi coletado em tubos contendo anticoagulante EDTA para avaliação dos parâmetros hematológicos, eritrograma, leucograma e contagem das plaquetas.

4.3.2.7 Parâmetros Bioquímicos

O sangue foi coletado em tubos contendo gel separador, que foram centrifugados por 10 minutos a 3500 rpm, para obtenção do soro, destinado às análises bioquímicas de glicose, uréia, creatinina, transaminases AST e ALT, colesterol, triglicerídios, ácido úrico, fosfatase alcalina, proteínas totais e frações, cálcio e magnésio, sendo observado jejum de 12 horas antes da coleta de sangue para tais parâmetros.

4.3.2.8 Exame anatomopatológico

Animais do ensaio crônico, , foram eutanasiados por excesso de anestésico, seguidos de morte por tração cervical e tiveram suas vísceras coletadas e examinadas macroscopicamente, com ressecção e consecutiva pesagem. Fígado e rins foram seccionados por incisão sagital. Após 12 horas de fixação, foram obtidas as amostras necessárias para processamento histopatológico, empregando-se técnica de inclusão em parafina e coloração em hematoxilina-eosina, para análise morfológica.

4.3.2.9 Análise Estatística

Para análise estatística dos resultados foram utilizados o Teste “t” de Student não pareado e ANOVA e o Software Graph Pad Prism 6.0 Os valores estão expressos em média One Way ANOVA, seguido do teste de Tukey, com * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$.

4.4 Resultados

5.1 Ensaio toxicológico não-clínico agudo

5.1.1 Extrato etanólico bruto de *Sida rhombifolia* L.

5.1.1.1 Avaliação comportamental e letalidade

Durante a triagem comportamental, após a administração do EEB de *Sida rhombifolia* L. na dose de 2000 mg/kg por via oral, os animais tratados com a droga não apresentaram nenhum sinal de alteração ao nível de SNC (Sistema Nervoso Central) e SNA (Sistema Nervoso Autônomo), indicando que a substância não tem ação sobre esses sistemas ou os possui de forma que seja irrelevante para alguma alteração comportamental. Não houve morte de nenhum

animal.

5.1.1.2 Evolução ponderal

Não foi observada nenhuma alteração estatisticamente significativa na evolução ponderal dos ratos machos e fêmeas tratados com o EEB de *Sida rhombifolia* L. na dose de 2000 mg/kg por via oral, em comparação aos seus respectivos grupos controles.

5.1.1.3 Consumo de água e ração

Os resultados apresentados na tabela 01, demonstram a ingestão de água e ração que foi avaliada diariamente durante o tratamento agudo com a substância. Foi observada, nos machos tratados, uma diminuição estatisticamente significativa no consumo de água e de ração. Em contrapartida, as fêmeas não demonstraram nenhuma alteração em ambos os parâmetros

Tabela 01 – Consumo de água e ração de Ratos *Wistar*, machos e fêmeas, tratados com o EEB de *Sida rhombifolia* L. na dose de 2000 mg/kg por via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda.

	Controle	2000mg/kg
Machos		
Consumo Água (mL)	259,8± 15,1	221,0± 27,6***
Consumo Ração (g)	151,3± 3,8	131,5± 13,0***
Fêmeas		
Consumo Água (mL)	192,8± 27,9	184,9± 23,0
Consumo Ração (g)	100,7± 10,4	107,8± 7,0

Os valores estão expressos em média One Way ANOVA, seguido do teste de Tukey, com *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001.

5.1.1.4 Parâmetros bioquímicos

Após quatorze dias da administração da dose de 2000 mg/kg v.o. do EEB de *Sida rhombifolia* L. , alguns parâmetros bioquímicos analisados demonstraram alterações estatisticamente significativas para os animais machos. Foi verificado um aumento na dosagem de ALT,AST E creatinina (gráficos 01,02 e 03). Os resultados estão mostrados na tabela 02.

Tabela 02 – Parâmetros bioquímicos obtidos do soro dos ratos tratados com o EEB de *Sida rhombifolia* L. na dose de 2000 mg/kg por via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda.

	Controle	2000 mg/kg
Machos		
Proteínas totais (g/dL)	6,20± 0,83	6,83± 1,25
ALT (U/L)	59,40± 14,19	124,70± 50,64*
AST (U/L)	162,80± 62,15	337,7± 192,80*
FAL (U/L)	339,2± 114,1	346,0± 19,30
Globulina (g/dL)	3,47± 0,91	4,10± 1,34
Colesterol (mg/dL)	66,00± 8,28	74,83± 15,69
Triglicerídeos (mg/dL)	125,00± 33,59	100,30± 36,15
Cálcio (mg/dL)	12,89± 2,91	11,89± 1,38
Ácido Úrico (mg/dL)	0,99± 0,33	0,97± 0,10
Ureia (mg/dL)	60,00± 1,87	72,00± 13,37
Creatinina (mg/dL)	0,30± 0,06	0,43 ± 0,04*
Albumina (g/dL)	2,73± 0,28	2,74± 0,15
Glicose (mg/dL)	102,6± 12,48	112,5± 15,68
	Controle	2000 mg/kg
Fêmeas		
Proteínas totais (g/dL)	6,49± 0,68	7,60± 0,72
ALT (U/L)	65,80± 23,04	63,50± 13,43
AST (U/L)	185,60± 84,50	178,30± 42,04
FAL (U/L)	176,0± 58,15	189,20± 31,45
Globulina (g/dL)	3,48± 0,76	4,22± 0,41
Colesterol (mg/dL)	66,40± 9,55	80,50± 15,54
Triglicerídeos (mg/dL)	98,25± 26,83	155,30± 49,83
Cálcio (mg/dL)	10,15± 1,14	11,14± 1,78
Ácido Úrico (mg/dL)	1,19± 0,48	1,24± 0,27
Ureia (mg/dL)	59,33± 8,08	70,00± 9,50
Creatinina (mg/dL)	0,42± 0,09	0,42± 0,03
Albumina (g/dL)	3,04± 0,17	3,37± 0,36
Glicose (mg/dL)	89,20± 18,74	107,8± 12,91

Os valores estão expressos em média ± e.p.m. (n=6). Teste “t” de Student/ Mann-Whitney. *p<0,05.

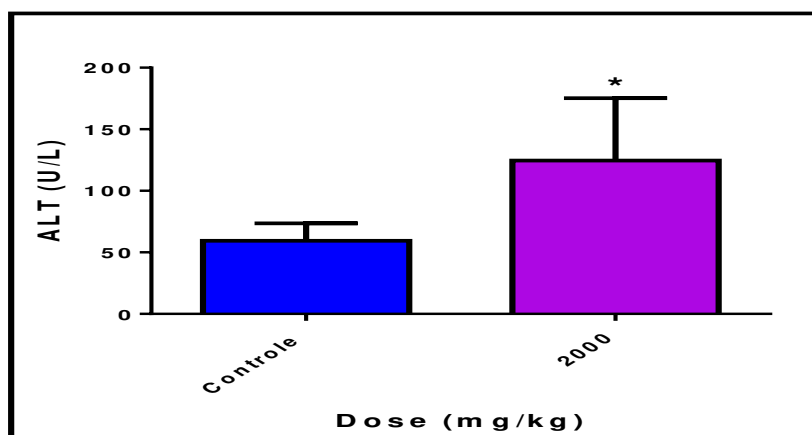


GRÁFICO 01. ALT dos Machos tratados com o EEB de *Sida rhombifolia* L. na dose de 2000 mg/kg por via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda. Os valores estão expressos em média $\pm$ S.D (n=6). Teste “t” Mann-Whitney.*p<0,05.

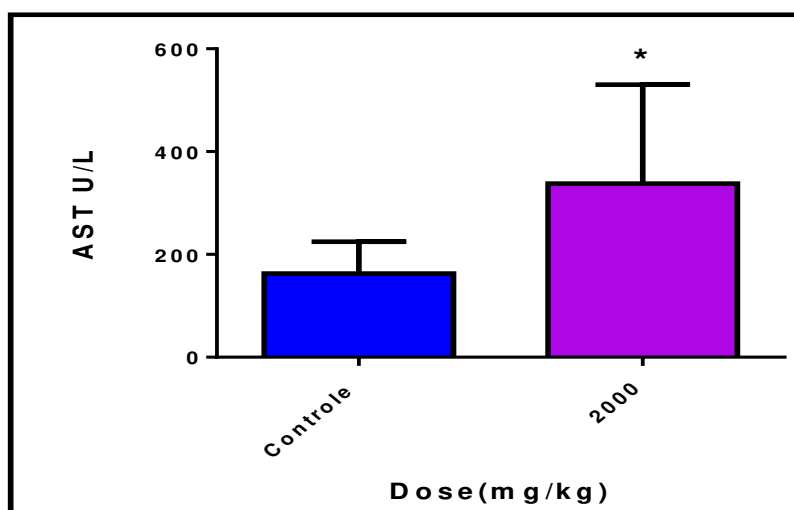


GRÁFICO 02. AST dos Machos tratados com o EEB de *Sida rhombifolia* L. na dose de 2000 mg/kg por via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda. Os valores estão expressos em média $\pm$ S.D (n=6). Teste “t” Mann-Whitney.*p<0,05.

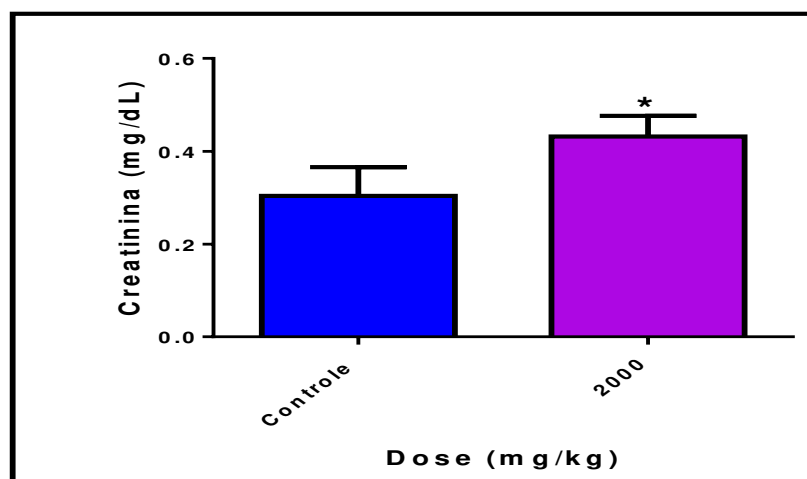


GRÁFICO 03. Creatinina dos Machos tratados com o EEB de *Sida rhombifolia* L. na dose de 2000 mg/kg por via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda. Os valores estão expressos em média $\pm$ S.D (n=6). Teste “t” Mann-Whitney.*p<0,05.

5.1.1.5 Parâmetros hematológicos

As alterações hematológicas obtidas a partir da análise do plasma dos animais após o período experimental de 14 dias estão descritas na Tab 03 e nos gráficos 04 ao 07. No qual foram evidenciadas para os animais machos, um aumento estatisticamente significativo nas hemácias e uma diminuição estatisticamente significativa dos valores do VCM, HCM e eosinófilos.

Tabela 03 – Parâmetros hematológicos obtidos do plasma dos ratos tratados com o EEB de *Sida rhombifolia* L. na dose de 2000 mg/kg por via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda.

	Controle	2000 mg/kg
Machos		
Hemácia (10 ⁶ /μL)	7,77 ± 0,35	9,25 ± 0,42*
Hemoglobina (g/dL)	16,32 ± 0,62	16,33 ± 0,71
Hematócrito (%)	39,58 ± 1,17	40,05 ± 1,63
VCM (fL)	51,04 ± 3,17	43,28 ± 0,71**
HCM (Pg)	21,06 ± 1,38	17,65 ± 0,34**
CHCM (g/dL)	41,24 ± 0,72	40,78 ± 0,44
Leucócitos (10 ³ /μL)	8,62 ± 3,43	5,15 ± 2,17
Neutrófilos (%)	26,40 ± 4,40	21,20 ± 4,55
Eosinófilos (%)	1,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00**
Linfócitos (%)	66,80 ± 7,80	76,17 ± 8,28
Monócitos (%)	4,40 ± 3,21	4,83 ± 2,56
Plaquetas (10 ³ /μL)	900,80 ± 143,10	671,50 ± 173,96
	Controle	2000 mg/kg
Fêmeas		
Hemácia (10 ⁶ /μL)	7,63 ± 0,22	7,78 ± 0,60
Hemoglobina (g/dL)	16,20 ± 0,25	16,30 ± 0,54
Hematócrito (%)	38,76 ± 1,28	39,38 ± 1,43
VCM (fL)	50,80 ± 2,02	50,75 ± 2,45
HCM (Pg)	21,24 ± 0,78	21,03 ± 1,084
CHCM (g/dL)	41,82 ± 0,83	41,40 ± 0,90
Leucócitos (10 ³ /μL)	5,40 ± 2,07	6,08 ± 1,69
Neutrófilos (%)	24,20 ± 5,54	28,33 ± 3,77
Eosinófilos (%)	2,00 ± 2,34	1,50 ± 0,84
Linfócitos (%)	69,00 ± 6,28	67,67 ± 4,08
Monócitos (%)	4,00 ± 0,70	2,50 ± 1,22
Plaquetas (10 ³ /μL)	674,60 ± 193,46	769,83 ± 217,62

Os valores estão expressos em média ± S.D (n=6). Teste “t” Mann-Whitney. *p<0,05, **p<0,01.

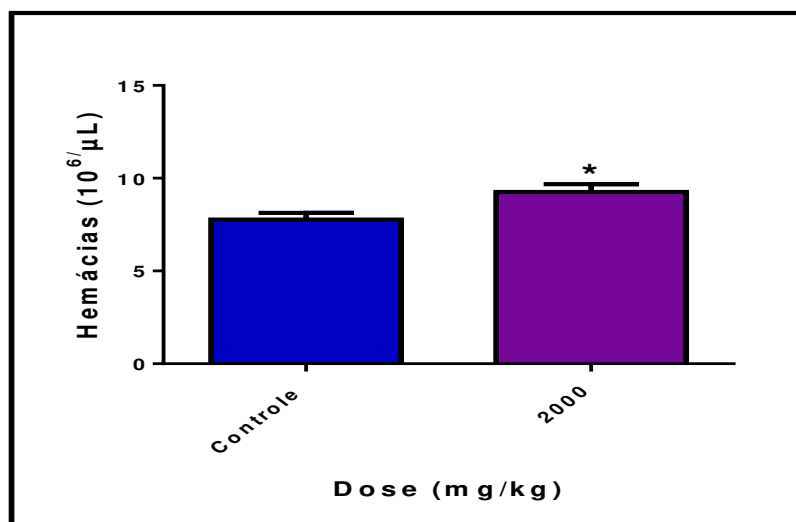


GRÁFICO 04. Hemácias dos Machos tratados com o EEB de *Sida rhombifolia* L. na dose de 2000 mg/kg por via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda. Os valores estão expressos em média $\pm$ S.D (n=6). Teste “t” Mann-Whitney.*p<0,05, **p<0,01.

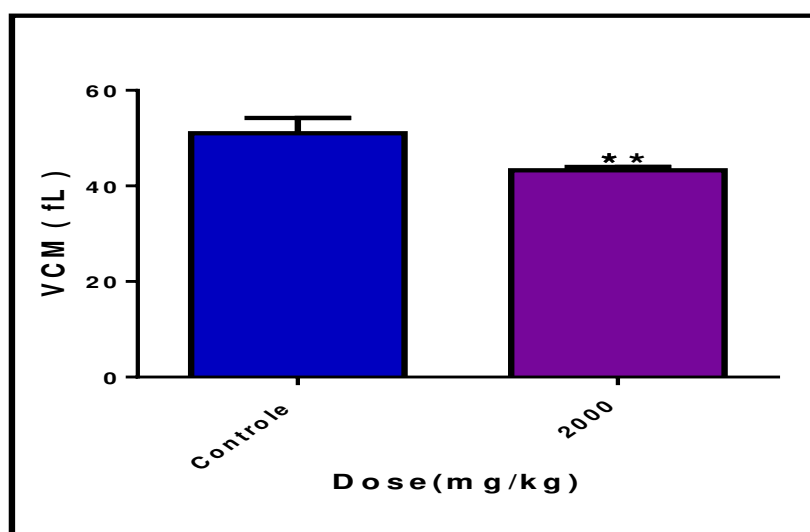


GRÁFICO 05. VCM dos Machos tratados com o EEB de *Sida rhombifolia* L. na dose de 2000 mg/kg por via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda. Os valores estão expressos em média $\pm$ S.D (n=6). Teste “t” Mann-Whitney.*p<0,05, **p<0,01.

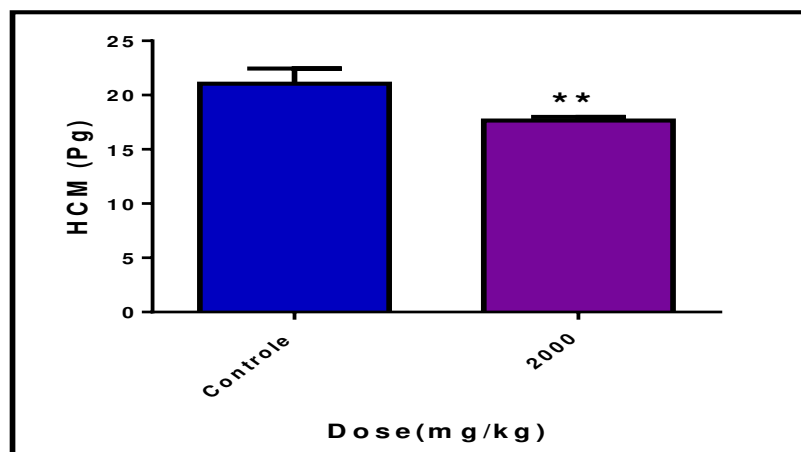


GRÁFICO 06. HCM dos Machos tratados com o EEB de *Sida rhombifolia* L. na dose de 2000 mg/kg por via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda. Os valores estão expressos em média $\pm$ S.D (n=6). Teste “t” Mann-Whitney. *p<0,05, **p<0,01.

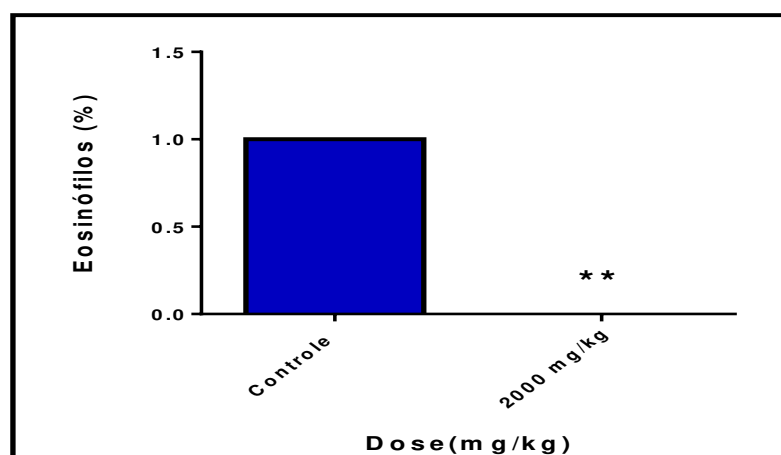


GRÁFICO 07. Eosinófilos dos Machos tratados com o EEB de *Sida rhombifolia* L. na dose de 2000 mg/kg por via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda. Os valores estão expressos em média $\pm$ S.D (n=6). Teste “t” Mann-Whitney. *p<0,05, **p<0,01.

5.2 Fração diclorometano do extrato etanólico bruto de *Sida rhombifolia* L.

5.2.1 Triagem comportamental e letalidade

Dentre os parâmetros avaliados neste teste ao decorrer da triagem após administração por gavagem da dose única de 2000mg/kg da fração diclorometano do extrato etanólico bruto de *Sida rhombifolia* L. em ratos *Wistar*, machos e fêmeas, os quais foram observados nos intervalos de 30 min, 1, 2, 3 e 4 horas, não foi evidenciada nenhuma alteração no comportamento dos animais, estabeleceram, portanto, a normalidade comportamental. No referente à letalidade, não houve mortes de animais.

5.2.1.2 Evolução ponderal

Observou-se ao acompanhar a evolução de peso dos ratos *Wistar*, machos e fêmeas, variações estatisticamente significativas, entre os tratados com dose única de 2000mg/kg da fração diclorometano do extrato etanólico bruto de *Sida rhombifolia* L., por via oral, em comparação aos seus respectivos grupos controles. As fêmeas tiveram um aumento de peso significativo em relação ao controle, enquanto, os machos tratados tiveram perda de peso ambos apenas na primeira semana do experimento. Os resultados são expressos na Tab 04 e nos Gráficos 08 e 09.

Tabela 04- Evolução ponderal de ratos *wistar*, fêmeas e machos, tratados por via oral com 2000mg/kg, dose única, da fração diclorometano do extrato etanólico bruto de *Sida rhombifolia L.*

	Controle	2000mg/kg
Machos 1ª Semana	51,20 ± 7,08	28,77 ± 22,30*
Machos 2ª Semana	24,17 ± 6,66	23,37 ± 12,26
Fêmeas 1ª Semana	7,42 ± 8,37	26,42 ± 11,61*
Fêmeas 2ª Semana	4,58 ± 3,35	5,46 ± 4,49

Os valores estão expressos em média ± S.D (n=6). Teste “t” Mann-Whitney. *p<0,05

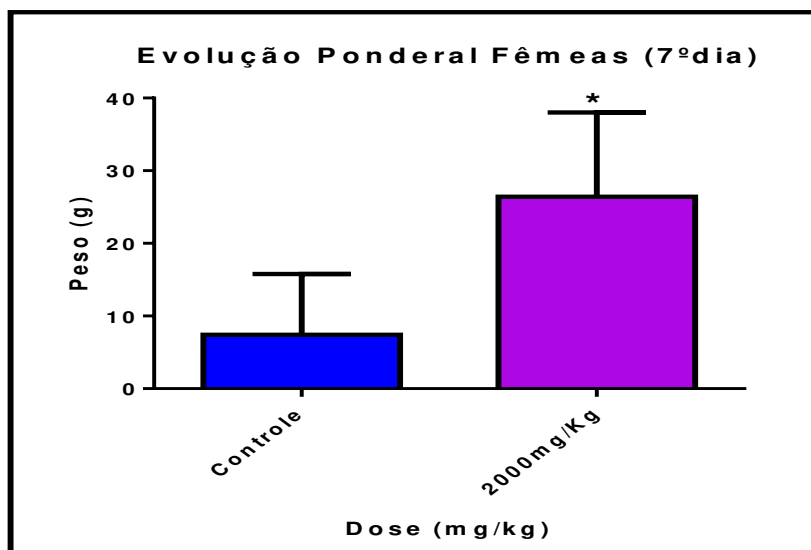


GRÁFICO 08. Evolução ponderal de ratos *wistar*, fêmeas, tratadas com a dose de 2000 mg/kg com fração diclorometano do extrato etanólico bruto de *Sida rhombifolia L.*, por via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda. Os valores estão expressos em média ± S.D (n=6). Teste “t” Mann-Whitney não pareado. *p<0,05.

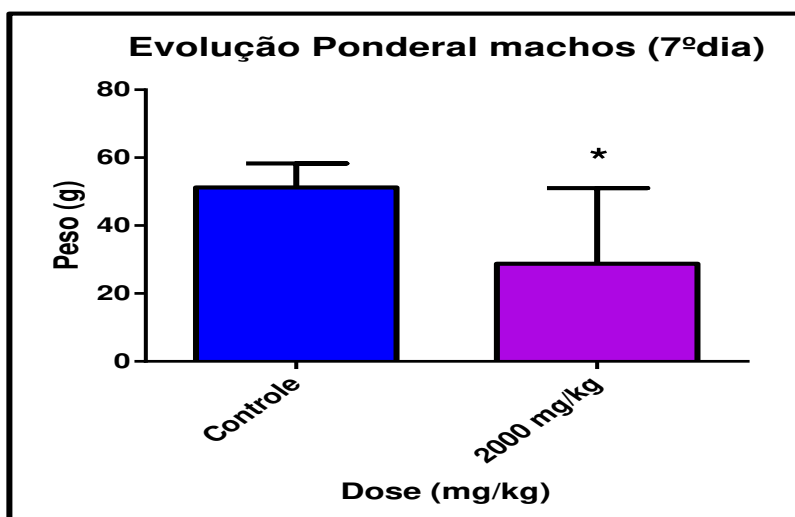


GRÁFICO 09. Evolução ponderal de ratos *wistar*, machos, tratados com a dose de 2000 mg/kg com a fração diclorometano do extrato etanólico bruto de *Sida rhombifolia* L., por via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda. Os valores estão expressos em média $\pm$ S.D (n=6). Teste “t” Mann-Whitney não pareado.*p<0,05.

5.2.1.3 Consumo de água e ração

O consumo de água e ração dos animais foi monitorado diariamente durante o tratamento agudo (14 dias) com a fração diclorometano do extrato etanólico bruto de *Sida rhombifolia* L. É possível observar que os ratos *Wistar*, machos e fêmeas, de grupos controles e tratados com a dose 2000 mg/kg, não apresentaram variações significativas entre si no referente ao consumo de água, no entanto, o consumo de ração foi significativo tanto para as fêmeas como para os machos. Os resultados são vistos na Tabela 05 e nos Gráficos 10 e 11.

TABELA 05. Consumo de água e ração de ratos *Wistar*, fêmeas e machos, tratados com a dose de 2000 mg/kg, com a fração diclorometano do extrato etanólico bruto de *Sida rhombifolia* L.

