

# Revista Interdisciplinar Ciências e Saúde

Volume 3, Número 2  
Edição 2016

*Anais do*

## I RENAPTE



I SIMPÓSIO NORDESTINO DE  
RECURSOS NATURAIS E  
POTENCIALIDADES  
TERAPÊUTICAS

De 17 a 19 de junho de 2015  
Auditório do CTT/UFPI  
Teresina - PI

[nppm.oficial@gmail.com](mailto:nppm.oficial@gmail.com)

## **Apresentação**

O RENAPTE - I **Simpósio Nordestino de Recursos Naturais e Potencialidades Terapêuticas** teve como objetivo principal à aproximação da academia com a comunidade a fim de possibilitar aos participantes a oportunidade de atualizar e aprofundar seus conhecimentos em Produtos Naturais com potencial farmacológico e terapêutico. Este Simpósio apresentou-se como uma excelente oportunidade de interação entre professores, pesquisadores, profissionais e estudantes das mais diversas áreas das ciências biológicas e saúde além de biotecnologia. Além de ter favorecido discussões de alto nível com pesquisadores renomados das regiões nordeste e sudeste do país, que acumulam um vasto conhecimento e grande experiência com produtos naturais e biotecnológicos. Acreditamos que tenhamos atingido nosso objetivo uma vez contamos com um grande número de participantes e uma quantidade expressiva de trabalhos apresentados.

Teresina, 18 de agosto de 2015.

Comissão organizadora – I RENAPTE

## **COMISSÃO ORGANIZADORA**

Profa. Dra. Aldeídia Pereira de Oliveira (Coordenadora do Evento)

Profa. Dra. Rita de Cássia M. Oliveira (Vice-coordenadora do PPGF)

Profa. Dra. Fernanda Regina de Castro Almeida (Coordenadora do PPGF)

Profa. Dra. Rosimeire Ferreira dos Santos (UFPI)

## **COMISSÃO CIENTÍFICA**

Profa. Dra. Fernanda Regina de Castro Almeida (UFPI)

Profa. Dra. Rosimeire Ferreira dos Santos (UFPI)

Profa. Dra. Eurica Adélia Nogueira Ribeiro (UFAL)

Profa. Dra. Maria do Socorro de Sousa Cartágenes (UFMA)

Profa. Ms. Vera Lucia Rigoni da Silva (UNIFESP)

Pof. Dr. Rafael de Almeida Travassos (UFPB)

Profa. Dra. Danielly Albuquerque da Costa (UFCEG)

Profa. Dra. Sâmia Andricia S. da Silva (UFAL)

## **Núcleo de Pesquisas em Plantas Mediciniais – NPPM**

### **Programa de pós-graduação em Farmacologia**

Universidade Federal do Piauí, Campus Ministro Petrônio Portella, Engate SG15, Ininga.

CEP 64049-550. Teresina-PI.

Tel: (86) 3215-5872

## SUMÁRIO

### SEÇÃO 1

1. Atividade antibacteriana de <i>Terminalia fagifolia</i> mart. frente a <i>Staphylococcus coagulase</i> negativa resistentes à metilina isolados de hemoculturas.....	6
2. Avaliação da atividade antioxidante da fração Hidroalcoólica de <i>S. santeremnsis</i> no tecido cardíaco de camundongos .....	9
3. Avaliação da capacidade antioxidante <i>in vitro</i> de um monoterpeno .....	12
4. Compostos bioativos em frutos do buriti ( <i>Mauritia flexuosa</i> L): subsídio para o desenvolvimento de alimentos funcionais .....	16
5. Efeito do 2-feniletanol em modelos de dor aguda.....	19
6. Ocorrência de plantas sucessoras em agrossistema irrigado com água produzida.....	23
7. Polissacarídeo sulfatado extraído de <i>G. birdiae</i> reverte parâmetros inflamatórios e estresse oxidativo durante a mucosite induzida por 5-FU .....	26
8. Síntese e Caracterização de Complexos de Quercetina com Fe e Zn: Utilização como Potencial Anti-Leishmanial .....	29
9. Atividade gastroprotetora do chá de <i>Cenostigma macrophyllum</i> Tul. var. <i>acuminata</i> Teles Freire em modelo de úlcera induzida por etanol .....	33
10. Avaliação da atividade antimicrobiana de extrato seco padronizado de <i>Lecythis pisonis</i> Camb (Lecythidaceae) e <i>Vitex agnus castus</i> L. (Verbenaceae) .....	36
11. Efeitos <i>in vitro</i> da arilhidrocomarina sobre os radicais livres e estresse oxidativo em <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	39
12. Estudo das propriedades antidiarreicas da goma do cajueiro, um heteropolissacarídeo complexo extraído do exsudado de <i>Anacardium occidentale</i> L. em roedores .....	42
13. Estudo fitoquímico do extrato etanólico de <i>Luehea divaricata</i> Phytochemical study of the ethanol extract of <i>Luehea divaricata</i> .....	45
14. Etnofarmacologia na escola: o conhecimento de alunos do ensino fundamental da rede pública sobre plantas medicinais.....	49
15. Possível participação da NO sintetase no efeito gastroprotetor da fração acetato de etila de <i>Neoglaziovia variegata</i> (Arruda) Mez. em camundongos .....	52
16. Potencial antifúngico das espécies de <i>Croton</i> spp. para o tratamento de dermatofitoses .....	55
17. Análise fitoquímica da <i>Chenopodium ambrosioides</i> L .....	59
18. Triagem fitoquímica de folhas frescas e secas de <i>Syzygium jambolanum</i> .....	62
19. Ensaio da atividade antioxidante <i>in vitro</i> da pentoxifilina .....	64
20. Espermatogênese sob efeito do fármaco 5- fluorouracil em modelos murinos de mucosite .....	67
21. Extrato etanólico, fração diclorometano e seu componente principal (ácido betulínico) da casca do caule de <i>Mimosa caesalpinifolia</i> na ação antileishmania .....	70
22. Atividade anti-inflamatória crônica do mirtenol e potencial antioxidante.....	73
23. Atividade antissecretória do polissacarídeo sulfatado extraído da alga vermelha <i>Gracilaria caudata</i> na diarreia secretora aguda induzido pela toxina da cólera.....	76
24. Atividade gastroprotetora das frações solúvel e insolúvel em água do extrato hidroalcoólico da casca de <i>ximenia ameriana</i> em úlceras gástricas.....	79
25. Avaliação da atividade antitumoral de derivados semissintéticos das riparinas naturais .....	82
26. Avaliação da atividade sequestradora de radicais não biológicos por um derivado do ácido gálico isolado de <i>Peltophorum dubium</i> .....	85
27. Avaliação do efeito antidepressivo da pentoxifilina em camundongos .....	88
28. Avaliação do potencial antioxidante <i>in vitro</i> de um hemiterpeno candidato a novo fármaco .....	91
29. Efeito da fração do polissacarídeo sulfatado extraído da alga marinha <i>Hypnea musciformis</i> na diarreia osmótica e inflamatória em roedores .....	94

