

2. BIOLOGIA GERAL

ESTUDO DA TOXICIDADE DO EXTRATO ETANÓLICO DE *Norantea guianensis* FRENTE À *Artemia salina* COMO BIOINDICADOR

Évelin C. Cortes^{1,2}, Karla A. Porto^{2,3}, Rosemary Matias⁴, Antonia Railda Roel³, Ademir Kleber Morbeck de Oliveira⁴, Priscilla Rezende Motti³.

1. Mestranda em Meio Ambiente e Desenvolvimento Regional-UNIDERP, Campo Grande-MS.

2. Faculdade Campo Grande, FCG, Campo Grande-MS.

3. Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais e Sustentabilidade Agropecuária, UCDB, Campo Grande-MS.

4. Programa de Pós-Graduação em Meio Ambiente e Desenvolvimento Regional-UNIDERP, Campo Grande-MS.

Resumo

A *Norantea guianensis* Aubl., uma espécie de ocorrência em áreas de cerrado sensu stricto e rupestre de Mato Grosso do Sul, é usada na medicina tradicional local e como ornamental, o vem despertando interesse conhecer o seu potencial tóxico. O presente estudo tem como objetivo avaliar a toxicidade da *Norantea guianensis* frente à *Artemia salina* e realizar prospecção fitoquímica.

Os resultados apontaram que o extrato da *Norantea guianensis* apresentou CL_{50} 105,9 mg mL⁻¹ (98,83 a 112,97), sendo considerada não tóxica nessa faixa de concentração, a literatura considera não tóxicos extratos com CL_{50} acima de 0,250 mg mL⁻¹. Dessa forma, a atividade larvicida observada indica que o extrato etanólico das folhas aliada à baixa toxicidade justificam o uso popular da planta e que os fitoconstituintes como as antraquinonas não estão agindo sinergeticamente com efeito tóxico.

Palavras-chave: Medicina tradicional; Atividade citotóxica; Antraquinonas.

Apoio financeiro: FUNDECT, CNPq, Uniderp.

Introdução

A família Marcgraviaceae possui aproximadamente 130 espécies, divididas em 7 gêneros, com incidência exclusiva em regiões neotropicais (WARD e PRICE 2002). No Brasil, a família é representada por seis gêneros e trinta e quatro espécies (BFG, 2015), em especial o gênero *Norantea*, com destaque a *Norantea guianensis* Aubl., que grande distribuição geográfica e ecológica, encontrada por toda a América do Sul. A planta pode ser encontrada em uma ampla gama de biomas, como a Caatinga, Florestas Tropicais e Cerrado, em áreas primárias e secundárias ((LEHN et al., 2008).

O Cerrado é local de grande incidência a *Norantea guianensis* e é encontrada também no pantanal sul mato-grossense. A espécie é conhecida como flor de papagaio (flor-de-papagaio) ou rabo-de-arara-de-cipó, de característica arbórea e/ou hemiepípite (GIRALDO-CAÑAS e FIASCHI, 2005; GOMES et al., 2011). As folhas e colmos são empregados na medicina popular, para o tratamento de doenças do sistema nervoso central. Além disso, a espécie tem potencial ornamental pela beleza de suas flores, indicando um potencial conjunto de uso (GOMES et al., 2011; MCKENNA et al., 2011).

Por estas características há necessidade de investigar o potencial tóxico da planta, principalmente como recurso terapêutico por comunidades tradicionais em Mato Grosso do Sul. Com isto, os estudos toxicológicos têm a finalidade de avaliar ideias sem fundamentos científicos de que produtos fitoterápicos, por serem naturais, são isentos de efeitos tóxicos ou adversos, e que o uso popular de plantas medicinais serve como validação da eficácia destes medicamentos (SILVEIRA et al., 2008).

Assim, este estudo tem como objetivo avaliar a toxicidade da *Norantea guianensis* frente à *Artemia salina* e realizar prospecção fitoquímica.