	Controle	2000 mg/kg
Machos		
Consumo Água (mL)	254,5 ± 22,17	242,1 ± 31,50
Consumo Ração (g)	158,1 ± 11,14	143,0 ± 14,01*
Fêmeas		
Consumo Água (mL)	187,8 ± 15,69	182,0 ± 34,42
Consumo Ração (g)	105,8 ± 4,01	98,52 ± 7,02*

Os valores estão expressos em média ± S.D (n=6). Teste “t” Mann-Whitney. *p<0,05

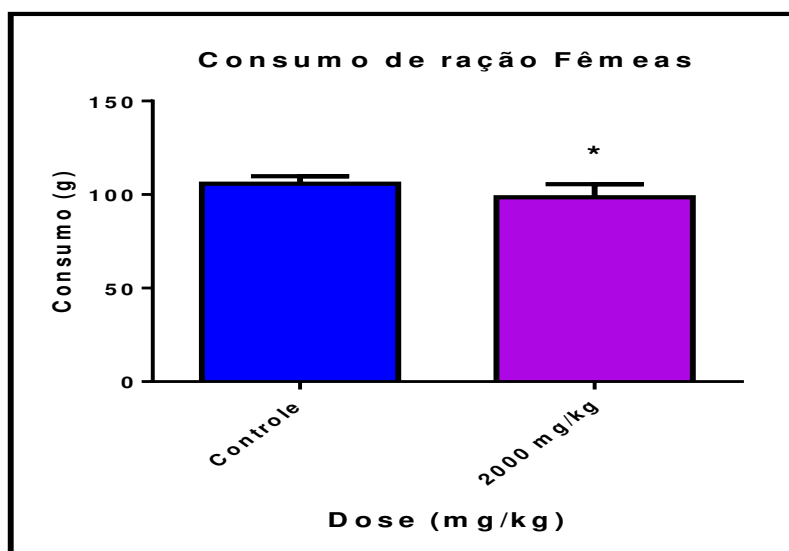


GRÁFICO 10. Consumo de ração de ratos *Wistar*, fêmeas, tratadas com a dose de 2000 mg/kg com fração diclorometano do extrato etanólico bruto de *Sida rhombifolia* L., por via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda. Os valores estão expressos em média ± S.D (n=6). Teste “t” Mann-Whitney não pareado. *p<0,05.

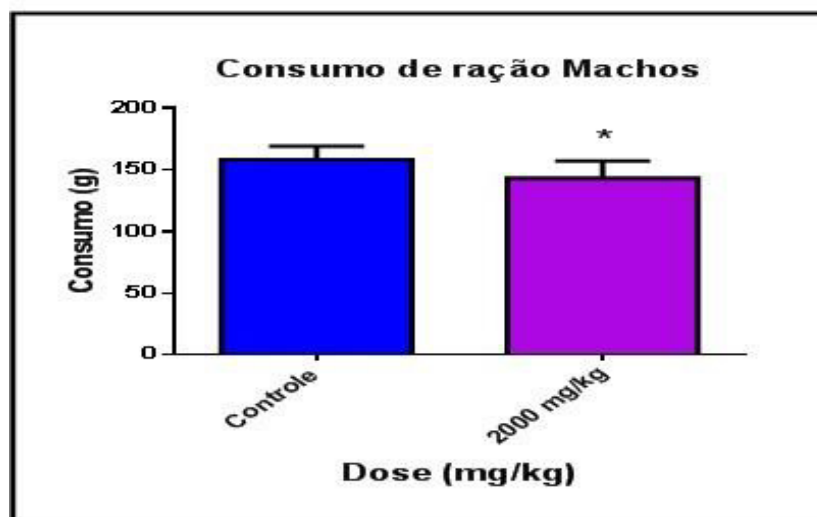


GRÁFICO 11. Consumo de ração de ratos Wistar, machos, tratados com a dose de 2000 mg/kg com fração diclorometano do extrato etanólico bruto de *Sida rhombifolia* L., por via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda. Os valores estão expressos em média S.D (n=6). Teste “t” Mann-Whitney não pareado. . *p<0,05.

5.2.1.4 Análise laboratorial do sangue

A maioria dos grupos tratados com a fração diclorometano do extrato etanólico bruto de *Sida rhombifolia* L., não revelaram alterações significativas em relação ao grupo controle, contudo, poucas foram às variações encontradas. Em relação aos neutrófilos em animais machos houve um aumento estatisticamente significativo, enquanto que os linfócitos nos animais machos e eosinófilos em animais fêmeas diminuíram. Estes resultados são apresentados na Tabela 06 e nos Gráficos 12, 13 e 14.

TABELA 06. Parâmetros Hematológicos obtidos do sangue de ratos *Wistar*, fêmeas e machos, tratados com as doses de 2000 mg/kg com a fração diclorometano do extrato etanólico bruto de *Sida rhombifolia* L

	Controle	2000 mg/kg
Machos		
Hemácia (10 ⁶ /dL)	8,48 ± 0,28	14,65 ± 0,57
Hemoglobina (g/dL)	15,52 ± 0,40	14,65 ± 0,81
Hematócrito (%)	44,30 ± 0,85	45,30 ± 3,22
VCM (fL)	52,24 ± 1,70	50,85 ± 2,61
HCM (Pg)	18,33 ± 0,53	17,55 ± 0,82
Leucócitos (10 ³ /μL)	6,54 ± 2,83	7,77 ± 1,16
Neutrófilos (%)	23,20 ± 4,55	39,75 ± 3,30*
Eosinófilos (%)	0,80 ± 0,83	0,75 ± 0,50
Linfócitos (%)	69,60 ± 5,03	55,25 ± 3,86*
Monócitos (%)	6,40 ± 2,70	4,25 ± 1,70
Plaquetas (10 ³ /μL)	411,0 ± 191,7	556,3 ± 96,06
	Controle	2000 mg/kg
Fêmeas		
Hemácia (10 ⁶ /μL)	8,85 ± 0,41	8,91 ± 0,34
Hemoglobina (g/dL)	15,32 ± 0,65	15,18 ± 0,49
Hematócrito (%)	44,15 ± 1,66	45,10 ± 3,07
VCM (fL)	49,87 ± 1,20	49,53 ± 1,50
HCM (Pg)	17,30 ± 0,53	17,05 ± 0,50
Leucócitos (10 ³ /μL)	6,20 ± 1,58	5,15 ± 17,02
Neutrófilos (%)	31,17 ± 7,41	30,25 ± 5,56
Eosinófilos (%)	1,00 ± 0,00	0,25 ± 0,50*
Linfócitos (%)	64,00 ± 7,34	64,00 ± 4,16
Monócitos (%)	3,83 ± 1,47	5,50 ± 2,38
Plaquetas (10 ³ /μL)	685,0 ± 173,0	465,5 ± 364,6

Os valores estão expressos em média ± S.D (n=6). Teste “t” Mann-Whitney. *p<0,05

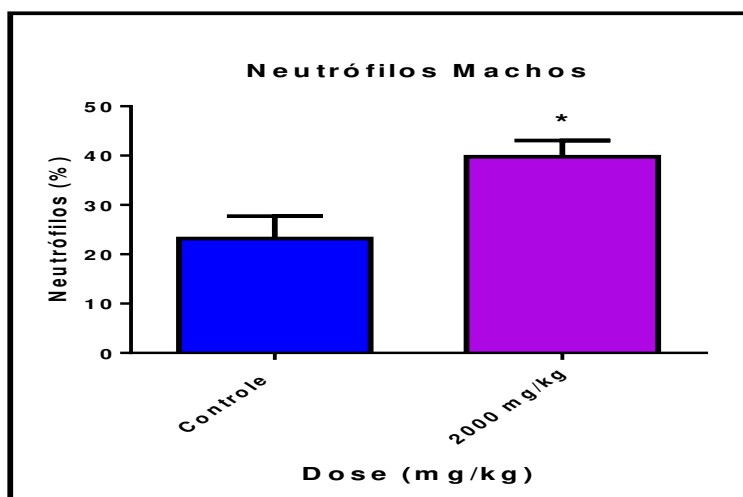


GRÁFICO 12. Neutrófilos de ratos *Wistar*, machos, tratados com a dose de 2000 mg/kg com a fração diclorometano do extrato etanólico bruto de *Sida rhombifolia* L, via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda. Os valores estão expressos em média $\pm$ S.D (n=6). Teste "t" Mann-Whitney não pareado.*p<0,05.

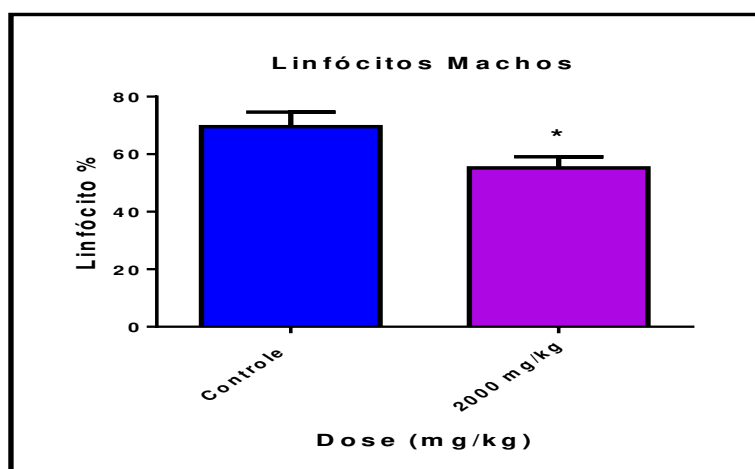


GRÁFICO 13. Linfócitos de ratos *Wistar*, machos, tratados com a dose 2000 mg/kg com a fração diclorometano do extrato etanólico bruto de *Sida rhombifolia* L, via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda. Os valores estão expressos em média $\pm$ S.D (n=6). Teste "t" Mann-Whitney não pareado.*p<0,05.

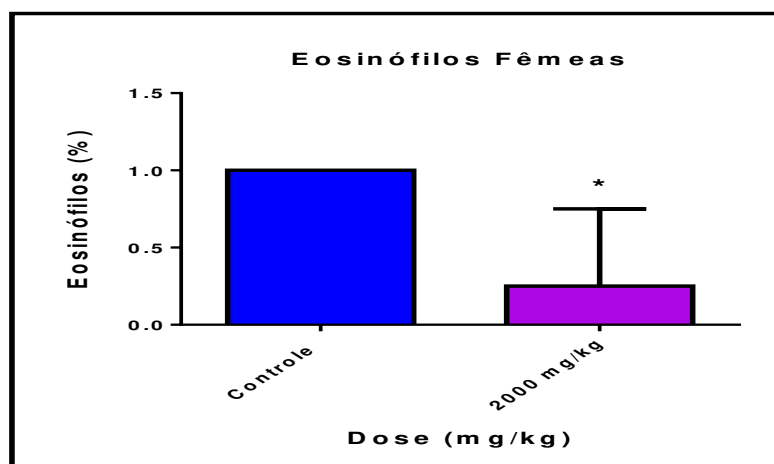


GRÁFICO 14. Eosinófilos de ratos *Wistar*, fêmeas, tratadas com a dose de 2000 mg/kg com a fração diclorometano do extrato etanólico bruto de *Sida rhombifolia* L, via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda. Os valores estão expressos em média $\pm$ S.D (n=6). Teste “t” Mann-Whitney não pareado.*p<0,05.

5.2.1.5 Parâmetros bioquímicos

Na sua maioria os parâmetros bioquímicos resultantes das análises do sangue dos animais controles e tratados evidenciou a ausência de alterações entre estes grupos avaliados. Porém, variações significativas foram detectadas em determinados parâmetros, como: Fósforo e Fosfatase Alcalina onde houve um aumento estatisticamente significativo apenas nas ratas fêmeas. Estes resultados são apresentados na Tabela 07 e nos Gráficos 15 e 16.

TABELA 07. Parâmetros bioquímicos obtidos do sangue de ratos *Wistar*, fêmeas e machos, tratados com as doses de 2000 mg/kg com a fração diclorometano do extrato etanólico bruto de *Sida rhombifolia* L.

	Controle	2000 mg/kg
Machos		
AST (U/L)	129,3 ± 18,17	169,3 ± 44,78
ALT (U/L)	85,20 ± 50,96	61,25 ± 7,32
Amilase(U/L)	540,8 ± 104,9	553,8 ± 56,90
Colesterol (mg/dL)	75,60 ± 11,91	69,00 ± 18,49
Triglicerídeos (mg/dL)	77,67 ± 37,94	52,25 ± 33,96
Cálcio (mg/dL)	11,34 ± 1,23	11,45 ± 0,12
Ácido Úrico (mg/dL)	1,48 ± 1,03	1,0 ± 0,21
Ureia (mg/dL)	46,80 ± 7,91	36,50 ± 2,88
Creatinina (mg/dL)	0,44 ± 0,05	0,45 ± 0,03
Fósforo (mg/dL)	12,82 ± 3,28	10,33 ± 1,11
Fosfatase Alcalina(U/L)	337,4 ± 92,91	338,7 ± 126,9
Glicose (mg/dL)	125,0 ± 30,27	103,3 ± 13,67
Magnésio (mg/dL)	2,60 ± 0,12	2,62 ± 0,20
	Controle	2000 mg/kg
Fêmeas		
AST (U/L)	174,7 ± 63,27	164,0 ± 32,45
ALT (U/L)	54,33 ± 10,11	105,4 ± 59,45
Amilase (U/L)	326,0 ± 69,21	278,5 ± 67,69
Colesterol (mg/dL)	78,83 ± 20,06	67,80 ± 9,04
Triglicerídeos (mg/dL)	123,5 ± 45,15	72,80 ± 7,88
Cálcio (mg/dL)	11,28 ± 0,51	11,20 ± 0,53
Ácido Úrico (mg/dL)	1,38 ± 0,42	2,17 ± 1,56
Ureia (mg/dL)	38,17 ± 2,85	46,50 ± 10,88
Creatinina (mg/dL)	0,51 ± 0,05	0,49 ± 0,03
Fósforo (mg/dL)	7,48 ± 0,55	9,50 ± 1,72*
Fosfatase Alcalina(U/L)	156,0 ± 67,69	256,6 ± 63,71*
Glicose (mg/dL)	116,7 ± 21,50	116,6 ± 13,50
Magnésio (mg/dL)	2,63 ± 0,15	2,72 ± 0,18

Os valores estão expressos em média ± S.D (n=6). Teste “t” Mann-Whitney. *p<0,05

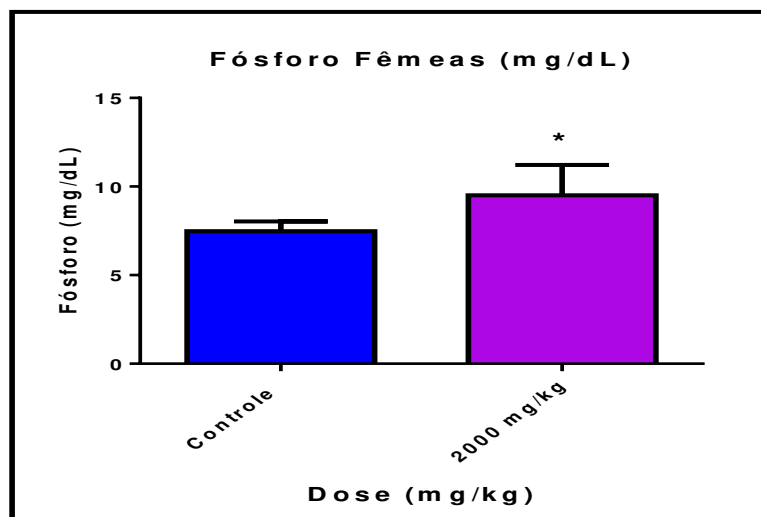


GRÁFICO 15. Fósforo de ratos *Wistar*, fêmeas, tratadas com a dose de 2000 mg/kg com a fração diclorometano do extrato etanólico bruto de *Sida rhombifolia* L, via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda. Os valores estão expressos em média $\pm$ S.D (n=6). Teste “t” Mann-Whitney não pareado.*p<0,05.

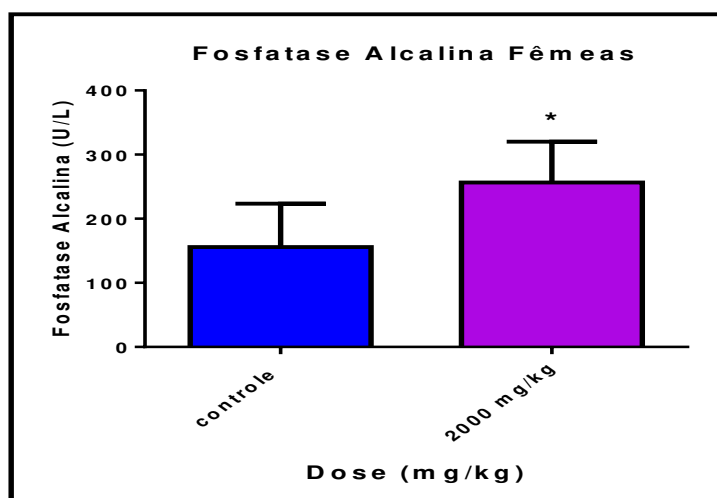


GRÁFICO 16. Fosfatase Alcalina de ratos *Wistar*, fêmeas, tratadas com a dose de 2000 mg/kg com a fração diclorometano do extrato etanólico bruto de *Sida rhombifolia* L, via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda. Os valores estão expressos em média $\pm$ S.D (n=6). Teste “t” Mann-Whitney não pareado.*p<0,05.

5.3 Fração hidroalcoólica do extrato etanólico bruto de *Sida rhombifolia* L.

5.3.1 Triagem comportamental e letalidade

Dentre os parâmetros avaliados neste teste ao decorrer da triagem após administração por gavagem da dose única de 2000mg/kg da fração hidroalcoólica do extrato etanólico bruto de *Sida rhombifolia* L. em ratos *Wistar*, machos e fêmeas, os quais foram observados nos intervalos de 30 min, 1, 2, 3 e 4 horas, não foi evidenciada nenhuma alteração no comportamento dos animais, estabeleceram, portanto, a normalidade comportamental. No referente à letalidade, não houve mortes de animais.

5.3.1.1 Evolução ponderal

Ao acompanhar a evolução de peso dos ratos *Wistar*, machos e fêmeas, observamos variações estatisticamente significativas, entre os tratados com dose única de 2000mg/kg da fração hidroalcoólica do extrato etanólico bruto de *Sida rhombifolia* L., por via oral, em comparação aos seus respectivos grupos controles. A variação da massa corpórea foi significativa apenas na segunda semana de experimentos das fêmeas tratadas, as quais, tiveram um aumento de peso significativo em relação ao controle. Os resultados são expressos na Tabela 08 e nos Gráficos 17.

TABELA 08. Evolução ponderal de ratos *wistar*, fêmeas e machos, tratados por via oral com 2000mg/kg, dose única, da fração hidroalcoólica do extrato etanólico bruto de *Sida rhombifolia* L., durante o ensaio de toxicidade aguda.

	Controle	2000 mg/kg
Machos 1º Semana	15,68 ± 17,46	37,83 ± 41,64
Machos 2º Semana	15,87 ± 4,51	4,23 ± 40,13
Fêmeas 1º Semana	18,40 ± 11,53	-1,717 ± 19,44
Fêmeas 2º Semana	-1,950 ± 4,888	6,133 ± 3,930*

Os valores estão expressos em média ± S.D (n=6). Teste “t” Mann-Whitney. *p<0,05

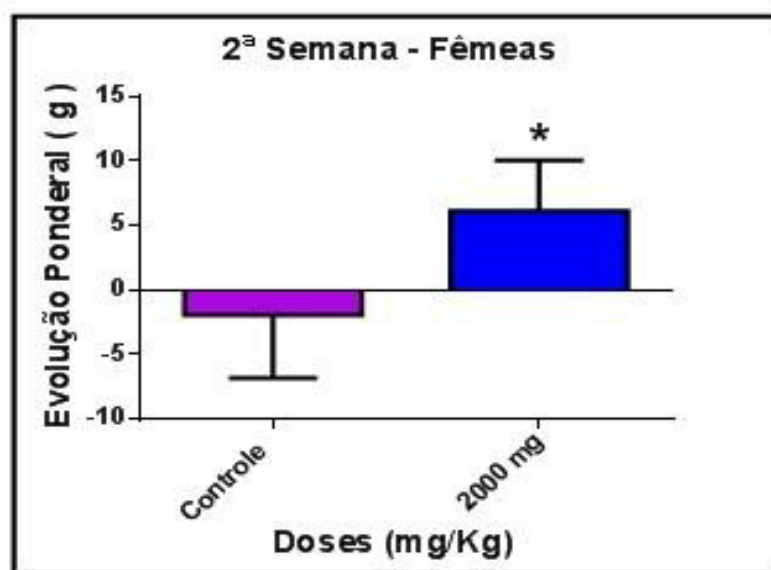


GRÁFICO 17. Evolução ponderal de ratos *Wistar*, fêmeas, tratadas com a dose de 2000 mg/kg com fração hidroalcoólica do extrato etanólico bruto de *Sida rhombifolia* L., por via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda. Os valores estão expressos em média ± S.D (n=6). Teste “t” Mann-Whitney não pareado. *p<0,05.

5.3.1.2 Consumo de água e ração

O consumo de água e ração dos animais foi monitorado diariamente durante o tratamento agudo (14 dias) com a fração hidroalcoólica do extrato etanólico bruto de *Sida rhombifolia* L. É possível observar que os ratos *Wistar*, machos e fêmeas, de grupos controles e tratados com a dose 2000 mg/kg, não apresentaram variações significativas entre si no referente ao consumo de ração, no entanto, o consumo de água foi significativo para ratos os machos apenas. Os resultados são vistos na Tabela 09 e no Gráfico 18.

TABELA 09. Consumo de água e ração de ratos *wistar*, fêmeas e machos, tratados com a dose de 2000 mg/kg, com a fração hidroalcoólica do extrato etanólico bruto de *Sida rhombifolia* L, via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda.

	Controle	2000 mg/kg
Machos		
Consumo Água (mL)	220,4 ± 40,55	188,6 ± 33,54*
Consumo Ração (g)	158,1 ± 11,14	143,0 ± 14,01
Fêmeas		
Consumo Água (mL)	180, ± 36,22	190,0 ± 38,78
Consumo Ração (g)	91,40 ± 26,27	96,68 ± 104,5

Os valores estão expressos em média ± S.D (n=6). Teste “t” Mann-Whitney. *p<0,05

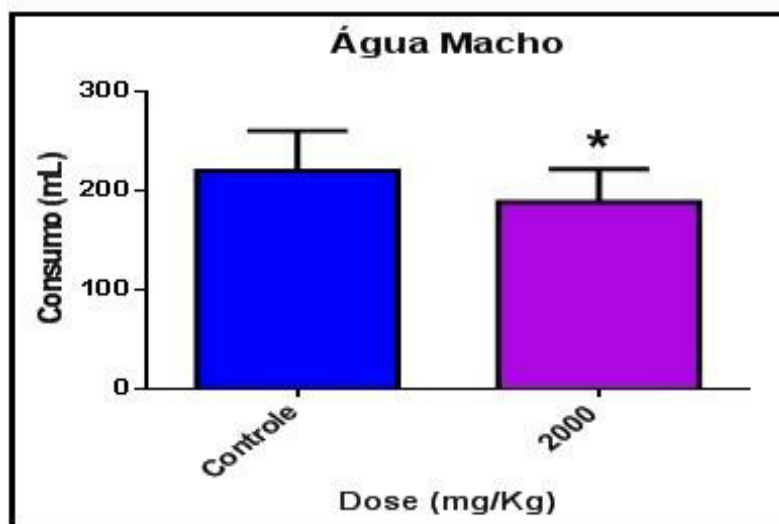


GRÁFICO 18. Consumo de água de ratos *Wistar*, machos, tratadas com a dose de 2000 mg/kg com fração hidroalcoólica do extrato etanólico bruto de *Sida rhombifolia* L., por via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda. Os valores estão expressos em média ± S.D (n=6). Teste “t” Mann-Whitney não pareado. *p<0,05.

5.3.1.3 Análise laboratorial do sangue

O sangue dos animais controles e tratados foram coletados e analisados, a maioria dos grupos tratados não revelaram alterações significativas em relação ao controle, poucas foram às variações, referente apenas ao parâmetro VCM em machos onde houve um aumento estatisticamente significativo. Resultados apresentados na Tabela 10 e no Gráfico 19.

TABELA 10- Parâmetros Hematológicos obtidos do sangue de ratos *Wistar*, fêmeas e machos, tratados com as doses de 2000 mg/kg com a fração hidroalcoólica do extrato etanólico bruto de *Sida rhombifolia* L., via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda.

