



# ANÁLISE PRELIMINAR DA ATIVIDADE CITOTÓXICA DOS EXTRATOS AQUOSO E ALCOÓLICO DE *PROTIUM BRASILIENSE* SPRENG. (BURSERACEAE), UTILIZANDO *ARTEMIA SALINA* LEACH, 1819.

T. da S. Sanches

L. C. O. S. do Nascimento<sup>1</sup>; T. B. de Carvalho<sup>2</sup>; C. B. F. Mendonça<sup>3</sup>; J. N. Bernardo

Universidade Castelo Branco, Centro de Ciências da Saúde e Biológicas, Av. Santa Cruz, nº 1631, Realengo, 21710 - 250, Rio de Janeiro, Brasil.biotallita23@gmail.com

## INTRODUÇÃO

O homem desde a antiguidade procura nos vegetais a cura para seus males; embora de forma empírica, acabava encontrando novos medicamentos para a cura ou tratamento de doenças. Com a chegada dos primeiros médicos portugueses ao Brasil, era grande a escassez na colônia de remédios empregados na Europa, então, muito cedo foram obrigados a perceber a importância dos medicamentos indígenas. (Pinto *et al.*, 2002).

De acordo com Rizinni (1999), planta medicinal é aquela que contém substâncias bio - ativas com propriedades terapêuticas, profiláticas ou paliativas. Muitas destas plantas são muito ou levemente tóxicas, devendo ser usadas em doses muito pequenas para terem o efeito desejado; em síntese, segundo FURLAM (1998), uma planta é classificada como medicinal por possuir substâncias que têm ação farmacológica. Estas substâncias são denominadas princípio ativo e, na maioria das vezes, não se sabe quais destes estão realmente atuando.

A partir desses conhecimentos históricos e tecnológicos, o número de pessoas interessadas na utilização das plantas vem crescendo, tal como a necessidade de um estudo detalhado sobre a sua origem, composição, atividades químicas e aplicações terapêuticas. Essas análises consistem desde a quantificação e avaliação do potencial desse vegetal, como a dosagem da matéria - prima para obtenção de novos fármacos (Freitas, 1999).

A ordem Sapindales é composta por 9 famílias entre elas Burseraceae que compreende cerca de 18 gêneros com aproximadamente 700 espécies distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais do mundo (APG II, 2003; Rüdiger *et al.*, 2007). Estudos etnobotânicos revelaram que Burseraceae é uma família resinífera e que também apresenta propriedades aromáticas e medicinais entre seus gêneros: *Elaphrium*, *Icica*, *Canarium* e *Protium* (Maia *et al.*, 2000). No caso do gênero *Protium*, encontramos cerca de cerca de 135 espécies, sendo considerado o mais representativo e produtor de resinas oleosas (Maia *et al.*, 2000; Rüdiger *et*

*al.*, . 2007). *Protium brasiliense* Spreng, (almecéga ou almíscar) é um vegetal de hábito arbustivo - arbóreo, que atinge até 6m de altura, sendo uma espécie dioica de ramos glabros, com folhas coráceas, cujas flores femininas têm a cor amarelo - esverdeadas, odoríferas, com 5 pétalas, 10 filetes e anteras de tamanho reduzido, anteras sem pólen, estilete com tamanho maior que as masculinas, estigma papiloso, úmido, ovário supero com 10 óvulos. Óvulos esféricos e esverdeados. As flores masculinas possuem cor amarelo - esverdeadas com 5 pétalas, 10 estames com tamanho maior que as femininas, estilete e estigma reduzidos. Ovário com óvulos diminutos e esbranquiçados (Pirani, 1987).