## SEÇÃO 2

---

30. Efeito vasorrelaxante do fitoestrógeno Diosgenina em artéria aorta de ratas ovariectomizadas – OVX .....	97
31. Efeito vasorrelaxante do óleo essencial de <i>Lippia origanoides</i> H.B.K. em ratos .....	100
32. Investigação do efeito antipruriginoso do extrato seco obtido por aspersão das folhas de <i>Lecythis pisonis</i> Camb em roedores .....	103
33. Avaliação <i>in vitro</i> da capacidade antioxidante de cápsulas de ômega três processados .....	106
34. Avaliação <i>in vitro</i> da capacidade antioxidante de sucos processados .....	109
35. Obtenção e caracterização de extrato seco padronizado de <i>Vitex agnus castus</i> L. como contribuição para desenvolvimento de fitoterápicos .....	112
36. Estudo fitoquímico do extrato etanólico das vagens de <i>Samanea tubulosa</i> (Benth.).....	115
37. Ação tóxica da fração etanólica de <i>Casearia sylvestris</i> em camundongos e <i>Artemia salina</i> .....	118
38. Avaliação da atividade androgênica e antiandrogênica de ratos tratados com extrato etanólico de <i>Simarouba versicolor</i> .....	121
39. Avaliação da atividade antioxidante e toxicidade do óleo essencial de <i>Croton sincorensis</i> Mart. ex Muell. Arg.....	124
40. Avaliação da toxicidade oral do alfa-Felandreno em ratas .....	127
41. Avaliação da toxicidade oral do monoterpene terpinoleno em ratas .....	130
42. Avaliação das atividades tóxica e oxidativa do óleo da <i>Copaifera langsdorfii</i> .....	133
43. Citogenotoxicidade do óleo essencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.....	136
44. Citotoxicidade de um hemiterpeno frente ao teste de exposição à <i>Artemia salina</i> .....	139
45. Efeito do óleo essencial dos frutos da aroeira-vermelha ( <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi) sobre parâmetros reprodutivos em ratas Wistar .....	142
46. Pesquisa da atividade androgênica e antiandrogênica do extrato etanólico das favas de <i>Senna spectabilis</i> em ratos Wistar .....	145
47. Pesquisa de toxicidade do extrato etanólico das folhas de <i>Myracrodruon urundeuva</i> Allem. frente à <i>Artemia salina</i> .....	148
48. Screening genotóxico do extrato hidroalcoólico da <i>Operculina alata</i> (Ham) Urban .....	151
49. Toxicidade subaguda do extrato etanólico das folhas de <i>Myracrodruon urundeuva</i> sobre ratas Wistar.....	154
50. Avaliação da atividade antileishmania e hemolítica do extrato etanólico da aroeira-do-sertão.....	157
51. Avaliação da atividade antimicrobiana da lectina de sementes de <i>Lonchocarpus sericeus</i> .....	160
52. Avaliação do efeito do líquido obtido da castanha de caju ( <i>Anacardium occidentale</i> L.) (LCC) sobre <i>Leishmania amazonensis</i> e macrófagos murinos .....	163
53. Avaliação do emprego do nanomaterial híbrido formado por nanopartículas de prata e ácido tânico no combate à leishmaniose .....	166
54. Avaliação do potencial antileishmania e citotóxico de plantas de uso popular de ocorrência no bioma cerrado piauiense .....	169
55. Características químicas e físico-químicas dos frutos do murici-pitanga ( <i>Byrsonima gardneriana</i> A. Juss - Malpighiaceae) em diferentes estádios de maturidade .....	172
56. Estudo da ação leishmanicida do nanocompósito constituído por nanopartículas de prata e quitosana sobre formas promastigotas de <i>Leishmania amazonensis</i> .....	175
57. Extrato etanólico, fração diclorometano e seu componente principal (ácido betulínico) da casca do caule de <i>Mimosa caesalpinifolia</i> na ação antileishmania .....	178
58. Efeito vasorrelaxante das frações de <i>Sida santeremniensis</i> em anéis de artéria mesentérica superior isolada e pré-contráidos com KCl 80 Mm .....	181



**Efeito vasorrelaxante do fitoestrógeno Diosgenina em artéria aorta de ratas ovariectomizadas  
– OVX.**

**Vasorelaxant effect of Diosgenin phytoestrogen in artery aorta of ovariectomized rats – OVX.**

Iris Jordânia Luz Moura<sup>1,a\*</sup>, Ilmara Cecília Pinheiro da Silva Moraes<sup>1,b</sup>,  
Aldeídia Pereira de Oliveira<sup>1,2</sup> [ilmara.cecilia@hotmail.com](mailto:ilmara.cecilia@hotmail.com)

<sup>1</sup>Núcleo de Pesquisas em Plantas Mediciniais - NPPM/CCS/UFPI; <sup>2</sup>Universidade Federal do Piauí,  
<sup>a</sup>Iniciação Científica. <sup>b</sup>Pós-Graduação

**Introdução**

A Diosgenina é um dos principais constituintes bioativos de plantas, sendo encontrada nas sementes de feno-grego (*Trigonella foenum graecum*), e nas raízes de inhame (*Dioscorea villosa*). Possui atividade antibacteriana (WANG, Y.J. et al., 2011) e antiinflamatória (PATEL, K. et al. 2012). Segundo Dias (2006) a Diosgenina induz efeito vasorrelaxante dependente e independente de endotélio em anéis mesentéricos de ratos normotensos. O estudo busca investigar o efeito vasorrelaxante induzido por Diosgenina em artéria aorta de ratas OVX, com regressão máxima de estrógeno, induzida por ovariectomia, que mimetiza a pós-menopausa.

**Metodologia**

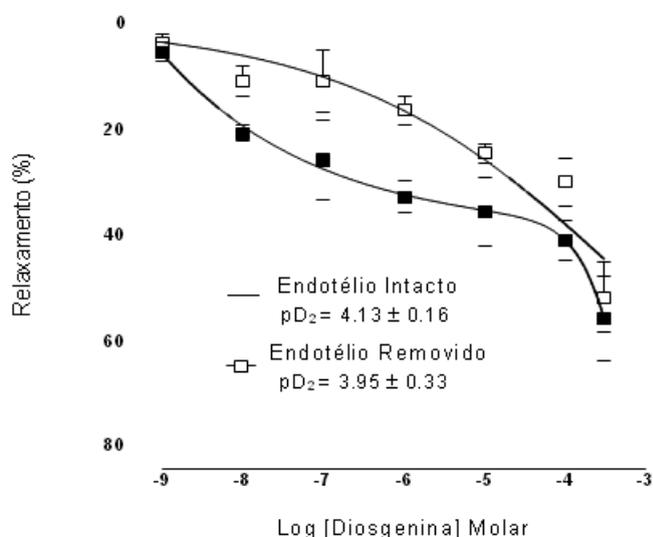
Foram utilizadas ratas Wistar (220-250g, 12 semanas, CEEA/UFPI nº 069/2014). Após eutanásia com tiopental sódico (100 mg/kg, i.p. – Resolução nº 1000, de 2012 – CFMV), a artéria aorta foi retirada, limpa e seccionada em anéis mantidos em solução Krebs (37°C, 1,50 g/f e aerados com 95% O<sub>2</sub> e 5% CO<sub>2</sub>). As tensões isométricas foram obtidas por transdutores de força acoplados ao sistema de aquisição de dados (AECAD 1604, AVS Projetos, SP). A integridade do endotélio foi verificada através do relaxamento a acetilcolina (10<sup>-6</sup> M) em anéis pré-contraídos por fenilefrina (10<sup>-6</sup> M). Considerou-se com endotélio anéis com relaxamento superior a 70% e sem endotélio relaxamento inferior a 10% (FURCHGOTT e ZAWADZKI, 1980). Em seguida, os anéis foram pré-contraídos com fenilefrina (1 µM) ou KCl 80 mM, e na fase tônica da contração foram administradas de maneira cumulativa concentrações crescentes de Diosgenina (10<sup>-8</sup> – 3x10<sup>-4</sup> M). Os resultados foram expressos como média ± E.P.M. Utilizou-se o teste t de Student não-pareado para análise de significância. Foram considerados significantes os valores de P<0,05. Prism 5.0.

**Resultados**

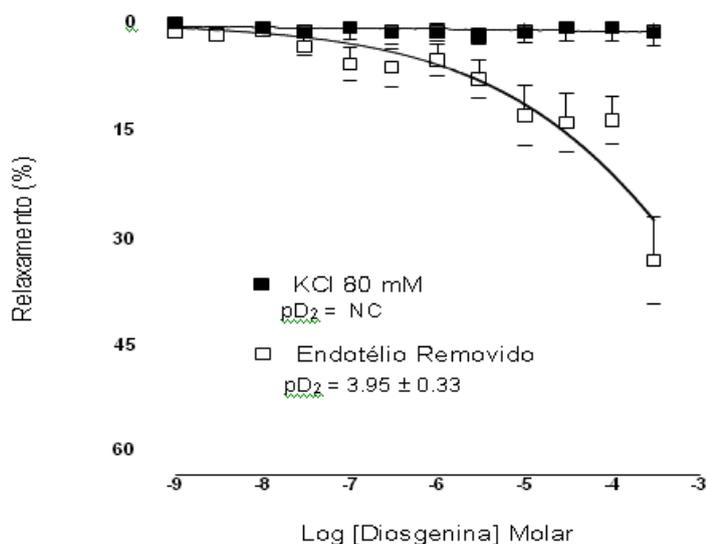
A Diosgenina exibiu efeito vasorrelaxante em preparações de anéis de artéria aorta de ratas

normais utilizadas como controle sobre a contração tônica induzida por fenilefrina ( $1 \mu\text{M}$ ), na presença ( $pD_2 = 4,13 \pm 0,16$ ;  $E_{\text{máx.}} = 55,34 \pm 7,95$ ) e na ausência ( $pD_{0,33}$ ;  $E_{\text{máx.}} = 51,35 \pm 8,13$ ) do endotélio vascular (Gráfico 01). A adição cumulativa de Diosgenina em anéis de artéria aorta de ratas OVX sem endotélio pré-contraídos com KCl 80 mM, não promoveu efeito vasorrelaxante significativo (Gráfico 02).

**Gráfico 01:** Curvas concentrações-resposta do efeito vasorrelaxante da Diosgenina sobre anéis de aorta pré-contraídos por Fen ( $1 \mu\text{M}$ ) na presença (■) e na ausência (□) do endotélio. Os resultados foram expressos como Média  $\pm$  E.P.M., e os valores de  $pD_2$  foram obtidos por regressão não linear ( $n=5$ ).



**Gráfico 02:** Efeito vasorrelaxante da Diosgenina em anéis de aorta de ratas OVX sem o endotélio vascular despolarizada com KCl 80 mM (■) comparadas com o efeito vasorrelaxante obtido após pré-contração por Fen ( $1 \mu\text{M}$ ) (□). Os resultados foram expressos como Média  $\pm$  E.P.M., e os valores de  $pD_2$  foram obtidos por regressão não linear ( $n=5$ ).