	Controle	2000 mg/kg
Machos		
Hemácia ($10^6/\text{dL}$)	8,72 $\pm$ 8,3	7,90 $\pm$ 7,95
Hemoglobina (g/dL)	14,93 $\pm$ 0,76	15,34 $\pm$ 0,65
Hematócrito (%)	41,33 $\pm$ 2,73	42,42 $\pm$ 1,33
VCM (fL)	47,30 $\pm$ 1,81	51,18 $\pm$ 2,41*
HCM (Pg)	17,52 $\pm$ 1,69	18,46 $\pm$ 0,83
CHCM (%)	36,13 $\pm$ 0,65	36,06 $\pm$ 0,52
Leucócitos ($10^3/\mu\text{L}$)	11,05 $\pm$ 3,37	8,14 $\pm$ 2,19
Neutrófilos (%)	20,00 $\pm$ 4,29	20,80 $\pm$ 3,77
Eosinófilos (%)	0,60 $\pm$ 0,55	0,00 $\pm$ 0,00
Linfócitos (%)	75,17 $\pm$ 3,92	72,83 $\pm$ 6,08
Monócitos (%)	4,17 $\pm$ 1,72	5,33 $\pm$ 4,08
Plaquetas ($10^3/\mu\text{L}$)	750,2 $\pm$ 156,6	948,4 $\pm$ 103,5
	Controle	2000 mg/kg
Fêmeas		
Hemácia ($10^6/\mu\text{L}$)	8,21 $\pm$ 0,48	8,12 $\pm$ 0,68
Hemoglobina (g/dL)	14,18 $\pm$ 0,79	13,73 $\pm$ 0,05
Hematócrito (%)	39,14 $\pm$ 1,86	38,30 $\pm$ 0,30
VCM (fL)	47,78 $\pm$ 2,93	47,28 $\pm$ 3,95
HCM (Pg)	17,35 $\pm$ 0,84	16,98 $\pm$ 1,37
CHCM (%)	36,10 $\pm$ 1,49	35,93 $\pm$ 0,29
Leucócitos ($10^3/\mu\text{L}$)	7,17 $\pm$ 1,23	6,55 $\pm$ 2,53
Neutrófilos (%)	21,50 $\pm$ 4,43	21,75 $\pm$ 4,79
Eosinófilos (%)	1,33 $\pm$ 0,52	1,67 $\pm$ 0,58
Linfócitos (%)	71,67 $\pm$ 5,68	70,75 $\pm$ 6,01
Monócitos (%)	5,00 $\pm$ 2,00	6,50 $\pm$ 1,29
Plaquetas ($10^3/\mu\text{L}$)	739,5 $\pm$ 149,2	873,0 $\pm$ 243,6

Os valores estão expressos em média $\pm$ S.D (n=6). Teste “t” Mann-Whitney. *p<0,05

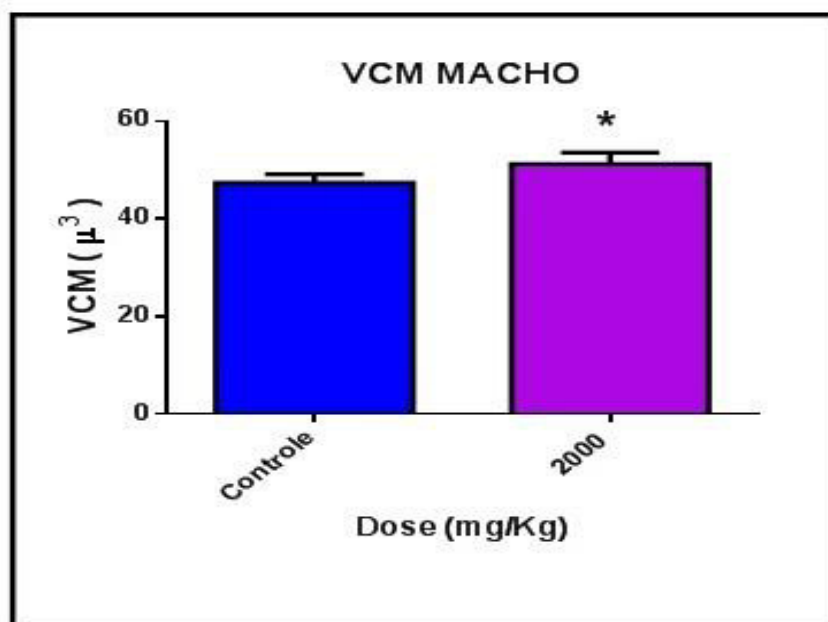


GRÁFICO 19. VCM de ratos wistar, machos, tratados com a dose de 2000 mg/kg com a fração hidroalcoólica do extrato etanólico bruto de *Sida rhombifolia* L, via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda. Os valores estão expressos em média S.D (n=6). Teste “t” Mann-Whitney não pareado. *p<0,05.

5.3.1.4 Parâmetros bioquímicos

Na sua maioria os parâmetros bioquímicos resultantes das análises do sangue dos animais controles e tratados evidenciou a ausência de alterações entre estes grupos avaliados. Porém, variações significativas foram detectadas em determinados parâmetros, como: Creatinina em machos, havendo uma diminuição nos seus níveis; AST, Ácido Úrico e Glicose em fêmeas, houve um aumento. Estes resultados são apresentados na Tabela 11 e nos Gráficos 20, 21, 22 e 23.

TABELA 11. Parâmetros Bioquímicos obtidos do sangue de ratos *wistar*, fêmeas e machos, tratados com as doses de 2000 mg/kg com a fração hidroalcoólica do extrato etanólico bruto de *Sida rhombifolia L.*

	Controle	2000 mg/kg
Machos		
AST (U/L)	181,0 ± 34,57	146,0 ± 40,07
ALT (U/L)	61,00 ± 11,87	60,83 ± 14,80
Albumina (g/dL)	2,27 ± 0,17	2,36 ± 0,23
Colesterol (mg/dL)	53,17 ± 13,27	55,00 ± 10,10
Triglicerídeos (mg/dL)	67,67 ± 43,84	77,00 ± 39,26
Cálcio (mg/dL)	13,61 ± 4,59	14,84 ± 7,05
Ácido Úrico (mg/dL)	0,63 ± 0,19	0,71 ± 0,29
Ureia (mg/dL)	51,03 ± 10,53	54,50 ± 5,28
Creatinina (mg/dL)	0,61 ± 0,04	0,54 ± 0,02*
Fósforo (mg/dL)	7,50 ± 0,64	7,03 ± 0,78
Fosfatase Alcalina(U/L)	282,5 ± 94,82	271,0 ± 85,56
Glicose (mg/dL)	120,5 ± 9,01	119,8 ± 7,76
Magnésio (mg/dL)	2,13 ± 0,14	2,11 ± 0,19
Proteínas Totais (g/dL)	6,22 ± 0,38	6,35 ± 0,42
	Controle	2000 mg/kg
Fêmeas		
AST (U/L)	154,8 ± 19,41	221,7 ± 38,12*
ALT (U/L)	50,17 ± 9,06	58,50 ± 10,82
Albumina (g/dL)	2,41 ± 0,31	2,20 ± 0,19
Colesterol (mg/dL)	60,00 ± 10,30	64,17 ± 9,35
Triglicerídeos (mg/dL)	39,00 ± 28,75	47,33 ± 20,57
Cálcio (mg/dL)	9,99 ± 0,62	9,95 ± 1,18
Ácido Úrico (mg/dL)	0,76 ± 0,10	1,06 ± 0,23*
Ureia (mg/dL)	47,83 ± 5,46	57,17 ± 6,97
Creatinina (mg/dL)	0,62 ± 0,05	0,64 ± 0,06
Fósforo (mg/dL)	5,67 ± 0,25	5,80 ± 0,87
Fosfatase Alcalina(U/L)	132,5 ± 52,42	129,0 ± 58,27
Glicose (mg/dL)	102,5 ± 4,55	121,5 ± 10,80**
Magnésio (mg/dL)	2,29 ± 0,33	2,05 ± 0,27
Proteínas Totais (g/dL)	6,49 ± 0,46	6,07 ± 0,40

Os valores estão expressos em média ± S.D (n=6). Teste “t” Mann-Whitney. . *p<0,05, **p<0,0

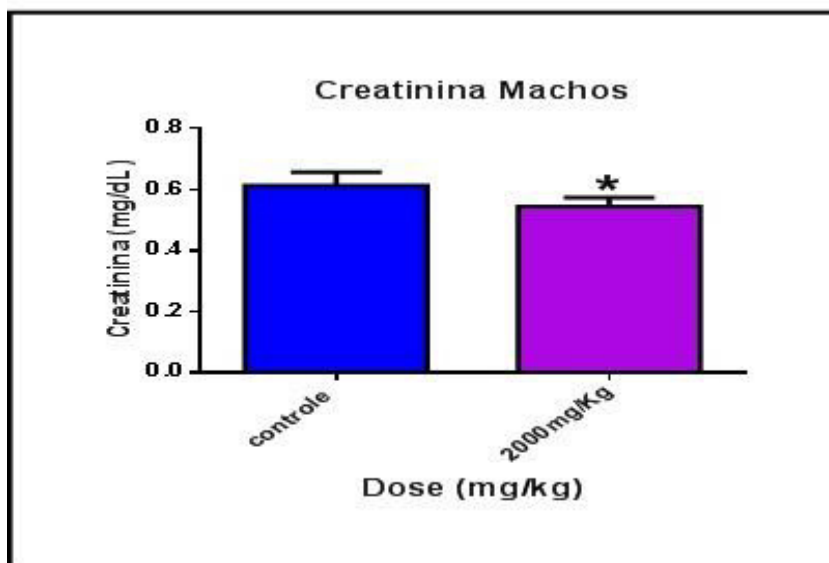


GRÁFICO 20. Creatinina de ratos *Wistar*, machos, tratadas com a dose de 2000 mg/kg com a fração hidroalcoólica do extrato etanólico bruto de *Sida rhombifolia* L, via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda. Os valores estão expressos em média $\pm$ S.D (n=6). Teste “t” Mann-Whitney não pareado.*p<0,05.

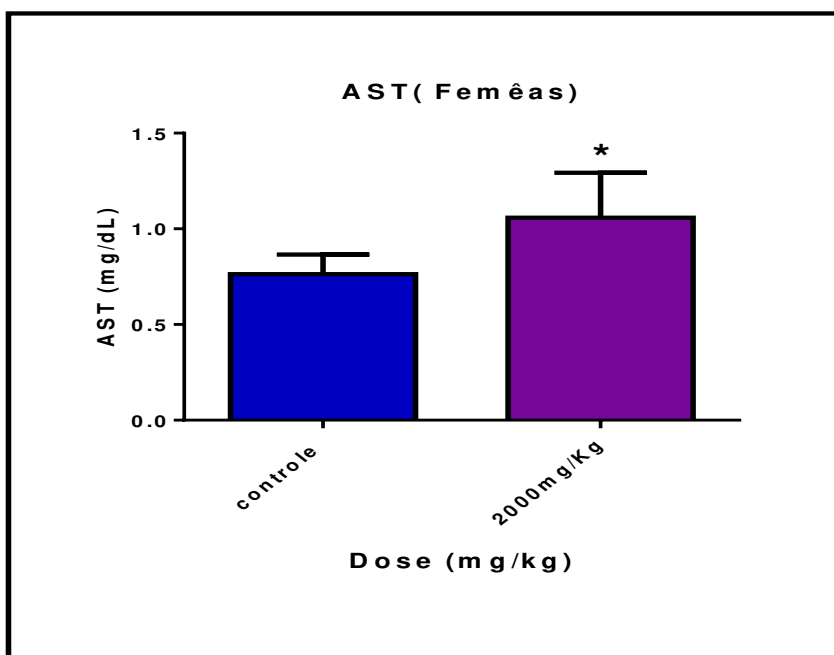
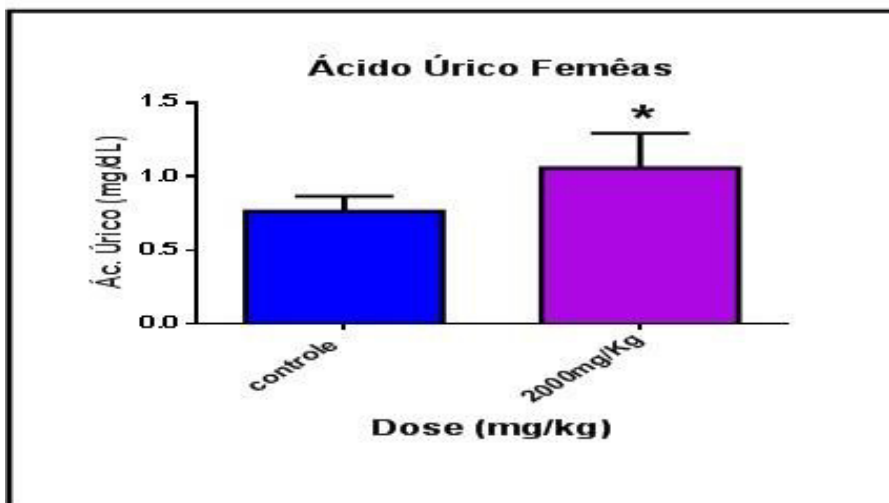


GRÁFICO 21. AST de ratos *Wistar*, fêmeas, tratadas com a dose de 2000 mg/kg com a fração hidroalcoólica do extrato etanólico bruto de *Sida rhombifolia* L, via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda. Os valores estão expressos em média S.D (n=6). Teste “t” Mann-Whitney não pareado.*p<0,05.

GRÁFICO 22. Ácido Úrico de ratas Wistar, fêmeas, tratadas com a dose de 2000 mg/kg com a fração hidroalcoólica do extrato etanólico bruto de *Sida rhombifolia* L,



via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda. Os valores estão expressos em média S.D (n=6). Teste "t" Mann-Whitney não pareado.*p<0,05.

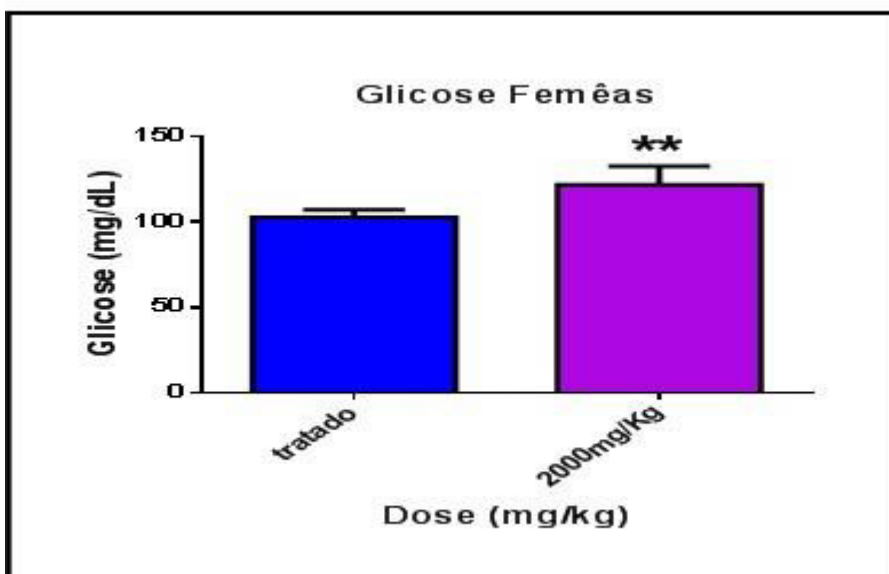


GRÁFICO 23. Glicose de ratas *wistar*, fêmeas, tratadas com a dose de 2000 mg/kg com a fração hidroalcoólica do extrato etanólico bruto de *Sida rhombifolia* L, via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda. Os valores estão expressos em média $\pm$ S.D (n=6). Teste "t" Mann-Whitney não pareado.*p<0,05,**p<0,01.

5.4 Fração n-butanólica do extrato etanólico bruto de *Sida rhombifolia* L.

5.4.1 Avaliação comportamental e letalidade

Após a administração da fração n-butanólica do extrato etanólico de *Sida rhombifolia* L. na dose de 2000mg/kg por via oral, foi realizado a triagem comportamental. No qual, não foi observado nenhum sinal de alteração em nível de SNC ou SNA, nos animais tratados com a droga, indicando que a substância não tem ação sobre esses sistemas ou os possui de forma que seja irrelevante para alguma alteração comportamental. Não houve morte de nenhum animal.

5.4.1.1 Evolução ponderal

Ao avaliar a evolução ponderal dos animais tratados com a fração n-butanólica do extrato etanólico de *Sida rhombifolia* L. na dose de 2000mg/kg, e comparando com os animais controles, não foram observadas alterações significativas no peso das fêmeas. Entretanto, para os machos apenas na segunda semana, houve uma variação estatística no peso dos animais, como pode ser verificado na Tab 11 e Gráfico 24.

TABELA 12. Evolução ponderal de ratos *Wistar*, fêmeas e machos, tratados por via oral com 2000mg/kg, dose única, da fração n-butanólica do extrato etanólico bruto de *Sida rhombifolia* L.

	Controle	2000 mg/kg
Machos 1ª Semana	19,35±1,58	30,70± 6,38
Machos 2ª Semana	19,72± 9,08	38,80± 4,17*
Fêmeas 1ª Semana	4,00±7,77	11,73± 9,11
Fêmeas 2ª Semana	3,90±4,37	4,93±2,20

Os valores estão expressos em média ± S.D (n=6). Teste “t” Mann-Whitney não pareado. *p<0,05

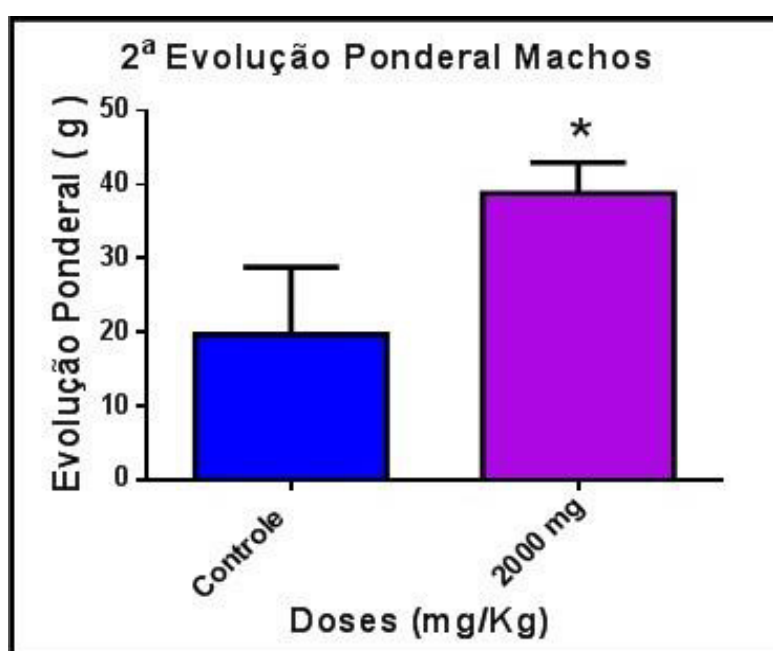


GRÁFICO 24. Evolução ponderal de ratos *Wistar*, machos, tratados com a dose de 2000 mg/kg com fração n-butanólica do extrato etanólico bruto de *Sida rhombifolia* L., por via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda. Os valores estão expressos em média S.D (n=6). Teste “t” Mann-Whitney não pareado. *p<0,05.

5.4.1.2 Consumo de água e ração

Durante toda fase aguda (14 dias), o consumo de água e ração foram monitorados, tanto dos animais controle como dos tratados com a fração n-butanólica do extrato etanólico bruto de *Sida rhombifolia* L. na dose de 2000mg/kg. Foi possível observar que os ratos *Wistar*, machos e fêmeas, dos grupos controles e tratados apresentaram variações significativas referente ao consumo de água, assim como no consumo de ração sendo significativo tanto para as fêmeas como para os machos. Como pode ser visto na Tab. 13 e nos gráficos 25, 26, 27 e 28.

TABELA 13. Consumo de água e ração de ratos *Wistar*, fêmeas e machos, tratados com a dose de 2000 mg/kg, com a fração n-butanólico do extrato etanólico bruto de *Sida rhombifolia* L.

	Controle	2000 mg/kg
Machos		
Consumo Água (mL)	214,1±17,44	185,5±37,38*
Consumo Ração (g)	128,6±14,10	109,9±16,35*
Fêmeas		
Consumo Água (mL)	201,8±15,37	167,7±21,72*
Consumo Ração (g)	98,70±9,35	95,11±46,05*

Os valores estão expressos em média ± S.D (n=6). Teste “t” Mann-Whitney não pareado. *p<0,05

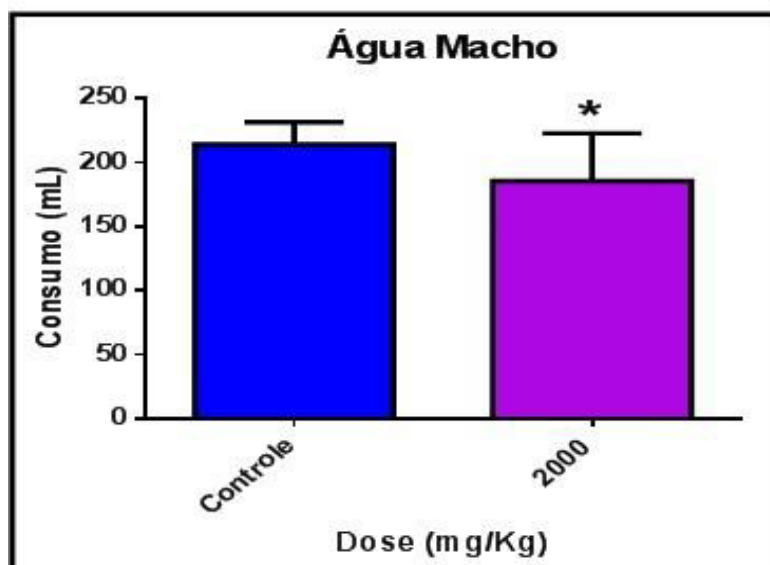


GRÁFICO 25. Consumo de água de ratos Wistar, machos, tratados com a dose de 2000 mg/kg com fração n-butanólica do extrato etanólico bruto de *Sida rhombifolia*L., por via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda. Os valores estão expressos em média S.D (n=6). Teste “t” Mann-Whitney não pareado *p<0,05..

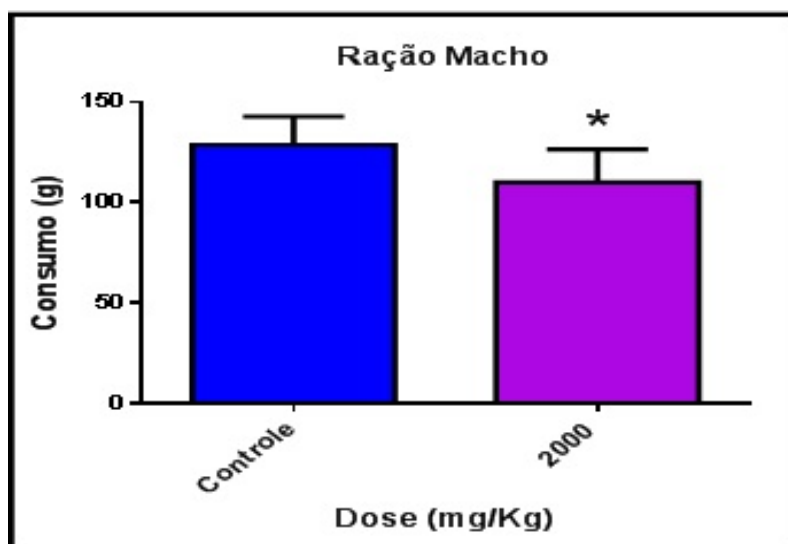


GRÁFICO 26. Consumo de ração de ratos Wistar, machos, tratados com a dose de 2000 mg/kg com fração n-butanólica do extrato etanólico bruto de *Sida rhombifolia*L., por via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda. Os valores estão expressos em média S.D (n=6). Teste “t” Mann-Whitney não pareado *p<0,05.

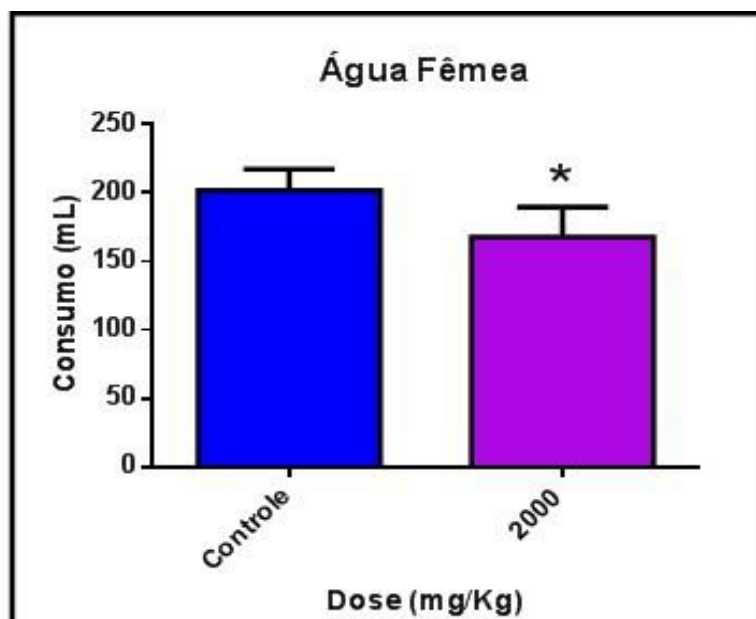


GRÁFICO 27. Consumo de água de ratos Wistar, fêmeas, tratadas com a dose de 2000 mg/kg com fração n-butanólica do extrato etanólico bruto de *Sida rhombifolia*L., por via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda. Os valores estão expressos em média S.D (n=6). Teste “t” Mann-Whitney não pareado * $p < 0,05$.

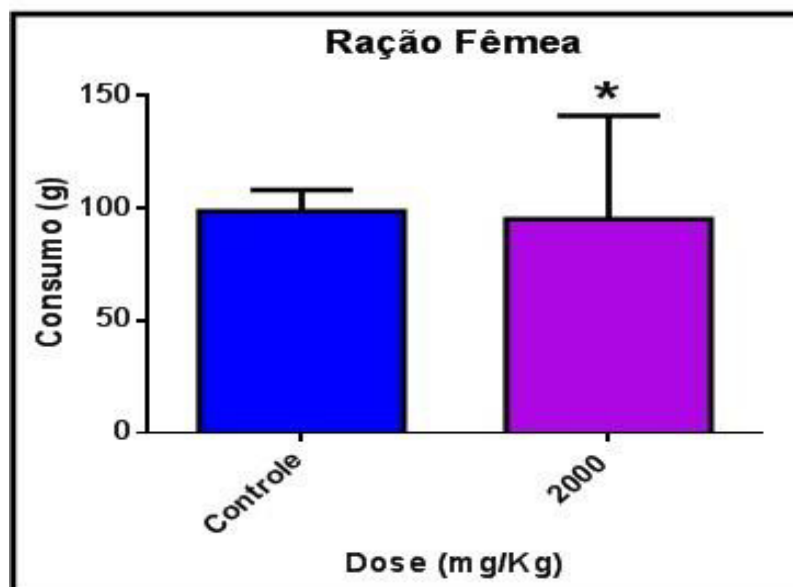


GRÁFICO 28. Consumo de ração de ratos Wistar, fêmeas, tratadas com a dose de 2000 mg/kg com fração n-butanólica do extrato etanólico bruto de *Sida rhombifolia*L., por via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda. Os valores estão expressos em média S.D (n=6). Teste “t” Mann-Whitney não pareado * $p < 0,05$.

5.4.1.3 Análise laboratorial do sangue

5.4.1.4 Parâmetros hematológicos

A análise do sangue dos animais controles e tratados não mostrou nenhuma alteração hematológica (tabela 14).

TABELA 14. Parâmetros Hematológicos obtidos do sangue de ratos *wistar*, machos e fêmeas, tratados com as doses de 2000 mg/kg com a fração n-butanólicado extrato etanólico bruto de *Sida rhombifolia* L.