Neste trabalho foram realizados estudos preliminares da citotoxicidade de *P. brasiliense* Spreng, utilizando a *Artemia salina*, Leach 1819, uma vez que, o mesmo gênero *Protium* já apresenta outros trabalhos fitoquímicos (*Protium heptaphyllum* March., *P. icicariba* (D.C.) March., *P. spruceanum* Benth., *P. tenuifolium* Engl., *P. unifoliolatum* Engl., *P. kleinii* Cuatrec, *P. robustum* Swart, *P. widgrenii* Engl., *P. altsonii*. Sandwith, *P. strumosum* Daly, *P. apiculatum* Swart, *P. paniculatum* var. *riedelianum* Engl., *P. nitidifolium* Cuatrec., *P. llewelynii* March., *P. hebetatum* Daly., *P. glabrenses* Bark., *P. decandrum* Aubl., *P. decandrum* Aubl. e *P. aracouchini* Aubl.).

## OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho foi complementar os estudos fitoquímicos já existentes sobre o gênero acima de, enriquecer os conhecimentos da espécie em estudo e avaliar o potencial citotóxico de *P. brasiliense* Spreng., utilizando *Artemia salina* Leach, 1891.

## MATERIAL E MÉTODOS

Para o estudo foi realizada a coleta do material fresco na Área de Proteção Ambiental (APA), localizada em Maricá, entre os distritos de Barra de Maricá e Itaipuaçu no estado do Rio de Janeiro, sob as coordenadas: 22° 57'45" W a 42°53'33" S e 22°57'52" W a 42°53'48" S. A metodologia utilizada seguiu Costa e a exsiccata do material foi depositada no herbário da Universidade Castelo Branco sob o n.º 1958.

### Preparo dos extratos

O material coletado foi submetido à secagem natural sob uma bancada forrada, sendo utilizado somente o caule. Após a secura total, o vegetal foi triturado e pesado. Foram utilizadas cerca de 100 gramas de material para a confecção do extrato aquoso e do extrato alcoólico.

### Extrato aquoso

Para a confecção desse extrato, foi adicionado 500 mL de água destilada em um erlen mayer contendo 100 gramas do vegetal seco e triturado durante 7 dias na geladeira. Após esse tempo, o extrato foi filtrado em algodão para separar a parte sólida da líquida. O material sólido foi descartado, enquanto a líquida foi utilizada.

### Extrato alcoólico

Para a confecção do extrato alcoólico foi adicionado 100 gramas do vegetal seco e triturado a 500 mL de álcool etílico (Álcool Etílico Absoluto 99,3 INPM) em um erlen mayer que ficou em repouso durante 7 dias na geladeira. Depois desse tempo, foi realizada a filtragem em algodão para separar a parte sólida da líquida. Em seguida, a parte sólida foi descartada e a parte líquida usada.

### Preparo da solução salina

Para a confecção da solução salina foi utilizada a metodologia adaptada de Meyer 1982, sendo adicionada uma mistura de 1L de água destilada para uma colher de sopa de sal grosso.

### Preparo e eclosão da *Artemia salina*

Os ovos de *Artemia salina* foram colocados para eclodir em um pote parcialmente escuro com fita isolante contendo solução salina sob luz intensa (60 W) e uma bomba de ar para aquário durante 24 horas. Após esse tempo, 10 náuplios foram recolhidos com o auxílio das pipetas e colocados em cada tubo de ensaio (num total de 16 tubos padronizados) 5mL de solução salina sob luz intensa (60 W) durante 24 horas.

Foram divididos 8 tubos para extrato aquoso e 8 tubos para extrato alcoólico, que foram marcados para receber as seguintes dosagens dos extratos aquoso e alcoólico respectivamente: 20 µ, 100 µ, 1000 µ. Além desses 12 tubos, foram separados 4 para controle, onde não foi aplicado nenhum extrato.

Depois das 24 horas, foram realizadas leituras e contagem do número de náuplios sobreviventes que foi registrada em tabela, servindo de matriz para a confecção do gráfico de toxicidade de *P. brasiliense* Spreng.

