

FARMÁCIA

POLLYANA DA FONSECA NATIVIDADE

AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA E CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DA ESPÉCIE *Alternanthera brasiliana* (L.) Kuntze

Patos de Minas-MG

POLLYANA DA FONSECA NATIVIDADE

AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA E CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DA ESPÉCIE *Alternanthera brasiliana* (L.) Kuntze

Artigo apresentado à Faculdade Patos de Minas – FPM - Patos de Minas (MG) como requisito parcial para a conclusão do Curso de Graduação em Farmácia.

Orientadora: Ms.: Janainne Nunes Alves

Patos de Minas-MG

615.9 NATIVIDADE, Pollyana da Fonseca

N278a

Avaliação toxicológica e caracterização química da espécie *Alternanthera brasiliana* (L). Kuntze /Pollyana da Fonseca Natividade – Orientadora: Ms. Janainne Nunes Alves. Patos de Minas: [s.n.], 2012.

37 p.

Artigo de Graduação – Faculdade Patos de Minas – FPM

Curso Bacharel em Farmácia

1. Toxicologia 2.Caracterização química 3. Metabólitos secundários 4. Artemia salina 5. Fitoterapia. I. Pollyana da Fonseca Natividade II. Titulo

Fonte: Faculdade Patos de Minas – FPM. Biblioteca.

FACULDADE PATOS DE MINAS - FPM FARMÁCIA

AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA E CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DA ESPÉCIE *Alternanthera brasiliana* (L.) Kuntze

rtigo Científico aprovado e onstituída pelos professores		_ de	pela comis	são examinadora
Orientadora:	Janainne Nur			_
	Faculdade Cidade	e de Patos de	Minas	
Examinador:				
	Geraldo da Silva	Xavier Neto		
	Faculdade Cidade	e de Patos de	Minas	
Examinador:				
	Eva Mendes	Monteiro		

Faculdade Cidade de Patos de Minas

Dedico este trabalho aos meus pais Hélio e Zilma, aos meus irmãos Vinícius e Tatyanne, à Vovó Arminda, esses os quais sempre me apoiaram nesta grande jornada e a todos aqueles que torceram e intercederam por mim.

"Uma vida sem desafios não vale a pena ser vivida."

Sócrates

AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA E CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DA ESPÉCIE Alternanthera brasiliana (L.) **Kuntze**

NATIVIDADE, Pollyana Fonseca¹
ALVES, Janainne Nunes²

RESUMO

O uso de plantas medicinais é uma prática comum em nossa região, o conhecimento sobre as espécies e suas propriedades vem sendo transmitido ao longo dos anos. No entanto, determinadas plantas apresentam substâncias tóxicas e podem oferecer riscos a saúde da população. Pesquisas mostram que a utilização das plantas medicinais deve ser realizada com cautela, respeitando os riscos toxicológicos e agressividade de alguns compostos. Este estudo foi realizado com o intuito de avaliar a toxicidade oferecida pelas folhas de *Alternanthera brasiliana* (L.) Kuntze, através de ensaios com Artemia salina, também foram verificadas classes de compostos presentes nas folhas da espécie. Os ensaios com as folhas de *Alternanthera brasiliana* (L.) Kuntze mostraram a presença de alcaloides, flavonoides, taninos, saponinas e triterpenos, classes de metabólitos secundários bastante ativos. Quanto ao teste de toxicidade frente à Artemia salina (TAS) a espécie apresentou uma DL50 de 5,58 mg/L, valor considerado seguro ao consumo humano.

Palavras-chave: Alternanthera brasiliana (L.) Kuntze, toxicidade, metabólitos secundários

¹Acadêmica do curso de Farmácia 8° período Faculdade Patos de Minas - (FPM). E-mail: pollyzinha_14@hotmail.com

²Mestrado em Química – (UFU) E-mail:janainnennunes@yahoo.com.br

INTRODUÇÃO

A utilização de plantas como medicamento é uma prática que faz parte da história da humanidade, estabelecendo suma importância tanto em aspectos medicinais como culturais. Dados da Organização Mundial de Saúde (OMS) revelam que em torno de 60 a 85% da população de países em desenvolvimento fazem o uso de plantas medicinais como única forma de acesso aos cuidados básicos de saúde (GONÇALVES *et al*, 2012).

De acordo com Amaroso *et al.* 1996 apud Oliveira 2012, o estudo das plantas, além de fazer o resgate das plantas utilizadas como remédio, pode proporcionar novas descobertas e ações terapêuticas, e também valorizar o conhecimento das comunidades.

Por tratar-se de um país extremamente diversificado o conhecimento de plantas medicinais no Brasil recebeu influências indígenas, e posteriormente também recebeu a influência de negros e europeus. De forma que diversos estudos têm sido feitos no sentido de verificar quais as plantas utilizadas para fins medicinais pela população brasileira (SOUSA *et al*, 2010).

O uso de plantas medicinais é uma prática comum em nossa região, mas diversas plantas possuem como constituintes substâncias que podem ser nocivas, sendo necessária uma avaliação preliminar para indicar se seu consumo pode ser realizado de forma segura.

A Alternanthera brasiliana (L.) Kuntze é popularmente conhecida como terramicina e segundo relatos populares é utilizada na região de Patos de Minas-MG como anti-inflamatório, seu uso é feito através de infusões e chás.

Como forma de valorizar a sabedoria popular e contribuir para um consumo seguro de *Alternanthera brasiliana* (L.) Kuntze, o presente estudo realizou uma avaliação toxicológica das folhas da espécie através de ensaios com o microcrustáceo Artemia salina e caracterizou as classes de compostos presentes em suas folhas.