	Controle	2000 mg/kg
Machos		
Hemácia ($10^6/\text{dL}$)	8,24 $\pm$ 0,41	7,70 $\pm$ 1,12
Hemoglobina (g/dL)	14,50 $\pm$ 0,89	14,13 $\pm$ 1,52
Hematócrito (%)	42,02 $\pm$ 2,75	40,00 $\pm$ 3,74
VCM (fL)	48,64 $\pm$ 1,75	52,40 $\pm$ 5,19
HCM (Pg)	17,60 $\pm$ 1,10	18,40 $\pm$ 1,63
CHCM (g/dL)	36,10 $\pm$ 1,85	35,25 $\pm$ 0,79
Leucócitos ($10^3/\mu\text{L}$)	9,04 $\pm$ 2,22	9,53 $\pm$ 3,13
Neutrófilos (%)	25,80 $\pm$ 3,63	29,25 $\pm$ 4,11
Eosinófilos (%)	1,60 $\pm$ 0,89	1,75 $\pm$ 0,96
Linfócitos (%)	66,20 $\pm$ 3,90	60,75 $\pm$ 4,65
Monócitos (%)	6,40 $\pm$ 1,14	8,00 $\pm$ 1,41
Plaquetas ($10^3/\mu\text{L}$)	814,8 $\pm$ 111,5	864,7 $\pm$ 130,5
	Controle	2000 mg/Kg
Fêmeas		
Hemácia ($10^6/\mu\text{L}$)	8,08 $\pm$ 0,49	7,80 $\pm$ 0,53
Hemoglobina (g/dL)	14,12 $\pm$ 0,87	14,10 $\pm$ 0,17
Hematócrito (%)	39,54 $\pm$ 2,41	39,00 $\pm$ 0,00
VCM (fL)	46,78 $\pm$ 4,43	50,13 $\pm$ 3,40
HCM (Pg)	17,48 $\pm$ 1,07	18,13 $\pm$ 1,36
CHCM (g/dL)	35,72 $\pm$ 0,71	35,87 $\pm$ 0,23
Leucócitos ($10^3/\mu\text{L}$)	8,02 $\pm$ 2,17	7,73 $\pm$ 0,78
Neutrófilos (%)	22,00 $\pm$ 4,73	26,67 $\pm$ 6,66
Eosinófilos (%)	1,40 $\pm$ 0,55	2,33 $\pm$ 1,53
Linfócitos (%)	72,80 $\pm$ 5,54	66,33 $\pm$ 9,29
Monócitos (%)	5,00 $\pm$ 2,24	4,67 $\pm$ 1,16
Plaquetas ($10^3/\mu\text{L}$)	716,0 $\pm$ 153,9	789,7 $\pm$ 154,0

Os valores estão expressos em média $\pm$ S.D (n=6). Teste “t” Mann-Whitney. *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001.

5.4.1.5 Parâmetros bioquímicos

Nos parâmetros bioquímicos foram evidenciadas uma diminuição estatisticamente significativa para os triglicerídeos e AST (tabela 15) (Gráficos 29 e 33) dos animais machos e um aumento dos parâmetros: cálcio, fósforo e albumina, dos animais machos (Gráficos 30, 31, 32). Em relação aos animais fêmeas tivemos um aumento estatisticamente significativo para a glicose (Gráfico 34).

TABELA 15: Parâmetros bioquímicos obtidos do soro dos ratos tratados com a fração n-butanólica do extrato etanólico de *Sidarrhombifolia* L. na dose de 2000 mg/kg por via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda.

	Controle	2000 mg/Kg
Machos		
Colesterol (mg/dL)	74,83±5,87	70,50 ± 8,22
Triglicerídeos (mg/dL)	128,8±37,37	55,25±19,55**
Ureia (mg/dL)	43,33±6,74	53,33±2,88
Glicose (mg/dL)	115,3±18,75	116,0±5,47
Creatina (mg/dL)	0,493±0,08	0,498±0,03
Cálcio (mg/dL)	8,795±0,55	10,91±0,56**
Fósforo (mg/dL)	7,132±0,30	8,533±0,28***
Magnésio (mg/dL)	1,913±0,09	1,938±0,12
Albumina (mg/dL)	2,410±0,20	2,698±0,17*
Proteínas Totais (mg/dL)	5,978±0,24	5,958±0,25
Ácido Úrico (mg/dL)	0,968±0,30	0,688±0,12
AST (U/L)	224,8±77,34	152,5±24,39*
ALT (U/L)	52,67±9,33	52,50±16,54
FAL (U/L)	357,2±111,2	327,8±44,64
Fêmeas		
Colesterol (mg/dL)	70,17 ± 15,24	65 ± 7,52
Triglicerídeos (mg/dL)	38,83±18,69	53,25±26,11
Ureia (mg/dL)	47,60±6,80	47,75±11,73
Glicose (mg/dL)	95,60±9,34	117,0±10,23*
Creatina (mg/dL)	0,514±0,046	0,515±0,017
Cálcio (mg/dL)	8,825±0,37	9,720±1,16
Fósforo (mg/dL)	6,695±0,88	6,668±1,19
Magnésio (mg/dL)	1,955±0,13	1,943±0,20
Albumina (mg/dL)	2,260±0,33	2,655±0,15
Proteínas Totais (mg/dL)	5,954±0,22	6,020±0,30
Ácido úrico (mg/dL)	1,098±0,34	1,170±0,41
AST (U/L)	243,2±52,97	237,3±151,2
ALT (U/L)	52,40±2,702	56,75±26,92
FAL (U/L)	195,0±77,37	155,0±63,07

Os valores estão expressos em média ± S.D (n=6). Teste "t" Mann-Whitney. *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001.

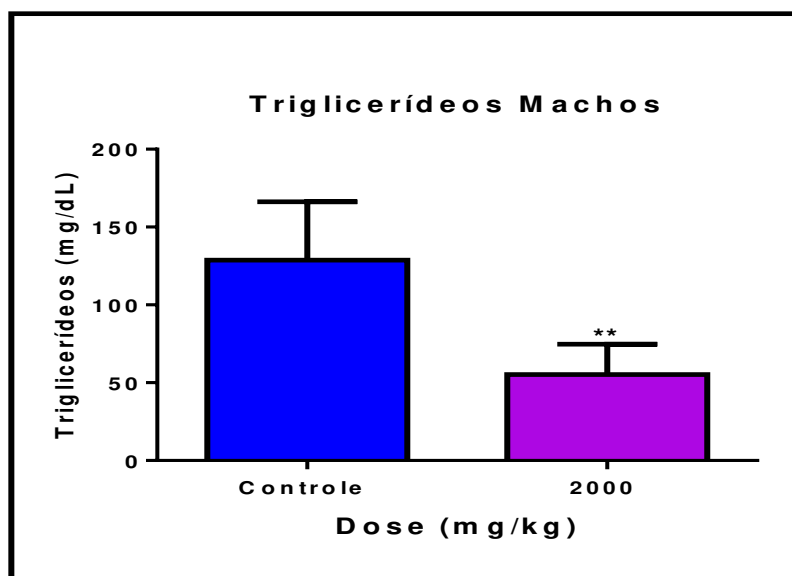


GRÁFICO 29. Triglicerídeos dos machos tratados com a fração n-butanólica do extrato etanólico de *Sidarthombifolia* L. na dose de 2000 mg/kg por via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda. Os valores estão expressos em média $\pm$ S.D (n=6). Teste “t” Mann-Whitney. *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001.

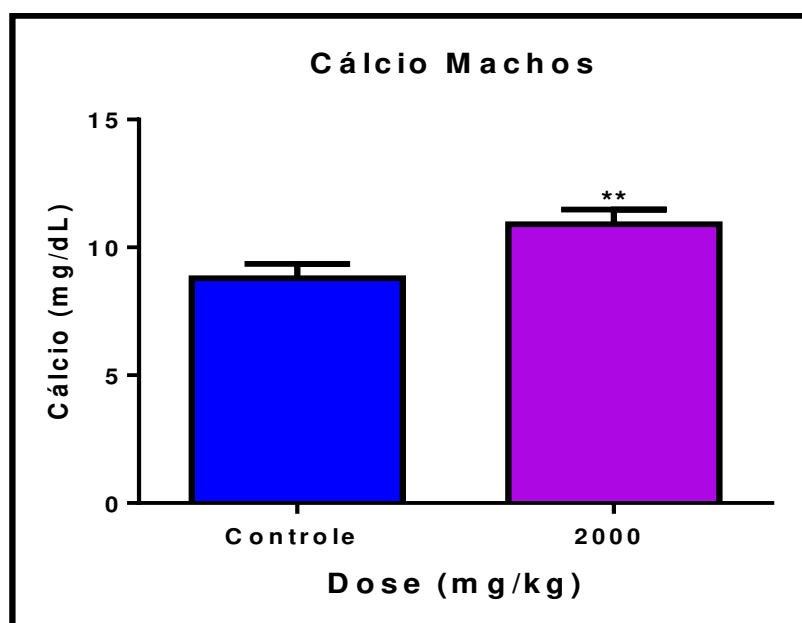


GRÁFICO 30. Cálcio dos machos tratados com a fração n-butanólica do extrato etanólico de *Sidarthombifolia* L. na dose de 2000 mg/kg por via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda. Os valores estão expressos em média $\pm$ S.D (n=6). Teste “t” Mann-Whitney. . *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001.

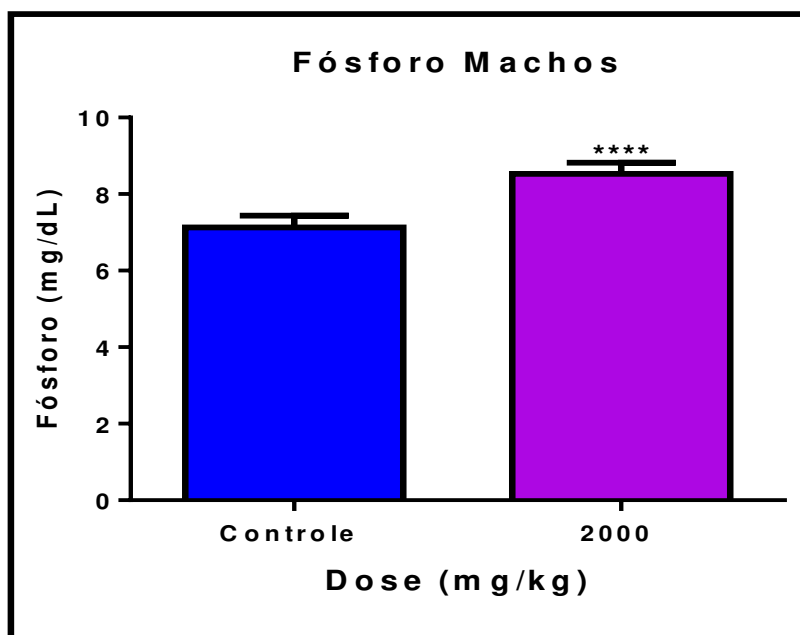


GRÁFICO 31. Fósforo dos machos tratados com a fração n-butanólica do extrato etanólico de *Sidarhombifolia* L. na dose de 2000 mg/kg por via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda. Os valores estão expressos em média $\pm$ S.D (n=6). Teste “t” Mann-Whitney. *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001.

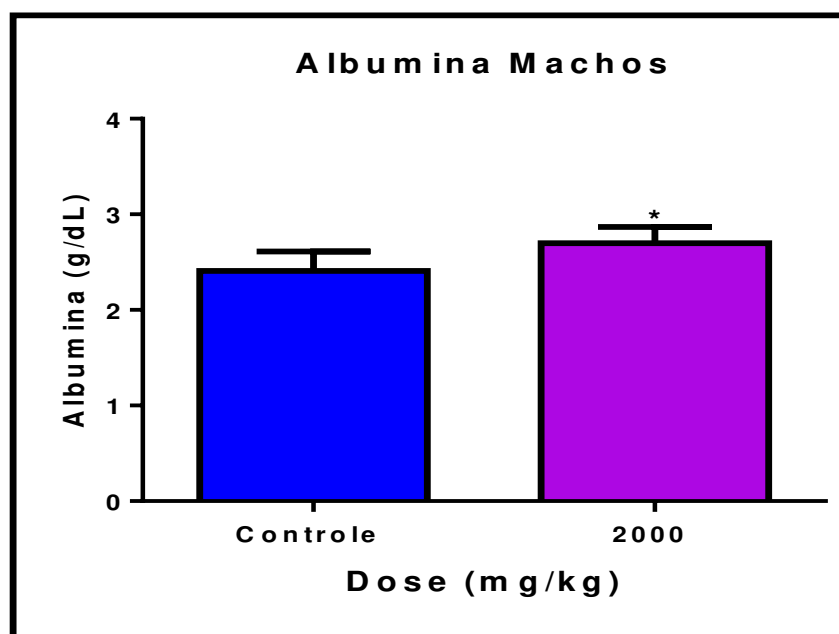


GRÁFICO 32. Albumina dos machos tratados com a fração n-butanólica do extrato etanólico de *Sidarhombifolia* L. na dose de 2000 mg/kg por via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda. Os valores estão expressos em média $\pm$ S.D (n=6). Teste “t” Mann-Whitney. *p<0,05.

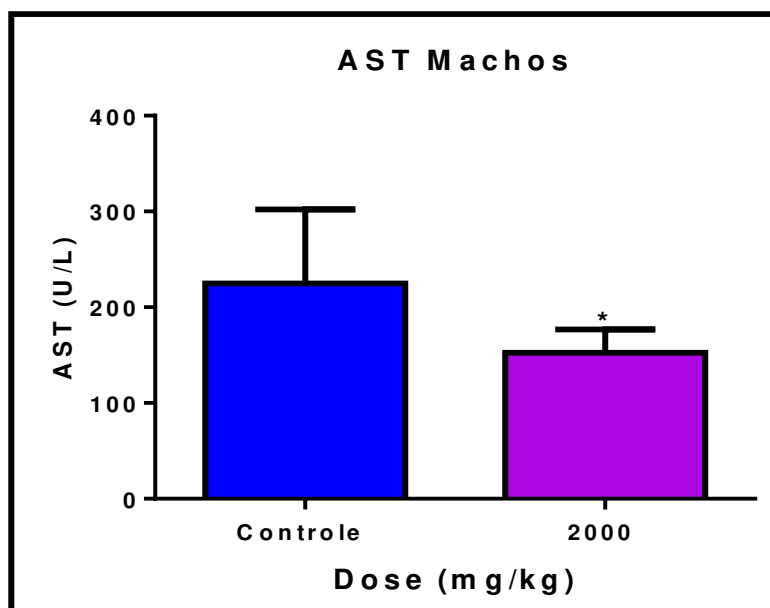


GRÁFICO 33. AST dos machos tratados com a fração n-butanólica do extrato etanólico de *Sidarhombifolia*L. na dose de 2000 mg/kg por via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda. Os valores estão expressos em média $\pm$ S.D (n=6). Teste “t” Mann-Whitney. *p<0,05.

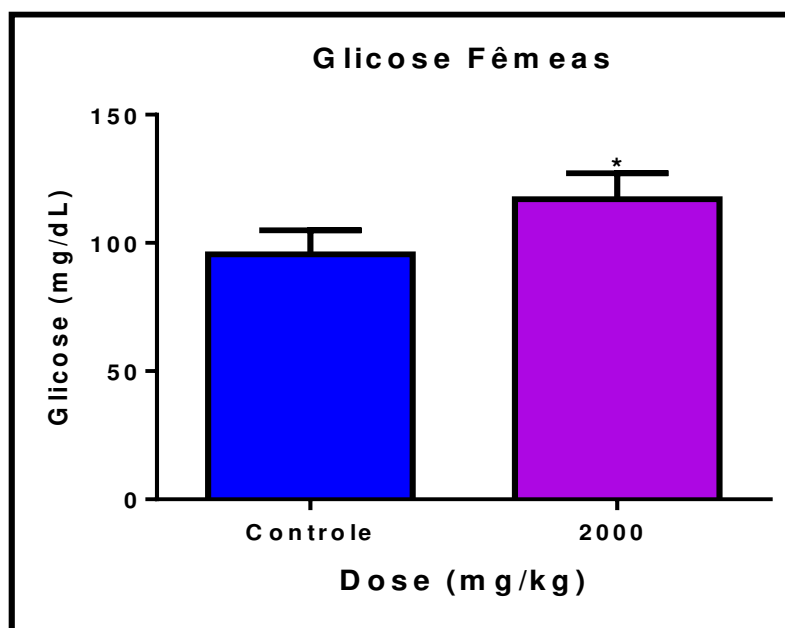


GRÁFICO 34. Glicose das fêmeas tratadas com a fração n-butanólica do extrato etanólico de *Sidarhombifolia*L. na dose de 2000 mg/kg por via oral, durante o ensaio de toxicidade aguda. Os valores estão expressos em média $\pm$ S.D (n=6). Teste “t” Mann-Whitney. *p<0,05.

6.1 Ensaio toxicológico não-clínico crônico

Os resultados demonstrados a seguir referem-se a administração do EEB de *Sida rhombifolia* L, nas doses de 16 mg/kg (dose popular), 80 mg/kg (5X a dose de uso popular) e 400 mg/kg (25X a dose de uso popular), que foram administradas diariamente durante 90 dias, por via oral, em ratos de ambos os sexos.

6.1.1 Consumo de água e ração:

Os resultados revelaram que a administração prolongada provocou alterações estatisticamente significativas no consumo de água e ração dos ratos machos e fêmeas tratados diariamente com diferentes doses do EEB de *Sida rhombifolia* L.

Os ratos machos diminuíram o consumo de água (tabelas 16) na 2.^a semana nas doses de 16 mg/kg e 80mg/kg, na 4.^a , 7.^a e 8.^a semanas na dose de 80 mg/kg (gráfico 35). Não obtivemos alterações significativas para os animais fêmeas (gráfico 36).

TABELA 16: Consumo semanal de água por ratos Wistar durante os 90 dias de tratamento crônico com diferentes doses do EEB de *Sida rhombifolia* L.

Semanas							
	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	7 ^a
MACHOS							
Controle	198,2±26,62	201,1±15,34	175,7±27,79	193,9±26,10	182,9±29,79	177,9±23,35	183,9±18,21
16 mg/kg	200,4±26,13	181,1±24,51*	180,4±23,57	191,4±33,94	177,1±30,36	175,0±27,53	181,1±23,63
80 mg/kg	185,0±24,18	177,9±14,5*	170,4±11,34	161,4±12,62*	157,9±17,94	173,2±17,17	165,0±17,17*
400mg/kg	192,5±23,76	192,9±19,58	172,9±30,30	173,6±12,62	162,9±27,15	177,5±25,02	189,3±11,91
FÊMEAS							
Controle	153,9±16,55	151,4±17,70	138,9±5,81	167,9±25,28	152,9±29,53	156,4±25,08	155,0±13,87
16 mg/kg	156,1±22,20	149,6±30,91	134,6±20,42	146,8±32,97	146,1±31,88	146,9±24,03	156,4±19,06
80 mg/kg	140,7±12,30	140,1±16,72	133,9±12,74	129,6±15,62	144,6±22,57	156,1±13,33	158,9±14,17
400mg/kg	148,6±14,06	142,1±15,28	144,6±10,82	148,2±19,28	142,9±20,35	156,1±17,99	162,1±14,51

Os valores estão expressos em média ± e.p.m. (n=10). One-way ANOVA/ Tukey. *p<0,05.

TABELA 16: Consumo semanal de água por ratos Wistar durante os 90 dias de tratamento crônico com diferentes doses do EEB de *Sida rhombifolia* L.

Semanas					
	8 ^a	9 ^a	10 ^a	11 ^a	12 ^a
MACHOS					
Controle	183,9±21,05	185,0±20,85	187,5±23,60	185,7±24,87	180,7±18,69
16 mg/kg	173,2±18,36	172,9±18,68	181,4±24,29	177,5±23,10	176,8±24,39
80 mg/kg	163,9±17,17*	175,0±14,14	171,8±13,10	176,4±10,82	181,1±8,810
400 mg/kg	181,1±10,77	178,2±30,48	178,9±16,43	183,9±17,99	181,8±13,81
FÊMEAS					
Controle	140,7±4,47	155,0±3,82	160,7±3,77	162,9±2,76	163,6±2,43
16 mg/kg	153,9±22,12	151,8±23,50	166,8±15,39	163,2±19,96	165,4±15,75
80 mg/kg	160,7±17,08	155,0±14,68	162,1±17,40	160,4±17,04	160,7±17,85
400 mg/kg	161,1±14,70	160,7±15,42	157,9±13,97	155,7±16,27	148,2±14,49

Os valores estão expressos em média ± e.p.m. (n=10). One-way ANOVA/ Tukey. *p<0,05.

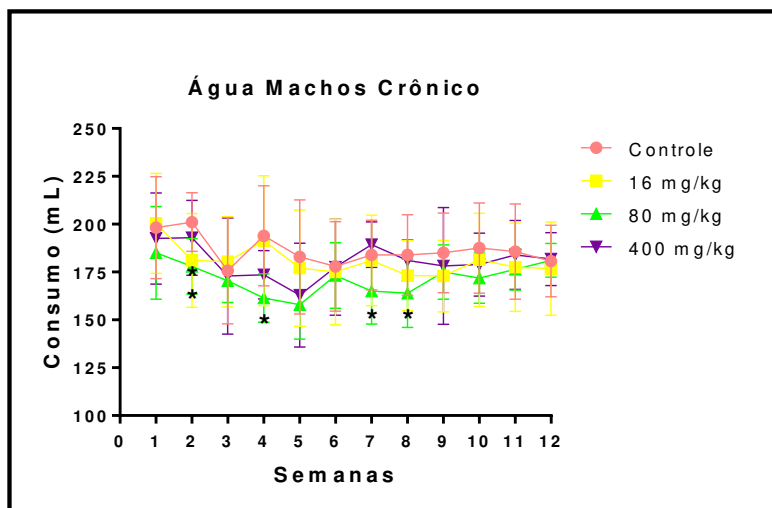


Gráfico 35. Consumo de água de ratos Wistar tratados com o EEB de *Sida rhombifolia* L. durante o ensaio de toxicidade crônico. Os valores estão expressos em média $\pm$ e.p.m. (n=10). One-way ANOVA/Tukey.*p<0,05.

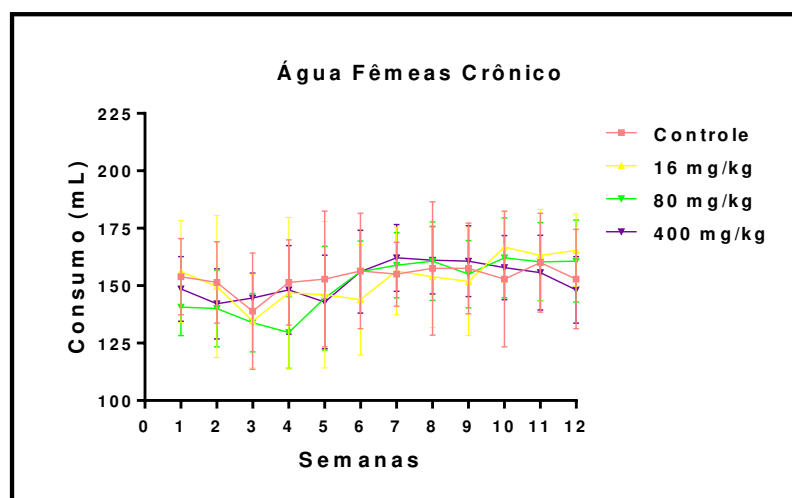


Gráfico 36. Consumo de água de ratas Wistar tratadas com o EEB de *Sida rhombifolia* L. durante o ensaio de toxicidade crônico. Os valores estão expressos em média $\pm$ e.p.m. (n=10). One-way ANOVA/Tukey.*p<0,05.

Os machos diminuíram o consumo de ração na 1.^a semana (tabela 17) e (gráficos 37), nas doses de 80 mg/kg e 400 mg/kg.

As fêmeas demonstraram diminuição no consumo de ração na 1.^a , 4.^a, 5.^a, 9.^a,10.^a, 11.^a e na 12.^a semanas (tabela 17) e (gráfico 38) nas doses de 80 mg/kg e 400 mg/kg.

TABELA 17: Consumo semanal de ração por ratos Wistar durante os 90 dias de tratamento crônico com diferentes doses do EEB de *Sida rhombifolia* L.

	Semanas						
	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	7 ^a
MACHOS							
Controle	148,3±9,24	136,6±9,99	125,3±14,18	116,6±9,97	115,4±9,33	121,4±9,02	122,5±6,19
16 mg/kg	144,1±8,43	119,3±12,64	122,7±9,50	122,3±7,87	118,3±18,28	122,9±8,86	123,4±15,01
80 mg/kg	130,5±21,34*	137,4±43,33	126,7±31,22	116,7±8,90	117,3±9,56	119,4±10,84	121,4±9,40
400mg/kg	130,1±8,32*	123,1±9,30	122,4±7,28	123,0±3,96	123,2±8,76	117,6±11,19	118,6±12,55
FÊMEAS							
Controle	100,7±10,28	92,0±9,51	72,29±14,78	88,14±18,00	84,57±6,95	80,14±8,31	80,57±8,62
16 mg/kg	91,71±9,24	89,14±27,92	76,71±8,10	77,36±14,16	84,21±12,64	81,21±12,32	82,14±10,80
80 mg/kg	91,36±14,55	85,00±15,63	78,14±8,79	74,00±6,61*	66,71±16,60*	87,14±11,36	82,79±22,26
400mg/kg	89,00±10,28*	84,79±22,15	74,29±6,12	77,14±7,75	77,93±4,94	72,79±6,45	77,86±4,86

Os valores estão expressos em média ± e.p.m. (n=10). One-way ANOVA/ Tukey. *p<0,05.

TABELA 17: Consumo semanal de ração por ratos Wistar durante os 90 dias de tratamento crônico com diferentes doses do EEB de *Sida rhombifolia* L.