Metodologia

As folhas de *N. guianensis* foram coletadas, em março de 2018, em área rural no distrito de Taboco, cidade de Corguinho (19°49'S 54°50'W, 320 m. alt.), estado do Mato Grosso do Sul, Brasil. A coleta foi manual de 10 árvores e as folhas foram acondicionadas em sacos de polietileno estéreis, e levadas para Laboratório de Pesquisa em Campo Grande, Mato Grosso do Sul e depositadas no Herbário da Instituição sob o número do voucher 1456 em 2018.

As folhas foram secas em estufa de circulação de ar a 40 ° C (MARCONI®, MA35) e triturado em moinho Wiley (modelo MA048, MARCONI®). O pó (700 g) foi extraído com etanol em banho ultrassônico (Ultrasonic Cleaner®) por 60 minutos, seguido de extração por maceração constante por 10 dias e o resultante foi filtrado e o solvente foi evaporado.

Para a determinação dos fitoconstituintes o extrato etanólico foi submetido à análise química, por meio

de reações de caracterização, avaliando a presença de compostos fenólicos, e todas as análises foram realizados em triplicata seguindo metodologia adaptada por Matos (2009). A análise dos resultados seguiram o método de Fontoura et al. (2015).

Para a análise de toxicidade foi feita uma solução mãe em concentração de 1000 mg/L. Para a eclosão dos ovos e o teste de toxicidade foi utilizada a metodologia de Meyer e colaboradores (1982) adaptada. Foi preparada uma solução salina, numa concentração de 500 mL de água destilada para 10 g de sal. Os cistos foram colocados em recipiente específico para eclosão e cobertos com papel filme. Foram deixados sob iluminação com lâmpada de 40 W por 24 horas para eclosão e desenvolvimento dos náupilos. Antes do início dos testes foi verificado a etapa do desenvolvimento das artemias, certificando se encontravam-se na fase de náupilos.

Foram utilizados para este trabalho, larvas do 2º estágio, obtidas após a eclosão de cistos de *A. salina* L. eclodidos em água do mar artificial. Após as 24 horas iniciaram-se os testes nas concentrações de 1,0 mg mL⁻¹; 0,5 mg mL⁻¹; 0,25 mg mL⁻¹, 0,125 mg mL⁻¹, 0,062 mg mL⁻¹ e 0,032 mg mL⁻¹.

Em cada concentração foram utilizadas 10 larvas distribuídas em tubos de ensaios esterilizados de 15 mL para de 5mL de solução. Os testes foram realizados em quadruplicatas, tendo como controle branco (solução salina e DMSO) e negativo (rotenona), em tubos de ensaio de 10 mL com volume final de 5 mL. Para os testes preliminares, os extratos e as frações ativas, ou seja, que promoverem a mortalidade maior que 30% durante os testes preliminares foram submetidas ao teste apurados para confirmação de dados, delineamento mais acurado das faixas de concentração letal e análise estatística. Em todos os testes, as larvas foram deixadas em contato com as soluções de extratos e das frações durante 24 horas. Em seguida foi determinado o número de mortos e vivos e calculado o percentual dos indivíduos mortos sendo os dados expressos em percentual de mortalidade onde também serão expressos como Taxa de Toxicidade à *A. salina* (TAS).

Resultados e Discussão

O bioensaio com *A. salina* é um teste que vem sendo comumente utilizado em trabalho científico para avaliação prévia de extratos com potencial atividade biológica por se constituir em uma técnica rápida e de baixo custo (SIQUEIRA et al., 1998), este tem por finalidade avaliar a toxicidade vegetal em função da dose letal a 50% da população de náuplios de artemias contidas em tubos de ensaios, representado pela CL₅₀.

