

# EFEITO TOXICOLÓGICO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *RUTA GRAVEOLENS* L. (ARRUDA) EM CAMUNDONGOS SWISS

Toxicological effect of essential oil of *Ruta graveolens* L. (Arruda) in swiss mice

Bruna Spiller Mikulski<sup>1</sup>; Janaína Belusso<sup>2</sup>; Rogério Luis Cansian<sup>3</sup>; Silvane Souza Roman<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Acadêmica do curso de Farmácia. Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI Erechim

<sup>2</sup> Graduada em Farmácia. Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI Erechim

<sup>3</sup> Professor Titular do Departamento de Ciências Agrárias – Laboratório de Biotecnologia - Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI Erechim

<sup>4</sup> Professor Titular do Departamento de Ciências Biológicas – Laboratório de Histologia - Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI Erechim

Data do recebimento: 29/10/2015 – Data do aceite: 31/03/2016

**RESUMO:** *Ruta graveolens* L. conhecida como arruda, pertencente à família Rutaceae, amplamente usada como tratamento medicinal para muitas doenças. O objetivo foi o de avaliar a toxicidade subcrônica do óleo essencial de *Ruta graveolens* L., na dose de 200mg/kg, em camundongos machos Swiss. Dezesesseis animais foram divididos em grupo controle e experimental. O peso corporal e de órgãos, consumo de água e ração e sinais clínicos foram analisados durante 14 dias. No 15º dia, os animais foram eutanasiados, o sangue coletado para a análise das enzimas hepáticas e os órgãos para o processamento histológico em parafina e ensaios bioquímicos. O consumo de água, ração e peso corporal apresentaram-se alterados do 1º ao 11º dia de tratamento no grupo experimental comparado ao grupo controle, indicando sinais de toxicidade causados pelo óleo essencial. Os parâmetros bioquímicos enzimáticos e não enzimáticos não foram alterados no grupo experimental quando comparado ao grupo controle. Não houve alterações histológicas no grupo experimental. A toxicidade oral subcrônica do óleo essencial de *Ruta graveolens* L., na dose de 200 mg/kg, é baixa, contudo a alteração do consumo de água e ração deve ser considerada em estudos futuros.

**Palavras-chave:** *Ruta graveolens* L. Toxicidade. Camundongos.

**ABSTRACT:** *Ruta graveolens L.* known as Rue of the family Rutaceae used widely as a traditional treatment for many diseases. The objective was evaluate the subchronic toxicity of essential oil of *Ruta graveolens L.* at dose of 200 mg/kg in male Swiss mice. 16 animals were divided into control and experimental groups. Body and organs weight, water and food consumption and clinical signs were analyzed during 14 days. On day 15 the animals were euthanized, the collected blood for analysis hepatic enzymes and the organs to histological processing in paraffin and biochemical assays. Water and food consumption, body weight was altered from days 1 to 11 of treatment in the experimental group compared to the control group, indicating signs of toxicity caused by the essential oil. The enzymatic and non-enzymatic biochemical parameters have not changed in the experimental group compared to the control group. There were no histological changes in the experimental group. The sub-chronic oral toxicity of the essential oil of *Ruta graveolens L.* at dose of 200 mg/kg is low, but the change in the consumption of water and food should be considered in future studies.

**Keywords:** *Ruta graveolens L.* Toxicity. Mice.

## Introdução

O uso de produtos naturais como matéria-prima para a síntese de compostos químicos com atividade biológica tem sido amplamente relatado ao longo dos anos, devido à enorme potencialidade na descoberta de novos fármacos, mas, para isso, estudos de toxicidade das plantas são necessários para poderem ser utilizadas com segurança pela população (KORDALI et al., 2008).

A *Ruta Graveolens L.* pertence à família *Rutaceae*, conhecida popularmente como arruda. É uma planta perene, nativa da região Mediterrânea e sudoeste da Ásia, é encontrada amplamente na região Sul do Brasil e vem sendo utilizada na medicina popular na Europa e na Ásia há mais de 1500 anos (HORNOK, 1992). Se, de um lado, ensaios farmacológicos comprovam seu efeito como anti-helmíntico, febrífuga, emenagoga (HALE et al., 2004) é aplicada externamente contra a dor reumática, diminuição do coles-

terol (RATHEESH, 2013), normalização das funções do ciclo menstrual, fragilidade dos capilares sanguíneos, combate a calvície, ansiedade, insônia, incontinência urinária, prisão de ventre (MEJRI, 2010), reumatismo, dermatite e artrite (RATHEESH, 2013). Por outro lado, a *Ruta graveolens L.* pode ser perigosa em doses elevadas baseadas em evidências anteriores, podendo causar bradicardia, falência renal aguda, hipercalemia e coagulopatia e o aborto (SEAK; LIN, 2007).