	Semanas				
	8 ^a	9 ^a	10 ^a	11 ^a	12 ^a
MACHOS					
Controle	119,2±10,12	119,0±10,24	118,9±12,04	116,4±13,61	116,4±11,09
16 mg/kg	121,6±18,26	121,9±17,73	120,9±17,92	122,1±18,14	121,9±18,50
80 mg/kg	116,8±9,86	118,8±12,58	120,7±8,50	119,9±7,32	117,9±10,56
400 mg/kg	116,1±13,98	118,7±10,44	119,9±10,42	115,4±13,05	119,6±10,09
FÊMEAS					
Controle	80,79±8,56	92,57±25,98	83,71±10,95	82,71±8,62	79,50±9,04
16 mg/kg	83,21±11,62	82,36±12,22	83,14±12,41	86,50±10,77	89,50±12,56
80 mg/kg	73,57±6,48	66,71±16,60*	66,57±13,40*	67,21±12,95*	66,43±15,89*
400 mg/kg	77,07±8,98	77,36±8,23	76,29±6,34	76,14±7,67	78,14±5,05

Os valores estão expressos em média ± e.p.m. (n=10). One-way ANOVA/ Tukey. *p<0,05.

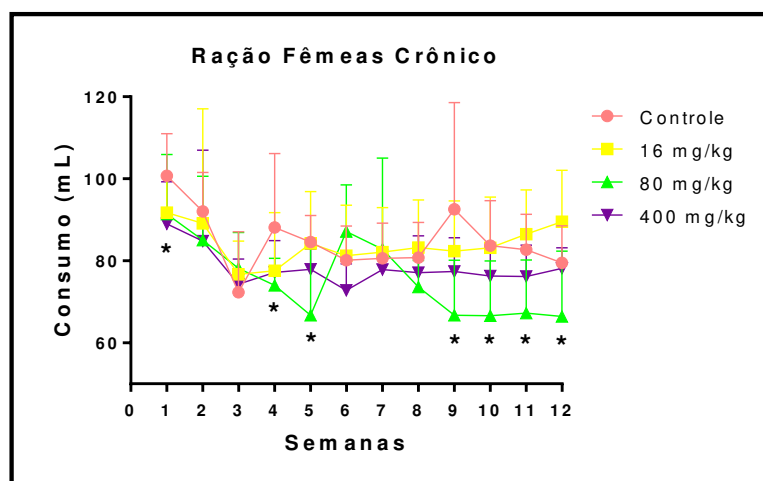


Gráfico 37. Consumo de ração de ratas Wistar tratadas com o EEB de *Sida rhombifolia* L. durante o ensaio de toxicidade crônica. Os valores estão expressos em média $\pm$ e.p.m. (n=10). One-way ANOVA/Tukey.*p<0,05.

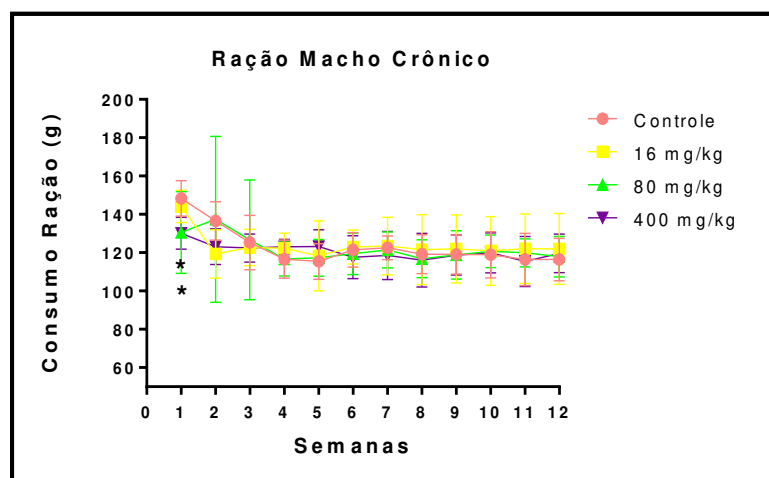


Gráfico 38. Consumo de ração de ratos Wistar tratados com o EEB de *Sida rhombifolia* L. durante o ensaio de toxicidade crônica. Os valores estão expressos em média $\pm$ e.p.m. (n=10). One-way ANOVA/Tukey.*p<0,0

6.1.2 Variação da evolução ponderal:

Não houve nenhuma alteração no peso dos ratos machos e fêmeas, tratados com as doses do EEB de *Sida rhombifolia* L. , gráficos 39 e 40.

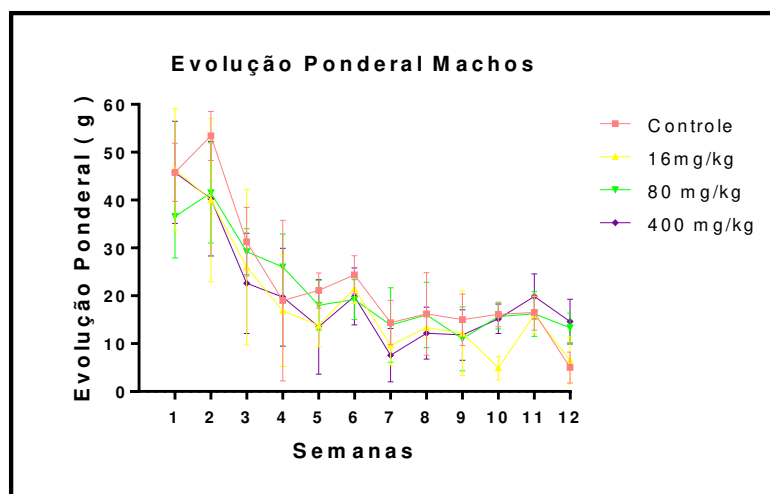


Gráfico 39. Evolução ponderal de ratos Wistar tratados com o EEB de *Sida rhombifolia* L. durante o ensaio de toxicidade crônica. Os valores estão expressos em média $\pm$ e.p.m. (n=10). One-way ANOVA/ Tukey.*p<0,05.

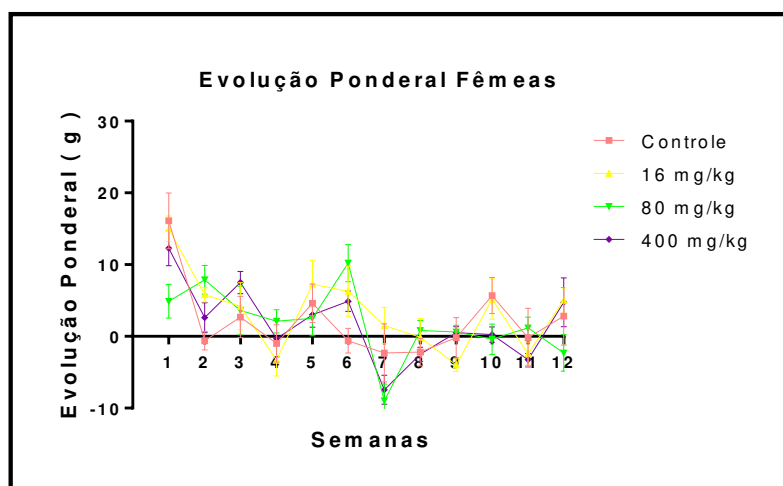


Gráfico 40. Evolução ponderal de ratas Wistar tratadas com o EEB de *Sida rhombifolia* L. durante o ensaio de toxicidade crônica. Os valores estão expressos em média $\pm$ e.p.m. (n=10). One-way ANOVA/ Tukey.*p<0,05.

6.1.3 Avaliação comportamental (teste do campo aberto) e Motora (teste de rota-rod):

No teste do campo aberto com exceção de duas alterações no grupo das fêmeas tratadas com a dose de 16 mg/kg, houve um aumento estatisticamente significativo no quinto comportamental nos parâmetros (ambulação) e grooming (tabela 18 e 19) , (gráficos 41 e 42) e foram obtidos resultados sem alterações em todos os outros grupos.

TABELA 18: Número de “Ambulações” no experimento de campo aberto, em ratos tratados com diferentes doses do EEB de *Sida rhombifolia* L.

	1°	2°	3°	4°	5°
MACHOS					
Controle	28,0±4,5	25,4±9,6	19,4±10,8	17,4±6,6	19,5±12,1
16 mg/kg	29,2±6,9	23,8±7,3	16,4±3,5	9,0±5,8	17,2±8,1
80 mg/kg	27,0±2,7	20,6±10,2	22,2±15,2	18,4±8,2	18,2±8,5
400mg/kg	39,2±9,0	20,4±11,9	19,8±10,6	14,0±10,3	22,2±12,2
FÊMEAS					
Controle	42,4±13,4	37,0±13,8	24,6±10,6	27,0±7,9	18,2±7,8
16 mg/kg	44,6±15,1	38,2±7,4	33,8±7,6	30,2±7,2	39,2±12,4*
80 mg/kg	25,2±6,5	22,6±15,1	24,4±14,8	19,8±12,8	26,0±11,7
400mg/kg	37,6±12,1	41,6±43,6	20,4±13,5	11,5±9,9	21,5±10,3

Os valores estão expressos em média ± e.p.m. (n=10). One-way ANOVA/ Tukey.*p<0,05.

TABELA 19: Número de execuções de comportamento “Grooming” (limpeza) no experimento de campo aberto, em ratos tratados com diferentes do EEB de *Sida rhombifolia* L.

DIAS	1°	2°	3°	4°	5°
Machos					
Controle	14,20±4,438	14,20±7,918	10,00±5,745	14,80±7,120	12,40±7,99
16 mg/kg	11,80±4,817	13,00±8,689	10,00±5,339	7,80±5,891	6,20±6,75
80 mg/kg	16,40±4,827	10,80±7,396	9,80±9,284	20,20±7,503	15,80±7,71
400mg/kg	13,00±5,657	8,600±2,966	6,400±3,362	7,600±5,683	8,50±6,26
Fêmeas					
Controle	25,80±10,06	15,00±5,701	9,200± 6,140	15,40± 4,393	6,000± 4,899
16 mg/kg	28,00±12,39	20,80±9,654	17,40±3,578	18,80± 8,729	23,60±8,385*
80 mg/kg	17,20±10,18	10,80±9,576	11,60± 8,173	15,40± 12,46	15,60±8,173
400mg/kg	14,00±5,339	12,40±6,066	6,800± 6,458	8,000± 4,967	8,250±4,500

Os valores estão expressos em média $\pm$ e.p.m. (n=10). One-way ANOVA/ Tukey. *p<0,05.

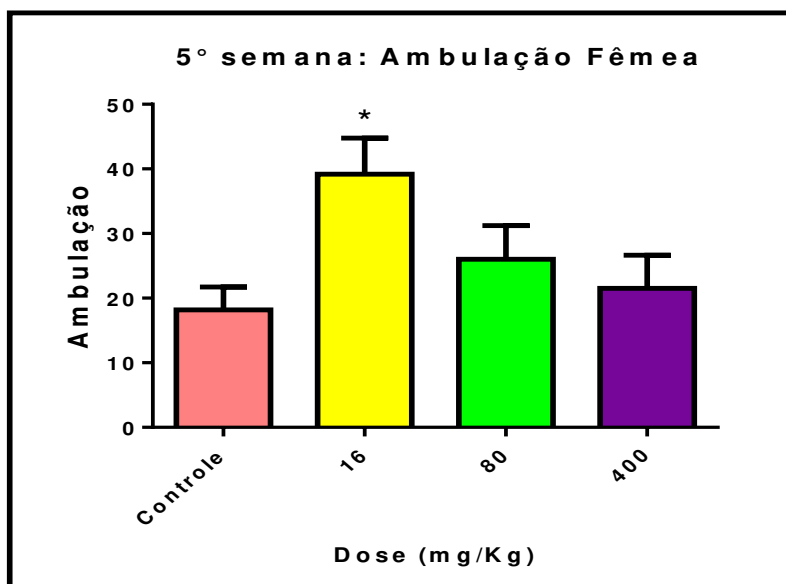


GRÁFICO 41. Número de execuções de comportamento “ Ambulação” no experimento de campo aberto de ratos Wistar fêmeas tratados com EEB de *Sida rhombifolia* L. Os valores estão expressos em média e.p.m. (n=10). One-way ANOVA/ Tukey. *p<0,05.

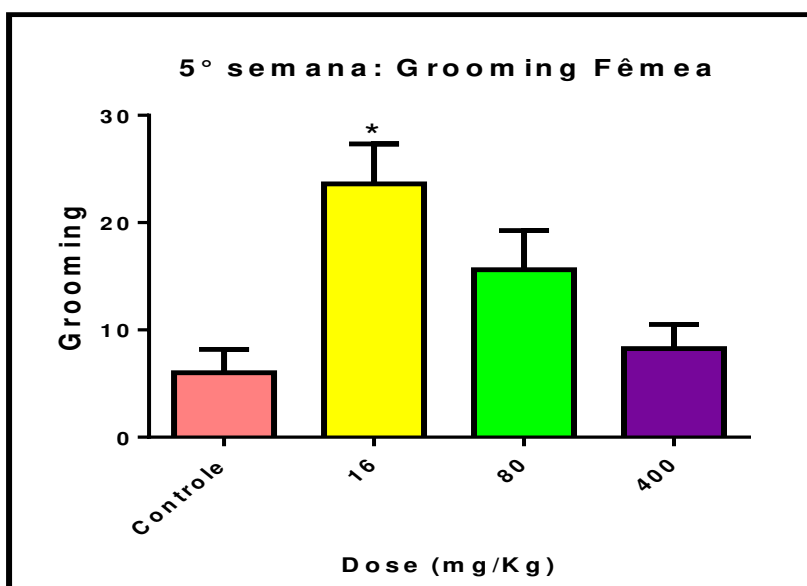


GRÁFICO 42. Número de execuções de comportamento “ Grooming” (limpeza) no experimento de campo aberto de ratas Wistar fêmeas tratadas com EEB de *Sida rhombifolia* L. Os valores estão expressos em média e.p.m. (n=10). One-way ANOVA/ Tukey..*p<0,05.

Na avaliação da atividade motora dos animais através do teste no aparelho de Rota Rod não foram registrados alterações estatisticamente significativas em relação ao grupo controle quanto ao tempo de permanência no aparelho, em ambos os sexos nas diferentes doses da experimentação crônica (gráficos 43 e 44).

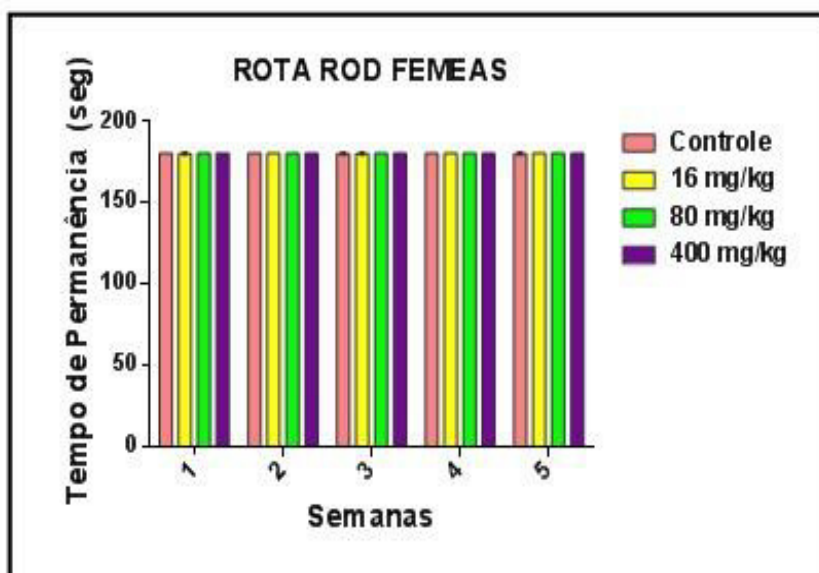


GRÁFICO 43. Tempo de Permanência (em segundos) na barra giratória do Rota-Rod de ratas Wistar tratadas com EEB de *Sida rhombifolia* L. durante o ensaio de toxicidade crônica. Os valores estão expressos em média $\pm$ e.p.m. (n=10). One-way ANOVA/Tukey. *p<0,05.

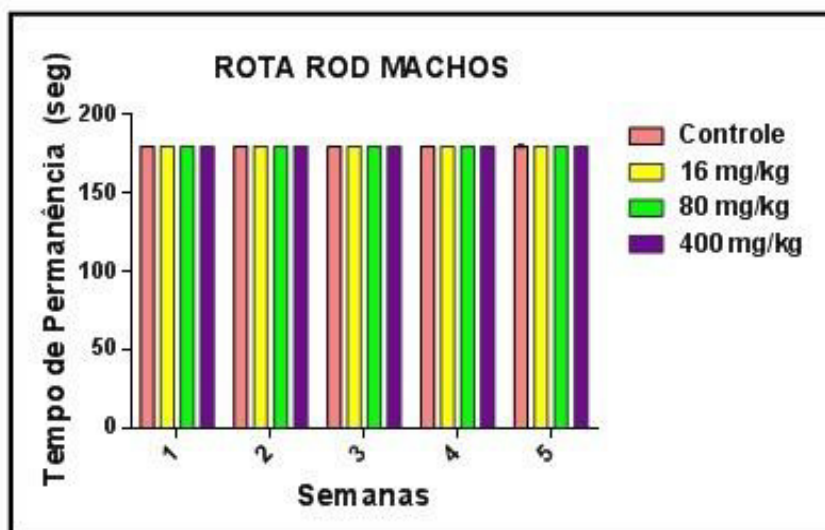


GRÁFICO 44. Tempo de Permanência (em segundos) na barra giratória do Rota-Rod de ratos Wistar tratados com EEB de *Sida rhombifolia* L. durante o ensaio de toxicidade crônica. Os valores estão expressos em média $\pm$ e.p.m. (n=10). One-way ANOVA/Tukey. *p<0,05

6.1.4 Avaliação laboratorial do sangue

6.1.4.1 Parâmetros bioquímicos

Ocorreram alterações bioquímicas estatisticamente significativas em ambos os sexos (tabela 20), sendo evidenciado apenas uma diminuição na albumina nas fêmeas da dose de 80 mg/kg (gráfico 45). Aumento nos níveis de glicose da dose de 400 mg/kg (gráfico 46) e triglicerídeos na dose de 80 mg/kg (gráfico 47).

Ocorreram alterações bioquímicas estatisticamente significativas nos animais machos (tabela 20), sendo evidenciado um aumento na albumina e glicose nas doses de 16 mg/kg e 80 mg/kg (gráficos 48 e 49, respectivamente). Diminuição nos níveis de triglicerídeos, nos machos da dose de 80 mg/kg (gráfico 50).

TABELA 20 - Parâmetros bioquímicos obtidos do sangue de ratos Wistar tratados com o Extrato Etanólico Bruto de *Sida rhombifolia* L.durante o ensaio de toxicidade crônica .

Grupos	Glicose (mg/dL)	Uréia (mg/dL)	Creatinina (mg/dL)	ÁcidoÚrico (mg/dL)	AST (U/I)	ALT (U/I)	Fosfatase Alcalina (U/I)
MACHOS							
Controle	170,6±11,65	47,67±6,333	0,56±0,03	0,63±0,15	141,4±23,82	46,80±2,634	170,3±32,71
16mg/kg	148,4±9,223	46,20±1,960	0,55±0,01	0,52±0,06	114,8±6,719	53,33±2,333	265,2±22,78
80mg/kg	223,4±15,42*	45,20±2,818	0,53±0,03	0,85±0,17	140,8±24,52	56,00±5,857	263,8±23,05
400mg/kg	212,3±15,97	43,50±3,122	0,41±0,02	0,48±0,09	127,3±7,804	55,25±9,050	179,5±19,17
FÊMEAS							
Controle	142,0±31,89	40,00±4,830	0,57±0,04	1,35±0,91	148,6±47,59	51,80±11,97	138,2±82,35
16mg/kg	185,6±8,640	46,33±4,509	0,68±0,08	1,44±0,45	144,4±44,52	47,60±4,450	118,8±36,64
80mg/kg	180,4±32,02	40,60±5,899	0,55±0,06	0,76±0,33	123,0±18,80	49,20±7,981	123,0±77,03
400mg/kg	206,2±36,91*	42,20±6,760	0,47±0,10	0,90±0,32	123,2±31,13	51,60±6,309	172,4±84,55

Os valores estão expressos em média ± e.p.m. (n=10). One-way ANOVA/ Tukey.*p<0,05.

TABELA 20 - Parâmetros bioquímicos obtidos do sangue de ratos Wistar tratados com o Extrato Etanólico Bruto de *Sida rhombifolia* L.durante o ensaio de toxicidade crônica .

Grupos	LDH (U/l)	Colesterol (mg/dL)	Triglicerídeos (mg/dL)	Amilase (U/dL)	Proteínas totais(g/dL)	Albumina (g/dL)	Globulina (g/dL)
MACHOS							
Controle	906,1±117,30	73,00±8,444	104,6±17,90	1124±40,10	6,078±0,09	2,792±0,06	3,088±0,08
16mg/kg	2023±200,90	66,80±4,748	65,20±9,620	1135±26,16	6,105±0,15	3,182±0,07*	3,156±0,07
80mg/kg	1917±319,10	66,00±2,236	45,00±7,218*	1186±39,39	6,258±0,14	2,608±0,06	3,58±0,119
400mg/kg	1734±240,60	63,71±4,191	77,25±17,27	1123±59,07	5,850±0,11	2,838±0,10	3,54±0,048
FÊMEAS							
Controle	1177±439,4	74,00±16,99	42,40±14,15	790,7±60,90	6,520±0,1951	3,15±0,11	3,15±0,110
16mg/kg	1911±585,0	80,40±17,39	42,80±8,075	772,0±39,46	6,460±0,1514	3,136±0,073	3,311±0,1020
80mg/kg	1738±840,4	65,40±14,67	101,6±14,05*	764,4±56,28	6,222±0,214	2,694±0,081*	3,713±0,1586
400mg/kg	1436±700,0	76,60±22,84	118,60±16,53	862,4±77,57	6,242±0,0662	2,864±0,06439	3,475±0,08814

Os valores estão expressos em média ± e.p.m. (n=10). One-way ANOVA/ Tukey.*p<0,05.

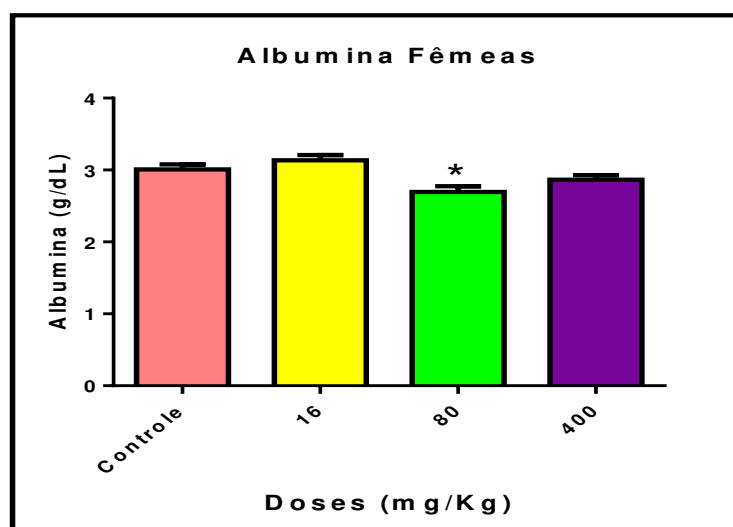


Gráfico 45. Dosagem de albumina em ratas Wistar tratados com diferentes doses do EEB de *Sida rhombifolia* L durante o ensaio de toxicidade crônica. Os valores estão expressos em média e.p.m. (n=10). One-way ANOVA/ Turkey,* p<0,05

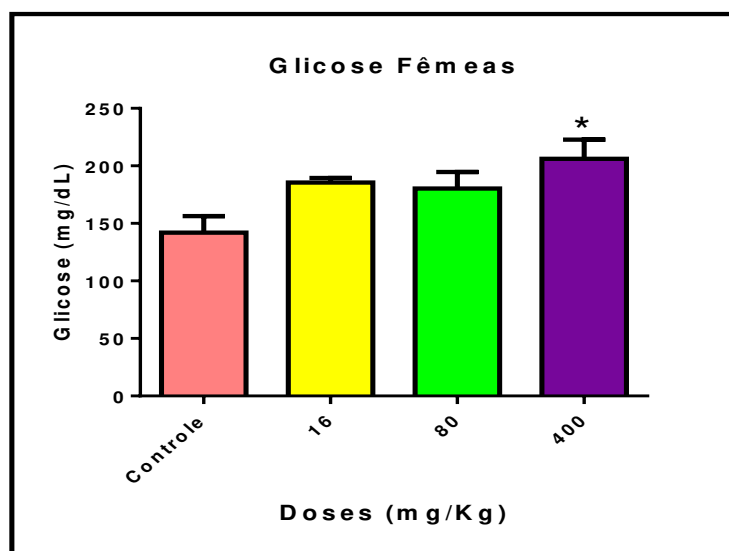


Gráfico 46. Dosagem de glicose em ratas Wistar tratados com diferentes doses do EEB de *Sida rhombifolia* L durante o ensaio de toxicidade crônica. Os valores estão expressos em média e.p.m. (n=10). One-way ANOVA/ Turkey,* p<0,05

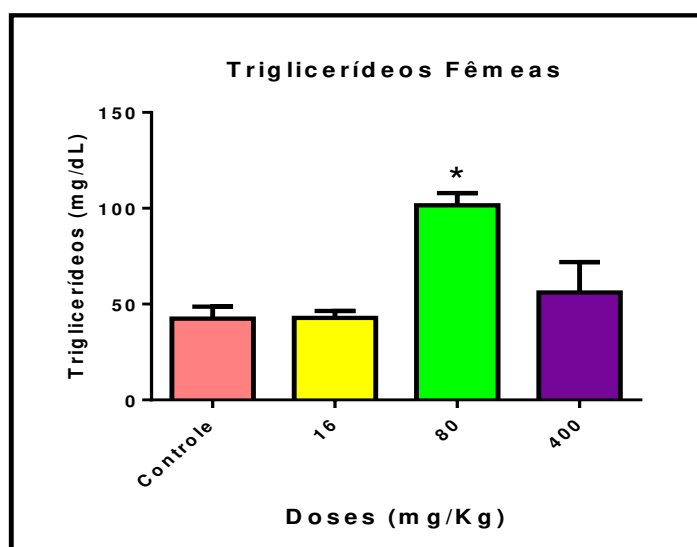


Gráfico 47. Dosagem de triglicerídeos em ratas Wistar tratados com diferentes doses do EEB de *Sida rhombifolia* L durante o ensaio de toxicidade crônica. Os valores estão expressos em média e.p.m. (n=10). One-way ANOVA/ Turkey,* p<0,05

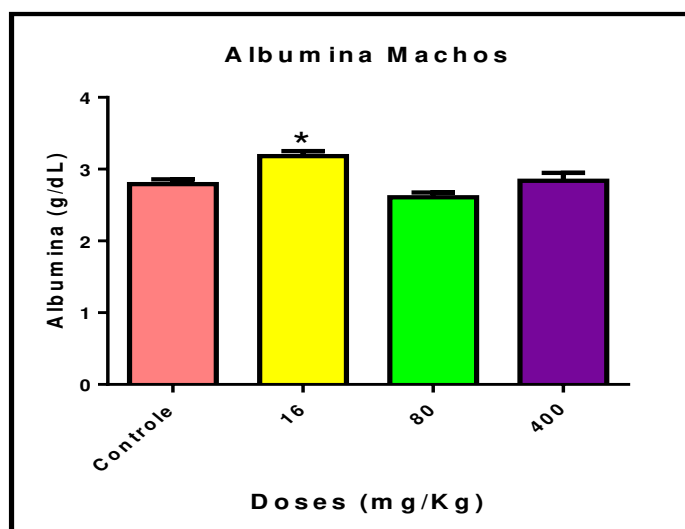


Gráfico 48. Dosagem de albumina em ratos Wistar tratados com diferentes doses EEB de *Sida rhombifolia* L. durante o ensaio de toxicidade crônica. Os valores estão expressos em média $\pm$ e.p.m. (n=10). One-way ANOVA/ Turkey,* p<0,05.