REVISÃO DA LITERATURA

1 Alternanthera brasiliana (L.) Kuntze

Alternanthera brasiliana (L.) Kuntze é uma herbácea perene amplamente distribuída pelo Brasil. É popularmente utilizada como um analgésico e remédio anti-inflamatório para o tratamento de processos infecciosos (FERREIRA et al, 2007).

Suas folhas são simples, oval-lanceoladas, peninérveas, opostas cruzadas, membranáceas, pilosas e com diversos padrões de coloração, do verde ao púrpura (HORWAT, 2002).



Figura 1: Alternanthera brasiliana (L.) Kuntze

Fonte: RODD, T., galery (2012)

Horwat (2002) relata que *Alternanthera brasiliana* (L.) Kuntze é amplamente utilizada no tratamento de diversas patologias, sendo comprovadas a ação anti-inflamatória, analgésica e a atividade inibidora do vírus da herpes simples.

Em um estudo anterior realizado com as folhas de *Alternanthera brasiliana* (L.) Kuntze, Caetano (2002), observou que o extrato aquoso obtido da planta

apresentou elevada eficácia e ação comparada ao cloridrato de tetraciclina na inibição de *Staphylococcus aureus*.

2 Plantas medicinais e estudo toxicológico

De acordo com Rodrigues (2011) o uso milenar de plantas medicinais mostrou ao longo dos anos, que determinadas plantas apresentam substâncias potencialmente perigosas. Do ponto de vista científico, algumas pesquisas mostraram que muitas dessas plantas possuem substâncias agressivas e por essa razão devem ser utilizadas com cuidado, respeitando seus riscos toxicológicos. Os efeitos mais preocupantes do uso indiscriminado de plantas medicinais são embriotóxico, teratogênico e abortivo, uma vez, que os constituintes da planta podem atravessar a placenta, chegar ao feto e gerar um desses efeitos.

Silveira (2008) relata que os fitoterápicos são utilizados por automedicação ou por prescrição médica, porém, a maior parte não tem o seu perfil tóxico bem conhecido. Assim, atualmente estão sendo incorporados testes toxicológicos aos vários Programas de Fitoterapia como opção terapêutica eficaz e pouco custosa. A importância da inclusão dos fitoterápicos nos programas de farmacovigilância vem sendo reconhecida nos últimos anos por vários países da Europa, como Reino Unido e Alemanha, onde várias plantas foram submetidas à farmacovigilância e muitas delas foram retiradas do mercado devido a importantes efeitos tóxicos e risco para uso humano.

Com o aumento do interesse populacional pelas terapias naturais observado nas últimas décadas, também vem crescendo o número de reações adversas reportado, onde várias espécies conhecidas como ginseng, kava, ginkobiloba, entre outras são responsáveis por efeitos tóxicos como insônia, sangramento vaginal, diarreia, falência renal, alergias, inquietação, cefaleias, tonturas e problemas gastrointestinais (SILVEIRA, 2008).

Pela importância em se assegurar a saúde da população que faz uso de Altheranthera brasiliana (L.) Kuntze foi realizado o teste de toxicidade nas folhas da espécie frente à Artemia salina.



Figura 2: Náuplio de Artemia salina após 48 horas de eclosão

Fonte: COSTA, M. (2012)

3 Ação farmacêutica e composição química

Um dos fatores de extrema importância para a descoberta de princípios ativos naturais consiste na interação entre a química e a farmacologia. Quanto mais estreita for esta colaboração, maiores as possibilidades de novas descobertas na área.

Como exemplo da necessidade da integração entre a química e a farmacologia estão os bons resultados obtidos com as plantas do gênero Phyllanthus, conhecidas como "quebra pedra" e amplamente usadas na medicina popular de vários países, incluindo o Brasil. Nos estudos realizados por Yunes *et al* (1998), foi demonstrado que os extratos brutos de diferentes espécies de Phyllanthus exercem potentes efeitos analgésicos quando analisados em diferentes modelos experimentais de dor em camundongos com potência muito maior do que algumas drogas utilizadas em clínicas, como a aspirina e o acetaminofeno.

O estudo de Yunes *et al* (1998) mostrou que frações semi-purificadas foram analisadas em laboratório, onde obteve-se dois fitoesteroides muito comuns em plantas, estigmasterol e β-sitoesterol, que nunca haviam sido avaliados quanto aos seus efeitos analgésicos, mas cujos resultados farmacológicos indicaram uma ação equipotente à aspirina.

O gênero Alternanthera, ao qual pertencente Alternanthera brasiliana (L.) Kuntze, tem sido reconhecido pelas suas propriedades farmacológicas, pois foram identificados compostos biologicamente ativos, entre eles os triterpenoides, compostos fenólicos e pigmentos da classe betalaínas (betacianinas e betaxantinas) (SALVADOR; DIAS, 2004 apud RODRIGUES, 2009). Esses compostos pertencem aos metabólitos secundários que são produzidos por diversas partes das espécies em consequência de sua melhor adaptação ao meio ambiente e muitos destes são responsáveis por sua ação farmacêutica.

Em um estudo realizado na Vila de Algodoal, pertencente ao Município de Maracanã, foram encontradas diversas espécies com aplicações fitoterápicas devido à presença de metabólitos secundários, como pode ser observado na tabela a seguir.