Portanto, toda substância pode ser considerada um agente tóxico, dependendo da dose utilizada e condições de exposição e os efeitos tóxicos variam desde os considerados leves, como a irritação dos olhos, até respostas mais sérias, como o dano hepático ou renal, podendo ser tão graves quanto incapacitação permanente de um órgão, como a cirrose ou o câncer. Com isso, os testes de toxicidade são realizados para a obtenção de informações sobre a toxicidade das substâncias químicas, após exposições repetidas, estabelecendo assim órgãos afeados e sua

severidade, além de e identificar se os efeitos são reversíveis (OGA, 2008).

Embora existam estudos toxicológicos de *Ruta graveolens* L, são ainda poucos encontrados na literatura, que possam direcionar ou descartar o uso pela população, mostrando a real segurança. Baseado nisso, propõe-se avaliar o potencial toxicológico do óleo essencial de *Ruta graveolens* L. na dose de 200 mg/Kg em camundongos Swiss.

## Material e Métodos

### Coleta e Identificação da Planta

A planta foi coletada no distrito de Capoeirê, longitude 27° 45'00.17"S e latitude 52°16'00.06" O, próximo à cidade de Erechim, no período de agosto de 2011, em diferentes pontos de coleta para obtenção de um volume razoável para possibilitar a extração do óleo essencial. Após, foi identificada por um biólogo e uma exsiccata foi registrada no Herbário Padre Balduino Rambo da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, sob número HPBR 11.576. Foram utilizadas, no estudo, todas as partes do material vegetal, exceto as raízes.

### Obtenção do Óleo Essencial

O material vegetal coletado foi seco em estufa de circulação de ar até peso constante e, após, foi moído em moinho de facas para a obtenção de um pó. O óleo essencial foi extraído pelo método de hidrodestilação em aparelho Clevenger no laboratório de Biotecnologia Vegetal da URI-Câmpus de Erechim. Foram utilizadas 100g do pó obtido, submerso em dois litros de água destilada. Como o material vegetal fica submerso na água, na hidrodestilação os compostos voláteis e semi-voláteis, por possuírem tensão de vapor mais elevada que a água são arrastados (SEFIDKON et al., 2007) e coletados na forma de

óleo essencial. Durante a extração, foi obtido o rendimento total do óleo para cada 100 gramas de pó em mL (% p/v). Após a extração, o óleo, foi transferido para um recipiente de vidro (tipo âmbar) e mantido à temperatura de -20°C para posterior utilização.

### Animais de Experimentação e Cuidados Éticos

Para todos os testes, foram utilizados camundongos machos Swiss, oriundos do Laboratório de Experimentação Animal da URI-Câmpus de Erechim. Os animais foram acondicionados em caixas separadas, sob condições de temperatura de 22±2°C e um ciclo de 12h luz/12h escuro, com acesso à água e alimentação à vontade. O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da URI-Câmpus de Erechim, sob número 094/PIA/11. O projeto seguiu todos os preceitos éticos, conforme as diretrizes da DBCA, (2013). No final de cada análise, os animais foram eutanasiados com dose letal de anestésico.

### Delineamento Experimental

Foram utilizados 16 camundongos machos, divididos em grupo controle e grupo experimental. O grupo experimental recebeu o óleo essencial de *Ruta graveolens* L., na dose de 200 mg/Kg/dia, durante 14 dias, e o grupo controle recebeu a água destilada (veículo) na mesma proporção e período. A administração foi através de sonda gástrica. Foram observados e registrados, diariamente, os dados fisiológicos quanto ao peso corporal, consumo de água e ração, sinais clínicos de toxicidade como piloereção, diarreia e irritabilidade (KHERA, 1984) e alterações comportamentais anormais durante tudo o estudo.

No 15° dia, os animais experimentais e controles foram eutanasiados com dose letal de anestésico (Zoletil®50) na dose de 50

mg/kg via intraperitoneal para a abertura do abdômen e coleta do fígado, rins, cérebro e baço a fim de verificar a possível toxicidade. O peso do fígado, rins, cérebro e baço foram registrados.

## Analise Histologica

Os órgãos de metabolização e excreção, respectivamente, fígado e rins, foram processados histologicamente, utilizando concentrações crescentes de álcool, diafinização em xilol e inclusão em parafina (LUNA, 1968). Os cortes histológicos de 4 µm de espessura foram corados em hematoxilina e eosina para análise histológica em microscópio óptico. Para o fígado, os parâmetros seguidos foram: necrose, congestão vascular, megalocitose, infiltração celular, eosinofilia, vacualização citoplasmática, hiperromatismo, dilatação sinusoidal. Os rins foram avaliados quanto à tumefação celular, vacualização citoplasmática, congestão vascular, dilatação tubular, células apoptóticas e espaço de filtração glomerular. A avaliação das alterações teciduais quanto ao grau de dano hepático e renal foram numeradas gradualmente, seguindo escores que vão de 0 a 3, em que 0 indica ausência de dano, 1 indica dano baixo, 2 indica dano moderado e 3 dano intenso. Os dados foram avaliados estatisticamente e distribuídos em tabelas para análise.