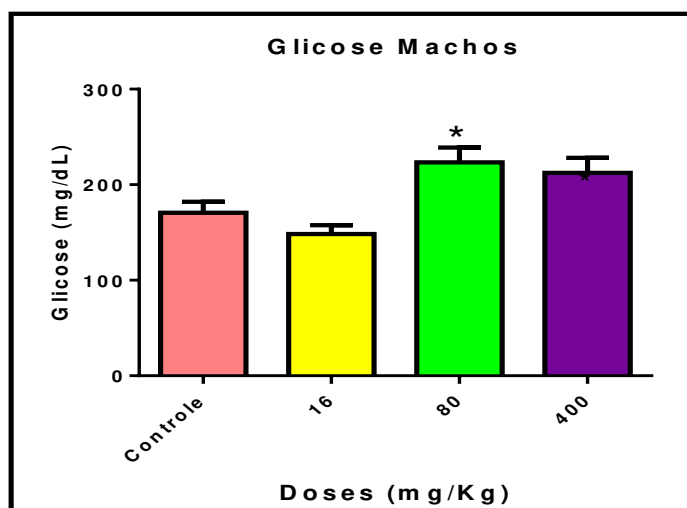


Gráfico 49. Dosagem de glicose em ratos Wistar tratados com diferentes doses EEB de *Sida rhombifolia* L. durante o ensaio de toxicidade crônica. Os valores estão expressos em média $\pm$ e.p.m. (n=10). One-way ANOVA/ Turkey,* p<0,05.

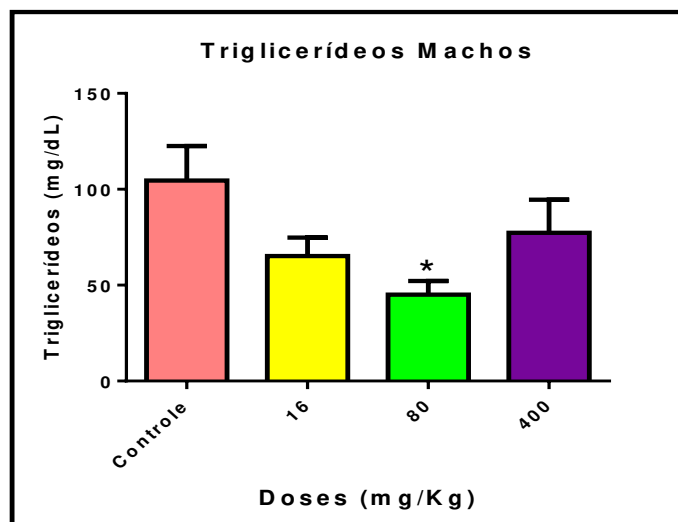


Gráfico 50. Dosagem de triglicerídeos em ratos Wistar tratados com diferentes doses EEB de *Sida rhombifolia* L. durante o ensaio de toxicidade crônica. Os valores estão expressos em média $\pm$ e.p.m. (n=10). One-way ANOVA/Turkey,* p<0,05.

6.1.4.2 Parâmetros hematológicos

Após os 90 dias de tratamento com o EEB de *Sida rhombifolia* L. nas análises hematológicas, não foi observada nenhuma alteração estatisticamente significativa nos animais machos. Em relação às fêmeas houve aumento significativo do hematócrito e neutrófilo (gráfico 51 e 52) nas doses de 400 mg/kg. Diminuiu o CHCM (gráfico 53) e linfócitos (gráfico 54) nas doses de 400mg/kg e 80 mg/kg.

TABELA 21 :Parâmetros hematológicos obtidos do sangue de ratos Wistar tratados com o Extrato Etanólico Bruto de *Sida rhombifolia* L.durante o ensaio de toxicidade crônica .

Grupos	Hemácias (10 ⁶ /mm ³)	Hemoglobina (g/dL)	Hematócrito (%)	VCM (μ ³)	HCM (μg)	CHCM (%)
MACHOS						
Controle	8,65±0,20	15,39±0,12	43,04±0,83	44,43±0,53	14,13±0,19	34,54±0,15
16mg/kg	8,43±0,09	16,40±0,27	42,38±0,29	44,29±0,54	12,97±0,15	34,56±0,14
80mg/kg	8,66±0,14	15,34±0,54	44,68±0,57	45,60±0,93	14,74±0,35	33,90±0,25
400mg/kg	8,83±0,27	15,39±0,12	44,98±1,17	44,43±0,53	14,13±0,19	34,42±0,15
FÊMEAS						
Controle	7,67±0,14	15,71±0,28	40,18±0,73	46,60±0,52	14,90±0,20	32,03±0,18
16mg/kg	7,78±0,20	15,34±0,20	40,88±0,51	46,00±0,39	14,25±0,13	34,68±0,16
80mg/kg	8,30±0,13	15,85±0,25	42,84±0,58	46,20±0,51	14,67±0,14	34,25±0,29
400mg/kg	8,12±0,09	15,20±0,28	44,98±1,17*	46,25±0,56	15,01±0,25	34,22±0,17*

Os valores estão expressos em média ± e.p.m. (n=10). One-way ANOVA/ Tukey.*p<0,05.

TABELA 21 : Parâmetros hematológicos obtidos do sangue de ratos Wistar tratados com o Extrato Etanólico Bruto de *Sida rhombifolia* L.durante o ensaio de toxicidade crônica .

Grupos	Leucócitos (10 ³ /mm ³)	Neutrófilo (%)	Eosinófilo (%)	Linfócito (%)	Monócitos (%)	Plaquetas (10 ³ /mm ³)
MACHOS						
Controle	7540±1571	26,40±0,50	1,57±0,30	59,29±2,50	6,86±0,70	777429±6571'
16mg/kg	8780±1264	29,00±2,55	1,29±0,18	63,43±1,96	6,85±1,50	747571±5741'
80mg/kg	1088±974,9	28,60±1,56	2,00±0,70	50,80±3,37	7,00±0,78	700200±7486'
400mg/kg	9840±911,9	28,20±2,55	1,57±0,30	59,29±2,50	6,86±0,70	777429±6571'
FÊMEAS						
Controle	6320±859,9	19,00±1,92	1,38±0,32	69,20±1,31	8,25±1,01	702500±44467
16mg/kg	7400±1023	24,40±2,61	1,50±0,19	65,20±1,62	6,00±0,66	738250±43837
80mg/kg	10025 ±1263	22,75±0,47	0,83±0,31	64,60±1,86*	6,67±0,84	669800±43267
400mg/kg	8380 ± 633,6	30,40±2,01*	2,12±0,67	66,20±2,08*	8,13±0,90	691571±52215

Os valores estão expressos em média ± e.p.m. (n=10). One-way ANOVA/ Tukey.*p<0,05.

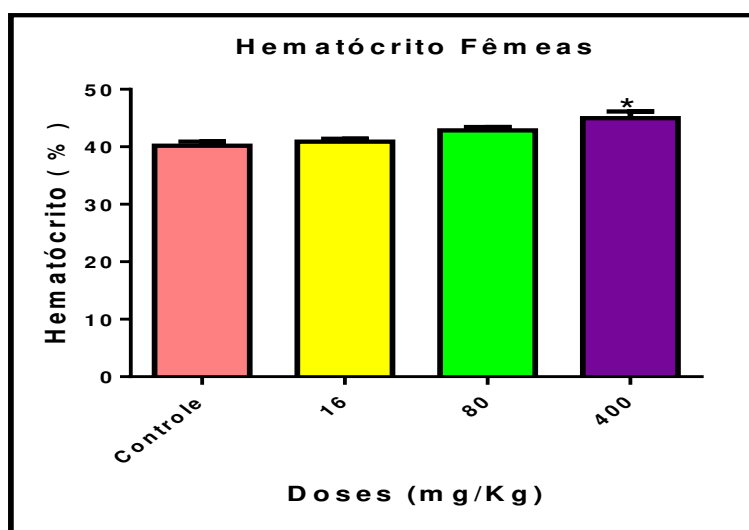


Gráfico 51. Dosagem dos hematócrito obtidas do sangue de ratas tratadas com diferentes doses EEB de *Sida rhombifolia* L. durante o ensaio de toxicidade crônica. Os valores estão expressos em média e.p.m. (n=20). One-way ANOVA/ Turkey,* p<0,05.

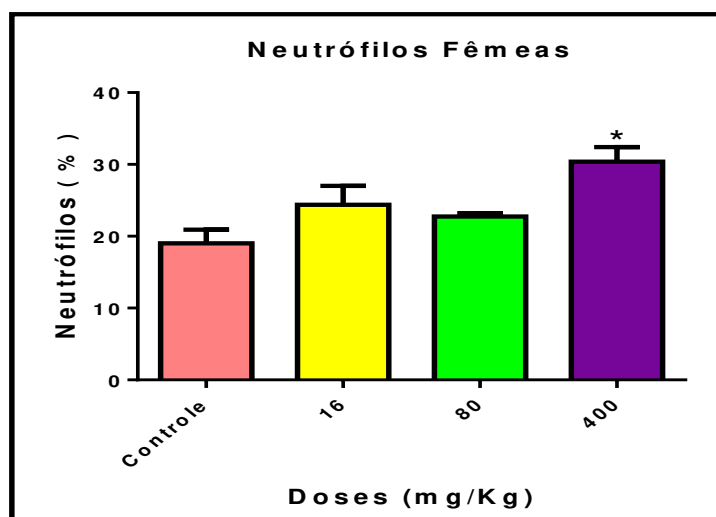


Gráfico 52. Dosagem dos neutrófilos obtidas do sangue de ratas tratadas com diferentes doses EEB de *Sida rhombifolia* L. durante o ensaio de toxicidade crônica. Os valores estão expressos em média e.p.m. (n=20). One-way ANOVA/ Turkey,* p<0,05.

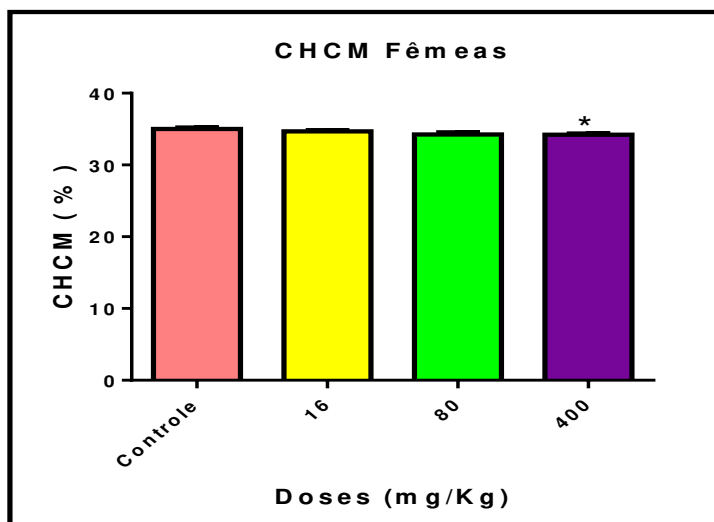


Gráfico 53. Dosagem de CHCM obtidas do sangue de ratas tratadas com diferentes doses EEB de *Sida rhombifolia* L. durante o ensaio de toxicidade crônica. Os valores estão expressos em média e.p.m. (n=20). One-way ANOVA/Turkey,* p<0,05.

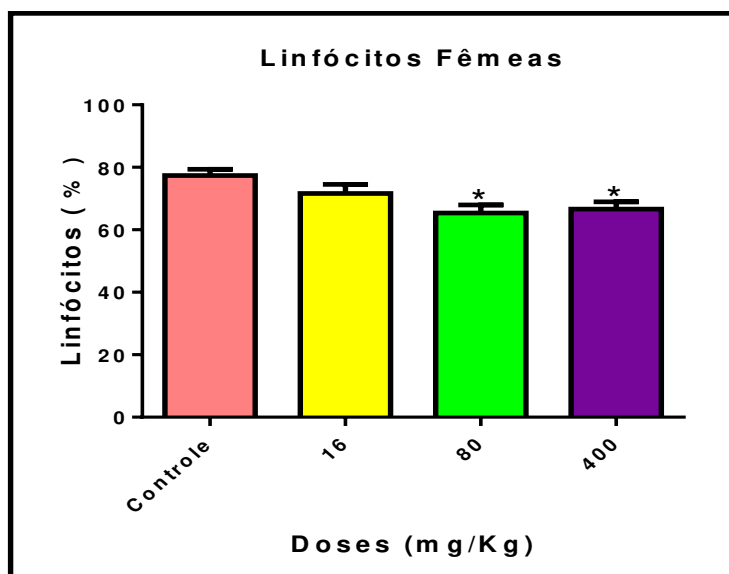


Gráfico 54. Dosagem dos linfócitos obtidas do sangue de ratas tratadas com diferentes doses EEB de *Sida rhombifolia* L. durante o ensaio de toxicidade crônica. Os valores estão expressos em média e.p.m. (n=20). One-way ANOVA/Turkey,* p<0,05.

7 ESTUDO ANATOMOPATOLÓGICO

No ensaio de toxicidade crônica, o estudo anatomopatológico incluiu animais de ambos os sexos, submetidos ao tratamento com o Extrato Etanólico Bruto das folhas da *Sida rhombifolia* L. nas doses 16, 80 e 400 mg/kg. Foram avaliados pulmão e rins de todos os animais. Do ponto de vista macroscópico, os órgãos não apresentaram alterações anatômicas. Na avaliação histopatológica dos órgãos dos animais, o fígado e rins não apresentaram particularidades histológicas. Figura 05 e 06, ratos fêmeas. Figuras 07 e 08, ratos machos.

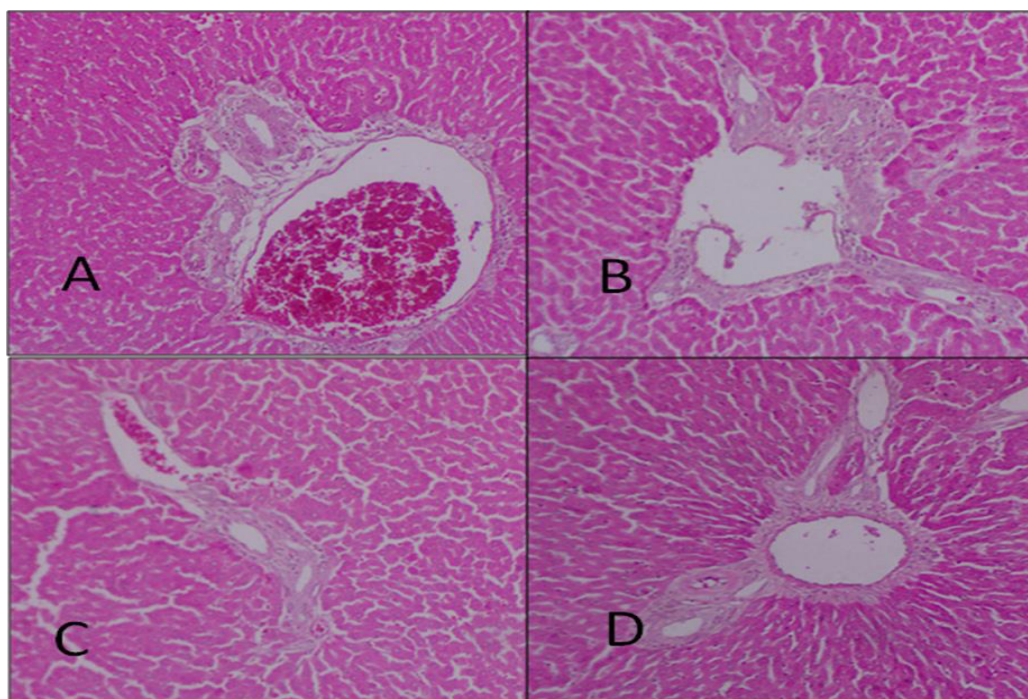


Figura 05: Ratas fêmeas :A-Fígado controle (HE 200X); B- Fígado dose 16 mg/Kg (HE 200X); C- Fígado dose 80 mg/Kg (HE 200X); D- Fígado dose 400 mg/Kg (HE 200X)

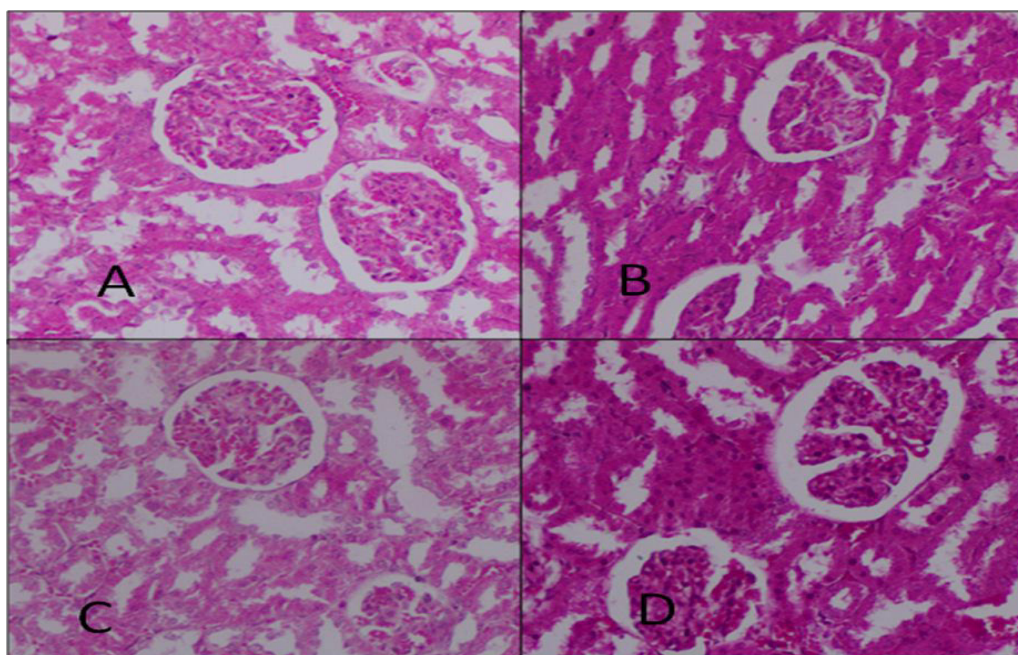


Figura 06: Ratas fêmeas :**A**-Rim controle (HE 200X); **B**- Rim dose 16 mg/Kg (HE 200X); **C**- Rim dose 80 mg/Kg (HE 200X); **D**- Rim dose 400 mg/Kg (HE 200X).

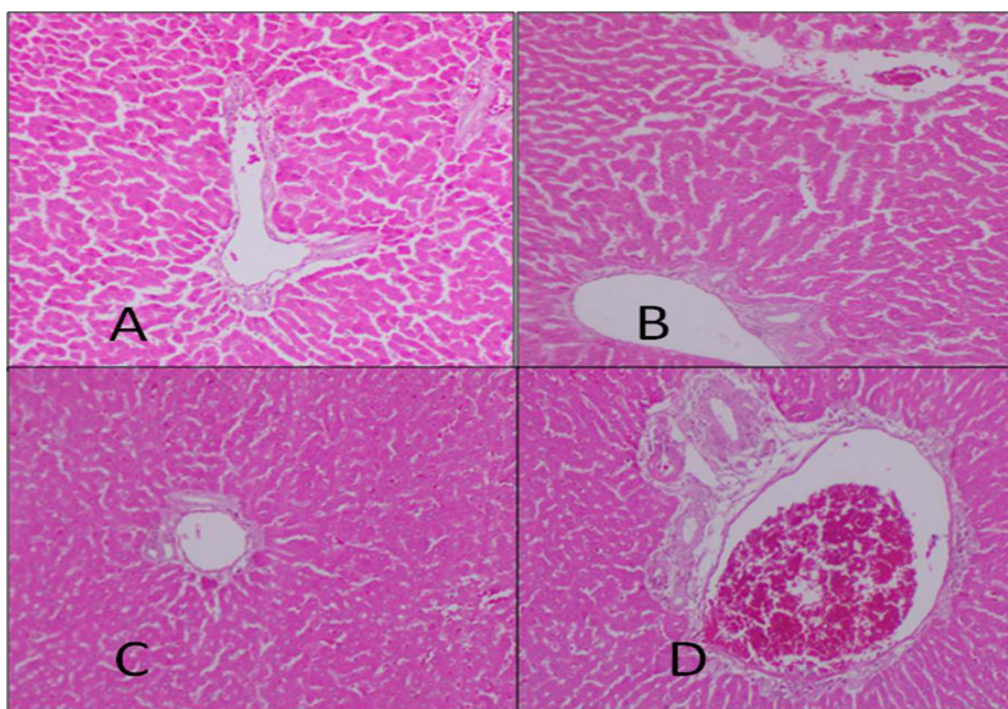


Figura 07: Ratos machos :**A**-Fígado controle (HE 200X); **B**- Fígado dose 16 mg/Kg (HE 200X); **C**- Fígado dose 80 mg/Kg (HE 200X); **D**- Fígado dose 400 mg/Kg (HE 200X).

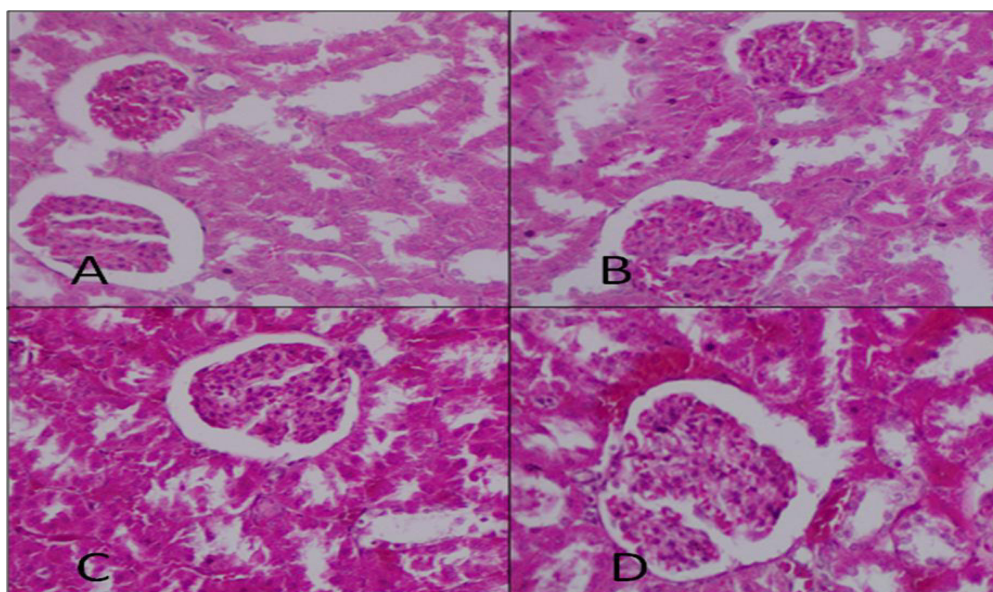


Figura 08: Ratos machos :A-Rim controle (HE 200X); **B**- Rim dose 16 mg/Kg (HE 200X); **C**- Rim dose 80 mg/Kg (HE 200X); **D**- Rim dose 400 mg/Kg (HE 200X).

8 DISCUSSÃO

Os estudos toxicológicos são fundamentais no desenvolvimento de produtos botânicos e para testar a eficiência e ausência de toxicidade das plantas em questão. As alterações de órgãos e no peso corporal dos ratos em estudo, são um indicativo claro de danos causados pela substância teste (BERENGUER-RIVAS *et al.*, 2013).

Considerando a importância destes aspectos foi realizado o estudo que objetivou a investigação da toxicidade não-clínica aguda e crônica do Extrato Etanólico Bruto das partes aéreas de *Sida rhombifolia* L.

Analisando algum possível efeito tóxico na toxicidade aguda do Extrato Etanólico Bruto das partes aéreas de *Sida rhombifolia* L, foram observados o ganho de peso corporal dos animais e o consumo de água e ração. Foi possível detectar diminuição significativa no consumo de água e ração dos machos tratados, que pode estar associada ao desconforto geral, levando a uma diminuição na alimentação dos ratos tratados, como sugerido anteriormente por Adeneye & Agbaje (2008), ou pode ser que *Sida rhombifolia* L. interfira diretamente no metabolismo de lipídios dos animais tratados, o que levou a uma diminuição no peso corpóreo desses animais. Entretanto, essa diminuição não foi estatisticamente significativa, indicando que o EEB possui baixa toxicidade, pois mudanças nos comportamentos gerais e ganho de peso são parâmetros críticos para uma avaliação objetiva do efeito de um composto sobre animais, uma vez que tais alterações são frequentemente os primeiros sinais de toxicidade e indicativo de efeito adverso de uma droga (AULETTA, 1995; TEO *et al.*, 2002; El-SANUSI & El-ADAM, 2007).