## Discussão

Neste estudo avaliou-se o efeito vasorrelaxante do fitoestrógeno Diosgenina sobre o músculo liso vascular. Os resultados mostram que diosgenina apresenta efeito vasorrelaxante de maneira dependente de concentração e independente de endotélio vascular em anéis de aorta de rato (Figura 1).

A contratilidade da célula muscular lisa é governada por um rígido controle da concentração de  $[Ca^{2+}]_i$ , uma vez que canais de cálcio sensíveis a voltagem -  $Ca_v$  são ativados e inativados por mudanças no potencial transmembranar (BERNARD, 2008), em estado ativo esses canais medeiam o influxo de  $Ca^{2+}$ , que regulam processos intracelulares (ASSIS et al, 2012). Para investigar a participação destes canais, utilizou-se o KCl 80 mM, uma solução que promove contração muscular ao despolarizar a membrana plasmática, ativando os  $Ca_v$  e gerando influxo de  $Ca^{2+}$  (BASTOS et al, 2010). Nestas condições observou-se que, em anéis pré-contraídos com KCl 80 mM, a Diosgenina não promoveu efeito vasorrelaxamento significativo (Figura 2). Esse resultado mostra que provavelmente o mecanismo de relaxamento induzido por Diosgenina não envolve a inibição do influxo de cálcio.

## Conclusão

A Diosgenina exerce sobre anéis de artéria aorta de ratas efeito vasorrelaxante dependente de concentração e independente de endotélio funcional. E não apresenta efeito vasorrelaxante significativo em preparações pré-contraídos por despolarização com KCl 80 mM.

**Palavras-chave:** Diosgenina, OVX, vasorrelaxamento.

## Referências

- ASSIS, T. J. C. F.; FURTADO, F. F.; MOTA, K. S. L.; MEDEIROS, I. A.; SILVA, B. A. Paralisia periódica hipocalêmica tipo 1: Envolvimento dos canais de cálcio dependentes de voltagem. **Revista Neurociência**, v.20, n. 4, p.588- 596, 2012.
- BASTOS, F. A.; MOREIRA, I. J. A.; RIBEIRO, T. P.; MEDEIROS, I. A.; ANTONIOLLI, A. R.; De SOUSA, D. P.; SANTOS, M. R. V. Hypotensive and vasorrelaxant effects of citronellol, a monoterpene alcohol, in rats. Nordic Pharmacological Society. **Basic & clinical Pharmacology & toxicology**, v. 106, n. 4, p. 331-337, 2010.
- BERNARD, G.; SHEVELL, M. I. Channelopathies: a review. **Pediatric Neurology**, v. 38, n. 2, p. 73- 85, 2008.
- DIAS, Katy Lisias Gondim. Avaliação da atividade cardiovascular de fitoestrogênios e caracterização do mecanismo de ação de diosgenina em ratos: estudos in vivo e in vitro. 2006. 115f. (tese doutorado) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.
- FURCHGOTT, R. F.; ZAWADZKI, J. V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*, 288: 373-376, 1980.
- PATEL, K., GADEWAR, M., TAHILYANI, V. AND PATEL, D. K., A review on pharmacological and analytical aspects of diosgenin: a concise report. *Natural Products and Bioprospecting*, 2012, 2: 46- 52.



**Efeito vasorrelaxante do óleo essencial de *Lippia origanoides* H.B.K. em ratos.**

**Vasorelaxant effect of the essential oil of *Lippia origanoides* H.B.K. in rats.**

Vinícius Miranda de Carvalho<sup>1,a\*</sup>, Gabriela Dantas Carvalho<sup>1,b</sup>, Lorranya Éveli Pereira Feitosa<sup>1,a</sup>,  
Antonia Maria das Graças Lopes Citó<sup>2</sup>, Aldeídia Pereira de Oliveira<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Núcleo de Pesquisas em Plantas Mediciniais - NPPM/CCS/UFPI, vini.cfhm@gmail.com;

<sup>2</sup>Universidade Federal do Piauí, <sup>a</sup>Iniciação Científica, <sup>b</sup>Pós-Graduando

**Introdução**

*Lippia origanoides* H.B.K. (Verbenaceae), conhecida como “Salva-de-Marajó”, é utilizada na medicina popular como antimicrobiano (PASCUAL et al., 2001). Estudos com o extrato etanólico de *Lippia origanoides* (EtOH-Lo) em anéis de artéria mesentérica apresentaram potente efeito vasorrelaxante. O estudo busca caracterizar o efeito vasorelaxante do óleo essencial (OE-LO) obtido das partes aéreas *L. origanoides* em ratos normotensos.

**Metodologia**

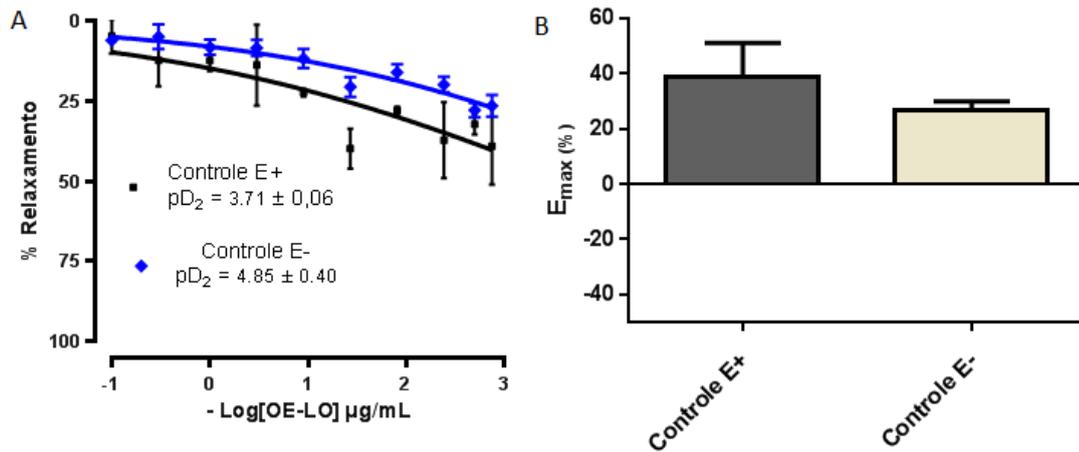
Utilizou-se ratos Wistar (250- 300g- 12 semanas/ CEEA/UFPI N° 008/2012). Após eutanásia tiopental sódico (100 mg/kg, i.p. - Resolução N° 1000, de 2012 – CFMV). A artéria mesentérica foi removida, limpa e seccionada em anéis (2-3 mm) mantidos em solução Tyrode (37°C, 0,75 g/f e aerados com 95% O<sub>2</sub> e 5% CO<sub>2</sub>). As tensões isométricas foram obtidas por transdutores de força acoplados ao sistema de aquisição de dados (AECAD 1604, AQCAD 2.0.5., AVS Projetos, São Paulo-SP/Brasil). A integridade do endotélio foi verificada através do relaxamento a acetilcolina (10<sup>-5</sup> M) em anéis pré-contraídos por fenilefrina (10<sup>-5</sup> M). Considerou-se com endotélio anéis com relaxamento superior a 70% e sem endotélio relaxamento inferior a 10% (SILVA-FILHO et al., 2011). Após análise, os anéis foram pré-contraídos com fenilefrina (10 µM) ou KCl 80 mM, respectivamente, seguido da administração cumulativa de concentrações crescentes (0,1 - 750 µg/ml) do OELO na fase tônica da contração. Os resultados foram expressos como média ± e.p.m. Utilizou-se o Teste-T de Student não pareado para análise de significância. Consideraram-se significantes valores de P<0,05. Prism 5.0.

