



## AVALIAÇÃO DA SEGURANÇA NÃO CLÍNICA DO CHÁ DA CANELA DE VELHO (*Miconia albicans*)

Aimêe Veras Alexandre<sup>1\*</sup> (PG), Fernanda Mota de Castro<sup>2</sup> (IC), Sacha Aubrey Alves Rodrigues Santos<sup>1</sup> (IC), Francisco Lucas Alves Batista<sup>3</sup> (IC), Francisco Ernani Alves Magalhães<sup>3</sup> (PQ), Adriana Rolim Campos<sup>1</sup> (PQ)

<sup>1</sup>Universidade de Fortaleza, <sup>2</sup>Centro Universitário Christus, <sup>3</sup>Universidade Estadual do Ceará

[aimeeveras@hotmail.com](mailto:aimeeveras@hotmail.com)

---

**Resumo:** A canela de velho (*Miconia albicans*) é uma planta medicinal comercializada para o tratamento das dores articulares. Este trabalho reporta a análise toxicológica do chá das folhas de canela de velho (CAVEL). Para avaliar a citotoxicidade, CAVEL (0,1; 0,5 ou 1,0 mg/mL) foi submetido ao teste de letalidade frente aos náuplios de *Artemia salina* (n = 30/grupo). Em seguida, foi avaliada a ação de CAVEL (3,0; 10 ou 30 mg/mL; 20 µL; via oral) sobre a atividade locomotora do zebrafish (*Danio rerio*) adulto (n = 6/grupo) no teste de campo aberto. Passadas 24 h dos tratamentos em ambos os testes, a mortalidade foi analisada e a concentração que mata 50 % (CL<sub>50</sub>) dos náuplios ou zebrafish foi calculada. CAVEL não foi tóxico frente aos organismos testados e não causou comprometimento locomotor do zebrafish (*Danio rerio*) adulto. Os resultados são considerados importantes, pois apontam para a segurança no uso do chá de das folhas de *Miconia albicans*.

**Palavras-chave:** Canela de velho. *Miconia albicans*. Toxicidade. *Artemia salia*, Zebrafish (*Danio rerio*) adulto.

---

### Introdução

*Miconia* (Melastomataceae) é um gênero de aproximadamente 1000 espécies que ocorre na América tropical (RENNER, 1993); no Brasil, *Miconia albicans* é uma das espécies mais prevalentes (SOUZA & LORENZI, 2005). Já foi relatado o uso do chá das folhas de *M. albicans* como digestivo e estimulante do apetite (SIQUEIRA, 1998). Extratos brutos de *M. albicans* apresentam efeito analgésico (VASCONCELOS *et al.*, 2003) e este efeito está relacionado a presença de triterpenos (VASCONCELOS *et al.*, 2006). Extratos metanólicos das folhas da planta manifesta atividade bactericida contra várias linhagens, como *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli* (ALVES *et al.*, 2000).

O chá das folhas *M. albicans* tem sido indicado popularmente para o tratamento das dores



articulares, especialmente aquelas causadas pela Chikungunya. No entanto, não existem ainda estudos que comprovem a segurança do uso desta preparação.

Partindo do exposto, esse trabalho teve como objetivo avaliar a segurança não-clínica do chá de canela velho (*Miconia albicans*).

---

## **Materiais e Métodos**

### **Material botânico e preparação do chá**

Amostras comerciais das folhas secas da canela de velho (*Miconia albicans*) foram adquiridas (Chás da Amazônia, Lote: 138) para a realização deste estudo. Para obtenção do chá, 70 g de material seco foram submetidos à extração por infusão, por 10 min em 1 L de água mineral fervente (NISHIYAMA et al., 2010). Após resfriamento a temperatura ambiente ( $25 \pm 2$  °C), o chá, designado de CAVEL, foi filtrado, liofilizado, e acondicionado em frascos estéreis na geladeira (5 °C) até utilização.

