



Obtenção, fracionamento e atividade de toxicidade em *Artemia salina* dos extrato das folhas de *Plenckia populnea* (Celastraceae)

Lauanny Eloá Silva Arini (IC)^{1*}, Marianna Carrilho Silva (PG)¹, Antônio Carlos Severo Menezes(PQ)¹, lauanny-arini@hotmail.com

Universidade Estadual de Goiás- Campus Anápolis de Ciências Exatas e tecnológicas Henrique Santillo

O interesse de pesquisadores pelo gênero botânico *Plenckia populnea* Reissek se deve ao potencial químico e biológico de sua família Celastraceae, objetivando então o presente trabalho a avaliar o potencial tóxico de suas folhas em bioensaios com *Artemia salina*. Inicialmente, foi obtido o extrato metanólico (PPFM), o qual foi fracionado com três solventes por ordem de polaridade dando origem as frações hexânica (PPFMH), acetato etílica (PPFMA), e metanólica (PPFMM). O teste de toxicidade contra *A. salina* que consistiu em expor náuplios recém-eclodidos ao extrato e às frações, evidenciou a toxicidade do extrato bruto metanólico (PPFM) ($CL_{50} = 741 \mu\text{g.mL}^{-1}$) e as frações hexânica (PPFH) ($CL_{50} = 441 \mu\text{g.mL}^{-1}$), acetato etílica (PPFMA) ($CL_{50} = 543 \mu\text{g.mL}^{-1}$) e metanólica (PPFMM) ($CL_{50} = 620 \mu\text{g.mL}^{-1}$). Os resultados obtidos dos bioensaios mostraram o potencial das folhas de *Plenckia populnea* em toxicidade frente à *Artemia salina*, sugerindo ensaios posteriores de outros tipos de atividades biológicas.

Palavras-chave: Fitoquímico. Ensaio microbiológico. Bioatividade.

Introdução

O Brasil possui a maior floresta equatorial e tropical úmida do planeta, sendo um importante precursor para a química dos produtos naturais ganhar cada dia mais pesquisadores interessados em buscar tais produtos para tratamentos fitoterápicos.

Dos vegetais são extraídas várias substâncias isto tem sido estímulo ao desenvolvimento do estudo de muitas plantas, dentro do âmbito da química orgânica, objetivando o estudo das estruturas e da química destes compostos que é extremamente ampla e diversificada (SANTOS, 2002).

O estudo fitoquímico e suas análises fornecem informações relevantes à cerca da presença de metabólitos secundários nas plantas, para que assim possa



chegar ao isolamento de princípios ativos importantes a produção de novos fitoterápicos (CARDOSO,2004).

A espécie de planta da família Celastraceae coletada para a análise no presente trabalho desperta interesse pela importância farmacológica. Uma grande diversidade de substâncias dessa família foram isoladas, triterpenos quinoides e dímeros triterpenos, alcaloides piridínicos, sesquiterpenoides com atividade fagorrepelente e imunossupressora e poliésteres sesquiterpenos com atividade antitumoral (SHIROTA et. al., 1994).

Como em toda pesquisa científica, que utilizam-se de veículos de comprovação, ao se manipular extratos obtido da folha da planta, a fim de analisar sua toxicidade, uma ferramenta indispensável para determinar o que se espera, é a análise microbiológica, que pode ser realizada utilizando as *Artemias salinas* onde muitos ensaios de toxicidade podem ser realizados para detectar compostos bioativos de altas concentrações. (SOUTO, 1991).

Material e Métodos

As folhas foram coletadas, pré-selecionadas, lavadas, em seguida secas em estufa sob circulação de ar, modelo MARCONI MA-035 a uma temperatura de 45 °C, pulverizadas em moinho de facas modelo MA-580 e armazenadas em erlenmeyers de dois litros, submetido a um processo de maceração a frio com metanol obtendo extrato bruto metanólico. O solvente orgânico foi rotaevaporado (TECNAL-120), em temperaturas abaixo de 40°C, obtendo-se as frações hexânica (P.P.F.M.H), acetato-etílica (P.P.F.M.A) e metanólica (P.P.F.M.M).

ENSAIO MICROBIOLÓGICO

PREPARO DAS *Artemias salinas*

Para a eclosão dos cistos de *Artemia salina* realizou-se um preparo da água do mar artificial, no qual foi utilizado sal marinho (40 g.L⁻¹), água destilada e suplementação com extrato de levedura (6 mg.L⁻¹). Em seguida a solução foi esterilizada em autoclave por 15 minutos a 120°C. No Artemilheiro foram incubados os cistos, mantidos sob temperatura ambiente de 27°C durante um período entre 24



e 36 horas, com aeração constante no fundo do funil para que os ovos estivessem sempre em movimento, respeitando o tempo para eclosão.

As larvas foram então capturadas com o auxílio de uma fonte luminosa, visto que as *Artemias salinas* são atraídas pela luz, e foram libertadas pela válvula do funil e captadas em uma placa de petri contendo meio salino fresco.