**Resultados**

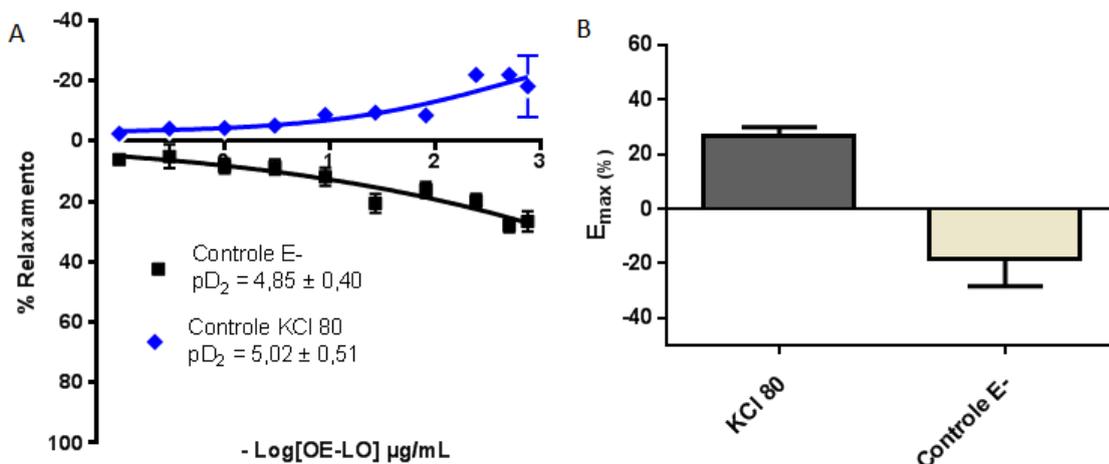
O OE-LO (0,1 - 750 µg/ml) induziu um modesto efeito vasorrelaxante em preparações com e sem o endotélio vascular sobre a contração tônica induzida por fenilefrina (10 µM), apresentando os seguintes valores de pD<sub>2</sub> na presença (E<sup>+</sup>: 3.71 ± 0.06, E<sub>máx</sub>: 32,33 ± 3,09) e ausência (E<sup>-</sup>: 4.85 ± 0.40, E<sub>máx</sub>: 27,86 ± 2,09) p>0.05 vs E<sup>-</sup> (FIGURA 1). A adição cumulativa de OE-LO em anéis sem endotélio

pré-contraídos com KCl 80 mM, não promoveu efeito vasorrelaxante, mas sim efeito constritor ( $E_{\text{máx}}$ :  $18,17 \pm 10,11$ ) (FIGURA 2).

**FIGURA 1:** Curva concentração-resposta do efeito vasorrelaxante do OE-LO (0,1 - 750  $\mu\text{g/ml}$ ) em anéis de artéria mesentérica superior isolada de ratos com (■) ( $pD_2$ :  $3,71 \pm 0,06$ ,  $E_{\text{máx}}$ :  $32,33 \pm 3,09$ ) ou sem (◆) endotélio ( $pD_2$ :  $4,85 \pm 0,40$ ,  $E_{\text{máx}}$ :  $27,86 \pm 2,09$ ), pré-contraídos com fenilefrina (10  $\mu\text{M}$ ). (A); Valores do efeito vasorrelaxante máximo do OE-LO (0,1 - 750  $\mu\text{g/ml}$ ) em anéis de artéria mesentérica superior isolada de ratos com (■) ou sem (■) endotélio e pré-contraídos com fenilefrina (10  $\mu\text{M}$ ). (B) Os valores foram expressos como Média  $\pm$  e.p.m.  $p > 0,05$  não significativo, teste t-Student,  $n=5-7$ .



**Figura 02 –** Efeito do OE-LO sobre contrações induzidas por agente despolarizante (KCl 80 mM) em anéis de artéria mesentérica superior isolada de ratos livres endotélio vascular (◆) e com controle obtido com preparações pré-contraídas com fenilefrina (10  $\mu\text{M}$ ) (■). (A) Valores do efeito vasorrelaxante máximo do OE-LO (0,1 - 750  $\mu\text{g/ml}$ ) em anéis de artéria mesentérica superior isolada de ratos sem o endotélio vascular despolarizada com kCl 80 mM (■) ( $pD_2$ :  $5,02 \pm 0,51$ ,  $E_{\text{máx}}$ :  $27,86 \pm 2,09$ ) comparado com o efeito vasorrelaxante obtido após pré-contração com fenilefrina (10  $\mu\text{M}$ ) (◆). (B) Os valores foram expressos como Média  $\pm$  e.p.m.  $p > 0,05$ , não significativo, teste t-Student,  $n=5-7$ .



## Discussão

*Lippia origanoides* possui alto teor de óleo essencial, rico em monoterpenos atuantes sobre o sistema cardiovascular através da modulação dos canais iônicos (SANTOS et al, 2011).

O OE-LO promoveu efeito vasorrelaxante dependente e independente do endotélio vascular, apresentando neste último, menor potência (FIGURA 01).

A contratilidade da célula muscular lisa é controlada pela concentração de cálcio intracelular através dos seus respectivos canais presentes no músculo liso. Em preparações sem o endotélio vascular, a solução foi substituída por KCl 80 mM, uma solução despolarizante que promove abertura de canais de cálcio ( $Cav$ ) sensíveis a voltagem (BASTOS et al, 2010), seguida da adição do OE-LO, onde não apresentou efeito vasorrelaxante significativo (FIGURA 02). O que difere das respostas obtidas com a adição do EtOH-Lo em anéis despolarizados com KCl 80 mM, muito provavelmente em função da diferente constituição química entre as substâncias.

## Conclusão

O OE-LO promove discreto efeito vasorrelaxante em anéis pré-contraídos com fenilefrina de maneira dependente e independente do endotélio vascular, e não apresenta efeito vasorrelaxante, mas vasoconstrictor em preparações pré-contraídos por despolarização com KCl 80 mM.

**Palavras-chave:** *Lippia origanoides*, óleo essencial, vasorrelaxamento.

**Suporte financeiro:** UFPI/FAPEPI/CAPES/CNPq

## Referências

PASCUAL, M. E.; SLOWING, K.; CARRETERO, E.; MATA, D. S.; VILLAR, A. *Lippia*: traditional uses, chemistry and pharmacology. A review. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 76, n. 3, p. 201–214, 2001.

SILVA-FILHO, J.C.; OLIVEIRA, N.N.; ARCANJO, D.D.; QUINTANS-JÚNIOR, L.J.; CAVALVANTI, S.C.; SANTOS, M.R.; OLIVEIRA, R.C.; OLIVEIRA, A.P. **Basic & clinical Pharmacology & toxicology**, v.110, n. 2., p. 171-177, 2011.

SANTOS, M. R. V.; MOREIRA, F. V.; FRAGA, B. P.; SOUZA, D. P.; BONJARDIM, L. R.; QUINTANS-JUNIOR, L. J. Cardiovascular effects of monoterpenes: a review. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 21, p.764-771, 2011.

BASTOS, F. A.; MOREIRA, I. J. A.; RIBEIRO, T. P.; MEDEIROS, I. A.; ANTONIOLLI, A. R.; De SOUSA, D. P.; SANTOS, M. R. V. Hypotensive and vasorrelaxant effects of citronellol, a monoterpene alcohol, in rats. Nordic Pharmacological Society. **Basic & clinical Pharmacology & toxicology**, v. 106, n. 4, p. 331-337, 2010.



# I SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS

De 17 a 19 de junho de 2015 - Auditório do CTT/UFPI Teresina - PI

**Investigação do efeito antipruriginoso do extrato seco obtido por aspersão das folhas de  
*Lecythis pisonis* Camb em roedores.**

**Investigation of antipruritic effect in extract obtained by spray drying at leaves of *Lecythis  
pisonis* Camb in rodents.**

Stella de Sousa Everton<sup>1</sup>, Bruno da Silva Gomes<sup>1</sup>, Benedito Pereira de Sousa Neto<sup>1</sup>, Prof. Dr.  
Francisco de Assis Oliveira<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Departamento de Bioquímica e Farmacologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal  
do Piauí, Teresina-PI, Brasil.  
stelladesousaevertton@gmail.com

## Introdução

O prurido é caracterizado por uma sensação cutânea desagradável que, como a dor, atua como um alarme de defesa do organismo; porém, quando se torna exacerbado, interfere na qualidade de vida do indivíduo (YOSIPOVITCH, 2003). Assim, a redução do prurido constitui uma estratégia eficaz para prevenir o agravamento das lesões da pele e melhorar a qualidade de vida dos pacientes que sofrem de dermatites (CAROLINE, 1999). As folhas de *Lecythis pisonis* Camb. (Lecythidaceae) conhecida popularmente como “Sapucaia” ou “Cumbuca de Macaco” são utilizadas na medicina tradicional na forma de banho para o tratamento da coceira (prurido) no corpo (FRANCO, 2006). Em um contexto geral, a utilização de extratos de plantas para propósitos medicinais tem suscitado maior interesse nos últimos anos, apresentando os extratos secos uma maior visibilidade em decorrência de possuírem maior estabilidade química, físico-química e microbiológica e ainda uma maior concentração de compostos ativos (OLIVEIRA, 2010). Com base no exposto, o presente trabalho objetiva o estudo antipruriginoso com *Lecythis pisonis* avaliando-se a atividade antipruriginosa do extrato seco por aspersão a partir de extratos fluidos das folhas de *Lecythis pisonis* em modelos animais.

## Metodologia

O extrato seco por aspersão das folhas de *Lecythis pisonis* foi fornecido pela professora Dra. Maria das Graças Freire de Medeiros (Coordenação do curso de Farmácia / UFPI). Utilizaram-se camundongos Swiss (25-30 g), provenientes do biotério do Núcleo de Pesquisas em Plantas Mediciniais (NPPM) da Universidade Federal do Piauí (UFPI). Parecer CEEA/UFPI, Nº 104/14).

