

ESTUDO DA TOXICIDADE DO EXTRATO METANÓLICO DAS CASCAS DO CAULE DE *Licania macrophylla* BENT. SOBRE *Artemia salina*

Cleber Nunes Lima¹; Alessandra Azevedo Nascimento de Medeiros²; Georgiana Rosa de Oliveira¹; Fernando Antônio de Medeiros².

1. Estudantes do Curso de Farmácia do Instituto Macapaense do Melhor Ensino Superior - IMMES; e-mail: clebnuneslima@hotmail.com

2. Pesquisadores do Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Estado do Amapá, Centro de Plantas Medicinais e Produtos Naturais, Divisão de Fitoterapia, Laboratório de Fitoquímica; e-mail: alessandra.medeiros@jepa.ap.gov.br

RESUMO

Licania macrophylla Benth é conhecida popularmente por "anauerá" ou "anuera" e usada na medicina tradicional como antidiarréico e amebicida. Esta planta é rica em compostos bioativos como flavanóides, chalconas e auronas, quinonas, esteróides livres e taninos. O objetivo deste trabalho foi à obtenção e caracterização do extrato metanólico das cascas de *Licania macrophylla* (EML), além da avaliação da toxicidade deste extrato. EML foi obtido por maceração, concentrado e cromatografado em CLAE. O teste letalidade sobre *A. salina* do EML foi realizado de acordo com metodologia previamente descrita por Meyer e colaboradores (1982). EML apresentou um rendimento de 13,75%. No cromatograma obtido pode-se verificar uma constituição de metabólitos secundários não muito diversificada, porém com bom rendimento de extração. A CL_{50} do EML foi de 1044,26 $\mu\text{g/mL}$. Diante do rendimento do extrato, conclui-se que, este representa um potencial a ser empregado na elaboração de produtos fitoterápicos. EML não apresenta atividade tóxica contra os micro-crustáceos empregados neste estudo dando indícios de segurança no uso terapêutico desta espécie.

Palavras-chaves: citotoxicidade; camarão de salmoura; anauerá.

ABSTRACT

Licania macrophylla Benth is known popularly by "anauerá" or "anuera" and used in the folk medicine as antidiarrhoeic and antiamoebic. This plant is rich in bioactive compounds as flavonoids, chalcones and aurones, quinones, free steroids and tannins. The aim this work was to obtain and characterize the methanolic extract from *Licania macrophylla* barks (EML), beyond the evaluation

of the toxicity this extract. EML was obtained by maceration, concentrated and chromatographed in HPLC. Lethality assays against *Artemia salina* of EML was conducted in accordance with methodology previously described by Meyer and collaborators (1982). EML yielded an amount of 13.75%. In obtained chromatogram cannot to verify a constitution of secondary metabolites very diverse, but with good yield of extraction. The LC_{50} of EML was 1044.26 $\mu\text{g/mL}$. In face of the amount of extract, we can conclude that this represents a potential to be used in the preparation of phytotherapy products. EML shows no toxic activity against the micro-crustaceans employed in this study giving evidence of security in the therapeutic use of this species.

Key-words: cytotoxicity; brine shrimp ; anauerá.

INTRODUÇÃO

O uso de plantas para o tratamento de problemas de saúde tem sido documentado em todas as sociedades humanas, sendo parte da cultura de cada povo. No início do desenvolvimento da medicina moderna esse conhecimento tradicional começou a ser abandonado, por ser considerado ineficiente. Mas as inúmeras pesquisas mostrando a eficiência e confiabilidade de preparações utilizando plantas revertem esse processo. Atualmente o emprego de plantas medicinais para o tratamento de algumas doenças crônicas tem sido apoiado pela classe médica e por programas oficiais de saúde.

As abordagens científicas a cerca das plantas medicinais são múltiplas, sendo estas empregadas na elaboração de fitoterápicos, fitocosméticos, fitofarmacos ou mesmo ser fonte de substâncias ativas a serem utilizadas como protótipos para síntese de novos fármacos.

O Brasil possui um número muito grande de espécies vegetais nativas que são consideradas medicinais (PIO-CORREA, 1984; BARBOSA-FILHO et al., 2005, LIMA et al., 2006; BRANDÃO et al., 2006), mas muitas ainda não tiveram qualquer avaliação científica do seu uso medicinal, o que é essencial para que possam continuar a serem utilizadas com segurança pela população.

A espécie *Licania macrophylla* Benth. (Chrysobalanaceae), é conhecida popularmente por "anauerá" ou "anuera", sendo encontrada principalmente as margens da várzea das regiões do baixo-Amazonas. As comunidades amazônicas utilizam esta planta no tratamento de parasitoses amebianas e distúrbios desentéricos. (RODRIGUES, 1989).

Quimicamente, o gênero *Licania* tem como característica a presença significativa de metabólitos secundários do tipo flavanóides e triterpenos, extraídos de varias partes das plantas. Em triagem fitoquímica do extrato das cascas do caule de *Licania macrophylla* demonstrou positividade para presença de compostos como flavanóides, chalconas e auronas, quinonas, esteróides livres e taninos (FERREIRA et al., 2005).

