

ATIVIDADE ABORTIVA DE *Ateleia glazioviana* (Leg. Papilionoideae) EM RATAS¹

H.R.N. MARONA², A. LANGELOH³ e E.P. SCHENKEL²

ABSTRACT.- Marona H.R.N., Langeloh A. & Schenkel E.P. 1992. [Abortion caused by *Ateleia glazioviana* (Leg. Papilionoideae) in rats.] Atividade abortiva de *Ateleia glazioviana* (Leg. Papilionoideae) em ratas. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 12(3/4):81-83. CPG-Farmácia, Fac. Farmácia, UFRGS, Av. Ipiranga 2752, Porto Alegre, RS 90610-000, Brazil.

Ateleia glazioviana Baillon (Leg. Papilionoideae), popularly known as "timbó de Palmeira", is a tree found throughout Rio Grande do Sul, Brazil. It is reputed to induce abortion in cattle, to be toxic to fish and repellent to household insects. Evaluation of the effects of the hydroethanolic leaf extracts administered to pregnant female rats showed that the dichloromethane and amino acids extracts in doses of 100 mg.kg⁻¹ caused a significant decrease in the number of progeny and a reduction in weight gains of pregnant females when compared with undosed controls. It is concluded that the dichloromethane extract, which contains apolar substances (e.g. rutin and afrormosin) and the amino acids extract (proteinogenic and non proteinogenic amino acids) are responsible for the abortions or reabsorptions of foetuses in female rats.

INDEX TERMS: Abortion, *Ateleia glazioviana*, Leguminosae, poisonous plants, "timbó".

SINOPSE.- *Ateleia glazioviana* Baillon, árvore pertencente à família Leguminosae Papilionoideae de ocorrência no Estado do Rio Grande do Sul, é conhecida popularmente como timbó de Palmeira, sendo considerada abortiva e tóxica para o gado, ictiotóxica e repelente de insetos. Neste estudo foram constituídos grupos experimentais com ratas grávidas que receberam diariamente, via intraperitoneal, frações do extrato hidroetanólico de folhas de *A. glazioviana* na dose de 100 mg.kg⁻¹. Foi observada redução significativa no número de filhotes nos grupos que receberam as frações diclorometano e aminoácidos. Redução significativa do ganho de peso das fêmeas gestantes foi verificada para os grupos tratados com as frações diclorometano, acetato de etila, n-butanol e aminoácidos. Conclui-se que as frações diclorometano, que contêm substâncias menos polares, tais como rutina e afrormosina, e aminoácidos, que contêm aminoácidos protéicos e não protéicos, são capazes de produzir abortos ou reabsorções e reduzir o desenvolvimento ponderal de ratas gestantes.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Aborto, *Ateleia glazioviana*, Leguminosae, planta tóxica, "timbó".

INTRODUÇÃO

Populares e técnicos relatam a ocorrência de abortos em bovinos que ingerem as folhas de *Ateleia glazioviana* Baill., uma árvore conhecida popularmente como "timbó

de Palmeira", devido a sua região de dispersão ser o município de Palmeira das Missões, Rio Grande do Sul (Burkart 1952, Röhe & Dutra 1969, Soares 1974). Em trabalho anterior, Langeloh et al. (1991) mostraram a ação abortiva do extrato aquoso bruto de *A. glazioviana*.

Ortega (1985) isolou de folhas de *Ateleia glazioviana* os seguintes flavonóides: rutina, iso-ramnnetina, quercetina, canferol e miricetina; e as isoflavonas afrormosina e 5-metoxiafrormosina. Também este autor caracterizou a presença dos aminoácidos protéicos alanina, arginina, asparagina, leucina, lisina, serina, treonina e valina, e ainda a presença de três aminoácidos não protéicos os quais não foram identificados. Atividade ictiotóxica também foi detectada com o extrato hidroalcoólico de folhas e raízes por Ortega (1985). Langeloh et al. (1991) mostraram que o extrato aquoso bruto de *A. glazioviana* afeta seriamente a reprodução de ratas. O presente trabalho foi realizado com o objetivo de correlacionar a atividade abortiva em ratas com os principais constituintes dos extratos de folhas.

MATERIAL E MÉTODOS

As folhas de *Ateleia glazioviana* Baillon (Leg. Papilionoideae) foram colhidas no município de Palmeira das Missões, RS. Após seco e moído, o material foi extraído através de decocção para a obtenção do extrato hidroetanólico, que foi concentrado a 500ml. Foram reservados 50 ml deste extrato bruto, codificado como EA₁; o restante foi fracionado com solventes de polaridade crescente: diclorometano, acetato de etila e n-butanol, para o fornecimento das frações ED, EE e EB, respectivamente. O extrato aquoso final, denominado EA₂, foi submetido à coluna de troca

¹ Aceito para publicação em 8 de outubro de 1992.

