



ORIGINAL ARTICLE

TOXICITY SUBCRONIC STUDY OF *PHYLLANTHUS TENELLUS* ROXB.: BEHAVIORAL EVALUATE

ESTUDO DE TOXICIDADE SUBCRÔNICA DE *PHYLLANTHUS TENELLUS* ROXB.: AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL

ESTUDO DE TOXICIDAD SUBCRÔNICA DE *PHYLLANTHUS TENELLUS* ROXB.: EVALUACIÓN COMPORTAMENTAL

Tássia Campos de Lima e Silva¹, Ivone Antônia de Souza², Ednaldo Cavalcante de Araújo³, Elba Lúcia Cavalcanti de Amorim⁴, Tiago de Lima Barros Gomes⁵, Jorge Veras Filho⁶

ABSTRACT

In absence of studies that support a satisfactory toxicological control, it was objective of this research to evaluate the behaviors alterations in mice from subchronic toxicity studies of the hydroalcoholic extract of *Phyllanthus tenellus* Roxb. Daily expositions in mice of the extract of *Phyllanthus tenellus* had been fulfilled by intraperitoneous injection way in 60 days. Three groups from five mice previously marked, weighed and kept the cares of feeding, illumination had been used and room. The groups had been divided in G1 (managed the extract 125mg/kg of the animal), G2 (managed the extract 250mg/kg of the animal) and G3 (group has controlled, being managed only solution physiological 0.9% of NaCl), evaluating daily the mice regarding to toxicity signals. Behaviors alterations for the two established doses had been observed, however the group that received the biggest dose suffered to greater alterations being most important: respiratory frequency reduction, prostration, edema of snout, piloerection, hydrocele and death, thus considering the toxic plant for subchronic use depending on its used concentration. **Descriptors:** plants medicinal; *phyllanthus*; toxicity; evaluation.

RESUMO

Tendo em vista a ausência de estudos que suportem um controle toxicológico satisfatório da espécie *Phyllanthus tenellus* Roxb, este estudo teve como objetivo avaliar as alterações comportamentais em camundongos, a partir de estudos da toxicidade subcrônica do extrato hidroalcoólico de *Phyllanthus tenellus* Roxb. Foram realizadas exposições diárias ao extrato de *Phyllanthus tenellus* por via intraperitoneal, durante 60 dias, em três grupos de cinco camundongos previamente marcados, pesados e mantidos os cuidados de alimentação, iluminação e acomodação. Os grupos foram divididos em G1 (administrado o extrato a 125mg/kg do animal), G2 (administrado o extrato a 250mg/kg do animal) e G3 (grupo controle, administrado apenas solução fisiológica 0,9% de NaCl), avaliando diariamente os camundongos com relação aos sinais de toxicidade. Foram observadas alterações comportamentais para as duas doses estabelecidas, no entanto, o grupo que recebeu a maior dose sofreu maiores alterações sendo as mais importantes: diminuição da frequência respiratória, prostração, piloereção, edema de focinho, hidrocele e óbito, considerando assim a planta tóxica para uso subcrônico dependendo da sua concentração utilizada. **Descritores:** plantas medicinais; *phyllanthus*; toxicidade; avaliação.

RESUMEN

Debido la ausencia de los estudios que apoyan un control toxicológico satisfactorio, el objetivo de este estudio fue evaluar las alteraciones de los comportamientos en ratones a partir de estudios de la toxicidad subcrónica del extracto hidroalcoólico del *Phyllanthus Tenellus* Roxb. Fueron realizadas exposiciones diarias al extracto del tenellus del P. por vía intraperitoneal, durante 60 días, en tres grupos de cinco ratones previamente marcados, pesados y mantenidos los cuidados de la alimentación, iluminación y adaptación. Los grupos fueran dividido en G1 (administrado el extracto 125mg/kg del animal), G2 (administrado el extracto 250mg/kg del animal) y G3 (el grupo control, administrado sólo solución fisiológica 0.9% de NaCl); evaluando diariamente los ratones con relación a las señales de toxicidad. Fueron observadas alteraciones de los comportamientos para las dos dosis establecidas, en tanto el grupo que recibió la dosis más grande sufrió mayores alteraciones siendo las más importantes: disminución de la frecuencia respiratoria, postración, edema del hocico, piloerección, hidrocele y muerte. Así considera la planta tóxica para el uso subcrónica dependiendo de su concentración utilizada. **Descritores:** plantas medicinales; *phyllanthus*; toxicidad; evaluación.