Tabela 1: Usos medicinais e metabólitos secundários em espécies da Ilha de Algodoal, município de Maracanã, Estado do Pará, Brasil

Nome popular	Família	Nome	Usos	Metabólitos
		científico	fitoterápicos	secundários
Cajueiro, caju da praia	Anacardiaceae	Anacardium occidentale L.	Chá-folhas para diarreia, inflamação da garganta e aftas, sendo também utilizado como anti-hemorrágico.	Alcaloides, taninos, saponinas, esteroides, triterpenoides e antraquinonas.
Fruta do Pombo, tapiriri,tatapiririca, maria preta e pau pombo.	Anacardiaceae	Tapirira guianensisi Aubl.	Chá-folhas como xarope com a função de expectorante.	Taninos, flavonoides, saponinas, esteroides e triterpenoides.
Cipó de folha dura	Bignoniaceae	Paragonia pyramidata (I.Rich.) DC.	Chá-folhas como anti- inflamatório.	Alcaloides, taninos, saponinas, esteroides e triterpenoides.
Sete sangrias, jasmim da praia	Borraginaceae	Hilotropium polyphylum Lehm.	Chá-folhas utilizadas como depurativo do sangue, diurético, reumatismo e anemia.	Taninos, saponinas, esteroides e triterpenoides.
Breu branco verdadeiro	Burseraceae	Protium heptaphylum (Aubi.) March.	Chá-folhas contra úlceras e inflamações.	Alcaloides, taninos, saponinas, esteroides e triterpenoides.

Ajuru, ajiru, Ajuru	Chrysobalanaceae	Chrysobalanus	Chá-folhas	Alcaloides,
branco,cajuru,	, , , , , , , , , , , , , , , , , , , ,	icaco L.	usadas no	flavonoides, taninos
íaco,maçãzinha-da-			tratamento da	e saponinas.
praia			leucorreia,	·
'			diarreia e	
			diabetes.	
Apuí, apuí grande,	Clusiaceae	Clusia	Chá-folhas	Alcaloides, taninos e
cebola grande da		grandiflora	usadas como	triterpenoides.
mata,mata-pau		Spligz.	diurético e	-
			antitérmico.	
Canapaúba,mangue-	Combretaceae	Laguncularia	Chá-folhas	Taninos, flavonoides,
amarelo,mangue		racemosa	usadas como	esteroides e
rasteiro, tinteiro		Gaerto	antidiarreico.	triterpenoides.
Mangue bolota,	Combretaceae	Conocarpus	Chá- folhas	Taninos, flavonoides,
manguinho,mangue		eretus L.	usadas contra	saponinas,
			afecções	esteroides e
			catarrais e	triterpenoides.
			contra	
			hemorroidas.	
Salsa, salsa da praia	Convolvulaceae	Ipomoea-	Chá-folhas	Taninos, flavonoides,
		caprae Rottb.	usadas como	esteroides e
			emoliente e	triterpenoides.
			depurativo.	
Campainha branca,	Convolvulaceae	Ipomoea	Chá-folhas	Flavonoides, taninos
cipó da praia, salsa		imperati	usadas como	e saponinas.
da praia		(Vahl.)Griseb.	antihidrópicas	
Verônica branca,	Leguminoseae-	_Dalbergia	Chá-folhas	Taninos, flavonoides,
verônica, verônica	Foboideae	Ecastophylia	utilizadas no	saponinas,
do brejo		(L.) Taub.	combate à	esteroides,
			anemia e	triterpenoides e
			inflamações	antrquinonas.
N.A	NA - L-1 - L-1	D. was a wifes a	uterinas.	Flance de la contraction de la
Muruci,mirici do	Malpighiaceae	Byrsonima	Chá-folhas	Flavonoides, taninos,
campo, muruci da		crassifolia	utilizadas	saponinas, esteroides
praia		H.B.K.	como	e triterpenoides.
			adstringente,	
			fortificante,	
			febrífugo e no	
			combate à	
5 1 1 1 (0005)			tuberculose.	

Fonte: Jardim (2005)

De acordo com Loguercio (2004) o uso de extratos vegetais com conhecida atividade antimicrobiana pode ser um grande auxiliar nos tratamentos terapêuticos. E desenvolvem-se inúmeros estudos, em diferentes países, para comprovar sua eficácia.

3.1 Metabolismo secundário

Num ecossistema as plantas estão em constante competição por recursos como água, luz, macronutrientes (nitrogênio, oxigênio, carbono, hidrogênio, fósforo,

potássio, enxofre, cálcio e magnésio) e micronutrientes (boro, manganês, zinco, cobre, níquel, molibdênio, ferro e cloro). De tal modo que várias plantas têm desenvolvido estratégias para adquirir maior proporção desses recursos (YUNES, 2001).

O metabolismo constitui um conjunto de reações químicas que ocorrem no interior celular. Nos vegetais o metabolismo divide-se em metabolismo primário e metabolismo secundário. No metabolismo primário encontramos um conjunto de processos metabólicos responsáveis por funções essenciais aos vegetais, como fotossíntese, respiração e transporte de solutos. Os compostos envolvidos no processo são geralmente os aminoácidos, os nucleotídeos, os lipídeos, os carboidratos e a clorofila. Esses compostos possuem uma distribuição universal nas plantas (YUNES, 2001).

No metabolismo secundário são originados compostos que não possuem uma distribuição universal nas plantas, pois não são necessários para todas elas. (NUNES, 2009)

Assim, nessa busca constante por nutrientes e recursos as espécies tornaram o reino vegetal responsável pela maior parcela da diversidade química conhecida e registrada na literatura. A variedade e a complexidade das micromoléculas que constituem os metabólitos secundários têm se revelado eficientes sobre alvos biológicos terapeuticamente atraentes (BOLZANI, *et al*, 2001).