Os resultados integraram Dissertação de Mestrado do primeiro autor, Curso de Pós-Graduação em Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

² Depto Fármacos e Medicamentos, Fac. Ciênc. Farmacêuticas, Unesp, Rodov. Araraquara-Jaú, Km 1, Araraquara, SP 14801-902.

³ Depto Farmacologia, Inst. Biociências, UFRGS, Rua Prof. Sarmento Leite 500/202, Porto Alegre, RS 90046-900; bolsista do CNPq (306209/89-6).

iônica fortemente catiônica, para a obtenção da fração rica em aminoácidos, codificada como-AA.

As frações EA₁, EE, EB, EA₂ e AA foram diluídas em água destilada até uma concentração final de 100 mg.ml⁻¹ e a fração ED, em água destilada + tween a 1% na concentração de 25 mg.ml⁻¹. Foram, portanto, constituídos dois grupos controles os quais receberam os respectivos veículos como tratamento, seguindo a mesma posologia dos grupos experimentais.

Foram utilizadas ratas albinas, virgens, pesando entre 160 e 220g examinadas diariamente para detecção de cópula (pela presença de espermatozoides no esfregaço vaginal). As fêmeas prenhas foram agrupadas aleatoriamente e tratadas diariamente conforme o grupo experimental a que foram designadas por sorteio, por via intraperitoneal, na dose de 100 mg.kg⁻¹. Todos os grupos foram tratados desde o 1º até o 21º dia de gestação. No 7º dia de tratamento, as fêmeas foram submetidas à laparotomia retro-umbilical mediana sob anestesia com vapores de éter etílico, para a contagem do número de implantes. No 22º dia de gestação, as fêmeas foram sacrificadas por inalação excessiva de vapores de éter etílico para a contagem e pesagem dos filhotes.

Foram avaliados: peso inicial e final das gestantes; ganho de peso durante a gestação; nº implantes; nº filhotes; taxas de gesta-

ção, parto e natalidade conforme descrito anteriormente (Langeloh et al. 1992). As diferenças entre os grupos foram testadas através do teste de Student ou do teste exato de Fischer conforme apropriado indicando-se o nível de significância alcançado.

RESULTADOS

No Quadro 1 estão apresentados os principais resultados obtidos com os grupos tratados com as diferentes frações do extrato de folhas de *Ateleia glazioviana*.

Verificou-se que, tanto nos grupos controles como nos grupos tratados com as frações, as fêmeas que apresentaram espermatozoides no esfregaço vaginal resultaram prenhas, conferindo uma taxa de prenhez de 100% em todos os grupos. Não foi observada redução significativa no número de implantes dos grupos tratados. Foi observada redução no número de filhotes nos grupos tratados com as frações diclorometano (ED) e aminoácidos (AA) (3,2 e 2,6 filhotes/fêmea respectivamente), quando comparados a 11,5 e 9,9 filhotes/fêmea dos respectivos grupos controles, reduzindo significativamente as taxas de

Quadro 1. Parâmetros reprodutivos obtidos de ratas tratadas com os extratos de folhas de *A. glazioviana* indicados na coluna tratamento, na dose de 100 mg.kg⁻¹, IP, desde o 1º até o último dia de gestação e respectivos grupos controles

Tratamento NR ^a	N	Implantes		Filhotes		Taxas				
		N	Média ± epm	N	Média ± epm	R	Prenhez	Parto	Natalidade	Teratogenia
Água	4	50	12,5 ± 0,4	46	11,5 ± 1,0	04	100	100	92	0
Tween	8	86	10,8 ± 0,1	79	9,9 ± 0,1	07	100	100	92	0
DE-EA1	9	99	11,0 ± 0,4	96	10,7 ± 0,4	03	100	100	88	0
DE-ED	9	85	9,4 ± 0,8	29	3,2** ± 1,0	56 #	100	77,8	34 ###	13,8
DE-EE	7	72	10,3 ± 0,7	66	9,4 ± 0,4	06	100	100	92	0
DE-EB	7	70	10,0 ± 0,6	67	9,6 ± 0,6	03	100	87,5	81	0
DE-EA2	7	58	9,7 ± 1,0	55	9,2 ± 0,9	03	100	100	95	0
DE-AA	5	54	10,8 ± 1,0	14	2,6** ± 2,6	40 #	100	20	26 #	0

^aNR = número de ratas copuladas (detectado pela presença de espermatozoides no esfregaço vaginal) e que resultaram prenhas, detectado por laparotomia exploratória no sétimo dia de gestação.