¹Enfermeira. Pesquisadora Associada do Laboratório de Produtos Naturais – LAPRONAT – do Departamento de Farmácia da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE – Recife (PE), Brasil. Ex-bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico/CNPq/Brasil. E-mail: tassiacampos@yahoo.com.br; ²Doutora em Farmacologia pela Universidade de Coimbra – Portugal. Professora da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE – Recife (PE), Brasil. Professora Colaboradora do Programa de Pós-graduação da Universidade Federal da Paraíba – UFPB – João Pessoa (PB), Brasil. E-mail: ias10@pop.com.br; ³Enfermeiro. Professor Doutor do Departamento de Enfermagem da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE – Recife (PE), Brasil. Pós-doutorando em Sorbonne – Paris, França (FR). E-mail: ednenjp@gmail.com; ⁴Engenheira Química. Doutora em Química Orgânica pela Université de Paris VI – Pierre et Marie Curie. Professora da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE – Recife (PE), Brasil. E-mail: elba@ufpe.br; ⁵Estudante de Graduação em Farmácia. Universidade Federal de Pernambuco – UFPE – Recife (PE), Brasil. Bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico/ CNPq/ Brasil. E-mail: tiago_lbg@hotmail.com; ⁶Farmacêutico. Graduado pela Universidade Federal de Pernambuco – UFPE – Recife (PE), Brasil. Ex-bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico/CNPq/Brasil. E-mail: jorge.veraspe@gmail.com

INTRODUÇÃO

O gênero *Phyllanthus* (Euphorbiaceae) encontra-se distribuído em regiões tropicais e subtropicais do mundo e tem sido utilizado na medicina popular para tratar problemas renais, distúrbios urinários, infecções intestinais, diabetes e Hepatite B.¹ Entre as espécies utilizadas pelo homem, destaca-se a *Phyllanthus tenellus* Roxb., conhecida popularmente no Brasil como <<quebra-pedra>>, <<arrebenta-pedra>> ou <<erva-pombinha>>, devido ao seu uso medicinal como auxiliar na eliminação de cálculos renais. É encontrada como invasora em áreas cultivadas, em terrenos baldios, canteiros de jardins e às margens de calçadas da via pública, que possuem em comum as características de serem encontradas em locais úmidos.

Segundo a literatura, são citadas as atividades imunomodulatória², analgésica³ e anti-hepatite⁴ e alguns grupos químicos comuns em outras espécies do gênero. Sob o ponto de vista químico, algumas classes de compostos já foram evidenciadas nas espécies selecionadas, porém nenhuma associação foi feita com a sua toxicidade. Uma forma de complementar estudos fitoquímicos é associá-los a ensaios e, laboratórios de produtos naturais têm inserido em suas rotinas ensaios biológicos simples, no intuito de selecionar e monitorar pesquisas com extratos de plantas na procura de substâncias bioativas.⁵

Com relação à composição química de *Phyllanthus tenellus* Roxb. foram encontrados dois trabalhos, onde se dispunha de algumas informações. No primeiro⁶, foi evidenciada a compartimentação de compostos fenólicos por meio da observação por microscopia ótica e eletrônica dos vacúolos, no qual os compostos se acumulavam após a impregnação com sulfato de cobre. No segundo⁷, foi evidenciada a presença de muitas substâncias comuns no gênero: nirantina, nirtretalina, hiniquinina e geranina, pertencentes ao grupo dos alcalóides. As características macroscópicas de *Phyllanthus tenellus* são determinantes para distinguir de outras espécies de *Phyllanthus* apesar de serem muito distintas quanto às características anatômicas para alguns órgãos vegetativos, muitos usuários tendem a confundir as espécies.