A toxicidade oral aguda foi realizada em camundongos em grupos de 6 animais sendo 3 machos e 3 fêmeas, mantidos em jejum de sólidos por 18 h, sendo tratados por via oral e via intraperitoneal com o extrato seco por aspersão obtido das folhas de *Lecythis pisonis* (ESALP) em uma única dose de 2 g/kg. Sendo avaliados por 4 horas após a administração do extrato e durante 14 dias os parâmetros comportamentais (MALONE; ROBICHAUD, 1962; SOUZA BRITO, 1994)

Para a análise do efeito do extrato seco por aspersão das folhas de *Lecythis pisonis* (ESALP) no prurido induzido pelo Composto 48/80 os camundongos Swiss machos foram divididos em grupos de 6

animais e mantidos em jejum de sólidos por 18 h. Os animais foram tratados, via oral, com veículo (salina 0,9%, 10 mL/kg), ESALP (50, 100, 200 mg/kg) e ciproheptadina (10 mg/kg). Uma hora após o tratamento os animais receberam uma injeção subcutânea do Composto 48/80 (100 µg/100 µL) na região dorsal da cabeça, sendo o prurido quantificado conforme descrito por KURAISHI (1995).

## Resultados

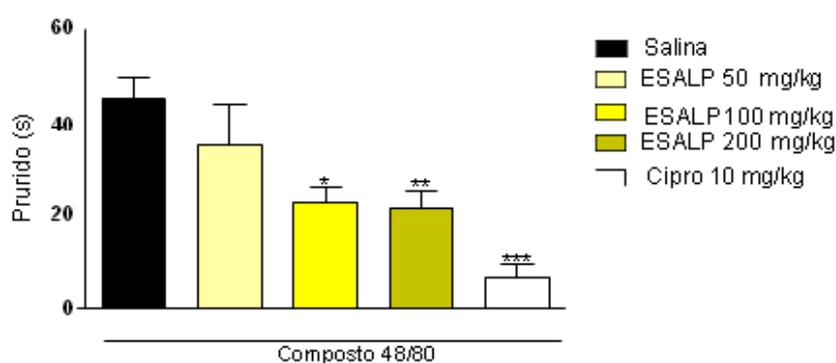
**TABELA 1** - Avaliação da dose letal média (DL50) do extrato seco por aspersão das folhas de *Lecythis pisonis* por via oral e intraperitoneal em camundongos Swiss machos e fêmeas (25-30g).

VIA	DOSE	N° ANIMAIS	PERIODO DE OBSERVAÇÃO								
			24 h			48 h			72 h		
			N (%)	D (%)	M (%)	N (%)	D (%)	M (%)	N (%)	D (%)	M (%)
V.O	2000 mg/kg	06	100	0	0	100	0	0	100	0	0
I.P	2000 mg/kg	07	0	0	100	0	0	0	0	0	0

Teresina 2015.

**Legenda:** N: Normal; D: Deprimido; M: Morto; V.O: Via oral; I.P: Via intraperitoneal

**FIGURA 1** - Efeito do ESALP (folhas) sobre o prurido induzido pelo Composto 48/80 (100 µL, s.c.) em camundongos. Os animais foram tratados com veículo (salina v.o), ESALP (50, 100, 200 mg/kg v.o) e Ciproheptadina (Cipro 10 mg/kg v.o) 60 minutos antes do experimento. Os valores são expressos em média± EPM. \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001 vs Veículo (ANOVA, teste de Tukey).



## Discussão

De acordo com os resultados, a administração oral do ESALP até a dose de 2 g/kg por via oral, não produziu mortes, dessa forma não foi possível o cálculo da dose letal 50 (DL<sub>50</sub>), tampouco alterações comportamentais. Entretanto a administração por via intraperitoneal do ESALP, na dose de 2g/kg, provocou algumas alterações comportamentais e a morte de todos os animais. A ausência da toxicidade por via oral serviu para estabelecer a via e as doses utilizadas neste estudo.

O pré-tratamento do ESALP nas doses de 100 e 200 mg/kg, reduziu de forma significativa ( $p < 0,05$ ) o prurido induzido pela administração do Composto 48/80 ( $23,00 \pm 2,95$  e  $21,70 \pm 3,30$  s/20 min) quando comparado ao grupo controle veículo ( $45,00 \pm 4,70$  s/20 min). A dose de 50 mg/kg ( $35,25 \pm 8,63$  s/20 min) não apresentou redução significativa do prurido em relação aos animais tratados com veículo. A administração da ciprooptadina (10 mg/kg), fármaco padrão, reduziu significativamente ( $p < 0,05$ ) a resposta pruriceptiva induzida pelo Composto 48/80 ( $6,60 \pm 2,90$  s/20 min).

### Conclusão

Em conclusão, os resultados obtidos demonstram que o extrato seco por aspensão das folhas de *Lecythis pisonis* possui baixa toxicidade aguda por via oral e possui a ação antipruriginosa no modelo estudado. Assim os achados farmacológicos são promissores no tocante ao desenvolvimento de um fitoterápico como alternativa terapêutica para o prurido. Contudo são necessários estudos para determinar os mecanismos de ação bem como o metabólito ativo envolvido no efeito antipruriginoso do extrato seco por aspensão das folhas de *Lecythis pisonis*.

**Palavras - chaves:** *Lecythis pisonis* Camb, Atividade anti-pruriginosa, Composto 48/80, Extrato seco, Tecnologia de fitoterápico

### Referências

- CAROLINE, S. K. Icting and the atopic skin. **Journal of Allergy And Clinical Immunology**, 104, 109-113, 1999.
- FRANCO, E. A. P; BARROS, R. F. M.; Uso e diversidade de plantas medicinais no Quilombo Olho D'água dos Pires, Esperantina, Piauí. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.8, n.3, p.78-88, 2006.
- KURASHI, Y; NAGASAWA, T; HAYASHI, K; SATOH, M. Scratching behavior induced by pruritogenic but not algesciogenic agents in mice. **European Journal of Pharmacology**.275, 229–233, 1995.
- MALONE, M.H. & ROBICHAUD, R.C.A hippocratic screen for pure or crude drug materials. **Lloydia**, 25, 320-32, 1962.
- MILLER, L. C.; TAINTER, M. L. Estimation of the LD50 and its error by means of logarithmic probit graph paper. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, 57, 261-262, 1944.
- OLIVEIRA, O. W.; PETROVICK, P. R.; Secagem por aspensão (spray drying) de extratos vegetais: bases e aplicação. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 20(4): 641-650, Ago./Set. 2010
- SOUZA BRITO, A.R. Manual de ensaios toxicológicos "in vivo". **Ciências médicas. Campinas: Unicamp**, 15-22, 1994.
- YOSIPOVITCH, G.; GREAVES, M. W.; SCHMELZ, M. Itch. **Lancet**. 361: 690-94, 2003



# I SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS

De 17 a 19 de junho de 2015 - Auditório do CTT/UFPI Teresina - PI

## **Avaliação in vitro da capacidade antioxidante de cápsulas de ômega três processados**

### **In vitro evaluation of antioxidant capacity of capsules of omega three processed**

Amanda Gomes Torres<sup>1</sup>, Angela Maria de Sousa Freitas Menezes<sup>1</sup>, Renandro de Carvalho Reis<sup>1</sup>, Francílio de Carvalho Oliveira<sup>2</sup>, Maria José Soares Monte<sup>2</sup>, Jancineide Oliveira de Carvalho<sup>2</sup>.

1– Acadêmica do Centro Universitário UNINOVAFAPI (relatora)

amandag.torres@hotmail.com 2-

Professores do Centro Universitário UNINOVAFAPI

### **Introdução**

A indústria de alimentos funcionais tem experimentado rápido crescimento e desenvolvimento no mercado. Fundamental para o avanço dos alimentos funcionais tem sido a evolução de interesse científico e do consumidor na capacidade de nutrição para prevenir a doença crônica e otimizar a saúde, que vai além do foco tradicional na prevenção de doenças por deficiência de nutrientes. Os alimentos funcionais exemplificar essa evolução em alimentos e saúde, como têm demonstrado ter benefícios fisiológicos e / ou reduzir o risco de doença crônica além das funções nutricionais básicas. No entanto, o sucesso no mercado a longo prazo de alimentos funcionais é dependente da aceitação do consumidor, e atitudes e percepções relativa a estes produtos (VELLA, 2014).

Elevadas concentrações de EPA e DHA pode ser encontrado em óleos de peixe e de peixe de água fria. DHA é o principal PUFA presentes nas frações de fosfolípidos do cérebro e EPA é um agente anti-inflamatório potente e pode deslocar o ácido araquidônico em membranas celulares do sistema imunológico para afetar a sinalização de células T e o antígeno apresentação. Uma série de estudos epidemiológicos tem observado uma associação consistente de uma diminuição do risco de AD ao maior consumo de peixe (SHINTO, 2014).

Neste estudo, foi investigado a capacidade antioxidante em duas marcas de cápsulas de ômega três, através do método de DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila ), que tornou-se uma ferramenta vantajosa para controle da qualidade dos alimentos industrializados.