### **Avaliação da citotoxicidade frente à *Artemia salina***

Soluções de CAVEL (0,1; 0,5 e 1,0 mg/mL) foram preparadas com água destilada e testadas frente aos nauplios de *A. salina* ( $n = 30/\text{grupo}$ ), segundo metodologia descrita por Meyer (1982). Em cada tubo de ensaio foram colocadas 10 nauplios de *A. salina* e após 24 h foram contabilizados os nauplios mortos e vivos e assim calculada a  $CL_{50}$  (concentração que mata 50 % dos nauplios). O potencial tóxico da amostra foi classificado em: a) não tóxico  $CL_{50} > 1000$  µg/mL; b) tóxico ( $CL_{50} \leq 1000$  µg/mL).

### **Avaliação da toxicidade *in vivo***

#### **Zebrafish (*Danio rerio*) adulto (ZFa)**

Foram utilizados animais selvagens, com idade entre 60 a 90 dias ( $4,0 \pm 0,1$  g), de ambos os sexos, obtidos através do fornecedor Agroquímica: Comércio de Produtos Veterinários LTDA, proveniente de Fortaleza, Ceará. A manipulação e aclimação dos animais foram realizados no Núcleo de Biologia Experimental da Universidade de Fortaleza – NUBEX/UNIFOR. Os animais foram mantidos em aquário de vidro com temperatura de 24°C, com água da torneira tratada com anticloro da marca *ProtecPlus*<sup>®</sup>. Os procedimentos do experimento foram aprovados pelo Comitê de Ética para o Uso de Animais (CEUA), sob o protocolo nº 7210149/2016, da Universidade Estadual do Ceará (UECE), Fortaleza, Ceará.

#### **Atividade locomotora (Teste de Campo Aberto)**



Inicialmente foi realizado o teste de atividade locomotora, conforme metodologia proposta por Magalhães et al (2017). Os ZFa (n=6/grupo) foram tratados com soluções aquosas do chá da canela de velho, CAVEL (3, 10 e 30 mg/mL; 20 µL v.o) ou veículo (água mineral; 20 µL v.o). Um grupo de animais sem tratamentos foi incluído (Naive). Após 1 hora dos tratamentos via oral, os animais foram adicionados em placas de Petri, contendo a mesma água do aquário, marcadas com quatro quadrantes e analisada a atividade locomotora através da contagem do número de cruzamento de linhas, durante 5 minutos. Os animais do grupo NAIVE foram considerados como *baseline* (100 % de atividade locomotora) e calculado o percentual de atividade locomotora (%AL).

#### **Teste de mortalidade 24 h**

Os mesmos animais (ZFa; n=6/grupo) após o teste de campo aberto, foram deixados em observação para análise da mortalidade (EKAMBARAM, PERUMAL & PAVADAI, 2017). O grupo de animais tratados com água mineral (veículo; 20 µL v.o) foi usado como controle. Após 24 h, os valores obtidos com o número de ZFa mortos foram submetidos à análise estatística, estimando-se a concentração letal para matar 50 % (CL<sub>50</sub>) de ZFa.

#### **Análise estatística**

A CL<sub>50</sub> foi determinada pelo teste dos Probitos (*A. salina*) ou Trimmed Spearman-Kärber (zebrafish). Os dados do teste de campo aberto foram expressos como média ± erro padrão da média (e.p.m). A comparação entre as médias foi realizada utilizando-se análise de variância (ANOVA), seguida pelo teste de *Tukey*. As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando  $p < 0,05$ .

---

### **Resultados e Discussão**

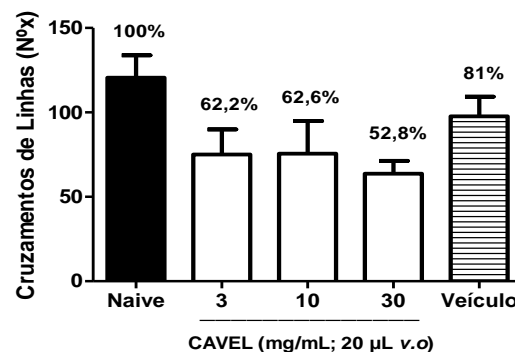
Com o processo de infusão do chá, foram obtidos 5,270 g do pó do chá liofilizado (7,5 % de rendimento). No bioensaio com *A. salina*, para averiguar provável toxicidade preliminar, CAVEL apresentou CL<sub>50</sub> > 1000 µg/mL, indicando que a amostra não é tóxica, conforme assinala Meyer et al (1982). O ensaio de letalidade permite a avaliação da toxicidade aguda e, portanto, é considerado essencial como bioensaio preliminar no estudo de compostos com potencial atividade biológica, sendo atualmente aceito pela comunidade científica (CAVALCANTE et al., 2001).