Quanto aos dados toxicológicos, a espécie estudada não possui publicações até o momento, tornando-se fundamental a realização do estudo toxicológico.

Diante do exposto, este estudo tem como objetivo avaliar as alterações comportamentais

em camundongos, a partir de estudos da toxicidade subcrônica do extrato hidroalcoólico de *Phyllanthus tenellus* Roxb.

Descrição botânica do *Phyllanthus tenellus* Roxb.

Phyllanthus tenellus é uma planta herbácea, glabra, com até 60 cm de altura, caules simples ou ramificados, os principais delgados e sem folhas, com ramos ou râmulos laterais filiformes, estes portando folhas. Folhas alternas dísticas, simples, membranáceas, glabras, elípticas a elíptico-ovaladas, de ápice obtuso e base obtusa a aguda, margem lisa; lâminas discolores, face adaxial de cor verde e face abaxial verde-pálida. Nervuras visíveis, não proeminentes, com exceção da nervura principal na face abaxial. Venação broquidódroma.⁸

Flores unissexuais, as femininas desenvolvendo-se primeiro, com pedicelos muito mais longos do que os das flores masculinas; flores femininas com até 0,3 cm de diâmetro, com cinco tépalas obovaladas, de margem escarioso-esbranquiçada e disco inteiro; ovário tricarpelar, trilocular, cada lóculo bispérmico; três estiletos, cada um bifido na porção apical; pedicelo com 0,1 cm a 0,8 cm de comprimento. Flores masculinas com cinco tépalas suborbiculares, de margem escariosa e disco pentalobado, cada lobo reniforme; cinco estames com filetes livres entre si; pedicelos com 0,05 cm a 0,15 cm de comprimento.⁸

Frutos esquizocárpicos, do tipo tricoca, depresso-globosos, com 0,1 cm a 0,2 cm de diâmetro, expostos para a região adaxial dos ramos, separando-se em carpídios (cocas); exocarpo verde-oliva, membranáceo e endocarpo verrucoso; duas sementes por lóculo, triangulares, com as duas faces ventrais retas e a face dorsal arredondada, verrucosa, verrugas proeminentes, com ápice arredondado, com ou sem papilas; pedicelos cilíndricos, com até 0,9 cm de comprimento na maturação; cálice persistente, membranáceo, desenvolvido, atingindo metade da altura do fruto.⁸

MÉTODO

• Coleta do *Phyllanthus tenellus* Roxb.

Trata-se de uma planta de fácil disseminação, encontrada em abundância na natureza, em solos com muita umidade, em bases de muros de jardins e em via pública. A espécie foi coletada no bairro da Cidade Universitária da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE – Recife (PE), Brasil, por uma das autoras desse estudo, e logo após, foi

Silva TCL, Souza IA, Araújo EC, Amorim ELC et al.

Toxicity subchronic study of *phyllanthus tenellus* roxb. ...

levada para ser identificada pelo Dr. Ulysses Paulino de Albuquerque e o Prof. Marcos José da Silva, ambos da Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE – Recife (PE), Brasil.

As amostras coletadas apresentavam um aspecto sadio, com folhas e caules verde-claros, não apresentavam qualquer sinal de fungos ou qualquer dano à planta que pudessem alterar os resultados dessa pesquisa.

• Processamento das plantas e obtenção de extratos brutos

As partes aéreas da planta (folhas, caules e frutos) foram secas à temperatura ambiente e trituradas em processador industrial. Em seguida, foram submetidas à extração com etanol 96°GL até esgotamento. A cada período de sete dias o material era filtrado e submetido à nova extração em um total de quatro extrações. Os filtrados foram concentrados em rota-evaporador e armazenados em frasco âmbar em dessecador.