TESTES DE TOXICIDADE DOS EXTRATOS EM *Artemias salinas*

O extrato metanólico, as frações acetato etílica e metanólica foram diluídos em Dimetilsulfóxido (DMSO) 5% com água salina, e a fração hexânica foi diluída em Tween 0,02% com água salina para obtenção de diferentes concentrações (2000, 1000, 500, 250, 125 $\mu\text{g.mL}^{-1}$). Posteriormente foram adicionados 100 μL destes compostos aos poços das microplacas contendo os microcrustáceos, obtendo-se então as concentrações finais de 1000, 500, 250, 125, 62,5 $\mu\text{g.mL}^{-1}$.

Os ensaios foram realizados em triplicatas sendo acompanhados de controles de viabilidade DMSO 5%, Tween 0,02% e como controle de letalidade foi utilizada solução de dicromato de potássio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) nas concentrações de 100, 50, 25 e 12,25 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, a água do mar artificial foi o diluente utilizado em ambos os controles. Após 24 horas de incubação foi realizada a contagem de náuplios vivos e mortos ou imobilizados.

A toxicidade da amostra foi observada com a concentração letal a 50% (CL_{50}) da população dos náuplios e obtida através de regressão linear gerada pela correlação entre a porcentagem de indivíduos mortos ou imobilizados e a concentração do extrato e das frações. Estes dados foram calculados utilizando o software *STATISTICA*®.

A classificação da toxicidade do extrato e das frações foi determinado de acordo com Nguta et al (2011) onde valores de CL_{50} menores que 100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ foram considerados de forte toxicidade, valores entre 100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e 500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ de toxicidade moderada; entre 500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ de baixa toxicidade e maiores que 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ foram considerados atóxicos (**Tabela 1**).

Tabela 1: Classificação de toxicidade

Valores de CL_{50}	Toxicidade
-----------------------------	------------



Menores que 100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	Forte
Entre 100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e 500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	Moderada
Entre 500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	Baixa
Maiores que 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	Não tóxico

Fonte: Nguta et al. (2011)

Resultados e Discussão

Todos os compostos testados se mostraram tóxicos a náuplios de *A. salina*, ou seja, apresentaram valores menores que 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. De acordo com a classificação de Nguta et al. (2011), o extrato bruto metanólico (PPFM) ($\text{CL}_{50} = 741 \mu\text{g.mL}^{-1}$) e as frações acetato etílica (P.P.F.M.A) ($\text{CL}_{50} = 543 \mu\text{g.mL}^{-1}$) e metanólica (P.P.F.M.M) ($\text{CL}_{50} = 620 \mu\text{g.mL}^{-1}$) apresentaram baixa toxicidade, enquanto a fração hexânica (P.P.F.M.H) ($\text{CL}_{50} = 441 \mu\text{g.mL}^{-1}$) apresentou toxicidade moderada, sugerindo de acordo com Meyer et al. (1982) grande potencial de bioatividade destes compostos. (**Tabela 2**).

O controle de viabilidade teve uma sobrevivência de 100% das *A. salina* em água salina, DMSO 5% e Tween 0,02%. A letalidade do dicromato de potássio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) ($\text{CL}_{50} = 14,89 \mu\text{g.mL}^{-1}$) dentro dos padrões apresentados pela literatura atesta a adequação das condições experimentais (MOLINAS-SALINAS e SAID-FERNÁNDEZ, 2006).

Tabela 2: Resultados obtidos no ensaio de toxicidade com *A. salina*

Extrato e frações	CL_{50} ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Toxicidade
PPFM	741	Baixa
PPFMH	441	Moderada
PPFMA	543	Baixa
PPFMM	620	Baixa

CL_{50} = Concentração Letal Média



Considerações Finais

Os resultados obtidos dos bioensaios realizados do extrato bruto e das frações das folhas de *Plenckia populnea* se mostraram positivos em toxicidade frente a *Artemia salina*, permitindo sugerir outros tipos de atividades biológicas, as quais devem ser avaliadas em ensaios posteriores.

Agradecimentos

Agradeço FAPEG, PrP-UEG pelo apoio financeiro e a Universidade Estadual de Goiás, pelo programa de bolsa e incentivo a pesquisa e produção Científica (PROBIP-UEG).

Referências

CARDOSO, I. N. **Plantas tóxicas no perímetro urbano de Caxias, Maranhão.**

Monografia apresentada ao curso de Especialização em Educação Ambiental, CESC-UEMA, 2004.

SANTOS, E. M. **Florística Etnobotânica e Tipagem Fitoquímica de espécies medicinais de uso popular nos cerrados dos municípios de Caxias e Timon, Maranhão.** Seminário de Iniciação Científica da UEMA, 2002.

SHIROTA, Osamu et al. Cytotoxic Aromatic Triterpenes from *Maytenus ilicifolia* and *Maytenus chuchuhuasca*. **Journal Of Natural Products**, [s.l.], v. 57, n. 12, p.1675-1681, dez. 1994. American Chemical Society (ACS).

SOUTO, F. J. B. **Influencias de parâmetros ambientais sobre Artemia sp (Branchiopoda: Artemiidae) em uma salina artesanal do estado do Rio Grande do Norte. Curso de Mestrado em Ciências Biológicas – Zoologia, Universidade Federal da Paraíba, 1991, 19 p. Notas de aula.**

REALIZAÇÃO

PRG
Pró-Reitoria de
Graduação

PRP
Pró-Reitoria de
Pesquisa e
Pós-Graduação

PRE
Pró-Reitoria de
Extensão, Cultura e
Assuntos Estudantis



Universidade
Estadual de Goiás