No teste de toxicidade *in vivo* frente ao vertebrado Zebrafish (*Danio rerio*) adulto, CAVEL também não se mostrou tóxica, pois não houve mortalidade em nenhum dos grupos testados. A



aceitação global do zebrafish como um modelo animal experimental moderno está aumentando gradualmente. Este modelo animal está se tornando popular nos campos da toxicologia e da pesquisa biomédica tanto nos estágios adultos quanto embrionários. Uma das grandes vantagens do uso do zebrafish é o fato de que os seus sistemas cardiovascular, nervoso e digestivo são similares aos dos mamíferos (HSU et al., 2007). Além disso, as vias de sinalização altamente conservadas são encontradas tanto no peixe-zebra quanto nos humanos com um alto nível de homologia genômica (BELIAEVA et al., 2010).

A atividade locomotora é um dos parâmetros de análise comportamental que vem sendo utilizado para avaliar ação de drogas que podem atuar sob o sistema nervoso central do zebrafish (*Danio rerio*) adulto e causar comprometimento locomotor (KURTA & PALESTIS, 2010; GERBAUR et al., 2011; TAYLOR et al., 2017). Desta forma, para dar continuidade aos nossos testes, verificou-se a ação do CAVEL sobre o sistema locomotor do ZFa. Como resultado, pode-se perceber que nenhuma das soluções testadas causou comprometimento motor dos animais (Figura 1).



**Figura 1.** Atividade locomotora de zebrafish (*Danio rerio*) adulto no Teste de Campo Aberto (0-5 min). Naive – animais não tratados; Veículo – água mineral; CAVEL – chá da canela de velho liofilizado; Os valores representam a média  $\pm$  erro padrão da média (E.P.M.) para 6 animais/grupo; ANOVA seguida de Tukey. Os números acima de cada coluna indicam porcentagem de atividade locomotora (%AL).

Ao nosso conhecimento, este é o primeiro estudo que aponta a segurança do uso de *M. albicans in vivo*. Relatos anteriores já demonstraram a segurança do uso desta espécie, mas os estudos foram realizados somente *in vitro* (SERPELONI et al., 2011).

---

## Conclusão



O uso das folhas de *M. albicans* como fonte medicinal pode ser considerado aparentemente seguro. No entanto, estudos adicionais são necessários para confirmar a sua segurança.

---

### Agradecimentos

Ao Mestrado em Saúde Coletiva da Universidade de Fortaleza por sua magnitude e excelência. Aos colaboradores do Núcleo de Biologia Experimental (NUBEX) da UNIFOR, bem como FUNCAP e CNPq.

---

### Referências

ALVES, T.M.A. et al. Biological screening of brazilian medicinal plants. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 95, n. 3, p.367-373, 2000.

BELIAEVA, N.F.; KASHIRTSEVA, V.N.; MEDVEDEVA, N.V.; KHUDOKLINOVA, I.; IPATOVA, O.M.; ARCHAKOV, A.I. Zebrafish as a model organism for biomedical studies. **Biomed Khim.** 56:120–131, 2010.

ARELLANO-AGUIAR, O.; SOLIS-ANGELES, S.; SERRANO-GARCIA, L.; MORALES-SIERRA, E.; MENDEZ-SERRANO, A.; MONTERO-MONTOYA, R.; Use of the Zebrafish embryo toxicity test for risk assessment purpose: case study. **Journal of Fisheries Sciences**, v. 9, n. 4, p.052-062, 2015.

CAVALCANTE, M. F.; OLIVEIRA DE, M.C.C.; VELANDIA, J.R.; ECHEVARRIA, A. Síntese de 1,3,5-Triazinas preparadas e utilizadas no bioensaio de toxicidade frente a *Artemia salina* Leach. **Química Nova**, v. 23, n. 1, p. 20–22, 2001.

EKAMBARAM, S. P.; PERUMA, S. S.; PAVADA, S.; Anti-inflammatory effect of *Naravelia zeylanica* DC via suppression of inflammatory mediators in carrageenan-induced abdominal edema in zebrafish model. **Inflammopharmacol** Doi:10.1007/s10787-016-0303-2.