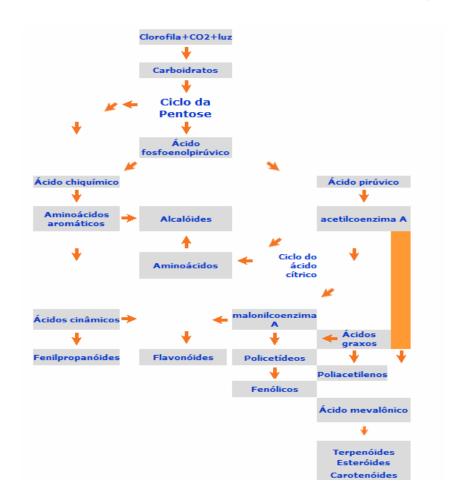


Figura 3: Vias do metabolismo secundário e suas interligações

Fonte: http://www.geocities.com/esabio.geo/interacao/metabolitos.htm acesso em:20/05/2009

No Brasil, o uso de plantas medicinais é amplamente difundido e na maioria dos casos, a escolha de uma terapia baseada em plantas medicinais é quase sempre sem orientação médica. Um dos principais problemas da utilização destes produtos é a crença de que produtos de origem vegetal são isentos de reações adversas e efeitos tóxicos (RODRIGUES, 2011).

Assim, foi realizado um estudo toxicológico com Artemia salina (TAS) com as folhas de *Alternanthera brasiliana* (L.) Kuntze.

Também foi realizada a prospecção fitoquímica das folhas de *Alternanthera brasiliana* (L.) Kuntze com intuito de verificar as principais classes de metabólitos secundários presentes, pois, estes compostos podem ser responsáveis por sua ação.

METODOLOGIA

1 Prospecção fitoquímica

Os testes foram realizados de acordo com as metodologias de Matos (1997) apud Silva *et al* (2010) e Ugaz (1994) apud Santos (2007).

1.1 Preparo dos reativos

Reagente de Mayer:

Misturaram-se 1,36 g de HgCl₂ em 60 mL de água e 5 g de KI em 10 mL de água destilada. Diluiu-se para 100 mL.

Reagente de Wagner:

Dissolveram-se 1,27 g de I_2 e 2 g de KI em 5 mL de água destilada e completou-se o volume para 100 mL com água.

Solução de cloreto férrico:

Preparou-se uma solução a 10% de FeCl₃ em água destilada.

1.2 Obtenção do extrato para prospecção

Todo o material foi seco em estufa a 40° C e posteriormente triturado em moinho de facas. Sendo que 20 g do material foram suspensas em 100 mL de etanol 92,8% e levado a banho – maria, com agitação frequente por 10 a 15 minutos. Em seguida foi realizada a filtração a quente. A solução obtida foi acondicionada em frascos de vidro âmbar.

1.3 Testes fitoquímicos

O presente estudo da planta *Alternanthera brasiliana* (L.) Kuntze foi desenvolvido na Faculdade Patos de Minas (FPM) no Laboratório de Química Analítica. Localizada no município de Patos de Minas – (MG) na Rua Major Gote nº 1408, Centro.

A planta foi coletada entre os meses de junho a setembro de 2012 no munícipio de Patrocínio-MG.

Para identificação dos metabólitos secundários foram utilizados os métodos descritos a seguir:

ESTEROIDES/TRITERPENOIDES

Os testes para esteroides/triterpenoides foram realizados pela reação de Lieberman-Burchard onde foram utilizados 2 mL do extrato, que foi misturando a 2 mL de clorofórmio, em seguida a solução clorofórmica foi filtrada gota a gota em um funil com algodão coberto com alguns decigramas de Na₂SO₄ anidro. Em tubo de ensaio, adicionou-se 1mL de anidrido acético, agitando suavemente, e acrescentou-se cuidadosamente três gotas de H₂SO₄ concentrado, agitando suavemente e observando, se haveria desenvolvimento de cores.

A coloração azul evanescente seguida de verde indica a presença de esteroides/triterpenoides respectivamente.

FLAVONOIDES

Para a identificação de flavonoides realizou-se o teste de cianidina ou Shinoda (HCl concentrado e magnésio). Onde foram adicionados a 2 mL do extrato, aproximadamente 0,5 cm de magnésio em fita com 2 mL de ácido clorídrico concentrado. O fim da reação deu-se pelo término de efervescência.

O aparecimento de coloração que varia de parda a vermelha indica a presença de flavonoides no extrato.

TANINOS

Para a identificação de taninos foram colocados 2 mL de extrato em um tubo de ensaio e posteriormente adicionadas três gotas de solução alcoólica de FeCl₃, agitando fortemente.

No teste a formação de um precipitado de tonalidade azul indica a presença de taninos hidrolisáveis, e verde, a presença de taninos condensados.

SAPONINAS

Em 2 mL do extrato foram adicionados 2 mL de clorofórmio e 5 mL de água destilada logo após filtrou-se para um tubo de ensaio. Em seguida a solução foi agitada permanentemente por 3 minutos e verificada a formação de espuma.

Uma espuma persistente e abundante indica a presença de saponina.