• Seleção dos animais

Foram utilizados nove grupos com cerca de seis camundongos albinos *swiss* (*Mus musculus*) machos com 60 dias, com pesos entre 25 a 35g. Os animais foram adquiridos

no biotério do Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE – Recife (PE), Brasil.

• Toxicidade subcrônica

A toxicidade subcrônica advém a partir da determinação da DL₅₀ de estudos anteriores, onde foram estabelecidas várias doses obtidas de resultados entre a dose mínima de tolerância e a dose máxima.

Os principais objetivos dos testes de toxicidade subcrônica são os de estabelecer os níveis nos quais não se observa os efeitos tóxicos, identificar e caracterizar os órgãos afetados e a severidade após exposições repetitivas, examinando também os efeitos após o período de tratamento e determinar se o efeito foi devido a um acúmulo da substância ou não.⁹

Foram realizadas exposições repetidas dos camundongos ao extrato de *P. tenellus* por via intraperitoneal. Utilizaram-se três grupos de cinco camundongos albinos *swiss* (*Mus musculus*) machos com 60 dias de nascidos e com peso entre 25 a 35g (Tabela 1).

Tabela1: Relação peso inicial x peso final dos camundongos. Recife, 2007.

	PESO INICIAL	PESO FINAL	MÉDIA	DP
GRUPO 1	40	41,95	39,83	±2,85
GRUPO 2	34,74	46,33	39,92	±8,15
CONTROLE	28,25	45,13	37,8	±7,65

Os camundongos foram previamente marcados, pesados e sendo mantidos em gaiolas de polipropileno, em condições controladas de iluminação (ciclo de 12 horas claro/escuro) e temperatura de 22°C ± 2°C, permaneceu sem alimento por um período de 12 horas antes da administração do extrato e recebeu água *ad libidum*. O extrato bruto foi solubilizado em solução fisiológica 0,9% de NaCl (p/v) e *tween* 80 0,2% (v/v).

Os grupos foram divididos em G1 (o qual foi administrado o extrato a 125mg/kg do animal), G2 (administrado o extrato a 250mg/kg do animal) e G3 (grupo controle, sendo administrado apenas solução fisiológica 0,9% de NaCl).

O teste foi realizado num período de 60 dias sendo os camundongos avaliados diariamente com relação aos sinais de toxicidade (tendo como parâmetros mais comuns modificações no consumo da ração, peso, modificações da cor e textura dos pêlos,

alterações respiratórias e circulatórias, anormalidades motoras e de comportamento e aumentos macroscópicos de massa de tecidos). As reações comportamentais também foram verificadas durante todo o período de tratamento.

Nesse tipo de ensaio esteve um grupo controle negativo que recebeu a mesma avaliação do grupo teste com a mesma frequência.

• Bioética

Esta pesquisa teve seu projeto aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animais da Universidade Federal de Pernambuco – CEEA/UFPE – Recife (PE), Brasil, processo Nº. 009440/2006-48, estando em conformidade com as Normas Éticas elaboradas pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e pela legislação em vigor (Lei de Crimes Ambientais Nº. 9605 – de 12/02/1998 – Art. 32; Regulamentação da Lei de Crimes

Ambientais – Decreto 3.179 de 21/09/1999 – Art. 17), visando à responsabilidade de proteger e promover o bem-estar dos animais usados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram analisadas alterações comportamentais diariamente nos camundongos, principalmente durante e após a administração do extrato, sendo resumidas semanalmente junto à análise do peso. No primeiro dia de observação não se encontrou nenhuma alteração relevante. A partir da primeira semana os animais submetidos ao teste de toxicidade se encontravam em estado geral regular, sem alterações expressivas de peso. Verificou-se excreção fecal de aspecto pastoso e discreta distensão abdominal.