## Ensaio Bioquímicos Enzimáticos e Não Enzimáticos

No 15º dia, foi realizada, a coleta de amostras de sangue via punção da artéria abdominal com auxílio de uma seringa de 5ml, através do emprego de uma agulha de calibre 25×7. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas a 4000 rpm, por 15 minutos, a uma temperatura de 4°C. Em seguida, foram separadas amostras de soro para determinar os biomarcadores séricos

alanina aminotransferase (AST) e aspartato-aminotransferase (ALT).

A atividade enzimática das transaminases (ALT e AST) foi determinada pela metodologia Labtest®, na qual as transaminases catalisam a transferência do grupamento amino de um  $\alpha$ -aminoácido para um  $\alpha$ -cetoácido. O oxalacetato ou piruvato reage com /dinitrofenilhidrazina. A intensidade de coloração da hidrazona é diretamente proporcional à quantidade de oxalacetato ou piruvato, que é determinado pela função enzimática.

Para avaliação dos níveis de peroxidação lipídica, Espécies Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) foram determinadas de acordo com a Ohkawa et al. (1979), em que o malondialdeído (MDA), um produto final da peroxidação de ácidos graxos, reage com o ácido tiobarbitúrico (TBA) para formar um complexo colorido. A quantidade de TBARS produzido foi medido em espectrofotômetro, a 532 nm e os resultados foram apresentados como proteína nmol mg MDA.

## Análise Estatística

O tratamento estatístico dos dados de toxicidade e análise bioquímica foi realizado pelo Programa GradPrad 6.0, utilizando o teste da análise de variância (ANOVA), seguido pelo teste de Tukey e expressos em Média  $\pm$  Desvio Padrão. A análise estatística dos dados referentes à histologia foi realizada pelo teste de distribuição não paramétrica de Kruskal Wallis do Bioestat 5.0, seguido do teste Student-Newman-Keuls. Os dados foram considerados significativos quando  $p < 0,05$ .

## Resultados

### Sinais Clínicos de Toxicidade

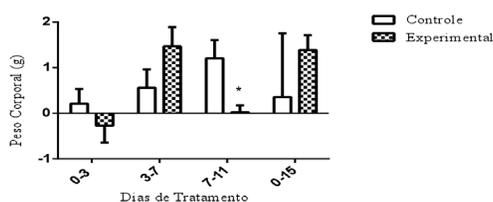
A administração do óleo essencial de arruda em camundongos, ao longo dos 14

dias, não causou nenhuma morte nos animais, porém foram vistos sinais leves de toxicidade como diarreia e piloereção, ao longo dos primeiros sete dias de tratamento quando comparados com os animais controle.

### Peso Corporal

Conforme mostra a Figura 1, houve uma redução significativa no peso corporal dos animais do grupo experimental no decorrer dos 7-11 dias de experimento, quando comparado com o grupo controle. Nos demais dias de tratamento, não foram encontradas alterações significativas no peso corporal entre os grupos (Figura 1).

**Figura 1** - Evolução ponderal (g) de camundongos tratados com o óleo essencial de *Ruta graveolens L.* na dose de 200mg/kg e controles durante 14 dias.



Os resultados estão expressos como média ± DP, avaliados pelo teste Two-Way / ANOVA (n=8). \* Diferença significativa em relação ao grupo controle < 0,05

### Peso Absoluto e Relativo dos Órgãos

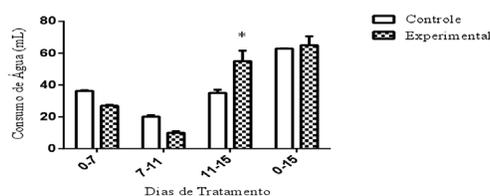
A Tabela I demonstra o peso dos órgãos de metabolização (fígado), excreção (rins), cérebro e baço. Foi observado que tanto o

peso relativo como o peso absoluto desses órgãos dos camundongos do grupo controle e experimental foram semelhantes, sem diferença significativa.

### Consumo de Água

No período final do tratamento (11-15), os camundongos do grupo experimental apresentaram aumento significativo no consumo de água quando comparado ao consumo de água do grupo controle, conforme mostra a Figura 2.

**Figura 2** - Consumo de água (mL) de camundongos que receberam a dose diária de óleo essencial de *Ruta graveolens L.* na dose de 200mg/kg e do controle, durante 14 dias.