GEBAUER, D. L.; PAGNUSSAT, N.; PIATO, A.L.; SHAEFER, I.C.; BONAN, C.D. LARA, D.R. Effects of anxiolytics in zebrafish: similarities and differences between benzodiazepines, buspirone and ethanol. **Pharmacol Biochem Behav** 99:480–486, 2011.

TAYLOR, J.C.; DEWBERRY, L.S.; TOTSCH, S.K.; YESSICK, L.R.; De BERRY, J.J.; WATTS, S.A; et al. A novel zebrafish-based model of nociception. **Physiol Behav** 174:83–88, 2017.

HSU, C. H.; WEN, Z.H.; LIN, C.S.; CHAKRABORTY,C. The zebrafish model: use in studying cellular mechanisms for a spectrum of clinical disease entities. **Curr Neurovasc Res**, v. 4, n. 2, p. 111–120, 2007.

KURTA, ANASTASIA; PALESTIS, BRIAN G. Effects of ethanol on the shoaling behavior of Zebrafish (*Danio rerio*). **Dose-Response**, v. 8, n. 4, p. 527–533, 2010.



MAGALHÃES, F.E.A, DE SOUSA, C.A.P.B, SANTOS, S.A.A.R, MENEZES, R.B., BATISTA, F.L.A., ABEU, A.O.; DE OLIVEIRA, M.V.; MOURA, L.F.W.G; RAPOSO, R.S.; CAMPOS, A.R. Adult zebrafish (*Danio rerio*): an alternative behavioral model of formalin-induced nociception. **Zebrafish**. DOI. 10.1089/zeb.2017.1436, 2017.

SERPELONI, J.M.; BARCELOS, G.R.M.; MORI, M.P.; YANAGUI, K.; VILEGAS, W, VARANDA, E.L.; CÓLUS, I.M.S. Cytotoxic and mutagenic evaluation of extracts from plant species of the *Miconia* genus and their influence on doxorubicin-induced mutagenicity: an in vitro analysis. *Exp Toxicol Pathol*. 2011 Jul;63(5):499-504.

MEYER B.N, N.R.; FERRIGNI, N. R.; PUTNAN, J. E.; JACOBSEN, L.B.; NICHOLS, D.E.; MCLAUGHLIN, J. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Journal Medical Plants Research**, 1982. 45 ,31-34.

NISHIYAMA, M. F. et al.; Chá verde brasileiro (*Camellia sinensis* var *assamica*): efeitos do tempo de infusão, acondicionamento da erva e forma de preparo sobre a eficiência de extração dos bioativos e sobre a estabilidade da bebida. **Ciênc. Tecnol. Aliment**. 30 (Supl.1):191-196, 2010.

RENNER, S.S. Phylogeny and classification of the Melastomataceae and Memecylaceae. **Nordic Journal of Botany**, 1993; 13:519-540.

SERPELONI, J.M.; BISARRO DOS REIS, M.; RODRIGUES, J.; CAMPANER DOS SANTOS, L.; VILEGAS, W.; VARANDA, E.A.; DOKKEDAL, A.L.; CÓLUS, I.M. In vivo assessment of DNA damage and protective effects of extracts from *Miconia* species using the comet assay and micronucleus test. **Mutagenesis**. 2008 Nov;23(6):501-507.

SIQUEIRA, J.C. Utilização popular das plantas do cerrado. São Paulo: Edusp/ Fapesp, 1988; 194.

SOUZA, V.C.; LORENZI, H. Botânica Sistemática: Guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II; **Instituto Plantarum: Nova Odessa**, São Paulo, 2005; Volume 1:269-276.

VASCONCELOS, M.A.; FERREIRA, DA S.; ANDRADE E SILVA M.L.; VENEZIANE, R.C.; CUNHA, W.R. Analgesic effects of crude extracts of *Miconia albicans* (Melastomataceae). **Boll Chim Farm**, 2003 Oct; 142(8):333-335.

VASCONCELOS, M.A. et al. In vivo analgesic and antiinflammatory activities of ursolic acid and oleanolic acid from *Miconia albicans* (Melastomataceae). **Zeitschrift für Naturforschung - Section C**, v. 61, n. 7-8, p. 477- 482, 2006.