### **Metodologia**

A pesquisa teve como base inicial um levantamento bibliográfico acerca da temática estudada seguida dos estudos laboratoriais realizados em sequência.

As amostras foram transferidas a um béquer 100 ml adicionando em sequencia 40 ml de álcool etílico a 50%, homogeneizado e deixadas em repouso por 60 minutos em temperatura ambiente. A partir do resíduo da primeira extração, adicionou-se 40 ml de acetona a 70%, homogeneizado e

deixado em repouso durante 60 minutos em temperatura ambiente. Em seguida transferiu-se o sobrenadante para um balão volumétrico contendo o primeiro sobrenadante e completado para 100mL com água destilada.

A partir do extrato obtido no item anterior, foi realizado estudos sobre 3 (três) concentrações, sendo elas 0,1ml do extrato com 2,4ml (1ª concentração) do radical DPPH, 0,2ml do extrato com 2,3ml (2ª concentração) do radical DPPH e 0,3ml do extrato com 2,2ml (3ª concentração) do radical DPPH, e em sequência foram homogeneizadas. Utilizou-se 0,1 da solução controle e 2,4 ml de radical DPPH e homogeneizado em seguida. Álcool etílico foi utilizado como branco para calibrar o espectrofotômetro e as leituras foram observadas a 515nm até a estabilidade da absorbância.

## Resultados

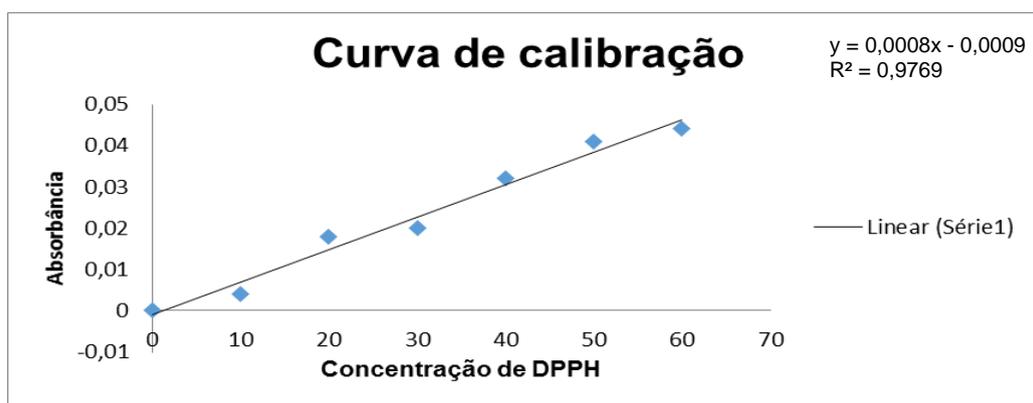


Fig 1. Curva padrão utilizada no experimento

Os valores obtidos para as características químicas das diferentes cápsulas analisadas, foram processados e devidamente expressos na tabela 01.

Tabela 01 - Capacidade antioxidante das cápsulas de ômega três em diversas concentrações.

Amostra	Capacidade antioxidante (%)		
	C 1	C 2	C 3
H	42,85	35,71	40,00
M	46,57	46,90	14,82

Na tabela 01, observa-se que o percentual da atividade antioxidante das marcas de cápsulas de ômega três analisadas, foram semelhantes, confirmando a presença de componentes com capacidade antioxidante nesses produtos.

## Discussão

A quantidade e o tipo de gordura alimentar exercem influência direta sobre fatores de risco cardiovascular, tais como a concentração de lipídeos e de lipoproteínas plasmáticas. Os ácidos graxos estão envolvidos na adipogênese e, nas dietas ricas em PUFA, podem modular a expressão de proteínas no tecido adiposo, podendo atuar como reguladores transcricionais de alguns genes relacionados ao metabolismo de lipídeos. A melhor evidência para explicar o

decréscimo da concentração de triacilglicerol é a redução da lipogênese hepática ocasionada pela inibição de duas enzimas envolvidas na síntese desse lipídio pelo fígado (SIMÃO,2010).

De acordo com Garófolo (2006), os efeitos da suplementação com ômega-3 vêm sendo investigados. Uma revisão recente apontou que a recomendação para o uso da suplementação com ômega-3 está bem estabelecida para determinadas condições clínicas, entre elas doença cardiovascular, hipertrigliceridemia e artrite reumatóide. Entretanto, outras condições, que podem se beneficiar da ação antiinflamatória do ômega-3, ainda estão sendo estudadas, apresentando evidências desses benefícios. Alguns estudos mostraram que a suplementação com ácidos graxos da família ômega-3 atenuou a resposta inflamatória aguda, prevenindo o catabolismo, e melhorou a utilização dos substratos energéticos, bem como a resposta imune, prolongando a sobrevivência de pacientes com câncer.

### **Conclusão**

As amostras analisadas, obtiveram um percentual elevado quanto a capacidade de atividade antioxidante, indicando uma ação favorável contra radicais livres. Por outro lado, torna-se necessário a ampliação dos estudos a fim de investigar outros parâmetros, para que a população possa ter ciência do produto a ser adquirido.

**Palavras – chave :** Saúde; Antioxidante; ômega três; análise.

### **Referências**

- VELLA, M. N.; STRATTON, L.M.; SHEESHKA, J.; DUNCAN, A. M. et al. Functional food awareness and perceptions in relation to information sources in older adults. **Nutrition Journal**. 2014.
- SHINTO, L.; QUINN, J.; MONTINE, T.; DODGE, H. H.; et al. A Randomized Placebo-Controlled Pilot Trial of Omega-3 Fatty Acids and Alpha Lipoic Acid in Alzheimer's Disease. **National Institutes of Health**. 2014.
- SIMÃO, A. N. C.; GODENY, P.; LOZOVY, M. A. B.; DICHI, J. B. DICHI, I. Efeito dos ácidos graxos n-3 no perfil glicêmico e lipídico, no estresse oxidativo e na capacidade antioxidante total de pacientes com síndrome metabólica. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**. 2010.



# I SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS

De 17 a 19 de junho de 2015 - Auditório do CTT/UFPI Teresina - PI

## Avaliação *in vitro* da capacidade antioxidante de sucos processados

### *In vitro* evaluation of the antioxidant capacity of juices processed

Renandro de Carvalho Reis<sup>1</sup>, Amanda Gomes Torres<sup>2</sup>, Ângela Maria de Sousa Freitas Menezes,  
Maria José Soares Montes<sup>2</sup>, Jancineide Oliveira de Carvalho <sup>2</sup>, Francílio de Carvalho Oliveira<sup>2</sup>

1 – Graduandos em Biomedicina pelo Centro Universitário UNINOVAFAPI, Teresina-PI, BRASIL.

renandro1981@hotmail.com

2 – professores do Centro Universitário UNINOVAFAPI, Teresina-PI, BRASIL.

### Introdução

O estresse oxidativo é um fenômeno normal no corpo. Sob condições normais, os níveis intracelulares fisiologicamente importantes de espécies reativas de oxigênio (ROS) são mantidas em níveis baixos por vários sistemas de enzimas que participam na homeostase redox *in vivo*. Assim, o stress oxidativo também pode ser visto como um desequilíbrio entre os prooxidantes e antioxidantes no corpo. Para as duas últimas décadas, o estresse oxidativo tem sido um dos temas mais discutido entre os pesquisadores em todo o mundo (RAHAL, 2014).

Danos dos radicais livres estão ligados à formação de muitas doenças degenerativas, incluindo o cancro, doença cardiovascular, cataratas, e envelhecimento. Espécies reativas de oxigênio em excesso (ROS) pode induzir estresse oxidativo, levando a danos celulares que podem culminar na morte celular. Portanto, as células têm redes de antioxidantes para reduzir os ROS. Os antioxidantes podem atenuar os efeitos prejudiciais de ROS *in vitro* e atrasar muitos acontecimentos que contribuem para o envelhecimento celular (POLJSK, 2013).

Visto o abrangente consumo de sucos processados pela população brasileira, o presente trabalho teve por finalidade avaliar a capacidade antioxidante, o índice de acidez e o pH de sucos industrializados comercializada na cidade de Teresina-PI.

### Metodologia

Foram utilizados 5 (cinco) marcas de sucos industrializados, adquiridos no comércio local. As amostras foram devidamente armazenadas e analisadas no laboratório de Química Analítica e Bromatologia do UNINOVAFAPI.

A análise do pH foi realizada através da medida direta de porções de 50ml do suco, em pH metro marca Quimis, devidamente calibrado em faixa de pH de 4,0; 6,0 e 9,0 o Índice de Acidez foi realizado pelo método titulométrico com NaOH (0,1). A determinação da Atividade Antioxidante Total (AAT) foi realizada a partir do extrato obtido no item anterior, foi realizado estudos sobre 3 (três) concentrações, sendo elas 0,1ml, 0,2ml e 0,3ml do extrato com, respectivamente, 2,4ml, 2,3ml e 2,2ml de solução DPPH (1,1-Diphenyl-2-picryl-hydrazyl). Álcool etílico foi utilizado como branco para calibrar o

espectrofotômetro e as leituras foram observadas a 517nm até a estabilidade da absorbância.