## RESULTADOS

Este trabalho mostrou sobre uma breve investigação que o vegetal estudado pode ser utilizado como base para futuros

estudos farmacológicos. Entretanto, a Organização Mundial de Saúde (OMS) considera tóxicas aquelas substâncias que apresentam valores abaixo de 1000 µ, cujo as *Artemias salinas* tenham morrido e assim, como obtivemos em nossos resultados após colocar 20 *Artemias salinas* em cada tubo de ensaio contendo 5 mL de solução salina cada e com a dosagem de, respectivamente, 1000 µ; 100 µ e 20 µ (microlitros) dos extratos aquoso e alcoólico que foram retirados do vegetal, podemos concluir que o vegetal apresenta potencial citotóxico (Cordeiro *et al.*, 006 apud Meyer *et al.*, 982) No extrato aquoso encontramos 4; 6 e 8 artêmias vivas, e no extrato alcoólico 0; 6 e 9 artêmias vivas respectivamente.

## CONCLUSÃO

Pode - se concluir que a prospecção fitoquímica de *P. brasiliense* apresentou um saldo positivo, em vista que das 8 análises realizadas, foram obtidas somente 3 resultados negativos, promovendo então, a possível utilização dos princípios ativos da mesma para aplicações medicinais. Entretanto, com base nessa pesquisa se vê necessário um maior investimento em estudos (como espectrometria de massas, ressonância magnética nuclear, espectrofotometrias, etc.) para detalhar a composição deste vegetal e seus grupos químicos.

Foi também verificado que o vegetal durante os bioensaios com *Artemia salina*, apresentou maior citotoxicidade no extrato alcoólico bruto, assim como na dosagem de 1000 µ para ambos os extratos. Durante a contagem dos náuplios, foi observada a presença de dípteros nos tubos de controle do extrato alcoólico e também no tubo de 100 µ do extrato aquoso. Em ambos os tubos, o resultado não foi alterado por uma aparente predação.

Agradecemos ao laboratório de Biologia da Universidade Castelo Branco que nos cedeu o espaço, tal como a coordenação do curso de Ciências Biológicas.

## REFERÊNCIAS

- APG II, 2003. The Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: *APG II Botanical Journal of the Linnean Society*, n.141, p. 399 - 436.
- Cordeiro, C. H. G. ; Sacramento, L. V. S. ; Correa, M. A. ; Pizzolito, A.C. ; Bauab, T. M. 2006. Análise farmacognóstica e atividade antibacteriana de extratos vegetais empregados em formulações para a higiene bucal. RBCF. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 42, p. 395 - 404.
- Freitas, P. C. D. 1999. Atividade Antioxidante de espécies medicinais da família Piperaceae: *Pothomorphe umbellata* (L) Miq e *Piper regnellii* (Miq) CDC. *Tese de Doutorado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas*, Universidade de São Paulo, São Paulo. 115p.
- Furlam, M.R. , 1998. Cultivo de plantas medicinais. *Coleção Agroindústria*. 13 ed. Cuiabá: SEBRAE.
- Maia, R. M.; Fascio, Miguel; Roque, N. F. ; Cruz, F. G. v; Barbosa, P. R. 2000. Triterpenos da resina de *Protium heptaphyllum* Marc (Burseraceae): caracterização

em mistura binária. *Química Nova*, Brasil, v. 23, p. 623 - 626.

**Meyer, B. N. et al., 1982.** Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Médica*, v. 45, n.1, p. 31 - 34.

**Pinto, C. A.; Silva, S. H. D.; Bolsani, S. R.; Lopes, P. N. & Epifânio, A. R. , 2002.** *Produtos Naturais: atualidades, desafios e perspectivas*, Química Nova, v.25, supl.1, p.45 - 44.

**Pirani, J. R. 1987.** Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: Burseraceae. *Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo*, São Paulo, v. 9, p. 211 - 218.

**Rizzini, C. T.,1997.** *Tratado de Fitogeografia do Brasil*. Âmbito Cultura: Rio de Janeiro, 1997.

**Rüdiger, A. L.; Siani, A. C.; Veiga, Jr, V. F. 2007.** The Chemistry and Pharmacology of the South America genus *Protium* Burm. F. (Burseraceae). *Pharmacognosy Reviews*, v. 1, p. 93 - 104.