ALCALOIDES

Alcaloides: Foram utilizados 30 mL de extrato, adicionou-se 5 mL de HCl (10%) e aqueceu-se por 10 minutos. Esfriou-se, filtrou-se, dividiu-se o filtrado em dois tubos de ensaios e colocaram-se algumas gotas dos reativos de reconhecimento: Mayer e Wagner. Uma leve turbidez ou precipitado (roxo, branco a creme e marrom) evidencia a possível presença dos mesmos.

2 Avaliação toxicológica

2.1 Obtenção do extrato para avaliação toxicológica

São inúmeras as metodologias descritas para a preparação de extratos vegetais, visando o isolamento de seus constituintes químicos. Um dos métodos considerados o mais adequado para a análise química farmacológica é a preparação de um extrato hidroalcóolico - etanol/água (YUNES, 2001).

Após a coleta o material vegetal foi seco e em seguida pulverizado em moinho artesanal, reduzido a um pó fino. Cerca de 10g foram submetidos à extração

por maceração com etanol a 92,8% por 48 horas sem aquecimento. (SILVA *et al*, 2010).

2.2 Eclosão dos ovos de Artemia salina

O teste de toxicidade contra a Artemia salina (TAS) é um ensaio biológico considerado como uma das ferramentas mais utilizadas para a avaliação preliminar de toxicidade. Desta forma, Artemia salina tem sido usada como um organismo alvo para detectar compostos bioativos em extratos de plantas (ALVES *et al*, 2000 apud AMARANTE, 2011).

A toxicidade sobre Artemia salina foi realizada através da adaptação da metodologia de Meyer *et al* (1982) apud Lima *et al* (2009), preparando-se uma solução com sal marinho na concentração de 35 g L⁻¹. O pH foi ajustado entre 8,0 e 9,0, por meio de solução 0,1 mol L⁻¹ de NaOH. Esta solução foi utilizada para eclosão dos ovos de Artemia salina e no preparo das demais diluições. Os ovos foram colocados para eclodir na solução salina por 48 horas, com aeração constante a 25 °C.

2.3 Avaliação da toxicidade

Cerca de 10 larvas de Artemia salina foram transferidas para tubos de ensaio contendo a solução salina e amostras a serem testadas, nas seguintes concentrações do extrato aquoso: 0, 625, 1,250, 2,500, 5,000 e 10,000 mg L⁻¹. O ensaio foi realizado em duplicata de amostras, sendo a contagem dos animais mortos e vivos realizada após 24 horas. (LIMA *et al*, 2009)

Os dados de porcentagem de larvas de Artemia salina mortas, em relação ao aumento da concentração do extrato aquoso foram ajustados em uma equação linear simples, a qual foi utilizada para estimar a concentração de extrato responsável por matar 50% das artemias – valor representativo da DL₅₀ (dose letal do extrato para 50% da população). Foi utilizado o método gráfico de análise para obtenção da DL₅₀.

O teste foi acompanhado de um controle negativo, somente com água salina, e um controle positivo, com dicromato de potássio (K₂Cr₂O₇) (LIMA *et al*, 2009).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

1 Testes fitoquímicos

1.1 Testes fitoquímicos de Alternanthera brasiliana (L.) Kuntze

O extrato das folhas de *Alternanthera brasiliana* (L.) Kuntze foi utilizado nos testes fitoquímicos de acordo com a metodologia anteriormente descrita onde foram detectadas as classes a seguir:

Tabela 2- Metabólitos secundários encontrados nas folhas de *Alternanthera* brasiliana (L.) Kuntze

CLASSE DE COMPOSTOS	RESULTADO
Alcaloides	Positivo
Flavonoides	Positivo
Taninos	Positivo
Saponinas	Positivo
Triterpenos	Positivo
Esteroides	Negativo

Fonte: Dados da pesquisa

Nas folhas de *Alternanthera brasiliana* (L.) Kuntze foram detectados alcaloides, flavonoides, taninos hidrolisáveis, saponinas e triterpenos.

De acordo com Munoz-Concha (2004), a atividade biológica de uma planta medicinal se deve a um conjunto de compostos químicos que se encontra retido nos tecidos da planta. Entre as classes de compostos encontradas nas plantas Munoz-Concha relata os terpenos, taninos e flavonoides como responsáveis por propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes.

Os taninos, classe de compostos presente nas folhas de *Alternanthera brasiliana* (L.) Kuntze, são compostos fenólicos que segundo Soriano *et al* (2004) são responsáveis juntamente com os flavonoides por ação cicatrizante.

Suárez *et al* (2009) relata que a ação anti-inflamatória da espécie *Crotonmatourensis*, utilizada no Brasil e Venezuela no tratamento de inflamações gastrointestinais se deve a presença de alcaloides.

De acordo com Díaz (2012) os flavonoides, cumarinas e taninos possuem ação anti-inflamatória devido principalmente à sua ação antioxidante e à sua capacidade para agir contra a histamina e outros mediadores de inflamação, tais como prostaglandinas e leucotrienos.

Segundo Aguilar *et al* (2012) a espécie *Anacardiumoccidentale* L. (marañón), possui a presença de saponinas, alcaloides, triterpenos, esteroides, taninos, cumarinas e ácidos graxos, e constitui uma espécie de extrema importância e eficácia no uso como bactericida e anti-inflamatório.

1.2 Eclosão dos ovos de Artemia salina

Para eclosão foram utilizados os ovos de Artemia Salina maramar de alta eclosão adquiridos comercialmente.

1.2.1 Avaliação da toxidade

Os extratos das folhas da espécie foram previamente preparados com solução salina nas seguintes concentrações do extrato aquoso: 0, 625, 1,250, 2,500, 5,000 e 10,000 mg L⁻¹ e posteriormente testados em duplicata para avaliação TAS.