Os resultados estão expressos como média ± DP, avaliados pelo teste de Two-Way / ANOVA (n=8).

\* Diferença significativa em relação ao grupo controle, p<0,05

### Consumo de Ração

A Figura 3 mostra o consumo de ração em ambos os grupos. Pode-se perceber que consumo de ração dos camundongos do grupo experimental foi menor estatística-

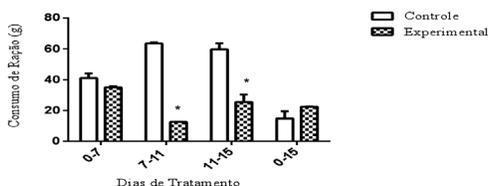
**Tabela I** - Peso de órgãos de camundongos que receberam a dose diária de óleo essencial de *Ruta graveolens L.* na dose de 200mg/kg e do controle, durante 14 dias.

| ÓRGÃOS/GRUPO | Fígado    | Rim       | Baço      | Cérebro   |
|--------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Absoluto (g) |           |           |           |           |
| Experimental | 1,98±0,25 | 0,52±0,05 | 0,11±0,12 | 0,37±0,37 |
| Controle     | 1,77±0,26 | 0,47±0,11 | 0,12±0,11 | 0,35±0,36 |
| Relativo (%) |           |           |           |           |
| Experimental | 5,57±0,58 | 1,47±1,42 | 0,30±0,32 | 1,02±1,04 |
| Controle     | 5,22±1,08 | 1,37±1,43 | 0,36±0,32 | 1,06±0,99 |

Os resultados estão expressos como média ± DP, avaliados pelo teste Two-Way / ANOVA (n=8) com < 0,05.

mente, quando comparado ao grupo controle, durante e ao final dos dias de tratamento, ou seja, entre os dias 7-11 e dias 11-15 dias de tratamento.

**Figura 3** - Consumo de ração(g) de camundongos que receberam a dose diária de óleo essencial de *Ruta graveolens L.* na dose de 200mg/kg e do controle, durante 14 dias.



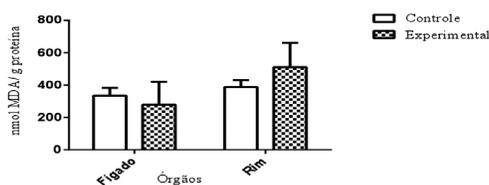
Os resultados estão expressos como média ± DP, avaliados pelo teste de Two-WaY / ANOVA (n=8).

\* Diferença significativa em relação ao grupo controle, p<0,05

## Ensaio Bioquímicos Não Enzimáticos

Avaliando os níveis de TBARS em fígado e rins dos camundongos dos grupos controle e experimental não foi observada nenhuma alteração significativa como mostra a Figura 4.

**Figura 4** - Parâmetros enzimáticos de camundongos que receberam a dose diária de óleo essencial de *Ruta graveolens L.* e controle, durante 14 dias.



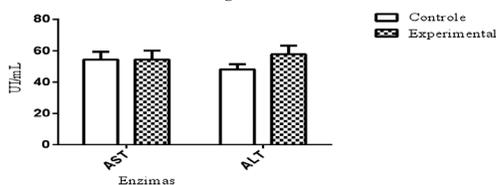
Os resultados estão expressos como média ± DP, avaliados pelo teste de Two-WaY / ANOVA (n=8).

## Parâmetros Bioquímicos Enzimáticos

Os resultados apresentados na Figura 5 representam a atividade das enzimas AST e ALT em camundongos dos grupos controle e experimental. Pode-se notar que a atividade

das enzimas AST e ALT não foram alteradas no tecido hepático e renal dos camundongos do grupo experimental, quando comparado ao grupo controle.

**Figura 5** - Parâmetros não enzimáticos de camundongos que receberam a dose diária de óleo essencial de *Ruta graveolens L.* e controle, durante 14 dias.



Os resultados estão expressos como média ± DP, avaliados pelo teste de Two-WaY / ANOVA (n=8).

## Análise Histológica

Avaliando os parâmetros histológicos renais (Tabela II) e hepáticos (Tabela III) dos camundongos tratados ao óleo essencial de *Ruta graveolens L.*, e comparado com os resultados do grupo controle, não foram encontradas alterações significativas.

## Discussão

A escassez de dados sobre avaliação de toxicidade mostra a necessidade de estudos que mostrem a segurança de utilização desses produtos pela população, além de detectar diferenças significativas no perfil farmacocinético e farmacológico/tóxico, bem como os efeitos sinérgico-aditivos (OUEDRAOGO, 2012). As plantas sintetizam compostos químicos que podem provocar reações no organismo. Dependendo da dosagem e tempo em que venham a ser utilizadas (OUEDRAOGO, 2012).