Durante a segunda semana o grupo que recebeu a maior dose do extrato (G2 – 250mg/kg do animal) apresentou sinais de agressividade, piloereção, distensão abdominal, prostração e diminuição da frequência respiratória em três animais do referente grupo, ocorreu nesta mesma semana o óbito de um destes animais. O grupo que recebeu a menor dose do extrato (G1 – 125mg/kg do animal) não foi observada nenhuma alteração relevante, no entanto houve um óbito neste grupo. Já o grupo controle (G3) não apresentou alterações no padrão comportamental nem de peso durante a semana.

Na terceira semana foi visto que os animais do G1 e G2 se encontraram com discreta palidez, distensão abdominal, excreção fecal pastosa e deambulação alterada. Após administração do extrato, os animais apresentaram frequência respiratória diminuída (dispnéia). Tornaram-se nítida a palidez acentuada, piloereção e perda de peso em dois deles no grupo com maior dose.

Durante a quarta semana ocorreu o óbito de um animal do G2, além das considerações anteriores, fezes de coloração amarelada e perda de peso acentuada. Nos demais grupos observaram-se uma perda moderada de peso. Enquanto que na quinta semana foi observada no G1 e G3 uma recuperação de peso aproximado do peso inicial dos animais. As considerações anteriores do G1 se mantiveram. Já no G2 foi observado um aumento de peso acentuado, além disso, aumento da agressividade e da libido, presença de edema de focinho, ereção de cauda, piloereção, distensão abdominal, palidez, aumento dos episódios de urina (com pouco volume) e hidrocele.

A sexta semana marcou o G1 com um aumento de peso, palidez, alteração de marcha, distensão abdominal e discreta piloereção, no entanto, as fezes e a urina permaneciam com aspectos normais. Enquanto que no G2 foi observado maior aumento de peso, apresentando edema de focinho e hidrocele acentuada, distensão abdominal, palidez, piloereção, abdome distendido, ereção caudal, agressividade e discreta exoftalmia, a diurese manteve-se em pequeno volume. O G3 permaneceu sem alterações.

Durante a penúltima semana (sétima) houve um aumento das reações do G1, se equiparando, praticamente, com as alterações do G2. Foi observado hidrocele, discreto edema de focinho e exoftalmia, alteração da libido, palidez, alteração de marcha, distensão abdominal, piloereção, diminuição abrupta da diurese e fezes pastosas. O G2 foi observado hidrocele e edema de focinho acentuado, distensão abdominal severa, palidez, piloereção, queda de pêlo, abdome distendido, ereção caudal, alteração de marcha, agressividade intensa (alguns animais possuíam grandes ferimentos), exoftalmia mais aparente, alteração da libido, fezes pastosas de coloração esverdeada, a respiração superficial dos animais (dispnéia), a diurese manteve-se em pequeno volume de aspecto mais concentrado. Além disso, os referidos grupos estavam mais estáticos, enquanto que o G3 permanecia mais ativo que os demais grupos.

Durante a última semana (oitava), os G1 e G2 mantiveram as mesmas alterações, no entanto não foram observados episódios de diurese durante a pesagem dos animais, o que era bastante comum e continuou ocorrendo com o G3.

Por meio de pesquisa com a literatura se observaram que foram realizados estudos experimentais anteriores com outras espécies de *Phyllanthus*. Entretanto, não especificamente com toxicidade subcrônica, contudo como foram realizadas administrações contínuas e duradouras pôde-se obter que a toxicidade e a atividade antimalárica do extrato de *P. niruri* foram investigadas em um estudo realizado por Mesia et al.¹⁰ Após a administração oral de 200 mg/Kg do extrato do *Phyllanthus* houve supressão da parasitemia na ordem de 73%. Não foi observado efeito tóxico ou mortalidade nos ratos tratados e não foram observadas lesões nos exames histopatológicos dos animais no coração, pulmão, baço, rins, fígado, intestino e cérebro.

O efeito do extrato aquoso de *P. niruri* sobre o vírus da Hepatite B foi observado em um estudo realizado por Venkateswara,

Millman e Blumberg.¹¹ O extrato inibe a DNA polimerase viral e liga o antígeno ao vírus no teste realizado para atividade antiviral. O estudo também demonstrou não haver toxicidade do extrato sobre os animais testados.