O teste foi acompanhado de um controle negativo, somente com água salina, onde 100% dos náuplios permaneceram vivos e um controle positivo, com dicromato de potássio (K₂Cr₂O₇) onde 100% dos náuplios morreram.

A média de microcrustáceos mortos em cada concentração foi calculada e inserida na tabela a seguir:

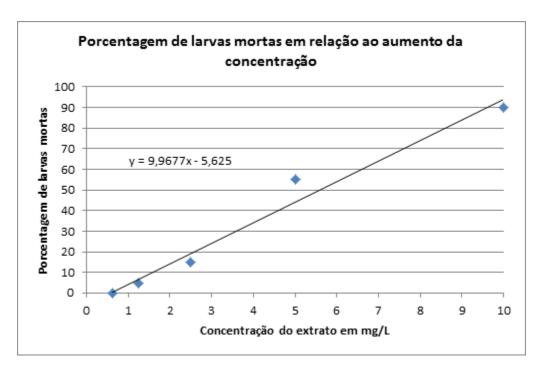
Tabela 3: Porcentagem de microcrustáceos mortos

Concentração	Porcentagem de mortalidade
0,625 mg/L	0%
1,250 mg/L	5%
2,500 mg/L	15%
5,000 mg/L	55%
10,000 mg/L	90%

Fonte: Dados da pesquisa

Através dos resultados obtidos com a porcentagem de mortalidade e a concentração dos extratos foi construída a curva de calibração a seguir:

Gráfico 1: Porcentagem de larvas de Artemia Salina mortas em relação ao aumento da concentração do extrato



Fonte: Dados da pesquisa

Quanto à fitotoxicidade em Artemia salina, visualizou-se DL_{50} através do gráfico anterior, o valor encontrado foi de 5,58 mg/L, concluindo-se portanto que se trata de uma espécie com baixa toxicidade (AMARANTE,2011).

CONCLUSÃO

Os ensaios com as folhas de *Alternanthera brasiliana* (L.) Kuntze detectaram a presença de alcaloides, flavonoides, taninos, saponinas e triterpenos que de acordo com a literatura consultada são classes de metabólitos secundários descritas como classes que possuem atividade terapêutica elevada e desta forma são responsáveis por diversas ações terapêuticas entre elas ação anti-inflamatória. Ação muito conhecida da planta nas regiões próximas a Patos de Minas-MG.

O teste de toxicidade frente à Artemia (TAS) apresentou baixa mortalidade de crustáceos mediante aumento da concentração. A DL₅₀ foi calculada de acordo com a curva de calibração obtida graficamente, apresentando um valor de 5,58 mg/L, valor considerado extremamente pequeno.

Os testes toxicológicos e fitoquímicos buscaram compreender a ação da espécie e garantir um consumo seguro pela população local, que faz uso constante da mesma.

ABSTRACT

TOXICOLOGICAL EVALUATION AND CHEMICAL SPECIES Alternanthera brasiliana (L.) Kuntze

The use of medicinal plants is a common practice in our region, knowledge about the species and their properties has been handed over the years. However, certain plants are toxic and may pose risks to human health. Research shows that the use of medicinal plants should be undertaken with caution, respecting toxicological risks and aggressiveness of some compounds. This study was conducted in order to assess the toxicity offered by *Alternanthera brasiliana* sheets (L.) Kuntze through tests with Artemia salina, were also found classes of compounds present in the leaves of the species. Tests in the leaves *Alternanthera brasiliana* (L.)Kuntze showed the presence of alkaloids, flavonoids, tannins, saponins and triterpenes, classes of secondary metabolites quite active. As for toxicity testing in the brine (TAS) the species showed an LD50 of 5.58 mg / L, which is considered safe for human consumption.

Key-words: Alternantherabrasiliana (L.) Kuntze, toxicity, secondary metabolites

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUILAR,Y.M.;YERO,C.O.;ARIAS;E.;RODRÍGUEZ,F.S.;NAVARRO,M.V.;Composici ónquímica y tamizajefitoquímicodel polvo de hojas y retoñosdelAnacardiumoccidentaleL. (marañón); **Revista Cubana de Plantas Medicinales**; v.17; 2012

AMARANTE, C.B.; MULLER, A.H.; PÓVOA, M.M; DOLABELA; Estudo fitoquímicobiomonitorado pelos ensaios de toxicidade frente à Artemia salina e de atividade antiplasmódica do caule de aninga (Montrichardialinifera); **Acta Amazônica**; v. 41; p.431 – 434; 2011

BOLZANI, V. da S.; MONTANARI,C. A.; Planejamento racional de fármacos baseado em produtos; **Química Nova**; v.24, 2001.

CAETANO,N;SARAIVA,A.;PEREIRA,R.;CARVALHO,D.;Determinação de atividade antimicrobiana de extratos de plantas de uso popular como antiflamatório;Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 12, supl., p. 132-135, 2002.