O acompanhamento da massa corporal do animal é um importante indicador para a avaliação da toxicidade de uma substância (JAHN; GÜNZEL, 1997). Nesse sentido, foram utilizados alguns parâmetros de toxicidade

**Tabela II** - Análise histológica do tecido renal de camundongos controles e experimentais tratados com o óleo essencial de arruda, durante 14 dias.

| GRUPOS/<br>PARAMETROS                 | CTL |   |   |   | EXP |   |   |   | Valor de p |
|---------------------------------------|-----|---|---|---|-----|---|---|---|------------|
|                                       | 0   | 1 | 2 | 3 | 0   | 1 | 2 | 3 |            |
| Espaço de filtração                   | 4   | 0 | 0 | 0 | 2   | 1 | 0 | 0 | 0,207      |
| Tumefação Celular Cortical            | 0   | 1 | 1 | 2 | 3   | 0 | 0 | 0 | 0,325      |
| Vacuolização                          | 4   | 0 | 0 | 0 | 3   | 0 | 0 | 0 | 0,325      |
| Células Eosinofílicas Medular         | 4   | 0 | 0 | 0 | 3   | 0 | 0 | 0 | 0,325      |
| Congestão vascular                    | 4   | 0 | 0 | 0 | 3   | 0 | 0 | 0 | 0,325      |
| Dilatação do Túbulo contorcido distal | 1   | 1 | 2 | 0 | 2   | 1 | 0 | 0 | 0,207      |

Os dados estão distribuídos quando ao número de animais que apresentaram o escore de 0 a 3

**Tabela III** - Análise histológica do tecido hepático de camundongos controles e experimentais tratados com o óleo essencial de arruda, durante 14 dias.

| GRUPOS/<br>PARÂMETROS       | CTL |   |   |   | EXP |   |   |   | Valor de P |
|-----------------------------|-----|---|---|---|-----|---|---|---|------------|
|                             | 0   | 1 | 2 | 3 | 0   | 1 | 2 | 3 |            |
| Hemorragia Intersticial     | 3   | 1 | 0 | 0 | 0   | 1 | 3 | 0 | 0,204      |
| Vacuolização citoplasmática | 1   | 2 | 1 | 0 | 0   | 1 | 1 | 2 | 0,409      |
| Células eosinofílicas       | 0   | 2 | 1 | 1 | 2   | 0 | 2 | 0 | 0,210      |
| Hipercromatismo             | 3   | 1 | 0 | 0 | 0   | 1 | 2 | 1 | 0,207      |
| Tumefação celular           | 0   | 4 | 0 | 0 | 2   | 0 | 2 | 0 | 0,310      |
| Congestão Vascular          | 0   | 4 | 0 | 0 | 2   | 0 | 2 | 0 | 0,310      |
| Megalocitose                | 3   | 1 | 0 | 0 | 3   | 1 | 0 | 0 | 0,279      |
| Necrose Tecidual            | 4   | 0 | 0 | 0 | 3   | 1 | 0 | 0 | 0,315      |

Os dados estão distribuídos quando ao número de animais que apresentaram o escore de 0 a 3.

dade, dentre eles, o controle do peso corporal, do consumo de ração e água, ocorrência de morte animal, além de peso dos órgãos. Durante os 14 dias de tratamento, nenhuma morte foi registrada, porém os animais do grupo experimental, expostos ao óleo essencial ao longo dos três primeiros dias de administração, apresentaram diminuição do peso corporal, associando com a diarreia observada nestes animais e ereção do pelo que se estendeu até o 5º dia de tratamento. Além do mais, ao longo dos 7º ao 11º dia de tratamento, o peso corporal continuava reduzido. Os resultados observados denotam indicativos de toxicidade, pois segundo Tofovic e Jackson (1999), Raza (2002) e Teo (2002), os sinais de toxicidade sistêmica são definidos a partir da redução na massa corporal dos animais experimentais. Outros

sinais de toxicidade podem se expressar pela alteração da massa relativa dos órgãos, alterações hematológicas e bioquímicas sanguíneas (GONZALES; SILVA, 2015).

Os pesos relativos e absolutos dos órgãos analisados não se mostraram alterados, o que representa ausência de toxicidade do óleo essencial nos órgãos analisados, sendo estes órgãos indispensáveis para metabolização e excreção de substâncias tóxicas quando presentes no organismo. De acordo com Martelli (2010), o fígado metaboliza uma enorme variedade de compostos, não só endógenos, mas, também, exógenos. Já, os rins, segundo Sampaio (2012), exercem importante papel depurador do sangue, excretando substâncias polares e hidrossolúveis. Assim sendo, alterações no tamanho dos rins podem ser de origem imunológica, inflamatória, infec-

ciosa, neoplásica, degenerativa, congênita e hereditária, o que não ocorreu nos animais tratados com óleo essencial de arruda. Esses resultados mostram um equilíbrio do peso dos animais correlacionados entre o peso corporal e de órgãos, demonstrando ausência de toxicidade nas vias metabólicas e de excreção.