A Taxa de Toxicidade a *A. salina* (TAS) foi estabelecida para o extrato de *Norantea guianensis* nas concentrações de 1,0 mg mL⁻¹; 0,5 mg mL⁻¹; 0,25 mg mL⁻¹, 0,125 mg mL⁻¹, 0,062 mg mL⁻¹ e 0,032 mg mL⁻¹, e os valores de toxicidade estão apresentados na figura 1. A análise simples dos dados possibilitou estabelecer que o produto, segundo o fundamento dos testes (Meyer et al., 1982), apresentou as seguintes Concentração Letal (CL) e seus intervalos de confiança sobre a população exposta com CL₁₀ 21,18 mg mL⁻¹(17,94 a 24,86), CL₅₀ 105,9 mg mL⁻¹(98,83 a 112,97) e CL₉₀ 190,62 mg mL⁻¹(182,95 a 198,29) com os respectivos desvio ±0,964, ±4,35 e ±4,95. Extrato com CL₅₀ em concentrações menores que 0,8 mg mL⁻¹ são considerados altamente tóxicos; entre 0,8 mg mL⁻¹ e 0,250 mg mL⁻¹ moderadamente tóxico e CL₅₀ acima de 0,250 mg mL⁻¹, são considerados de baixa toxicidade ou não tóxicos (DOLABELA, 1997). Com base nestas informações e em comparação com os ensaios de toxicidade com extrato etanólico de *N. guianensis* demonstraram que as concentrações letais (CL₅₀) da amostra, foi de 105,9 mg mL⁻¹(98,83 a 112,97).

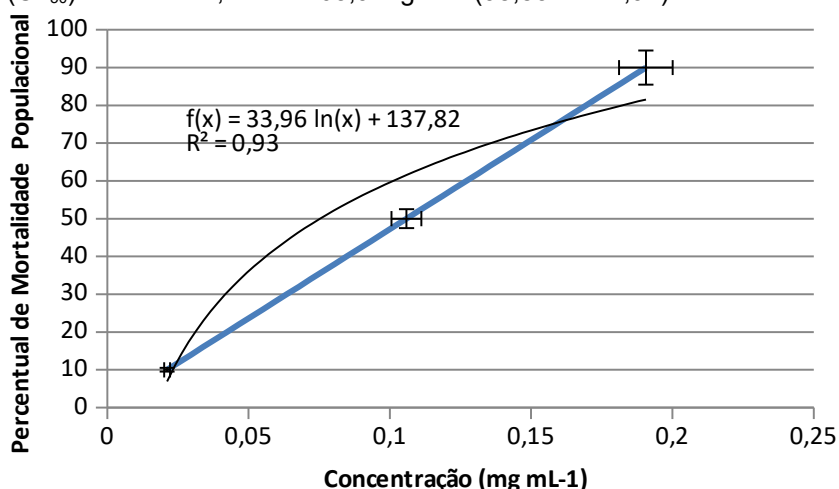
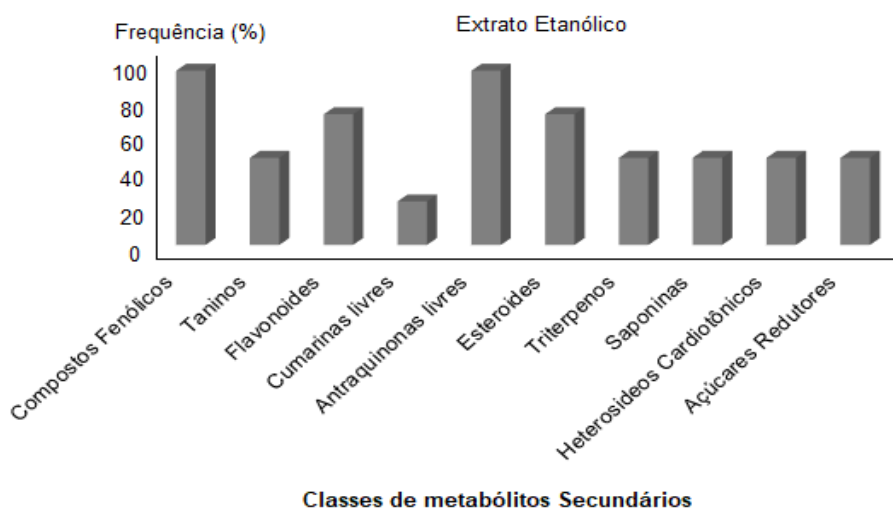