A capacidade de eliminar o radical DPPH (% de atividade antioxidante) foi calculada utilizando-se a seguinte equação:  $\%AA = \{(Abs.contrôle - Abs.amostra) \times 100\} / Abs.contrôle$ . Onde, Abs.contrôle é a absorbância inicial da solução etanólica de DPPH e Abs.amostra é a absorbância da mistura reacional (DPPH + amostra).

## Resultado

A figura 1 refere-se à curva de calibração empregada para o experimento de DPPH. Esta curva também foi avaliada quanto à linearidade. Os resultados foram expressos em percentagem de inibição de oxidação, ou seja, a porcentagem de atividade antioxidante (AA) é correspondente à quantidade de DPPH consumida pelo antioxidante (Tabela 1).

Figura 1 – Curva padrão utilizada no experimento

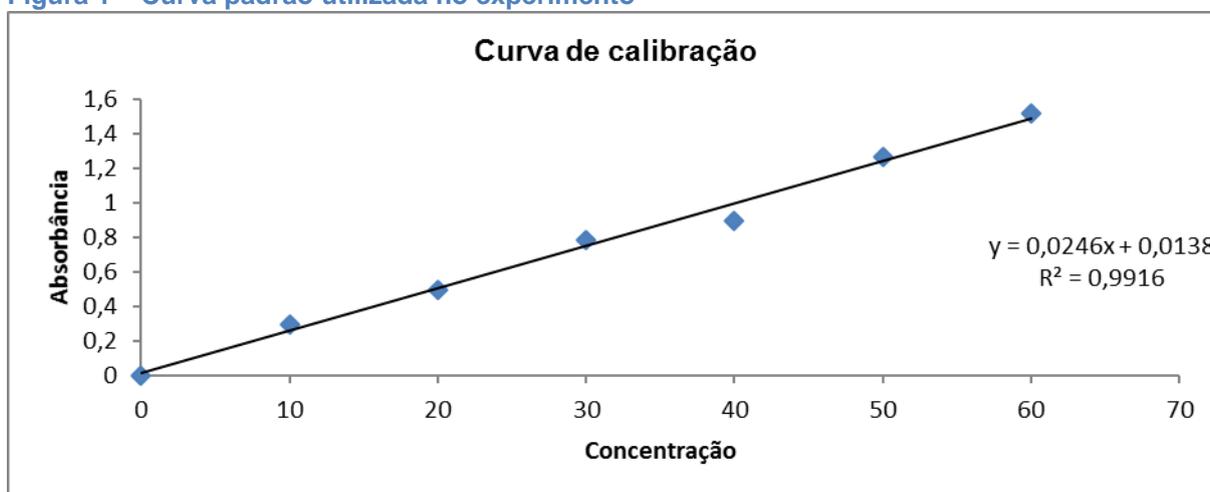


Tabela 1 - Dados gerais das amostras

Amostra	Capacidade antioxidante (%)	Índice de Acidez (IA)	pH
A	42,62 ± 0,01	1,81 ± 0,20	3,98
B	44,13 ± 0,11	3,92 ± 0,97	3,28
C	51,42 ± 0,01	1,62 ± 0,00	2,77
D	20,00 ± 0,02	0,96 ± 0,00	3,12
E	30,00 ± 0,01	2,11 ± 0,17	3,92
F	47,14 ± 0,01	1,05 ± 0,40	3,87
G	50,00 ± 0,02	2,54 ± 0,06	3,95
H	68,57 ± 0,01	2,45 ± 0,32	3,09
I	67,15 ± 0,01	5,53 ± 0,36	2,93
J	40,00 ± 0,01	5,02 ± 0,36	2,97

## Discussão

Segundo Cardoso et. al. (2013), o abuso no consumo de sucos de frutas industrializados pode

causar a perda de minerais dentários, seja por cárie ou erosão dentária. Segundo ainda Cardoso et. al. (2013), o potencial erosivo de uma bebida ácida depende de seu pH, o índice de Acidez e das propriedades de quelação do ácido nela contido, frequência e duração da ingestão. Deste modo a bebida da marca “I” deveria ser evitada por apresentar um maior IA.

Quanto ao pH, observou-se que todos os sucos avaliados apresentaram um caráter ácido, com ênfase para a marca “C” como tendo o maior caráter. Em seu trabalho, Cardoso et. al. (2013) concluiu que um pH de até 5,5, aproximadamente, já é suficiente para enfraquecer e desmineralizar a superfície do esmalte.

Já o potencial antioxidante, todas as amostras apresentaram um potencial antioxidante pelo método utilizado, sendo que a amostra “H” apresentou-se com maior potencial.

### **Conclusão**

Em nossos estudos, concluímos que as amostras continham uma atividade antioxidante, desde leve (20,00%) a acentuada (68,57%), o que nos leva a sugerir que a ingestão destes produtos não sejam realizadas de maneira indiscriminada. Novos estudos estão sendo realizados com outros radicais a fim de promover um comparativo reacional desta atividade.

**Palavras-chave:** Antioxidantes, Atividade Antioxidante, Sucos Processados.

### **Referências**

CARDOSO, A. M. R.; SANTOS, A. M. S.; ALMEIDA, F. W. B.; ALBUQUERQUE, T. P.; XAVIER, A. F. C.; CAVALCANTI, A. L. Características Físico-Químicas de Sucos de Frutas Industrializados: Estudo in vitro. Revista Odontológica. 2013.

POLJSAK, B.; SUPUT, D.; MILISAV, I. Achieving the Balance between ROS and Antioxidants: When to Use the Synthetic Antioxidants. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2013.

RAHAL, A.; KUMAR, A.; SINGH, V.; YADAV, B.; et al. Oxidative Stress, Prooxidants, and Antioxidants: The Interplay. BioMed Research International. 2014.



# I SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS

De 17 a 19 de junho de 2015 - Auditório do CTT/UFPI Teresina - PI

## **Obtenção e caracterização de extrato seco padronizado de *Vitex agnus castus* L. como contribuição para desenvolvimento de fitoterápicos.**

### **Preparation and characterization of standardized dry extract of *Vitex agnus castus* L as a contribution to development of herbal.**

Eilika Andréia Feitosa Vasconcelos<sup>1</sup>, Henara Apoenna Lima Assunção Monteiro<sup>1</sup>, Illo de Freitas Veloso<sup>1</sup>, Maria das Graças Freire de Medeiros<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Farmácia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, Brasil. eafvasconcelos@hotmail.com

#### **Introdução**

*Vitex Castus agnus* L. (VAC) é conhecida popularmente no Brasil como Alecrim d'angola ou Pau d'angola, pertence à família Verbenaceae. Alguns efeitos farmacológicos vêm sendo estudados, dos quais se destacam os relacionados à clínica ginecológica, tais como controle dos níveis de progesterona, da secreção de prolactina e alívio dos sintomas da síndrome pré-menstrual e da mastodínia cíclica (OLIVEIRA, 2005). Existem evidências de que VAC possua também fitoestrogênios baseado na atividade estrogênica que extrato de VAC teve sobre cultura de células da granulosa humana (JARRY et al., 2006). A utilização de adjuvantes tecnológicos adequados, juntamente com a tecnologia de secagem por pulverização constitui um passo importante para a determinação da estabilidade e qualidade de extractos de plantas adequadas. Extratos secos por pulverização de plantas medicinais são de grande interesse para a indústria farmacêutica, porque algumas propriedades tecnológicas, tais como taxa de fluxo, a solubilidade, compressão pode ser alterado e, conseqüentemente, a biodisponibilidade pode ser influenciado (OLIVEIRA et al, 2010). Considerando que a qualidade do extrato vegetal seco é primordial para que a qualidade do produto final seja atestada, este trabalho objetiva a obtenção e caracterização das propriedades reológicas de extrato seco padronizado de VAC como contribuição para o desenvolvimento de fitoterápicos.

#### **Metodologia**

As amostras das folhas de VAC foram coletadas no Horto de Plantas Medicinais da Universidade Federal do Piauí, o modelo de voucher n° 18.885, foi depositado no Graziela Barroso Herbário da Universidade Federal do Piauí. Antes da preparação do extrato líquido, determinou-se a umidade residual das folhas trituradas e secas, conforme metodologia descrita na Farmacopéia Brasileira (2010) e a determinação do teor extrativo (DEUTSCHES, 1986). Os extratos foram obtidos por maceração, durante 5 dias, ao abrigo da luz, usando as folhas secas e trituradas como material vegetal e como líquido extrator o etanol a 70°GL, numa proporção de 1:10 e em seguida realizada a determinação do teor de resíduo seco e depois seco por spray dray tipo Secador de B-290, BÜCHI com adição de adjuvante tecnológico. O Dióxido de silício coloidal (Aerosil®200) foi utilizado como adjuvante

tecnológico na obtenção do extrato seco na proporção de 30% do resíduo seco. A determinação do tamanho das partículas do pó seco nebulizado foi determinada por medida do diâmetro de partículas 500 usando um microscópio óptico com uma escala calibrada fase micrómetro (LEITZ BIOMED-Leica) usando lente de 40x. As características reológicas do pó foram avaliadas através da determinação do ângulo de repouso, densidade aparente e densidade de compactação, Fator de Hausner, velocidade de escoamento e o índice de compressibilidade ou Índice de Carr (ANSEL, 2000).