Além da redução do desenvolvimento ponderal, a toxicidade sistêmica se manifesta através da redução nos consumos de água e ração, alterações de comportamento, apatia e má condição da pelagem, como a presença de pelos arrepiados (MELLO, 2001). Com base nesta informação, pode-se constatar um elevado consumo de água e baixo consumo de ração no período final do tratamento com óleo essencial de arruda, mostrando sinais de toxicidade.

Ação tóxica de uma substância pode, muitas vezes, comprometer alguns órgãos. Durante o metabolismo celular, a maior parte do oxigênio molecular sofre completa redução à água. Contudo, uma pequena parte do O<sub>2</sub> é convertida a produtos parcialmente reduzidos como o radical ânion superóxido, peróxido de hidrogênio e radicais hidroxila. Essas espécies, radicais ou não, são oxidantes potentes e podem causar danos teciduais, sendo coletivamente chamadas de espécies reativas de oxigênio (EROS) (BECHARA, 1994). Para se protegerem contra oxidações, os organismos dispõem de mecanismos químicos e enzimáticos. Um dos métodos para se quantificar os produtos da peroxidação lipídica é o método de análise da formação de substâncias que reagem ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). Este método consiste na análise dos produtos finais da peroxidação lipídica (peróxidos lipídicos, malondialdeído e outros aldeídos de baixo peso molecular) que, ao reagirem com o ácido 2-tiobarbitúrico (TBA), formam bases de Schiff (YAGI, 1976).

Os achados através da análise dos níveis

de peroxidação lipídica não mostraram resultado significativo nos níveis de TBARS no fígado do grupo experimental quando comparados ao grupo controle. Estes resultados mostram que o óleo essencial não foi capaz de causar danos na membrana celular dos tecidos, demonstrando não ser tóxico.

Dentre as provas bioquímicas diretas que medem o dano hepatocelular, aquelas que medem a presença de compostos intracelulares no espaço extracelular, estão as determinações das aminotransferases: aspartatoaminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT), indicadoras de integridade celular (COLICHON; TOREZAN FILHO; STRAUSS, 2001).

As transaminases são indicadores sensíveis de dano hepático, particularmente quando é uma lesão aguda e hepatite aguda. Incluem a AST (aspartatoaminotransferase) e a ALT (alanina aminotransferase). A AST existe também em outros tecidos como o coração, músculo esquelético, rins, cérebro, pâncreas e, portanto, é muito menos específica de lesão hepática do que a ALT que existe primariamente no fígado. O aumento dessas enzimas é um dos marcadores mais sensíveis de doenças hepáticas induzidas por drogas, que abrange um espectro que vai desde alterações bioquímicas e estruturais adaptativas até à lesão hepática propriamente dita (GAYOTTO; VIANNA; LEITÃO; 2001). Na análise da toxicidade subcrônica dos animais, não houve alteração significativa em relação aos níveis de AST e ALT no soro dos animais expostos ao óleo essencial de *Ruta graveolens* L. comparado aos animais controle, demonstrando ausência de toxicidade enzimática.

O fígado é muito suscetível à ação de compostos químicos. Entre os fatores que levam a essa suscetibilidade, cita-se o fato de qualquer substância administrada via oral, que sofre absorção no trato gastrointestinal ser

transportada primeiramente para o fígado, pela veia porta hepática. Assim sendo, um agente tóxico vai primeiramente passar pelo fígado para ser distribuído na corrente sanguínea (LORA, 2007). O exame histopatológico dos órgãos como rins e fígado não detectou alteração tanto no grupo controle quanto ao tratado com o óleo essencial. Nos rins, o óleo essencial não causou alterações histológicas nos animais, ou seja, não foram encontrados focos de inflamação ou fibrose, congestão ou áreas de hemorragia. A arquitetura lobular foi preservada, o córtex apresentou glomérulos regularmente distribuídos, cápsula de Bowman, com espaço de refração artefactual além de tufos capilares finos. Os túbulos contorcidos proximais e distais e o segmento de ducto coletor não evidenciaram alterações. Em relação ao fígado, não foram detectadas alterações no tecido do grupo controle quando comparado ao tratado com óleo essencial, ou seja, não apresentou células eosinofílicas no tecido hepático; não foi evidenciada presença de hemorragia e a obstrução da artéria hepática; não foi observada formação de vacúolo ao longo do tecido avaliado, além de não ser evidenciada necrose tecidual.