N = número total de observações: implantes detectados no sétimo dia de gestação e filhotes detectados no 22º dia de gestação.

e pm = erro padrão da média.

** p < 0,01 comparado com o respectivo grupo controle pelo teste t-de Student.

R = número de reabsorções ou abortos (detectado pela diferença entre o número de implantes e o número de filhotes existentes no final do período de gestação).

p < 0,05; ### p < 0,01 comparado com o respectivo grupo controle pelo teste exato de Fischer.

Quadro 2. Desenvolvimento ponderal de ratas tratadas com as frações do extrato de folhas de *A. glazioviana* na dose de 100 mg/kg, IP, desde o 1º até o último dia de gestação e respectivos grupos controle

Tratº	N	Peso dos animais (g)		Aumento de peso		Peso médio dos filhotes (g)
		1º dia	22º dia	(g)	(%)	
Água	4	200,0 ± 4,4	280,3 ± 6,7	80,3 ± 5,2	40,2 ± 2,8	3,9 ± 0,1
Tween	8	214,3 ± 0,3	286,0 ± 0,4	72,0 ± 0,4	33,7 ± 0,3	4,6 ± 0,1
DE-EA1	9	175,8 ± 3,0	247,0 ± 5,7	71,2 ± 3,3	40,4 ± 1,5	2,7 ± 0,0
DE-ED	9	210,4 ± 5,5	243,9 ± 5,6	33,4 ± 1,9	16,2** ± 2,7	1,7 ± 0,3
DE-EE	7	211,4 ± 5,1	264,7 ± 10,7	53,3 ± 6,1	24,9* ± 2,5	3,6 ± 0,2
DE-EB	7	174,6 ± 7,0	230,3 ± 8,2	55,7 ± 2,5	32,1** ± 1,5	2,0 ± 0,1
DE-EA2	6	211,2 ± 8,5	270,4 ± 13,2	67,2 ± 5,3	31,6 ± 1,7	4,4 ± 0,3
DE-AA	5	205,5 ± 5,7	233,8 ± 18,5	28,3 ± 17,2	14,0* ± 8,8	-

* p < 0,05 comparado com o grupo controle.

** p < 0,01 comparado com o grupo controle.

atualidade ($p < 0,01$ e $< 0,05$ respectivamente). No grupo tratado com a fração diclorometano duas das nove ratas abortaram ou reabsorveram os filhotes, resultando na taxa de parto de 77,8%. A taxa de natalidade, que expressa o número de filhotes nascidos vivos sobre o total de filhotes nascidos, foi significativamente reduzido nos grupos ED e AA (respectivamente $p < 0,01$ e $< 0,05$). No grupo tratado com extrato ED verificaram-se filhotes com tamanho muito pequeno, cor escura, enrugados e mortos. No grupo tratado com a fração aminoácidos apenas uma das cinco fêmeas apresentou filhotes no final da gestação (9 vivos e 5 mortos), conferindo uma taxa de parto de 20%. As demais abortaram ou reabsorveram os embriões.

O desenvolvimento ponderal das fêmeas gestantes é apresentado no Quadro 2. Verificou-se que as ratas tratadas com as frações diclorometano, acetato de etila, n-butanol e aminoácidos tiveram o ganho de peso significativamente inferior ao apresentado pelo respectivo grupo controle. O ganho percentual de peso corporal das fêmeas dos grupos EA₁, EA₂, EE, EB e AA em relação ao 1º dia de gestação foi de 40,4; 31,6; 24,9; 32,1 e 14%, respectivamente, enquanto que no grupo controle foi de 40,2%. A única fêmea do grupo tratado com a fração rica em aminoácidos AA que chegou ao final da gestação aumentou 50,8% do peso inicial. O grupo tratado com a fração ED aumentou 16,2%, e o controle 33,7%.

O peso médio dos filhotes no 22º dia de gestação ao nascer foi significativamente menor nos grupos EA₁, ED e EB conforme pode ser observado no Quadro 2.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