Estudos realizados por Yeh et al¹² com *P. amarus* sugeriram que ele podia ser uma alternativa no tratamento da infecção pelo vírus da hepatite B; em outro estudo Srividya e Periwal¹³ avaliaram em humanos atividades diurética, hipotensora e hipoglicemiante de *P. amarus*; efeitos antimutagênico e anticarcinogênico do extrato aquoso de *P. amarus* foi estudado em ramsters¹⁴; atividade anticarcinogênica e antitumoral de *P. amarus* demonstrada contra o desenvolvimento de sarcoma induzido por 20-metilcolantreno em camundongos¹⁵; atividade antimutagênica *in vivo* e *in vitro* do extrato metanólico de *P. amarus* foi verificada por Raphael, Sabu e Kuttan¹⁶ utilizando-se cepas de *Salmonella typhimurium*; o poder hipoglicemiante do extrato metanólico de *P. amarus* também foi demonstrado nesse estudo.

A ação do extrato metanólico de *P. amarus* sobre o sistema gástrico foi observada em outro estudo por Raphael e Kuttan¹⁷, mas não demonstraram em suas observações e conclusões os efeitos tóxicos e/ou nocivos prováveis pelo uso do extrato da espécie. Alguns estudos evidenciaram óbitos dos animais utilizados. No entanto, não se atribuiu o fator do óbito com o uso do extrato.



Figura 1. Camundongo ferido, após ação agressiva. Apresenta distensão abdominal. Fonte: Arquivo pessoal.



Figura 2. Camundongo apresentando ereção de cauda. Fonte: Arquivo pessoal.



Figura 3. Camundongo apresentando palidez, edema de focinho e discreta exoftalmia. Fonte: Arquivo pessoal.



Figura 4. Camundongo apresentando piloereção. Fonte: Arquivo pessoal.



Figura 5. Camundongo apresentando hidrocele. Fonte: Arquivo pessoal.

CONCLUSÕES

Levando-se em consideração as alterações comportamentais dos camundongos analisados no teste de toxicidade subcrônica e comparando os resultados com o teste de toxicidade aguda de estudos anteriores, observou-se que o extrato pode não possuir um efeito tóxico/letal de forma aguda como citado na literatura, no entanto, utilizando-se o extrato de forma subcrônica, este tende a ter efeitos muito tóxicos ou até letais, dependendo da concentração utilizada.

No teste de toxicidade subcrônica observaram-se alterações comportamentais para as duas doses estabelecidas, entretanto o grupo que recebeu a maior dose sofreu maiores alterações sendo as mais importantes: diminuição da frequência respiratória, prostração, piloereção, edema de focinho, hidrocele e óbito.

AGRADECIMENTO

• Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico/PIBIC/CNPq, pela concessão da bolsa de estudos.