Durante a análise dos parâmetros bioquímicos foram observados um aumento nos níveis de ALT e AST dos machos tratados, enquanto que nas fêmeas, não foi observada nenhuma alteração estatisticamente significativa. O fígado é um dos órgãos mais importantes no corpo, sendo responsável pelo metabolismo e desintoxicação de todas as toxinas que entram no corpo. Testes de função hepática podem ser realizados através de exames de sangue para fornecer informações sobre o estado do fígado e integridade celular, pois algumas enzimas e proteínas podem ser utilizadas como indicadores de problemas hepáticos, tais como ALT, AST, GGT e bilirrubina (BRANDT *et al.*, 2009). Algumas drogas e medicamentos são conhecidos por induzir a peroxidação lipídica, causando inchaço e necrose de células hepáticas, o que resulta na liberação de enzimas citosólicas, tais como ALT, AST e FAL (AGBOR *et al.*, 2005). Assim, aumentos de ALT e AST no plasma podem ser um indicativo de lesões hepáticas.

ALT é considerado o parâmetro mais sensível do fígado, em casos de danos hepáticos essa enzima transvasa para dentro da corrente sanguínea. Como exemplo de fármacos que possuem elevada hepatotoxicidade e provocam alterações nos níveis de ALT e AST, se destacam o stanozolol e paracetamol, contudo, são utilizados rotineiramente (BASU et al., 2009; MOSALLANEJAD et al., 2011). Todavia, o aumento de AST e ALT causado pela administração do EEB de *Sida rhombifolia* L. indica que a planta possui pequenos sinais de hepatotoxicidade, respaldando Ouédraogo et al. (2013) que obteve resultados semelhantes. Ocorreu um aumento significativo nos níveis de creatinina dos machos tratados em relação ao grupo controle. Entretanto, esse resultado não apresenta importância clínica, pois se encontra dentro dos valores de referência (GIKNIS & CLIFFORD, 2006; CASTELLO BRANCO et al., 2011).

A análise dos parâmetros sanguíneos é de relevante importância para fazer uma avaliação dos riscos de determinadas substâncias quando administrada em seres humanos, pois, o sistema hematológico tem maior valor para prever os primeiros sinais de toxicidade, dessa forma o sistema hematopoiético é um alvo bastante susceptível ao ataque de substâncias tóxicas, sendo um importante sistema para poder analisar o estado de saúde físico e patológico de humanos e animais (LI et al. 2010; OLSON et al. 2000). Poucas diferenças estatisticamente significativas foram encontradas na maioria dos parâmetros hematológicos entre os grupos controle e tratado. No entanto, foi observada uma diminuição significativa entre os grupos controle e os grupos tratados para os parâmetros de hemácias, VCM, HCM e eosinófilos dos machos tratados, enquanto que nas fêmeas nenhum parâmetro sofreu alteração estatisticamente significativa, indicando que o EEB de *Sida rhombifolia* L. possui toxicidade relativamente baixa sobre o sistema hematológico (KONATÉ et al. 2012).

Hemácias são unidades morfológicas da série vermelha do sangue, também designadas por eritrócitos ou glóbulos vermelhos, que estão presentes no sangue em número de cerca de 4,5 a 6,5 x 10⁶/mm³, em condições normais. São constituídas basicamente por globulina e hemoglobina (composta de 4 moléculas protéicas de estrutura terciária e 4 grupamentos heme) que contém o ferro (cada íon ferro é capaz de se ligar frouxamente a dois átomos de oxigênio, um para cada molécula de hemoglobina), e a sua função é transportar o oxigênio (principalmente) e o gás carbônico (em menor quantidade) aos tecidos. E apresenta o seu número reduzido em alguns tipos de anemias (LORENZI, 2006).

O volume corpuscular médio (VCM) é considerado um dos principais critérios para a classificação de distúrbios anêmicos, contudo, a diminuição do VCM dos machos não pode ser considerada um indicativo de anemia, tendo em vista que o valor ainda se encontra próximo aos de referência, e os outros parâmetros que podem indicar uma anemia não foram alterados de

forma severa (BESSMAN *et al.* 1983). As variações nos valores de HCM e eosinófilos, apesar de serem estatisticamente significativas não possuem relevância clínica, pois os valores estão próximos dos de referência, tais diferenças podem ser explicadas pela variabilidade biológica entre os ratos (CASTELLO BRANCO *et al.* 2011 ; CLIFFORD; GIKNIS, 2006; LEWIS *et al.* 2002).

O teste de toxicidade aguda é adequado para substâncias nas quais ainda não foi realizado estudos dos seus efeitos tóxicos, como a fração diclorometano do extrato etanólico bruto de *Sida rhombifolia* L.. Efeitos tóxicos agudos mostram-se rapidamente após uma única exposição à dose durante um período não superior a 24 horas. Os estudos geralmente feitos em ratos passam por acompanhamento diário e controle da letalidade em um período de 14 dias após a dose única (EATON; GILBERT, 2012).

A triagem farmacológica descrita por Almeida *et al* (1999) aborda uma metodologia descomplicada para *screening* de extratos, os quais são avaliados por um roteiro de comportamentos pré-estabelecidos, que podem ser perceptíveis claramente em qualquer Laboratório de Farmacologia Experimental, o qual nos permitiu constatar a ausência de alteração comportamental em ambos os sexos no período de tempo avaliado. No referente à letalidade, não ocorreu morte de animais.

Variações estatísticas significativas foram observadas na evolução ponderal apenas nos primeiros sete dias do ensaio, onde as fêmeas tiveram um aumento de peso significativo em relação ao controle, enquanto que, os machos tratados tiveram perda de peso. O mecanismo de ação que levou a essa significância no peso não foi estudado no presente trabalho, no entanto, pode-se sugerir que a variação no peso dos ratos foi resultante do metabolismo da droga durante a primeira semana. As divergências nas manifestações entre os sexos podem predizer uma sensibilidade específica para cada gênero dos ratos.

O consumo de água e nutrientes são parâmetros importantes no estudo da segurança de um produto com fins terapêuticos, pois são essenciais para o bom funcionamento do sistema fisiológico dos animais e, conseqüentemente, para uma adequada resposta à droga testada, já que condições nutricionais impróprias podem acarretar deficiência do organismo (MYLECRINE ;STEVENS, 1994). Em concordância com o que aconteceu na evolução ponderal o consumo de ração foi maior na primeira semana, o que resultou numa baixa significativa do consumo na segunda semana, sendo mais uma vez sugerido que o período necessário para o metabolismo da droga esteja diretamente correlacionado a esta eventualidade. Mas é curioso notar que houve perda de peso evidente nos ratos machos, contudo, seu consumo de ração foi maior

que o das fêmeas, o que pode estar correlacionado a maior sensibilidade tóxica dos animais. Referente ao consumo de água não houve variações significativas entre as caixas controle e tratado.

O sistema hematopoiético exige atenção, uma vez que, a distribuição de oxigênio, nutrientes e os próprios medicamentos para os tecidos dependem da integridade vascular o que também garante “em parte” o funcionamento adequado do sistema imune. As consequências de danos diretos ou indiretos às células sanguíneas e as seus precursores são potencialmente uma ameaça à vida (BLOOM; BRANDT, 2012).

O leucograma diz sobre os tipos celulares nucleados que comumente circulam na corrente sanguínea, como: linfócitos, monócitos e os granulócitos (principalmente neutrófilos maduros, basófilos e eosinófilos). Neste estudo houve significância nos valores de neutrófilos em machos tratados onde se observou um aumento nos níveis, o que pode ser sugestivo de resposta inflamatória contribuindo para injúria do tecido afetado. O aumento acima dos valores fisiológicos no leucograma, é chamado leucocitose, pode envolver qualquer grupo de células brancas, e dependendo do tipo celular mais significativamente elevado pode-se especificá-la, e, portanto, no nosso estudo foi observada uma neutrofilia. Ainda nos machos houve uma diminuição de linfócitos bem como uma diminuição nos níveis de eosinófilos nas fêmeas, e uma diminuição no leucograma é dita leucopenia que também pode estar centrada em uma única série celular (HENRY, 2008). É sabido que as alterações dos níveis das células do sangue pode muitas vezes ser causado pela droga em questão, mas cabe analisar a que ponto realmente tais reações pode gerar uma resposta de agressão, tóxica, ao organismo, se essas alterações são ou não momentâneas podendo voltar à normalidade espontaneamente.

Variações nos parâmetros bioquímicos foram observadas apenas em ratas fêmeas, houve um aumento nos níveis de Fosfatase alcalina que quando encontrada no soro é dito resultante da atividade de várias isoenzimas presente em quase todos os tecidos do organismo especialmente nos tecidos renais, ósseo e hepático. A fosfatase alcalina é também uma enzima presente em praticamente todos os órgãos, porém têm maior predominância nas membranas das células dos túbulos renais, ossos (osteoblastos), placenta, trato intestinal e fígado. A análise desse parâmetro irá mostrar se existe alguma doença óssea, nas quais ocorre diminuição da atividade das células ósseas, bem como patologias hepáticas e desvio cardiopulmonar (HENRY, 2008). Além do risco que o aumento de fosfatase alcalina pode trazer as funções hepáticas, houve também o aumento de fósforo no sangue das ratas tratadas, sendo considerado um agente hepatotóxico com potencial de produzir um sinergismo e produção de uma lesão hepática mediante o uso da substância.

Deve-se levar em consideração que para afirmar a segurança do uso da substância em estudo, faz-se necessário iniciar estudos crônicos através da via oral de administração, com o intuito de avaliar o efeito da substância em longo prazo, bem como melhor caracterizar possíveis efeitos tóxicos no período de estudos.

Dando continuidade a pesquisa, realizamos estudos da toxicidade aguda da fração hidroalcoólica do extrato etanólico bruto de *Sida rhombifolia* L.

Em relação à evolução ponderal, a análise mostrou diferença significativa entre os grupos controle e tratados de fêmeas na segunda semana do ensaio, onde foi possível observar um aumento significativo. Os machos tratados, por sua vez, não tiveram alterações significativas. O mecanismo de ação pelo qual levou a essa significância no peso não foi estudado no presente trabalho, no entanto, pode-se sugerir que a variação no peso das ratas foi resultante do metabolismo da droga. As divergências nas manifestações entre os sexos pode predizer uma sensibilidade específica para cada gênero dos ratos.

O consumo de água e nutrientes são parâmetros fundamentais para dizer sobre a segurança de um produto com fins terapêuticos. Levando-se em consideração os resultados registrados neste teste, houve diferença significativa (* $p < 0,05$) entre os grupos controle e tratado de ratos machos quando avaliado o consumo de água. Porém, como nos grupos de ratas não foi observada nenhuma alteração significativa quanto a este critério, não é possível estabelecer, a princípio, uma relação entre a alteração no consumo de água e a administração aguda da fração hidroalcoólica.

A toxicidade a níveis hematopoiético podem ser observados com alterações na maturação de células sanguíneas, manifestando-se de forma que células imaturas podem vir a aparecer no sangue periférico, além de alterações no volume, concentração e tamanho dessas células hematopoiéticas são também parâmetros preocupantes e prejudiciais ao organismo (TELES, 2016).

Em nosso estudo hematológico voltamos nossa atenção ao índice hematimétrico Volume Corpuscular Médio – VCM, de ratos machos, onde observamos valores estatisticamente significativos, além de também extrapolar os valores de referência estabelecidos em ratos machos do Biotério Professor Thomas George (BRANCO *et al.* 2011). O VCM diz sobre o volume médio dos glóbulos vermelhos em fL. São utilizados para dizer quanto a classificação das anemias em microcíticas, normocíticas ou macrocíticas (MARQUES, 2016).

Apesar de neste estudo o parâmetro de VCM está alterado, não podemos aqui justificar como uma anemia diagnosticada e classifica lá quanto ao seu tipo, uma vez que, para que seja

uma anemia se faz necessário que a concentração de hemoglobina esteja abaixo da concentração considerada normal para ratos wistar, o que não foi observado em nossos resultados (SPERANDIO *et al.* 2015).

As provas bioquímicas realizadas no soro sanguíneo dos animais representam um valioso apoio ao diagnóstico clínico das enfermidades, e tem muito valor quanto ao mapeamento de efeitos tóxicos indicando até mesmo o órgão e/ou sistema afetado. Variações nos parâmetros bioquímicos foram observadas, sendo significativo Creatinina nos machos, enquanto que nas fêmeas AST, Ácido Úrico e Glicose.

A creatinina sérica é um bom marcador bioquímico, que juntamente a outras moléculas como a albumina, ureia, potássio, fósforo, pode indicar lesão em determinados órgãos/sistemas e até mesmo o grau da agressão. A albumina e a creatinina podem dizer quanto ao estado energético proteico, inflamação e diagnóstico de desnutrição. Ureia e creatinina geralmente apresentam-se alterados diante da condição clínica da incapacidade dos rins de eliminar substâncias corporais, isto é, quando há insuficiência renal aguda ou crônica (GOMES, 2017).

Quando os valores de creatinina sérica encontram-se diminuídos, indica diminuição de massa magra e/ou ingestão proteica diminuída e a albumina, também, pode ser usada como um marcador do estado nutricional. A desnutrição vai então levar a condições de fadiga, náusea, anemia, queda de pelo/cabelo, suscetibilidade a infecções e o mais perceptível à perda de peso, o que não foi observado durante os 14 dias de acompanhamento dos animais, afastando a possibilidade de que a queda da creatinina em ratos machos tenha sido causada por este acometimento. Não foi observada também a alteração de mais nenhum outro parâmetro bioquímico como a albumina para que respaldasse uma maior possibilidade de acometimento desnutricional nos ratos, para tanto não podemos descartar a possibilidade, se fazendo necessários mais estudos conclusivos, uma vez que marcadores bioquímicos são também passíveis a sofrer interferência em seus valores (GOMES, 2017).

Em ratas fêmeas houve uma maior incidência de marcadores bioquímicos alterados, mas do contrário dos ratos machos que houve baixa da creatinina houve aumento dos níveis de AST, Ácido Úrico e Glicose.

Aspartato amino transferase – AST, é uma enzima responsável por catalisar atividades de síntese como de degradação dos aminoácidos, são enzimas biloculares presente tanto no citoplasma como na mitocôndria. A AST é principalmente encontrada nos hepatócitos, e na grande maioria das vezes ajuda quanto ao diagnóstico de lesão hepática, no entanto, AST é também encontrada no músculo esquelético e cardíaco, rins, pulmões, eritrócitos, entre outros, sendo assim um marcador inespecífico da lesão hepática (AQUINO *et al.* 2014).

AST encontrou-se aumentada, mas não acompanhada por ALT. A Alanina aminotransferase (ALT) é encontrada principalmente no citoplasma do hepatócito, com isso pode ser considerada marcador específico de dano hepático (AQUINO *et al.* 2014). Portanto, para aqui atestarmos hepatotoxicidade se faz necessário que ALT extravasasse os seus limites de normalidade, afinal quando há lesões a nível célula componentes do citosol são os primeiros expostos ao meio extracelular e, portanto, os primeiros detectáveis, porém ALT continuou dentro dos parâmetros aceitáveis, excluindo a possibilidade de lesão hepática quando em exposições agudas da fração hidroalcoólica de *S. Rhombifolia* L.

A formação do ácido úrico (AU) se dá por um processo natural de catabolismo de nucleotídeos purínicos, onde há a quebra da adenosina e guanina (purinas) por atividade catalítica da xantina oxidase – via hipoxantina – resultando na formação de xantina e ácido úrico (DA ROSA *et al.* 2015).

Quando a reação de catabolismo se encontra acelerada por situações de injúria do organismo como jejum, cirurgia, infecções, e por influência de produtos químicos exógenos ao corpo isto culminará na produção de excessiva de AU levando a condições de hiperuricemia, depósito de urato e gota, gerando sintomas como inflamação e dor nas articulações, além disso, espécies reativas de oxigênio são geradas como subprodutos, tais como o ânion superóxido que reage com prótons e óxido nítrico para originar novas espécies reativas de oxigênio. Essas, no que lhe concerne, promovem lesão do endotélio cardiovascular e da microvasculatura (BARROS, 2014; DA ROSA *et al.* 2015).

Se somarmos resultados como vetores podemos embasar uma suspeita sobre a toxicidade da fração hidroalcoólica de *S. rhombifolia* ao nível cardíaco, pois, assim como AST que é encontrada no músculo cardíaco podendo assumir papel de marcador inespecífico de lesão (AQUINO *et al.* 2014), o AU (ácido úrico) pode também sugerir em quadros de hiperuricemia o diagnóstico de quadros hipertensivos e infarto do miocárdio e prognóstico de doença arterial coronariana e insuficiência cardíaca (DA ROSA *et al.* 2015), ambos (AST e Ácido úrico) encontraram-se elevados. No entanto, mais ensaios, são necessários para averiguar quanto a suspeita e trazer mais parâmetros que solidifiquem a ideia.

Por conseguinte, houve aumento de glicose no sangue de ratas fêmeas. A elevação do açúcar no sangue se dá pela incapacidade do organismo em transformar toda a glicose proveniente dos alimentos, devido à deficiência na produção ou resistência à insulina (BARROS, 2014). Tal condição sugere a instalação de enfermidades como o diabetes ou síndrome metabólica. Para tanto, a síndrome metabólica seria aqui uma opção se ratos fêmeas em estudo se enquadrasse nos fatores de risco como obesidade, níveis pressóricos elevados e

hipertrigliceridemia e/ou baixos níveis de HDL colesterol , nenhum desses foi constatado (CARVALHO, 2016).

Realizamos o estudo agudo através da administração da fração n-butanólica do extrato etanólico de *Sida rhombifolia* L. na dose de 2000 mg/kg, via oral, portanto, os animais passaram por uma triagem farmacológica durante 4 horas. Na qual não houve qualquer alteração em nível de SNC ou SNA, o que indica que o produto estudado não apresenta atividade para esses sistemas (ALMEIDA; OLIVEIRA, 2006).

Durante todo período de avaliação (14 dias), houve ausência de letalidade dos animais, possivelmente pode estar relacionado com a absorção e/ou biotransformação da substância, na qual esta não atingiu níveis séricos suficientes que causasse morte dos animais, portanto não sendo considerada na dose administrada, uma substância potencialmente tóxica (LIMA *et al.* 2014).

Os animais tratados com a fração n-butanólica, apresentaram uma variação estatística no consumo de água e ração, já na avaliação ponderal, apenas os machos na segunda semana apresentaram alteração

Alguns estudos mostram que os parâmetros hematológicos dos ratos *Wistar* podem ser semelhantes aos dos humanos, exceto a quantidade de hemácias e plaquetas, na qual os ratos apresentam maior quantidade (FEITOSA *et al.* 2015; SANTANA *et al.* 2014). Esses parâmetros foram observados no presente trabalho e nenhuma alteração foi verificada nos animais tratado.

Os parâmetros bioquímicos, houve variação estatística significativa dos animais tratados, quando comparado com os animais controle. Temos alteração nos triglicerídeos, cálcio, fósforo, albumina e AST dos animais machos, nos animais fêmeas apenas a glicose apresentou variação.

O aumento sérico é um fator de risco para doenças cardiovasculares, o que não foi verificado no presente estudo, na qual houve diminuição dos níveis de triglicerídeos séricos nos ratos, não contribuindo assim para problemas cardíacos.

O cálcio tem importante papel na função muscular, seu aumento pode induzir lesões além de interferir na ação de diferentes enzimas. O aumento intracelular de cálcio pode levar à disfunção mitocondrial, depleção de fosfato, além de morte celular (CÓRDOVA *et al.* 2000; NASCIMENTO *et al.* 2005). Além do que, o cálcio e o fósforo são minerais importantes na composição da matriz óssea, conferindo-lhe força e dureza. O magnésio é fundamental para que tanto o cálcio como o fosfato funcione de forma adequada (TSUANG *et al.* 2006). No

presente estudo verificou-se um aumento significativo do cálcio e fósforo nos ratos machos, entretanto não podemos inferir que a fração n-butanólica cause alterações musculares, já que outros parâmetros importantes como Creatina- kinase e Lactato desidrogenase, não foram avaliados. Como também não podemos afirmar que houve alterações ósseas, sendo necessários estudos mais específicos.

Quanto à avaliação proteica, o aumento ou diminuição de proteínas são irregularidades comuns de ocorrer em animais durante ensaios experimentais, podendo ser identificado através de alterações nos valores de albumina, globulina e proteínas totais. Nos resultados obtidos, observou-se pequena variação na concentração de albumina dos machos, comparado com o grupo controle, estando possivelmente relacionado com desidratação, já que a fase líquida do plasma sofre diminuição, mas após reidratação os valores de albumina voltam ao normal (RAMALHO *et al*, 2014).

A fração n-butanólica, causou uma diminuição significativa de AST nos ratos machos, indicando uma possível hepatoproteção, porém tal fato deve ser melhor investigado. Já a transaminase ALT não apresentou nenhuma variação estatística, podendo assim afirmar que a fração na dose de 2000 mg/kg possivelmente não cause hepatotoxicidade.

A glicose é um importante carboidrato, que além de fornecer energia, interfere na secreção de insulina para o organismo, por isso a avaliação dos seus níveis no sangue indica sua homeostase no corpo (FEITOSA *et al*, 2015; HABER *et al*, 2001). E este foi o único parâmetro bioquímico que se apresentou alterado nas fêmeas tratadas com a substância em estudo.

A administração da fração n-butanólica não apresentou alterações da ureia e creatinina, que são parâmetros para avaliação da função renal e consequentemente da função cardíaca, devido ao processo de filtração sanguínea. Assim, podemos afirmar que a substância estudada não causa toxicidade renal (FERREIRA *et al*. 2016).

Ensaio toxicológicos não-clínicos crônicos foram realizados em ratos, machos e fêmeas, utilizando-se o extrato etanólico de *Sida rhombifolia* L., administrado por via oral, em diferentes doses: dose de 16, 80 e 400 mg/kg. O ensaio foi conduzido por um período de 90 dias e parâmetros como consumo de água e ração, evolução ponderal, avaliação comportamental, parâmetros hematológicos e bioquímicos e estudo anatomopatológico foram avaliados.

Os efeitos da administração crônica sobre o consumo de água e alimentos mostraram alterações significativas em ambos os sexos.

No consumo de água, os machos apresentaram uma diminuição na 2ª semana na dose 16 mg/kg e na dose de 80 mg, 4ª, 7ª e 8ª semanas na dose de 80 mg/kg. Da mesma forma, o

consumo de água dos animais fêmeas não variaram significativamente entre os grupos.

Os machos diminuíram o consumo de ração na 1ª semana nas doses de 80 mg/kg e 400 mg/kg. As fêmeas demonstraram diminuição no consumo de ração na 1ª, 4ª, 5ª, 9ª, 10ª, 11ª e 12ª semanas na dose de 80 mg/kg.

Da mesma forma, os pesos referentes de todos os animais não variaram significativamente entre os grupos, corroborando a hipótese de baixa toxicidade do EEB após a exposição crônica (BERENGUER-RIVAS *et al.* 2013). Quanto aos testes motores e sensoriais os animais foram ativos e receptivos aos estímulos, sem sinais clínicos, de que poderiam estar associados com efeitos tóxicos locais ou sistêmicos observados. Não houve mortes e o comportamento dos animais permaneceu normal para a espécie (BERENGUER-RIVAS *et al.* 2013).

O teste de campo aberto foi realizado para a avaliação de alterações comportamentais mediante o uso do aparelho de campo aberto proposto por Carlini *et al.* (1986), com finalidade de avaliar a atividade exploratória dos animais mediante sua movimentação espontânea (ambulação), o número de comportamentos de auto limpeza (grooming), de levantar (rearing) e o número de bolos fecais como índice de emocionalidade (MANSUR *et al.*, 1971). Esses parâmetros foram utilizados como índice da interferência do extrato etanólico bruto de *Sida rhombifolia* L. sobre o comportamento emocional do animal, indicando alterações sobre o sistema nervoso central.

Houve aumento estatisticamente significativo no 1º comportamental na ambulação e limpeza das fêmeas na dose de 16 mg/kg.

O teste no aparelho de Rota-rod foi realizado para a avaliação de alterações motoras e não foram verificadas alterações significativas em ambos os sexos, demonstrando que nas doses em análise a planta não apresenta efeito estimulante sobre o sistema nervoso.

Ocorreram alterações bioquímicas estatisticamente significativas em ambos os sexos, sendo evidenciado apenas uma diminuição nos triglicerídeos nos machos da dose de 80 mg/kg. Aumento nos níveis de albumina e glicose nos machos da dose de 16 mg/kg e 80 mg/kg.

Aumento nos níveis de triglicerídeos e glicose nas fêmeas nas doses de 400 mg/kg e 80 mg/kg. Aumento nos níveis de albumina na dose de 80 mg/kg nas fêmeas.

As determinações da glicose são críticas para o diagnóstico e monitoramento de doenças que afetam o metabolismo dos carboidratos. A glicose é quantificada no sangue total, plasma, soro, LCE, líquido pleural e urina para a variedade de finalidades diagnósticas e monitoramento. Além disso, a quantificação da glicose no líquido intersticial ou permitem

monitorar continuamente as concentrações em pessoas com diabetes. A Hipoglicemia caracteriza-se por concentrações plasmáticas baixas de glicose e um grupo associado de sintomas que pode ser aliviados pela ingestão de alimentos ou de carboidratos (Triade de Whipple).

Os aumentos nas concentrações séricas de albumina são pouco frequentes, embora ocorram em casos de desidratação na medida em que a fase líquida do plasma sofre retração, após a reidratação, a concentração de albumina deve voltar aos valores de referência normais (CASTELLO BRANCO *et al.* 2011).