COSTA, J.G.M.;RODRIGUES, F.F.G.;ANGÉLICO, E.C.;PEREIRA, C.K.B.; SOUZA, E. O.; CALDAS, G.F.R.,; SILVA, M.R.; SANTOS, M.L.M.; SANTOS, P. F.; Composição química e avaliação da atividade antibacteriana e toxicidade de óleo essencial de *Crotonzehntneri* (variedade estragol); **Revista Brasileira de Farmacognosia; v.18**; p.583-586; 2008

COSTA, M.:<disponível em: http://www.google.com.br/imgres?q=nauplio+artemia +48+ horas& num.> Acesso em 22/10/2012

DÍAZ,M.;CONDE,J.;FÉLIX,P.;RAMÍREZ,S.;VICUNA,R.; Evaluación de la atividade antiinflamtoria de uma crema a partir delextracto purificado de BaccharisTricuneata (L.f.) Pers. "taya";**RevistaECIPerú**; 2012

FERREIRA,D.;SANTOS,M.;POZZATTI,P.;ALVES,S.H.;ATHAYDE,M.L.;Antimicrobial Activity of a Crude Extract and Fractions from Alternantherabrasiliana (L.) O. Kuntze Leaves;Latin American Journal of Pharmacy;v. 26;p. 893-6; 2007

GONÇALVES,R.O.;LAVOR,E.M.;OLIVEIRA,M.R.;SOUZA,V.;SILVA,M.A.;SILVA,M.T N.M.;NUNES,M.N.; Plantas medicinais utilizadas por um grupo de idosos do município de Petrolina, Pernanbuco; **Revista eletrônica de farmácia**;v.3;p.16-28;2012

HORWAT,R. D.; MILANEZE,M.A.; PALAZZO DE MELLO, J.C.& JACOMASSI, E.; Estudo farmacognóstico das folhas de *Alternanthera brasiliana* (L.) Kuntze (Amaranthaceae); **acta farmaceutica bonaerense**; v. 21 n° 3;2002

JARDIM, M.A;SILVA,J.C.;COSTA-NETO, S.V.;Fitoterapia popular e metabólitos secundários de espécies vegetais da Ilha de Algodoal, Município de Maracanã, Estado do Pará, Brasil-Resultados preliminares; **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 86, n. 3, p. 117-118, 2005

- LIMA,J.M; SILVA,C.A.; ROSA,M.B.; SANTOS,J.B.;SILVA,M.B.; Prospecção fitoquímica de Sonchusoleraceus e sua toxicidade sobre o microcrustáceoArtemiasalina; **Planta Daninha**;v.27, n.1, p.7-11, 2009
- LOGUERCIO, A. P.; BATTISTIN, A. A.C. V; MAZZINIWitt, A. H. N.; Atividade antibacteriana de extrato hidro-alcoólico de folhas de jambolão (*Syzygiumcumini*(L.) Skells); **Ciência Rural**; v.35, n.2, 2005.
- MUNOZ-CONCHA,D.;VOGEL,H.;RAZMILI,I.;Variación de compuestos químicos enhojas de poblaciones de Drimys spp. (Magnoliophyta: Winteraceae) en Chile Variation of chemical compounds in leaves of Drimys spp. (Magnoliophyta: Winteraceae) populations in Chile; **Revista Chilena de História Natural**;v.77;p.53-50; 2004
- NUNES, J.A.; Caracterização Química dos extratos em diclorometano de *Origanum majorana* L. na inibição de *Panicummaximum*; **dissertação mestrado-**UFU; 2009.
- OLIVEIRA, E.R.; MENINI NETO, L.; Levantamento et no botânico de plantas medicinais utilizadas pelos moradores dopovoado de Manejo, Lima Duarte MG; **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**; v.14; p.311-320, 2012.
- RODD, T., galery<disponível em: http://http://www.flickr.com/photos/ tonyrodd/ 4477908738 / > Acesso em: 22/10/2012
- RODRIGUES, H.G.; MEIRELES, C.G.; LIMA, J.T.S.; TOLEDO, G.P.; CARDOSO, J.L.; GOMES, S.L.; Efeito embriotóxico, teratogênico e abortivo de plantas medicinais; **Revista Brasileira Plantas Medicinais**; v.13; 2011
- RODRIGUES,I.C.;RIBEIRO, M.;PETERS,J. C., BRAGA,J. A.; Bolacel, E. J., **MULTIPLICAÇÃO** *IN VITRO* **DE** *Alternanthera brasiliana* (L.) Kuntze; Mostra científica XI Enpos, 2009
- SANTOS, D. Q.; Potencial herbicida e caracterização química do extrato metanólico da raiz e caule do *cenchrusechinatus*(TIMBETE); **dissertação de mestrado** UFU; 2007.
- SANTOS, P. V. ; SEBASTIAN,R.; **Plantas medicinais utilizadas por uma comunidade universitária no Município de São Paulo, SP;**J Health Sci Inst.;v.29,p.11-5; 2011
- SILVA E CARVALHO, M.; FERREIRA, M.B.C.; ROYO, A.; OLIVEIRA, D.A.; Toxicidade dos extratos brutos de folhas e cascas de aroeira-preta (Myracrondruon urundeuva); Encontro unimontes, 2010
- SILVEIRA,P.F.;BANDEIRA,M.A.;DOURADO,P.S.;Farmacovigilância e reações adversas às plantas medicinais e fitoterápicos: uma realidade; **Revista Brasileira de Farmacognosia**;v.18; 2008