Estes conjuntos de resultados histopatológicos confirmam, em conjunto com os parâmetros bioquímicos, que não houve alterações metabólicas nestes órgãos induzidos pelo óleo essencial de arruda

Por meio da análise utilizada para caracterização da composição química do óleo essencial, foi vista uma boa pureza do mesmo, quando comparado com os dados da literatura

(TATTJE, 1970; CLASSEN and KNOBLOCH, 1985; ABOUTABL, 1988; YAACOB, 1989). Esse resultado é baseado no trabalho de Zanella (2011) que realizou análise de óleo essencial de arruda coletada na cidade de Erechim/RS, onde os compostos encontrados no óleo essencial obtido no estudo estão de acordo com os citados na literatura. Frente aos resultados obtidos, pode-se constatar leves sinais de toxicidade causados pelo óleo essencial da arruda frente ao peso corporal e ao consumo de água e ração, porém não se pode descartar que podem estar relacionados a outros fatores que não a toxicidade do óleo essencial, como por exemplo, a irritação do aparelho digestivo devido à aplicação do óleo essencial ou pela alta concentração de óleo ingerida. Os picos presentes no óleo essencial de *Ruta graveolens* L. não foram suficientes para causar danos em tecidos dos rins e fígados, diferença nas enzimas AST e ALT, não levando os animais à morte.

## Conclusão

A toxicidade oral subcrônica do óleo essencial de *Ruta graveolens* L., na dose de 200 mg/kg, é relativamente baixa, uma vez que nenhum sinal de toxicidade sistêmica foi expresso a ponto de comprometer a saúde geral ou mesmo levar a óbito os animais tratados. Contudo, sua capacidade em alterar o consumo de água e ração, afetando a evolução ponderal, deve ser considerada em estudos futuros.

## REFERÊNCIAS

ABOUTABL, E. A.; ELAZZOUNY, A. A.; HAMMERSCHMIDT, F. J. The essential oil of *Ruta graveolens* L. growing in Egypt. **Scientia Pharmaceutica**, n. 56, p. 121-124, 1988.

BECHARA, E. J. H. Superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase activities in muscle and lymphoid organs of sedentary and exercise-trained rats. **Physiology and Behavior**, v. 5, n. 56, p. 1095-1096, 1994.

CLAßEN, B.; KNOBLOCH, K. Über die ätherischen Öle der Weinraute (*Ruta graveolens* L.). **Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung**, v. 181, n. 1, p. 28-31, 1985.

COLICHON, Y. A.; TOREZAN FILHO, M. A.; STRAUSS, E. Métodos diagnósticos: provas de função hepática. In: GAYOTTO, L. C. C., ALVES, V. A. F. **Doenças do fígado e vias biliares**. São Paulo, Atheneu, v. 1, p. 139-150, 2001.

GAYOTTO, L. C. C.; VIANNA, M. R.; LEITAO, R. M. C. Fígado e Drogas. **Doenças do fígado e vias biliares**, São Paulo: Atheneu, 2001.

GONZÁLEZ, F. H. D.; SILVA, S. C. **Introdução à Bioquímica Clínica Veterinária**. Editora da UFRGS, Porto Alegre, 2003.

HALE, A. L.; MEEPAGALA, K. M.; OLIVA, A.; ALIOTTA, G.; DUKE, S. O. Phytotoxins from the leaves of *Ruta graveolens*. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, n. 52, p. 3345-3349, 2004.

HORNOK, L. Rue (*Ruta graveolens* L.). In: Cultivation and Processing of Medicinal Plants. John Wiley and Sons, Budapest. <[http://www.esalq.usp.br/siesalq/pm/monografia\\_ruta\\_graveolens.pdf](http://www.esalq.usp.br/siesalq/pm/monografia_ruta_graveolens.pdf)>., p. 128-131, 1992

JAHN, A. I.; GÜNZEL, P. K. H. The value of spermatology in male reproductive toxicology: do spermatologic examinations in fertility studies provide new and additional information relevant for safety assessment?, **Reproductive Toxicology**, v.11, n. 2-3, p.171-178, 1997.

KHARE, C. P. Indian Medicinal Plants: An Illustrated Dictionary, **Springer Science Business Media**, New York, 2007.

KORDALI, S.; CAKIR, A.; OZER, H.; CAKMAKCI, R.; KESDEK, M.; METE, E. Antifungal, phytotoxic and insecticidal properties of essential oil isolated from Turkish *Origanum acutidens* and its three components, carvacrol, thymol and cymene. **Bioresource Technology**, n. 99, v. 18, p. 8788-8795, 2008.