Na série hematológica, foram observadas alterações estatisticamente significativas nas fêmeas, quando comparamos os dados obtidos com os da literatura (CASTELLO BRANCO *et al.* 2011). , foi observado um aumento estatisticamente significativo nos hematócritos e neutrófilo nas doses de 400 mg/kg e diminuição no CHCM na dose de 400 mg/kg e um diminuição dos linfócitos nas doses de 80 mg/kg e 400 mg/kg.

o número de eritrócitos de um indivíduo varia, principalmente, em função do sexo. No sexo masculino, são obtidos valores maiores do que no sexo feminino. Quando os valores são inferiores aos referidos, diz-se que há oligocitemia e, quando superior, poliglobulia. A oligocitemia costuma estar presente em anemias, mas só este achado não serve para definir o estado anêmico, uma vez que ocorrem anemias com número de eritrócitos normal ou muito próximo do normal (LORENZI, 2006).

Os hematócritos correspondem ao volume ocupado pelos eritrócitos contidos numa certa quantidade de sangue total. Assim como os eritrócitos, o sexo masculino (média de 46%) tem maior valor em percentagem do que o sexo feminino (média de 42%)(Lorenzi, 2006).

Para auxiliar no diagnóstico de diagnósticos relacionados a patologias hematológicas, no que se refere a série vermelha, existem os índices eritrocitários, tais como: Hemoglobina corpuscular média (HCM), Volume corpuscular médio (VCM) e Concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM) (Lorenzi, 2006).

No teste de toxicidade crônica, o estudo anatomopatológico incluiu animais de ambos os sexos, submetidos ao tratamento com o extrato etanólico bruto de *Sida rhombifolia* L. nas doses 16, 80 e 400 mg/kg. Foram avaliados pulmão e rins dos animais. Do ponto de vista macroscópico, os órgãos não apresentaram alterações anatômicas. Na avaliação histopatológica dos órgãos dos animais não apresentaram alterações significativas.

9 CONCLUSÃO

- Os estudos toxicológicos agudos não-clínicos do extrato etanólico bruto de *Sida rhombifolia* L. e suas frações em ratos Wistar, induziu alterações na ingestão de água e ração, em parâmetros bioquímicos e hematológicos, na dose de 2000 mg/kg, por via oral.
- O estudo toxicológico crônico não-clínico do extrato etanólico bruto de *Sida rhombifolia* L. em ratos Wistar demonstrou alterações na ingestão de água e ração, avaliação comportamental e motora, parâmetros bioquímicos, nas doses de 16, 80 e 400 mg/kg, por via oral.
- O estudo toxicológico crônico não-clínico do extrato etanólico bruto de *Sida rhombifolia* L. em ratos Wistar não demonstrou alterações histopatológicas.
- Considerando que o uso de plantas medicinais é bastante difundido pela população, é necessária a realização de estudos específicos que possam garantir a segurança de seu uso por esta via.

REFERÊNCIAS

ADENEYE, A. A.; AGBAJE, E. O. Pharmacological evaluation of oral hypoglycemic and antidiabetic effects of fresh leaves ethanol extract of *Morinda Lucida* Benth. in normal and alloxan-induced diabetic rats. **African Journal of Biomedical Research**, Nigeria, v. 11, n. 1, 2008.

AGBOR, G. A. Hepatoprotective activity of *Hibiscus cannabinus* (Linn.) against carbon tetrachloride and paracetamol induced liver damage in rats. **Pak. J. Biol. Sci**, Paquistão, v. 8, p. 1397-1401, 2005.

ALMEIDA, R. N.; OLIVEIRA, T. M. L. Triagem farmacológica comportamental. *In*: ALMEIDA, R. N. **Psicofarmacologia: fundamentos práticos**, 1. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. cap. 11, p. 131-137, 2006.

ALMEIDA R.N. *et al.* Metodologia para avaliação de plantas com atividade no sistema nervoso central e alguns dados experimentais. **Revista Brasileira de Farmácia**, Rio de Janeiro, v. 80, n. 3-4, p. 72-76. 1999.

ANDRADE, S.F.; CARDOSO, L.G.; BASTOS, J.K. Anti-inflammatory and anti-nociceptive activities of extract, fractions and populonic acid from bark wood of *Austro-plenckia populnea*. **Journal of Ethnopharmacology**, Holanda, v. 109, n. 3, p. 464-471, 2007.

ANVISA. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Guia para a Condução de Estudos Não Clínicos de Toxicologia e Segurança Farmacológica Necessários ao Desenvolvimento de Medicamentos. 2013. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/resultado-de-busca?p_p_id=101&p_p_lifecycle=0&p_p_state=maximized&p_p_mode=view&p_p_col_id=olumn1&p_p_col_count=1&_101_struts_action=%2Fasset_publisher%2Fview_content&_101_assemblyEntryId=352648&_101_type=document. Acesso em: 6 out. 2019.

ANVISA. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Guia para a condução de estudos não clínicos de toxicologia e segurança farmacológica necessários ao desenvolvimento de medicamentos. Versão II. 2013. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33836/2492465/Guia+para+a+Conduo+de+Estudos+No+CI%C3%ADnicos+de+Toxicologia+e+Segurana+Farmacolgica+Necessrios+ao+Desenvolvime+nto+de+Medicamentos+-+Verso+2/a8cad67c-14c8-4722-bf0f-058a3a284f75>. Acesso em: 6 out. 2019.

AQUINO, F. C. *et al.* Estudo da correlação entre os níveis de AST, ALT e DHL e a presença de hemoglobina no laboratório clínico da PUC Goiás. **Estudos**, Goiânia, v. 41, n. 4, p. 697-706, out./dez. 2014. Disponível em: <https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwji7MzrlYjIAhVYHbkGHYFwB8YQFjAAegQIABAC&url=http%3A%2F%2Fseer.pucgoias.edu.br%2Findex.php%2Festudos%2Farticle%2Fdownload%2F3671%2F2136&usg=AOvVaw3RDdLmOi5w9ZFpgLtc5sLv>. Acesso em: 6 out. 2019.

AULETTA, C.S. **Acute, subchronic and chronic toxicology**. London: CRC Press, 1995.

BARROS, M. S. A. **Relatório de Estágio Curricular**–Farmácia Almeida Cunha (Porto). [S. l.]: Escola Superior de Saúde da Guarda. 2014. Disponível em: http://bdigital.ipg.pt/dspace/bitstream/10314/1618/1/F%20EP1_Augusta%20Barros_7003232.pdf. Acesso em: 6 out. 2019.

BARROSO, G. M. *et al.* **Sistemática de Angiospermas no Brasil 2**. Viçosa: Imprensa Universitária, 1991.

BASU, S. K.; RUPESHKUMAR, M.; KAVITHA, K. Hepatoprotective and antioxidant effect of *Andrographis echinoides* N. against acetaminophen induced hepatotoxicity in rats. **Journal of Biological Sciences**, Dubai, v. 9, n. 4, p. 351-356, 2009.

BERENGUER RIVAS C. A. *et al.* Acute oral toxicity of *Azadirachta indica* (Neem Tree). **Revista Cubana de plantas medicinais**, Cuba, v. 18, n. 3, p. 502-507. 2013. Disponível em: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumenI.cgi?IDARTICULO=45398>. Acesso em: 6 out. 2019.

BLOOM, J. C.; BRANDT, J. T. Respostas Tóxicas do Sangue. *In*: KLAASSEN, C. D.; Watkins, J. B. **Fundamentos em toxicologia de Casarett e Doull**. 2. ed. Porto Alegre: AMGH Editora Ltda, 2012. p. 149-162.

BRANDT, A. P. *et al.* Evaluation of prospective hypocholesterolemic effect and preliminar toxicology of crude extract and decoction from *Vitex megapotamica* (Spreng) Moldenke (V. Montevidensis Cham.) *in vivo*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Santa Catarina, v. 19, n. 2, p. 388-393, 2009.

BRANCO, C. S. C. *et al.* Parâmetros bioquímicos e hematológicos de ratos wistar e camundongos swiss do biotério professor Thomas George. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, João Pessoa, v. 15, n. 2, p. 209-214, 2011.

XIV Seminário sobre a Economia mineira. 2010. Minas Gerais. **Biodiversidade, uso tradicional de plantas medicinais e produção de fitoterápicos em Minas Gerais**, UFMG, Cedeplar 2010. Disponível em: http://www.cedeplar.ufmg.br/seminarios/seminario_diamantina/2010/D10A022.pdf. Acesso em: 6. out. 2019.

BRANCH, S. K.; AGRANAT, I. New Drug” Designations for New Therapeutic Entities: New Active Substance, New Chemical Entity, New Biological Entity, New Molecular Entity. **Journal Medical Chemical**, Washington, v. 5, n. 21, p. 8729-8765, 2014.

BRASIL. **Resolução da diretoria colegiada-RDC Nº 26, de 13 de maio de 2014**. Brasília, DF. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos e o registro e a notificação de produtos tradicionais fitoterápicos Guia para realização de estudos de toxicidade pré-clínica de fitoterápicos. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2014/rdc0026_13_05_2014.pdf. Acesso em: 6. out. 2019.

BRASIL. **Instrução normativa nº4, de Junho de 2014**. Brasília, DF. Determina a publicação do Guia de orientação para registro de Medicamento Fitoterápico e registro e notificação de

Produto Tradicional Fitoterápico. Disponível em:

<http://portal.anvisa.gov.br/documents/33836/2501251/Guia%2Bfinal%2Bdicol%2B180614+%282%29.pdf/f400c535-e803-4911-9ef8-100c0c2bb3c6>. Acesso em: 6. out. 2019.

BRITO A. S. **Manual de ensaios toxicológicos *in vivo***. Campinas, SP: Editora da UNICAMP, 1994.

BERKOWITZ, B. A. Avaliação básica e clínica. In: KATZUNG, B.G. **Farmacologia: básica e clínica**. Rio de Janeiro: Guanabara koogan, 2005.

BESSMAN, J.D.; GILMER, P.R.; GARDNER, F. H. Improved classification of anemias by MCV and RDW. **American Journal of Clinical Pathology**, Oxford, v. 80, n. 3, p. 322-326, 1983.

BIANCO, S.; CARVALHO, L.B.; BIANCO, M.S. Estimativa da área foliar de *Sida cordifolia* e *Sida rhombifolia* usando dimensões lineares do limbo foliar. **Planta daninha**, Rio de Janeiro, v. 26, n. 4, p. 807-813, 2008.

BOVINI, M.G. *et al.* **Malvaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil**, 2015. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em:<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB156>. Acesso em: 17 jul. 2019.

CARLINI E.A. *et al.* Pharmacology of lemongrass (*Cymbopogon citratus* Stapf.). I. Effects of teas prepared from the leaves on laboratory animals. **Journal of Ethnopharmacology**, Holanda, v. 17, n. 1, p. 37-64, 1986.

CARLINI, E.A. *et al.* Pharmacology of lemongrass (*Cymbopogon citratus* Stapf). Effects of teas prepared from leaves on Laboratory animals. **Journal of Ethnopharmacology**, Holanda, v. 17, n. 1, p. 37-64, 1986.

CASTELLO BRANCO A.C.S. *et al.* Parâmetros bioquímicos e hematológicos de ratos Wistar e camundongos *Swiss* do Biotério Professor Thomas George. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, João Pessoa, v. 15, n. 2, p. 209-14, 2011.

CALIXTO, J.B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). In: **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 33, n. 2, p. 179-189, 2000.

CARVALHO, G.M.E.; RABELO, N.J. Identificação, prevenção e tratamento dos fatores de riscos associados à síndrome metabólica em pacientes atendidos no programa integrado de atividade física, esporte e lazer para todos os servidores da ufv campus florestal: estudo piloto-piafel-ep. **SYNTHESIS| Revistal Digital FAPAM**, Minas Gerais, v. 1, n. 1, p. 355-66, 2016.

CARVALHO, G.D. *et al.* Avaliação clínica de ratos de laboratório (*Rattus norvegicus* linhagem Wistar): parâmetros sanitários, biológicos e fisiológicos. **Revista Ceres**, Minas Gerais, v. 56, n. 1, p. 51-57, 2009.

CAVAGLIER, M.C.S.; MESSEDER, J.C. Plantas medicinais no ensino de química e biologia: propostas interdisciplinares na educação de jovens e adultos, **Revista Brasileira de Pesquisa em Educação em Ciências**, Belo Horizonte, v.14, n.1, p. 55-71, 2014.

CHAVES, O. S. *et al.* Secondary Metabolites from *Sida rhombifolia* L. (Malvaceae) and the vasorelaxant activity of Cryptolepinone. **Molecules**, Switzerland, v.18, n.1, p. 2769-2777, 2013.

CHAVES, S. O. *et al.* Alkaloids and Phenolic Compounds from *Sida rhombifolia* L. (Malvaceae) and Vasorelaxant Activity of Two Indoquinoline Alkaloids. **Molecules**, Switzerland, v. 22, n. 1, 2017.

CÓRDOVA, A.; NAVAS, F. J. Os radicais livres e o dano muscular produzido pelo exercício: papel dos antioxidantes. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, São Paulo, v. 6, n. 5, p. 204-208, 2000.

COSTA, D.A. *et al.* Chemical constituents from *Bakeridesia pickelii* Monteiro (Malvaceae) and the relaxant activity of kaempferol-3-O-betaD-(6-E-p-coumaroyl) glucopyranoside on guinea-pig ileum. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 4, p. 901-903, 2007.

CUNHA, L.C. *et al.* Avaliação da toxicidade aguda e subaguda, em ratos, do extrato etanólico das folhas e do látex de *Synadenium umbellatum* Pax. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 19, n. 2A, p. 403-411, 2009.

DA ROSA, V. D. *et al.* Nível de ácido úrico como biomarcador diagnóstico e prognóstico de doenças cardiovasculares. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 36, n. 1, p. 159-168, 2015.

DINIZ, M. F.F.M. **Ensaios toxicológicos pré-clínicos com as folhas de *Cis-sampelos sympodialis* Eichl (Menispermaceae)**. 2000. Tese (Doutorado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica) - Universidade Federal da Paraíba. Paraíba, 2000, p. 147.

EL-SANUSI, N.I.; EL-ADAM, S. The effect of low levels of dietary *Ruta graveolens* and *Solenostemma argel* or their mixture on bovans chicks. **Asian Journal of Animal and Veterinary Advances**, Dubai, v. 2, n. 1, p. 27-31, 2007.

EATON, D. L.; GILBERT S. G. Principles of toxicology. *In*: KLAASSEN, C. D. **Casarett & Doull's Toxicology: The basic science of poisons**. 7. ed. New York: MacGraw Hill, cap. 2, p. 11-43, 2008.

EATON, D. L.; GILBERT, S. G. Principios de Toxicologia. *In*: KLAASSEN, C. D.; Watkins, J. B. **Fundamentos em toxicologia de Casarett e Doull**. 2. ed. Porto Alegre: AMGH Editora Ltda, cap. 2, p. 5-20, 2012.

FEITOSA, C.M. *et al.* Ensaios pré-clínicos em ratos tratados com 1,3-diestearil-2-oleil-glicerol, constituinte isolado de *Platoniainsig-nis*. **Revista ConScientiae Saúde**, São Paulo, v. 14, n. 4, p. 555-567, 2015.

HABER, E.P. *et al.* CURI, R.; CARVALHO, C.R.O.; CARPINELLI, A.R. Secreção da Insulina: Efeito Autócrino da Insulina e Modulação por Ácidos Graxos. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, Rio de Janeiro, v. 45, n. 3, 2001.

HEYWOOD, V. H. **Flowering Plants on the World**. London: Ed. B. T. Batsford Ltda. 1993.

GUERRA, M. P.; NODARI, R. O. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto

Alegre, Florianópolis: UFRGS, UFSC, 2003.

GIKNIS, M.L.A.; CLIFFORD, C.B. **Clinical laboratory parameters for Crl:CD (SD) rats.** Charles River Laboratories, Massachusetts, p. 1-18, 2006. Disponível em: https://www.crj.co.jp/cms/pdf/info_common/50/8250933/rm_rm_r_clinical_parameters_cd_rat_06.pdf. Acesso em: 6 out. 2019.

GOMES, F. M.; DE SENNA, H. Fatores associados à desnutrição em pacientes com insuficiência renal crônica em tratamento hemodialítico. **Revista Brasileira de Ciências da Vida**, Minas Gerais, v. 5, n. 2, 2017.

GUPTA D.; BHARDWAJ, S. Study of acute, Subacute and Chronic Toxicity Test. **International Journal of Advanced Research in Pharmaceutic & Bio Science**, India, v. 2, n. 2, p. 103-129, 2012.

HEINRICH M. Ethnopharmacology in the 21st century – Grand Challenges. **Frontiers in Pharmacol, London**, v. 1, n. 8. 2010.

HENRY, J. B. **Diagnósticos clínicos e tratamento por métodos laboratoriais.** São Paulo: Manole, 2008.

LEWIS, R.W. *et al.* Recognition of adverse and nonadverse effects in toxicity studies. **Toxicologic Pathology**, North Carolina, v. 30, n. 1, p. 66-74, 2002.

Li X, *et al.* Acute and subacute toxicity of ethanol extracts from *Salvia przewalskii* Maxim in rodents. **Journal Ethnopharmacol**, China, v. 131, p. 110-115, 2010.

LIMA, C.M. *et al.* Valores de referência hematológicos e bioquímicos de ratos (*Rattus norvegicus* linhagem Wistar) provenientes do biotério da Universidade Tiradentes. **Scientia Plena**. Sergipe, v. 10, n. 3, p. 1-9, 2014.

LORENZI, T.F. **Manual de hematologia: propedêutica e clínica.** 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. 711p.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas.** 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008.

KAROU, S.D. *et al.* Sida acuta Burm. f.: A medicinal plant with numerous potencies. **African Journal of Biotechnology**, Africa, v.6, n. 25, p. 2953–2959. 2007

KONATÉ, K. *et al.* Toxicity assessment and analgesic activity investigation of aqueous acetone extracts of Sida acuta Burm f. and Sida cordifolia L.(Malvaceae), medicinal plants of Burkina Faso. **BMC complementary and alternative medicine**, New York, v. 12, n. 1, p. 1-11, 2012.

MANSUR, J.; MARTZ, R.M.W.; URLINI, E.A. Effects of acute and chronic administration of *Cannabis sativa* and (–)Δ⁹–trans-tetrahydrocannabinol on the behavior of rats in openfield arena. **Journal of Psychopharmacology**, Berlin, v. 19, n. 4, p. 388-397, 1971.

MARQUES, T. C. A. **Relatório de estágio: mestrado em análises clínicas.** 2016. Dissertação (Mestrado em Análises Clínicas) – Faculdade de Farmácia de Coimbra, Universidade de Coimbra, Coimbra, 2016.

MONTES, L. V. *et al.* Evidências para o uso do óleo-resina de copaíba na cicatrização de ferida – uma revisão sistemática. **Natureza online**, Santa Teresa, v. 7, p. 61-67, 2009.

Mosallanejad, B.; Avizeh, R.; Varzi, H. Najafzadeh. Successful treatment of stanozolol induced hepatotoxicity with silymarin in a bitch. **Asian Journal of Animal Sciences**, Malaysia, v. 5, p. 213-218, 2011.

NAG, A.; MUKHERJEE, A. In silico docking analysis of Janus kinase enzymes and phytochemicals. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, USA, v. 6, n.1, p. 463-499, 2014.

NASCIMENTO, J.P. *et al.* Avaliação do potencial antimicrobiano do extrato etanólico bruto e frações da *Sida santaremnensis* H. MONTEIRO (MALVACEAE) sobre cepas de *Rhodotorulaspp.* **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Pombal, v. 10, n. 2, p. 118-125, 2015.

NETO, B. S. L. J. **O gênero Sida L. (Malvaceae) no estado de Pernambuco, Brasil.** 2014. Dissertação (Mestrado em Botânica), Programa de Pós Graduação em Botânica, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2014.

OUÉDRAOGO, M. *et al.* Effect of Long-term use of *Sida rhombifolia* L. Extract on HaematobiochemicalParameters of Experimental Animals. **British Journal of Pharmacology and Toxicology**, Switzerland, v. 4, n. 1, p. 18-24, 2013.

OLIVEIRA, A.C.B. *et al.* Avaliação toxicológica pré-clínica do chá das folhas de *Morus nigra* L. (Moraceae). **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, Águas de Lindóia, v.15, n. 2, p. 244-249, 2013.

OLSON, H. *et al.* Concordance of the toxicity of pharmaceuticals in humans and in animals. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, Holanda, v. 32, n. 1, p. 56-67, 2000.

OMS. Organização Mundial de Saúde. Tradicional medicine. Disponível em: <http://www.who.int/>. Acesso em: 10 jun. 2014.

PHYTOIMAGES. **Image Search Engine**. Disponível em:<http://www.phytoimages.siu.edu>. Acesso em: 20 nov. 2018.

PRAKASH, A.; VARMA, R. K.; GHOSAL, S. Chemical Constituents of the Malva- ceae.Part III. AlkaloidalConstituentsof *Sida acuta*, *Sida humilis*, *Sida rhombifolia*and *Sida spinosa*. **Plant Medicinal**, India, v. 43, p. 384-388, 1981.

RAMALHO, A. J. *et al.* Toxicidade Aguda em Ratos Wistar Tratados com o Extrato Etanólico de *Dioclea grandiflora* Mart. Ex Benth (Fabaceae)(EEDg). **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, Paraíba, v. 18, n. 4, p. 279-286, 2015.

REZENDE, H.A.; COCCO, M.I.M. A utilização da fitoterapia no cotidiano de uma população rural. **Revista da Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo**, São Paulo, v. 36, n. 3, p. 282-288, 2002.

SANTANA, L.C.L.R. *et al.* Estudo daspropriedades físico-químicas e avaliação da toxicidade aguda do

extrato etanólico das folhas de *Mikaniaglomerata* Sprengel. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, Águas de Lindóia**, v. 16, n. 3, supl. I, p. 670-678, 2014.

SPERANDIO, N. *et al.* Diferenças no ponto de corte de hemoglobina para diagnóstico de anemia em função da raça/cor. **Revista Médica de Minas Gerais**, Minas Gerais, v. 25, n. 1, p. 100-107, 2015.

SIREERATAWONG, S. Acute and subchronic toxicity study of the water extract from root of *Sida rhombifolia* Linn. in rats. **Songklanakarin Journal of Science and technology**, Thailand, v. 30, n. 6, p. 729-737, 2008.

SILVA, D. A. *et al.* Constituintes Químicos e Atividade Antioxidante de *Sida galheirensis* Ulbr. (Malvaceae). **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 6, p. 1250-1256, 2006.

SILVA, N. C. S. Tudo que é natural não faz mal? Investigação sobre o uso de plantas medicinais e medicamentos fitoterápicos por idosos na cidade de IAPU-Leste de Minas Gerais. **Única Cadernos Acadêmicos**, Minas Gerais, v. 2, n. 1, 2016.

SILVA, D.A. *et al.* Triterpenes and phenolic compounds isolated from the aerial parts of *Herissantia tiubae* and evaluation of 5,4,-dihydroxy-3,6,7,8,3-pentamethoxyavone as a modulator of bacterial drug resistance. **Pharmaceutical Biology**, London, v.47, n.4, p. 279-284, 2009.

SHU, Y.Z. Recent natural product based drug development: a pharmaceutical industrial perspective. **Journal Natural Products**, Washington, v. 61, n. 8, p. 1053-1071, 1998.

STEVENS K.R.; MYLECRAINEL L. Issues in chronictoxicology. In: HAVES, A.W. (Ed). **Principles and methods of toxicology**. 3. ed. 673 New York: Raven Press, 1994.

STEVENS, P. F. **Angiosperm phylogeny**. 2003. Disponível em: <http://www.mobot.org>. Acessado em: 1 jul. 2019.

TAIA, W. K. General View of Malvaceae Juss. S.L. and Taxonomic Revision of Genus *Abutilon* Mill. **Journal King Abdulaziz University**, Arabia Saudita v.21, n.2, p. 349-363, 2009.

TAZIEBOU L.C. *et al.* ETOA, FX.; NKEGOUM B.; PIEME C.; DZEUFLET, D.P.D. Acute and subacute toxicity of *Aspilula africana* leaves. **African Journal Trad CAM**, Africa, v. 4, n. 2, p. 127-134, 2008.

TSUANG, Y.H. *et al.* Direct effects of caffeine on osteoblastic cells metabolism: the possible causal effect of caffeine on the formation of osteoporosis. **Journal of Orthopaedic Surgery and Research**. Berlin, vol. 1, n. 7, p. 1-10, 2006.

TELES, Y.C.F. *et al.* New sulphated flavonoids from *Wissadula periplocifolia* (L.) C. Presl (Malvaceae). **Molecules**, Switzerland v. 20, n.1, p. 20161-20271, 2015.

TELES, A. V.F.F.; FOCK, R. A.; GÓRNIK, S. L. Efeitos crônicos do uso de sementes de *Senna occidentalis* sobre o tecido hematopoiético de ratos. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, São Paulo, v. 14, n.1, p. 91-92, 2016.

TEO S. *et al.* A 90-day oral gavage toxicity study of d-methylphenidate and d,l-methylphenidate in

Sprague–Dawley rats. **Toxicology**, USA, v. 179, n. 3, p. 183-96, 2002.

ULLAH R. *et al.* Traditional Uses of Medicinal Plants in Dara Adam Khel NWFP Pakistan. **Journal of Medical Plant Research**, USA, v. 4, n. 17, p. 1815–1821. 2010.

WALSH, C. T.; FISCHBACH, M. A. Natural products version 2.0: connecting genes to molecules. **Journal of the American Chemical Society**, Washington, v. 132, n. 8, p. 2469- 2493, 2010.

WERLE, A. L. B. *et al.* Avaliação da atividade de *Casearia sylvestris* Swartz (Flacourtiaceae) sobre os níveis séricos de triglicerídeos em ratos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. Curitiba v. 19, n. 2, p. 400- 402, 2009.

WOLDEYES, S. *et al.* Evaluation of antibacterial activities of compounds isolated from *Sida rhombifolia* Linn. (Malvaceae). **Natural Products Chemistry & research**, Belgium, v.1, n.1, p.1-8, 2012.