A ação infertilizante (ou abortiva) do extrato aquoso bruto das folhas de *A. glazioviana* em ratas fora demonstrada anteriormente sem, contudo, correlacionar o efeito com os principais constituintes do extrato (Langeloh et al. 1991). A atividade abortiva das folhas deste vegetal parece estar relacionada a duas classes de substâncias: compostos menos polares contidos na fração diclorometano e aos aminoácidos contidos na fração AA. Dos componentes identificados por Ortega (1985) estão presentes em maior concentração na fração ED, a rutina e a afrormosina. Da fração AA é pouco provável esperar que os aminoácidos protéicos (alanina, arginina, asparagina, leucina, lisina, serina, treonina e valina) presentes na dieta normal dos mamíferos, mesmo de ruminantes, sejam os responsáveis pela diminuição da fertilidade na dose empregada: 100mg/kg. Portanto, a suspeita recai sobre os aminoácidos não protéicos contidos em *Ateleia glazioviana*, mas tal fato deve ser confirmado experimentalmente. Marona (1992) isolou e determinou a estrutura de dois dos três aminoácidos não proteínogênicos presentes no extrato verificando tratar-se de delta-acetilornitina e ácido 1-aminociclobutano-1, 3-dicarboxílico. Não há na literatura consultada referência à ação abortiva destas substâncias.

A determinação da DL50 do extrato bruto de *A. glazioviana* em experimentos de toxicidade aguda, em uma administração via endovenosa em ratos adultos não gestantes foi de 3715 mg.kg⁻¹, indicando que as substâncias presentes são de baixa toxicidade (Marona 1992). No entanto, administrado por via oral, repetidas vezes, Langeloh et al. (1991) verificaram que ratas gestantes perdem peso acentuadamente. Cubilla-Gutierrez & Langeloh (1991) relatam que ratas tratadas com extrato hidroalcolico consomem menor quantidade de ração. Estes dados são semelhantes aos obtidos no presente trabalho: acompanhando o desenvolvimento ponderal das ratas gestantes foi verificado que as frações diclorometano e aminoácidos reduziram significativamente o desenvolvimento ponderal. Este sinal pode ser tomado como um indicativo de toxicidade geral. Entretanto não se observaram em nenhum grupo tratado outros sinais de toxicidade geral ou mesmo comportamental além dos efeitos abortivos e de perda de peso relatados. Os resultados obtidos no presente trabalho sugerem que a ação abortiva está relacionada com a presença dos aminoácidos não proteínogênicos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Burkart A. 1952. Las Leguminosas Argentinas. 2ª ed. Acme, Buenos Aires, p. 206-207.
- Corbett, C.E. 1940. *Plantas icotóxicas - Farmacologia da rotenona*. USP, São Paulo.
- Cubilla-Gutierrez F.H. & Langeloh A. 1991. Consumo de ração por ratas gestantes e lactantes submetidas ou não ao tratamento com extratos e aminoácidos de *Ateleia glazioviana* Baill. e benzoato de estradiol. Salão de Iniciação Científica, UFRGS, Porto Alegre.
- Langeloh A., Maidana-Leguizamon F. & Dalsenter P.R. 1992. Potencial abortivo e infertilizante de plantas brasileiras contaminantes ocasionais de pastagens de bovinos e outros herbívoros de interesse econômico. *Pesq. Vet. Bras.* 12(1/2):11-18.
- Marona H.R.N. 1992. Investigaçao química e toxicológica de *Ateleia glazioviana* Baillon (Leguminosae-Papilionoideae). Diss. Mestrado, Fac. Farmácia, UFRGS, Porto Alegre.
- Ortega G.G. 1985. Sobre a química e a toxicidade do "timbó" - *Ateleia glazioviana* Baill. (Leguminosae-Papilionoideae). Diss. Mestrado, Fac. Farmácia, UFRGS, Porto Alegre.
- Ortega G.G., Schenkel E.P., Athayde M.L. & Knorst M.T. 1986. Rutina em folhas de *Ateleia glazioviana* Baillon. *Revta. Bras. Farmacognosia* 1(2):136-142.
- Ortega G.G. & Schenkel E.P. 1986. Isoflavonas de *Ateleia glazioviana* Baillon. *Cad. Farmácia* 2(2):153-161.
- Ortega G.G. & Schenkel E.P. 1987. Ichthyotoxic activities of *Ateleia glazioviana* and *Thinouia coriacea* Brit. J. *Ethnopharmacology* 20: 81-84.
- Ortega G.G., Schenkel, E.P. & Miotto, S. 1989. Las isoflavonas C-5-metoxilado y su significado quimiotaxonômico en Papilionoideae. *Revta Latinoam. Química* 20(2):53-56.
- Röhe R. & Dutra J. 1969. Plantas tóxicas. Fac. Veterinária, UFRGS, Porto Alegre.
- Schultz A.R. 1975. Os nomes científicos e populares das plantas do Rio Grande do Sul. PUC/EMA, Porto Alegre.
- Silva, R.F. 1934. Os timbós. *Bolm Agric. Zootec. e Vet.* 7(4):213-223.
- Soares, M.P. 1974. Santo Antônio da Palmeira. Bels, Porto Alegre, p. 35-38.