Figura 1- Valores da toxicidade do extrato etanólico de *Norantea guianensis*, Taboco, município de Corguinho Mato Grosso do Sul, Brasil, frente à *Artemia salina*, nas concentrações de 1,0 mg mL⁻¹; 0,5 mg mL⁻¹; 0,25 mg mL⁻¹, 0,125 mg mL⁻¹, 0,062 mg mL⁻¹ e 0,032 mg mL⁻¹.

Com isto, é possível inferir que o extrato de *N. guianensis* pode ser considerado não tóxicos. Contudo, com base nos fitoquímicos encontrados neste extrato com predominância dos compostos fenólicos e antraquinonas (figura 2) se faz necessário utilizar de outros ensaios utilizando por exemplo camundongos ou ratos Wistar e avaliar a toxicidade aguda e crônica frente à estes modelos, uma vez que as antraquinonas são

apontadas como genotóxicas (HUANG et al., 2007).



Conclusões

A atividade larvicida observada indica que o extrato etanólico das folhas aliada à baixa toxicidade justificam o uso popular da planta e que os fitoconstituintes como as antraquinonas não estão agindo sinergicamente com efeito tóxico.

Referências bibliográficas

BFG - The Brazil Flora Group. **Growing knowledge: an overview of seed plant diversity in Brazil**. Rodriguésia 66:1085-1113, 2015.

FONTOURA, F. M. et al. Seasonal effects and antifungal activity from bark chemical constituents of *Sterculia apetala* (Malvaceae) at Pantanal of Miranda, Mato Grosso do Sul, Brazil. **Acta Amazonica**, v. 45, n. 3, p. 283-292, 2015.

GIRALDO-CAÑAS, D.; FIASCHI, P. Las Marcgraviaceae (Ericales) de Brasil: las especies del complejo *Norantea*. **Caldasia**, v. 27, n. 2, p. 173-194, 2005.

GOMES, L. et al. Comparações florísticas e estruturais entre duas comunidades lenhosas de cerrado típico e cerrado rupestre, Mato Grosso, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 25, n. 4, p. 866-876, 2011.

DOLABELLA, M. **Triagem in vitro para atividade anti-tumoral e anti-Tripanossoma cruzi de extratos vegetais, produtos naturais e substâncias sintéticas**. 1997. 128f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

HUANG, Q.; LU, G.; SHEN, H. M.; CHUNG, M. C.; ONG, C. N. Anti-cancer properties of anthraquinones from rhubarb. **Medicinal research reviews**, v. 27, n. 5, p. 609-630, 2007.

LEHN, C. R.; ALVES, F. M.; DAMASCENO JUNIOR, G. A. Florística e fitossociologia de uma área de cerrado sensu stricto na região da borda oeste do Pantanal, Corumbá, MS, Brasil. **Pesquisas Botânica**, São Leopoldo, v. 59, p. 129-142, 2008.

MATOS, J. F. A. **Introdução a fitoquímica experimental**. 3ed. Fortaleza: UFC, 2009.

MCKENNA, D.J. et al. Receptor screening technologies in the evaluation of Amazonia neth no medicines with potential applications to cognitive deficits. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 134, n. 2, p. 475-492, 2011.

SILVEIRA, P.F. et al. Farmacovigilância e reações adversas às plantas medicinais e fitoterápicos: uma realidade. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, n.4, p.618-26, 2008.

WARD, N.; Price, R. Phylogenetic relationships of Marcgraviaceae: insights from three chloroplast genes. **Systematic Botany**, v. 27, p. 149-160, 2002.