Nos estudos de plantas e de novas substâncias, um balanço entre a atividade biológica *versus* a toxicidade é um parâmetro fundamental para verificar sua aplicabilidade (CALIXTO, 2001).

O bioensaio com *Artemia salina* (BST - Brine Shrimp Test) serve tanto como indicador de toxicidade como de bioatividade de diversas substâncias químicas, inclusive extratos de plantas (LOPES et al., 2002). Apresenta vantagens como: rapidez, praticidade (PARRA et al., 2001), simplicidade, baixo custo, requer pouca quantidade de amostra (SILVA et al., 2000), além de apresentar uma boa relação com testes *in vivo*, sugerindo que é um método útil (PARRA et al., 2001) e de confiança (SILVA et al., 2000).

Diante do exposto, o objetivo deste estudo foi a obtenção do extrato metanólico bruto de *Licania macrophylla*, caracterização e avaliação de sua toxicidade sobre o camarão de salmora (*Artemia salina*).

METODOLOGIA

Licania macrophylla (cascas) foi coletada no Estado do Amapá e uma exsicata depositada no

Herbário Amapaense HAMAB do Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Estado do Amapá (IEPA) (n. 011310).

Seu extrato bruto foi obtido das cascas do caule secas e moídas (2 Kg), extraídas por maceração em metanol em temperatura ambiente, durante 10 dias. A solução extrativa resultante foi concentrada em evaporador rotativo a de 40 °C.

AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE

Os cistos de *Artemia salina* L. foram mantidos sob resfriamento a 5°C até a execução do experimento. Foram utilizadas larvas de *Artemia salina* L., na forma de metanúplio, utilizando-se a Concentração Letal Média (CL50) como parâmetro de avaliação da atividade biológica (LOPES et al., 2002). Para a obtenção dos metanúplios, cistos de *Artemia salina* foram incubados em solução salina (pH 8,5 e 29 °C) sob iluminação artificial por 48 h. Após eclosão os metanúplios migravam através de uma placa perfurada para outro compartimento com livre incidência de luz. A partir de uma solução de 10 mg do EML foram efetuadas diluições para concentrações inferiores (1000 - 1 µg/mL). 5 mL de solução com as respectivas concentrações foram colocados em tubos de ensaio e 10 metanúplios adicionados. O teste foi realizado em triplicata e em duas etapas. Um grupo controle também foi preparado contendo apenas uma solução de Tween 80, que foi empregado como solvente para o extrato, e as larvas.

O conjunto permaneceu em incubação sob luz artificial por 24 h e então foi realizada a contagem do número de larvas vivas e mortas para determinação da CL50 de acordo com o método estatístico de Probitos utilizando o programa Microcal Origin 6.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O presente estudo mostra que EML apresenta um excelente rendimento (13,75%) representando um potencial a ser empregado na elaboração de produtos fitoterápicos, pois permitirá o manejo sustentável deste recurso natural. Verificou-se ainda que o extrato desta espécie apresenta um perfil cromatográfico com poucos metabólitos secundários, podendo estes ser isolados em maiores quantidades (Figura 1).

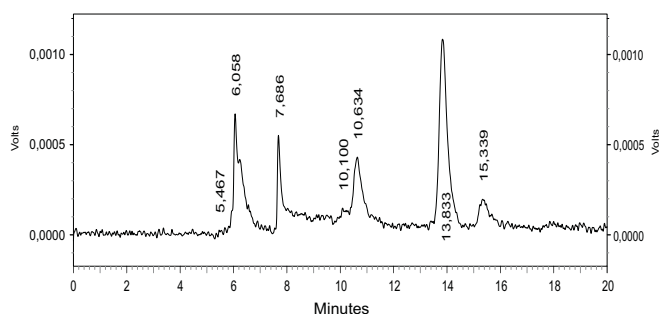


Figura 1 - Cromatograma do extrato metanólico de *L. macrophylla* obtido em H₂O:AC₃CN (85:15) com fluxo 0,5 mL/min.

Porém o principal aspecto foi a determinação da concentração letal mediana (CL₅₀), que foi de 1044,26 µg/mL. Segundo Meyer et al. (1982) extratos brutos que apresentam CL₅₀ superior a 1000 µg/mL são considerados atóxicos contra *Artemia salina* L., de outra maneira, quanto menor a CL₅₀ mais tóxico é o produto (Figura 2).