REFERÊNCIAS

1. Calixto JB. Biodiversidade como fonte de medicamentos. Rev Ciência e Cultura Temas e Tendências SBPC. 2003; 55(3): 37-39.
2. Ignácio SRN, Ferreira JLP, Almeida MB, Kubelka CF. Nitric oxide production by murine peritoneal macrophages *in vitro* and *in vivo* treated with *Phyllanthus tenellus* extracts. J Ethnopharmacol. 2001; 74:181-7.
3. Santos ARS, Cechinel Filho V, Viana AM, Moreno FN, Campos MM, Yunes RA et al. Analgesic effects of callus culture extracts from selected species of *Phyllanthus* in mice. J of Ethnopharmacology. 1994; 46:755-759.
4. Shead A, Vickery K, Pajkos A, Medhurst R, Freiman J, Dixon R et al. Effects of *Phyllanthus* plant extracts on duck hepatitis B virus *in vitro* and *in vivo*. Antiviral Research. 1992; 18:127-138.
5. Barbosa-Filho JM, Vasconcelos THC, Alencar AA, Batista LM, Oliveira RAG, Guedes DN, Falcão HS, Moura MD, Diniz MFFM, Modesto-Filho J. Plants and their active constituents from South, Central, and North America with hypoglycemic activity. Rev Bras Farmacogn. 2005;15:392-413.
6. Santiago LJM, Louro RP, Oliveira DE. Compartmentation of phenolic compounds and phenylalanine ammonia-lyase in leaves of *phyllanthus tenellus* Roxb. and their Induction by Copper Sulphate. Annals of Botany. 2000 Nov.; 86(5):1023-32.
7. Huang Ray-Ling, Huang Yu-Ling, Ou Jun-Chih, Chen Chien-Chih, Hsu Feng-Lin, Chang Chungming Chang. Screening of 25 compounds isolated from *Phyllanthus* species for anti-human hepatitis B virus *in vitro*. Phytotherapy Research. 2003 May; 17(5):449-53.
8. Silva MJ, Sales MF. O gênero *Phyllanthus* L. (*Phyllanthaceae* - *Euphorbiaceae* Juss.) no bioma Caatinga do estado de Pernambuco - Brasil. Rodriguésia. 2004; 55(84):101-26.
9. Oga S. Fundamentos de toxicologia. 2ª ed. São Paulo: Atheneu; 2003. p. 01-77.
10. Mesia LTK, Ngimbi NP, Chrimwami B, Cimanga K, Debruyne T, Apers S et al. In-vitro antimalarial activity of *cassia occidentalis*, *morinda morindoides* and *phyllanthus amarus*. Ann Trop Med Parasitol. 2001 Jan.; 95(1):47-57.
11. Venkateswaran PS, Millman I, Blumberg BS. Effects of an extract from *Phyllanthus amarus* on hepatitis B and woodchuck hepatitis viruses: *in vitro* and *in vivo* studies. Proc Natl Acad Sci USA. 1987 Jan.; 84(1):274-8.
12. Yeh SF, Hong CY, Huang YL, Liu TY, Choo KB, Chou CK. Effect of an extract from *Phyllanthus amarus* on hepatitis B surface antigen gene expression in human hepatoma cells. Antiviral Res. 1993 Mar.; 20(3):185-92.
13. Srividya N, Periwal S. Diuretic, hypotensive and hypoglycaemic effect of *Phyllanthus amarus*. Indian J Exp Biol. 1995 Nov.; 33(11):861-4.
14. Sripanidkulchai B, Tattawasart U, Laupatarakasem P, Vinitketkumneun U, Sripanidkulchai K, Furihata C, Matsushima T. Antimutagenic and anticarcinogenic effects of *Phyllanthus amarus*. Phytomedicine. 2002 Jan.; 9(1):26-32.
15. Rajeshkumar NV. Antitumour and anticarcinogenic activity of *Phyllanthus amarus* extract. J. Ethnopharmacol. 2002; 81(1):17-22.
16. Raphael KR, Sabu MC, Kuttan R. Hypoglycemic effect of methanol extract of *Phyllanthus amarus* Schum & Thonn on alloxan induced diabetes mellitus in rats and its relation with antioxidant potential. Indian J Exp Biol. 2002 Aug; 40(8):905-9.
17. Raphael KR, Kuttan R. Inhibition of experimental gastric lesion and inflammation by *Phyllanthus amarus* extract. J Ethnopharmacol. 2003 Aug; 87(2-3):193-7.

Sources of funding: CNPq

Conflict of interest: No

Date of first submission: 2007/10/19

Last received: 2007/11/09

Accepted: 2007/11/10

Publishing: 2008/01/01

Address for correspondence

Tássia Campos de Lima e Silva

Universidade Federal de Pernambuco

Centro de Ciências da Saúde – Departamento de Ciências Farmacêuticas

Lab. de Produtos Naturais – LAPRONAT

Av. Prof. Arthur de Sá, s/n

CEP: 50740-521 – Cidade Universitária - Recife (PE), Brasil