- SORIANO,M.;BONILLA,P.;ARROYO,J.;PEREYRA,S.;Actividad cicatrizante tópica de los metabolitos secundários em elextractoeranólico de hojas de senecioculcitoidesweed; **Folia Dermatológica**; v.15; 2004
- SOUSA, M. J. M.; FERNANDEZ M.;F.; NOBRE LIMA,G.N.; PEIXOTO S. N.; AVERSI-FERREIRA,T.A.; Medicinal plants used by Itamaraty community nearby Anápolis, Goiás State, Brazil; Actascihealthsci. v. 32, n. 2, p. 177-184, 2010
- SUÁREZ,A.I.;RIVAS,D.;COMPAGNOTE,R.S.;CASTILLO,A.;BLANCO,Z.;Aislamiento y caracterización de metabolitossecundarios de *Crotonmatourensis*IsolationandCharacterizationofSecondaryMetabolitesfrom*Croton matourensis*; Revista Facultad de Farmacia,v. 72; 2009
- Vias do metabolismo secundário e suas interligações disponível em http://www.geocities.com/esabio.geo/interacao/metabolitos.htm Acesso em:20/05/2009
- YUNES, R. A.; PEDROSA, R. C.; CECHINEL FILHO, V. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil; **Química Nova**, v. 24, n. 1, 2001.
- YUNES, R.A;CECHINEL FILHO,V.;Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Concietos sobre modificação estrutural para otimização da atividade; **Química Nova**;v.21;1998

Agradecimento

Expresso meu enorme agradecimento de forma especial a Deus pelo dom da vida e pela graça desta conquista, pois sem Ele esse trabalho não seria realizado.

Aos meus pais e aos meus irmãos pelo carinho, paciência e compreensão, que a todo instante me auxiliaram e me apoiaram até mesmo nos momentos de tristeza e desânimo.

Á minha orientadora Ms. Janainne Nunes Alves pela enorme competência, inteira disponibilidade, paciência e dedicação durante o período de elaboração deste trabalho. Pessoa esta que muitas vezes deixou atribuições particulares em prol da minha realização e conquista....sem ela este trabalho não teria sido tão bem elaborado.... meu sincero e eterno agradecimento.

Meu agradecimento ao responsável pelo laboratório Leonardo Paula Santos o qual me passou muitos ensinamentos e me ajudou nas práticas no laboratório, além de me auxiliar em qualquer dificuldade que eu pudesse ter tido durante a elaboração deste trabalho.

Agradeço a todos os meus amigos, sendo estes meus colegas de curso ou não, e a meus familiares que de uma forma ou de outra contribuíram para a minha formação, estando ao meu lado em todos os momentos. Tenham a certeza que sempre estarão em meu coração.

ANEXO

PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA



1(a) 1(b)
Figura 1 (a): As folhas da planta foram retiradas para trituração
Figura 1 (b): Pesagem das folhas trituradas
Fonte: Arquivos de pesquisa



2(a)

Figura 2(a): Extração do material em banho-maria

Figura 2(b): Material pós-extração em banho-maria

Fonte: Arquivos de pesquisa



3(a) 3(b)

Figura 3(a): Filtragem do material Figura 3(b): Extrato obtido das folhas da planta **Fonte:** Arquivos de pesquisa



Figura 4: Preparo do material para o teste de esteróides/triterpenóides- filtragem do extrato pós-adição de clorofórmio

Fonte: Arquivos de pesquisa



5(a) 5(b)
Figura 5(a): Material preparado para o teste de esteroides/triterpenoides
Figura 5(b): Foi observado um degradê em verde no teste para esteroides/triterpenoides
Fonte: Arquivos de pesquisa



Figura 6: Coloração observada no teste para flavonoides Fonte: Arquivos de pesquisa



Figura 7: Coloração observada no teste para taninos **Fonte:** Arquivos de pesquisa



Figura 8: Formação de espuma observada no teste para saponinas **Fonte**: Arquivos de pesquisa



Figura 9: Material preparado para o teste de alcaloides Fonte: Arquivos de pesquisa



10(a) 10(b)

Figura 10(a): Teste para alcalóides pós-adição do reagente de Mayer Figura 10(b): Teste para alcalóides pós-adição do reagente de Wagner **Fonte:** Arquivos de pesquisa

TESTE DE TOXICIDADE



Figura 1: Eclosão dos ovos de Artemia salina

Fonte: Arquivos de pesquisa

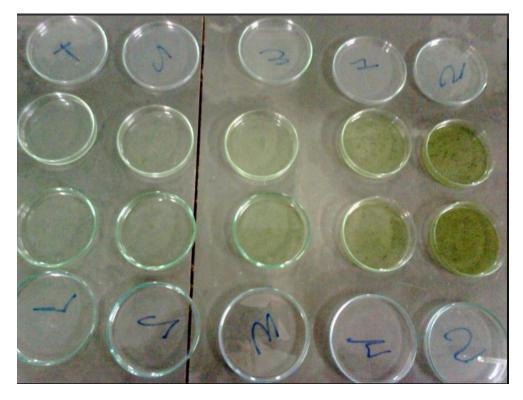


Figura 2: Placas com os extratos e as larvas de Artemia salina

Fonte: Arquivos de pesquisa

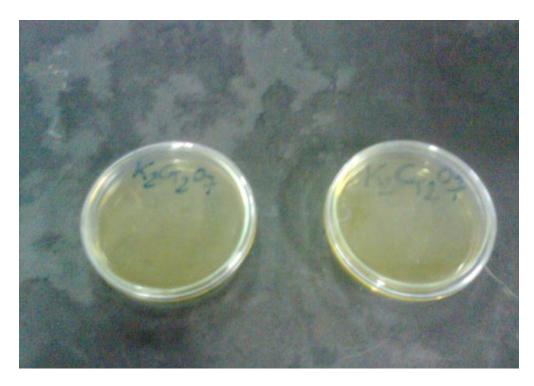


Figura 3: Padrão com $K_2Cr_2O_7$ (100% de mortalidade das larvas)

Fonte: Arquivos de pesquisa