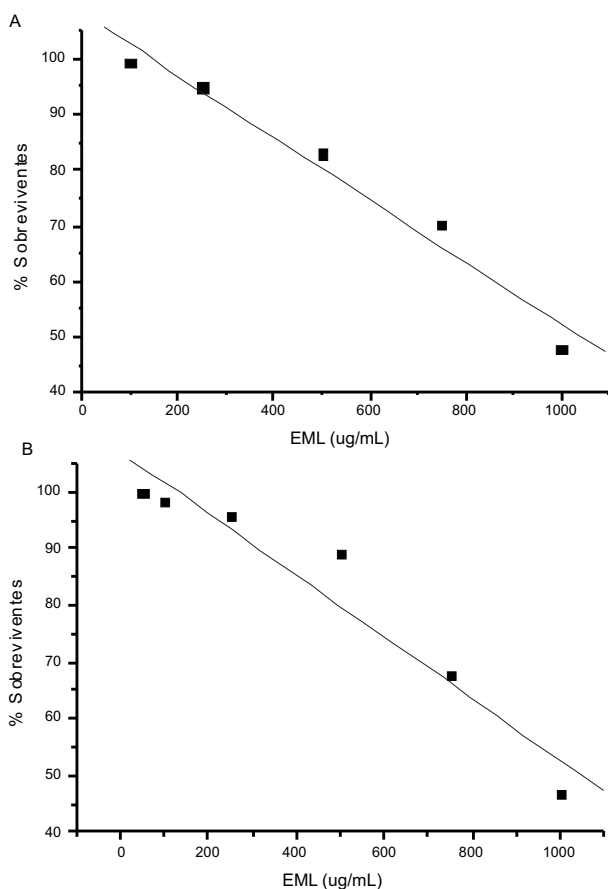


Figura 2 - Percentual de sobreviventes expostos á concentrações crescentes do EML em dois experimentos: (A) IC₅₀=1040,10 µg/mL e (B) IC₅₀=1048,43 µg/mL.

CONCLUSÕES

Desta forma pode-se considerar que EML não apresenta atividade tóxica contra os microcrustáceos empregados neste estudo, dando indícios de segurança na utilização terapêutica da espécie vegetal aqui estudada.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq e ao IEPA pelo suporte financeiro ou técnico-institucional para execução deste trabalho.

REFERÊNCIAS

BARBOSA-FILHO, J. M.; VASCONCELOS, T. H. C.; ALENCAR, A. A.; BATISTA, L. M.; OLIVEIRA, R. A. G.; GUEDES, D. N.; FALCÃO, H. S.; MOURA, M. D.; DINIZ, M. F. F. M.; MODESTO-FILHO, J. Plants and their active constituents from South, Central, and North America with hypoglycemic activity. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.15: p. 392-413, 2005.

BRANDÃO, M. G. L.; COSENZA, G.P.; MOREIRA, R. A.; MONTE-MOR, R. L. M. Medicinal plants and other botanical products from the Brazilian Official Pharmacopoeia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16: p. 408-420, 2006.

CALIXTO, J. B., Medicamentos Fitoterápicos In: YUNES, R. A. e CALIXTO, J. B. (orgs.) **Plantas Medicinais sob a ótica da Química Medicinal Moderna** Chapecó: Argos. 297-315, 2001.

FERREIRA, E. S.; et al. Estudo Fitoquímico Preliminar de *Licania macrophylla* Benth (Chrysobalanaceae). **56º. Congresso Nacional de Botânica**, Curitiba-PR, 2005.

LIMA, M. R. F.; XIMENES, C. P. A.; LUNA, J. S.; SANT'ANA, A. E. G. The antibiotic activity of some Brazilian medicinal plants. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16: p. 300-306, 2006.

LOPES, W. B. et al. Desenvolvimento de um método alternativo ao uso de animais de laboratório para avaliação da toxicidade de extratos vegetais. **Horizonte Científico**, 2002. Disponível em: <http://www.propp.ufu.br/revistaeletronica/index.html>. Acesso em 21/03/ 2004, 14:30.

MEYER, B. N.; FERRIGNI, N. R.; PUTNAM, J. E.; JACOBSEN, L. B.; NICHOLS, D. E.,.; MCLAUGHLIN, J. L. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Médica*, v. 45: p. 31-34, 1982.

PARRA, A. L; YHEBRA, R. S; SARDIÑAS, I.G; BUELA, L.I. **Comparative study of the assay of *Artemia salina* L. and the estimate of the medium lethal dose (LD50 value) in mice, to determine oral acute toxicity of plant extracts. *Phytomedicine*.**, v. 8(5), p. 395-400, 2001.

PIO-CORREA, M. ***Dicionário das Plantas Úteis do***

Brasil e das Exóticas Cultivadas. Rio de Janeiro: IBDF, 1984.

RODRIGUES, R. M., ***A Flora da Amazônia***. Belém: CEJUR, 1989, 33-34p.

SILVA, G. A.; COELHO, L. P.; LIÃO, L. M.; MONTEIRO, M. R.; ALBUQUERQUE, S. ***Avaliação da atividade tripanomicida dos extratos de *Cheiloclinium cognatum****. In: 23ª REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA. Poços de Caldas, 2000. Disponível em: <<http://www.s bq.org.br/ranteriores/23/resumos/0907/index.html>>. Acesso em: 25 ago. 2006.