LORA, J. **Avaliação da toxicidade aguda do extrato hidroalcoólico de folhas de Eugenia uniflora L. (MYRTACEAE)**. Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciências Ambientais da Universidade do Extremo Sul Catarinense para obtenção do Título de Mestre em Ciências Ambientais, Criciúma, 2007.

LUNA, L. G. Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology, **McGraw-Hill**, New York, 1968.

MARTELLI, A. Metabolismo Hepatocelular dos Lipídeos: uma Abordagem Clínica e Histopatológica do Acúmulo Intracelular de Lipídeos (Esteatose) do Parênquima Hepático Induzida pelo Álcool, **Ciências Biológicas**, n.12, v. 1, p. 55-59, 2010.

MEJRI, J.; ABDERRABBA, M.; MEJRI, M. Chemical composition of the essential oil of *Ruta chalepensis* L: Influence of drying, hydro-distillation duration and plant parts, **Industrial Crops and Products**, v. 32, p 671-673, 2010.

MELLO F. B. **Estudo dos efeitos de Lantana camara (Verbenaceae) sobre a fertilidade e reprodução de ratos**. Dissertação de Mestrado em Ciências Veterinárias Porto Alegre, 2001.

OGA, S. et al. **Fundamentos de Toxicologia**, São Paulo: Atheneu, 2008.

OUEDRAOGO, M.; BAUDOUX, T.; STÉVIGNY, C.; NORTIER, J.; COLET, J. M.; EFFERTH, T.; ZHOG, J.; CHAN, K.; SHAW, D.; PELKONEN, O.; DUEZ, P. Review of current and “omics”

- methods for assessing the toxicity (genotoxicity, teratogenicity and nephrotoxicity) of herbal medicines and mushrooms, **Journal of Ethnopharmacology**, v. 140, n. 3, p. 492-512, 2012.
- OKAWA, H.; Nobuko, O.; Yagi, K. Assay for lipid peroxidation in animal tissues by thiobarbituric acid reaction, **Analalitical Biochemistry**, v. 95, n. 2, p. 351-358, 1979.
- RATHEESH, M.; SINDHU, G.; HELEN, A. Anti-inflammatory effect of quinoline alkaloid skimmianine isolated from *Ruta graveolens* L. **Inflammation Research**, v. 62, n. 4, 2013.
- RAZA, M.; SHABANAH, A. O.; HADIYAH, T. M.; MAJED, A. A. Effect of prolonged vigabatrin treatment on haematological and biochemical parameters in plasma, liver and kidney of Swiss albino mice, **Scientia Pharmaceutica**, v.70, n. 2, p. 135-145, 2002.
- SAMPAIO, J. et. al. Estudo da genotoxicidade in vitro e in vivo após exposição aguda e subcrônica de extratos aquosos de *Ilex paraguariensis* obtidos por infusão, **Revista Brasileira de Biociências**, v. 10, n. 4, p. 462-467, 2012.
- SEAK, C. J.; LIN, C. C. *Ruta graveolens* intoxication, **Clinical Toxicology**, v. 45, n. 2, p. 173-175, 2007.
- SEFIDKON, F.; ABBASI, K.; JAMZAD, Z.; AHMADI, S. The effect of distillation methods an stage of plant growth on the essential oil content and composition of *Saturejarechingeri*, **Food Chemistry**, v. 100, n. 3, p. 1054-1058, 2007.
- SILVA, R. O. **Avaliação da toxicidade aguda e subaguda do extrato hidroalcoólico da própolis vermelha**. Dissertação (Mestrado em Saúde e Ambiente), 2015.
- TATTJE, H. E. Die vluchtige olie van *Ruta graveolens* L. (I). **Pharmaceutisch Weekblad, Scientific Edition EVISA**, p. 105, 1970.
- TEO, S.; STIRLING, D.; THOMAS. S.; HOBERMAN, A.; KIORPES, A.; KHETANI, V. A 90-day oral gavage toxicity study of p-methylphenidate and d,l-methylphenidate in Sprague-Dawley rats, **Toxicology**, v. 179, n. 3, p. 183-196, 2002.
- TOFOVIC, S. P.; JACKSON, E. K. Effects of long-term caffeine, **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 33, n. 3, p. 360-366, 2009.
- YAACOB, K.; ABDULLAH, C. M.; JOULAIN, D. Essential oil of *Ruta graveolens* L. **Journal of Essential Oil Research**, v. 1, n. 5, p. 203-207, 1989.
- YAGI, K. A. A simple fluorimetric assay for lipoperoxide in blood plasma, **Biochemistry and Medicine**, v. 15, n. 2, p. 212-216, 1976.
- ZANELA, C. A. ***Ruta graveolens* L. (Arruda) sobre os déficits de memória induzido por escopolamina em camundongos**. Dissertação apresentada ao Curso de Farmácia da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões. Erechim, 2011.