## Resultados e Discussão

Os resultados da determinação da umidade residual, teor extrativo e resíduo seco são apresentados na tabela 1. Os resultados do estudo das propriedades reológicas do extrato seco estão representados na tabela 2.

**Tabela 1** – Análise da qualidade do material vegetal de *Vitex agnus castus* L. E rendimento do processo de extração.

Umidade residual (% m/m) X (DP %)	Teor de extrativos (% m/m) X (DP %)	Resíduo seco % (m/m) X (DP %)
8,44 (0,33)	24,04 (0,03)	3,10 (0,07)

X: valor médio; DP: desvio padrão. Fonte: Laboratório de controle de qualidade e tecnologia farmacêutica da UFPI.

**Tabela 2** – Análise das características reológicas dos extratos secos de *Vitex agnus castus* L. Os dados referem-se à média de três determinações.

Ensaio	Extrato Seco	Referência
Ângulo de repouso (°)	25,3°	Até 40°
Velocidade de Escoamento	8,02s	Até 10 s
Densidade bruta (g/mL)	0,19	-
Densidade de compactação	0,25	-
Fator de Hausner	1,33	Inferior a 1,25
Índice de Carr (%)	25%	Inferior a 15%
Índice de Compactabilidade (mL)	10	Inferior a 20mL
Diâmetro Médio das Partículas (µm)	2,62 µm	-
Umidade residual do extrato seco	3,05%	6% a 7%

°: graus; s: segundos; mL: mililitros. Fonte. Laboratório de controle de qualidade e tecnologia farmacêutica da UFPI

## Discussão

As características tecnológicas do extrato seco obtido a partir de extrato líquidos de plantas medicinais são de fundamental importância de maneira a auxiliar na escolha dos excipientes adequados a formulações e em definições de técnicas de produção para obter um produto final com qualidade. A determinação da umidade residual é um processo crucial na obtenção de produtos de qualidade, uma vez que a umidade acima de 14% nas drogas vegetais favorece o desenvolvimento

de fungos e bactérias. Neste caso tanto as folhas trituradas quanto o extrato seco apresentaram índices de umidade residual abaixo dos limites preconizados pela Farmacopéia Brasileira, conforme dados das tabelas 1 e 2. A granulometria dos pós, assim como o estudo das propriedades reológicas é primordial no desenvolvimento de formas farmacêuticas sólidas uma vez que interfere na escolha de diferentes excipientes e processos de fabricação que podem influenciar na qualidade final do produto. O extrato seco obtido da VAC foi classificado como um pó finíssimo (2,61µm), esta característica pode ser devido à utilização do dióxido de silício coloidal como adjuvante de secagem, e do teor de sólidos em suspensão no extrato líquido, ocasionando a formação de agregados finíssimos. O Fator de Hausner é um indicativo indireto da estabilidade de empacotamento. Quanto mais próximo de 1, mais estável é o sistema de empacotamento. Outro parâmetro importante que se pode obter a partir das densidades bruta e de compactação é o Índice de Carr (IC), que caracteriza o pó quanto a sua capacidade de fluxo e grau de empacotamento. Valores de IC até 15% indicam pós com bom fluxo e empacotamento estável, enquanto que valores superiores a 25% caracterizam partículas de baixa fluidez (MARSHALL, 2001). Valores inferiores a 20mL determinados no Índice de Compressibilidade sugerem que o pó apresenta propriedades que favorecem a compressão.

### Conclusão

O diâmetro médio das partículas foi de 2,61µm sendo classificado como um pó finíssimo. De acordo com as propriedades reológicas o extrato seco de VAC apresenta características farmacotécnicas que necessitem de excipientes que favoreçam ao fluxo e compressibilidade se os extratos secos forem usados no desenvolvimento de formas farmacêuticas sólidas, tais como comprimidos e cápsulas.

**Palavras-chave:** *Vitex agnus castus* L; extrato seco; spray dray.

### Referências

- ANSEL, H.C.; POPOVICH, N.G. & ALLEN JR., L.V. **Farmacotécnica: formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos**. 6ª.ed. São Paulo: Premier, 2000.
- DEUTSCHES Arzneibuch. 9. Ausgabe. Stuttgart: Wissenschaftliche, 1986.
- FARMACOPÉIA Brasileira, 5 ed. São Paulo: Ateneu, 2010.
- JARRY J, SPENGLER B, PORZEL A. Evidence for estrogen receptor [beta]-selective activity of *Vitex agnus-castus* and isolated flavones. **Planta Medica**, v. 69, p. 945-947, 2006.
- MARSHALL, K. Compressão e consolidação de sólidos em pó. In: LACHMAN, L.; LIEBERMAN, H. A.; KANING, J. L. **Teoria e prática na indústria farmacêutica**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbekian, v. 1, p. 113-170. 2001
- OLIVEIRA, O. W. PETROVICK, P.R. Secagem por aspersão (*spray drying*) de extratos vegetais: bases e aplicações. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. V. 20, n.4, 2010.
- OLIVEIRA, A. B. LONGHI, J. G. ANDRADE, C. A. MIGUEL, O. G. MIGUEL, M. OLIVEIRA, J.C.M. **Estudo farmacológico da *Vitex agnus-castus* L (ação antinociceptiva e toxicidade aguda do extrato aquoso)**. Aracaju, 2005. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) 60 f. Núcleo de Pós-Graduação e Pesquisa em Medicina, Universidade Federal de Sergipe, 2005.



# I SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS

De 17 a 19 de junho de 2015 - Auditório do CTT/UFPI Teresina - PI

## Estudo fitoquímico do extrato etanólico das vagens de *Samanea tubulosa* (Benth.)

### Phytochemical study of the ethanol extract of pods *Samanea tubulosa* (Benth.)

Paulo Alex Bezerra Sales<sup>1</sup>; Marllós Henrique Vieira Nunes<sup>1\*</sup>; Emanuela Ribeiro Moura<sup>1</sup>; Janylla Mirck Guerra de Oliveira<sup>2</sup>; Marina Rebeca Soares Carneiro de Sousa<sup>1</sup>; Jamilly Érica Sousa Campelo<sup>1</sup>; Amilton Paulo Raposo Costa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Piauí, Teresina, Piauí, Brasil  
marllós\_ivete@hotmail.com

<sup>2</sup> Universidade Federal do Piauí, Bom Jesus, Piauí, Brasil

### Introdução

A *Samanea tubulosa* (Benth.), pertence à família Leguminosae, tem distribuição desde o Paraguai, Argentina e Bolívia a vários estados brasileiros, é popularmente conhecida como bordão-de-velho no Brasil, tendo uma ampla utilização na alimentação animal e humana, havendo inclusive produção de etanol a partir da fermentação de seus frutos (LORENZI; SOUZA, 1995; CARVALHO, 2007). Na medicina popular, essa planta é utilizada para o tratamento de infecções cutâneas, inflamações gástricas e infestações parasitárias já foi descrita (CRUZ, 2006). Os processos de prospecção fitoquímica são de extrema importância, pois permitem identificar quais classes de metabólitos secundários e/ou princípios ativos estão presentes em determinada amostra vegetal e, a partir daí, orientar a extração e/ou fracionamento de extratos para isolamento de compostos de maior interesse (PAULISTA et al., 2009). Considerando-se a importância de se obter maiores esclarecimentos acerca dessa espécie, este estudo foi realizado com o objetivo de analisar a composição fitoquímica do extrato etanólico das vagens de *Samanea tubulosa*.

### Metodologia

Uma amostra de *Samanea tubulosa* (Benth.) foi coletada em novembro de 2013 no Centro de Ciências Agrárias (CCA) (Teresina, Piauí, Brasil), localizadas no Campus da Universidade Federal do Piauí, e foi identificada no Departamento de Biologia da mesma instituição. Uma exsicata (TEPB 27.261) foi catalogada no herbário Graziella Barroso, Teresina, Piauí, Brasil. O extrato etanólico das vagens foi preparado a partir de frutos secos em estufa a 45±1 C, que foram triturados em moinho elétrico e submetidos a maceração com etanol a 99,5% durante sete dias à temperatura ambiente com trocas sucessivas, e ao abrigo de luz. O extrato foi concentrado por evaporação rotativa a 50°C, e, em seguida, acondicionados em frascos e guardados em geladeira, para posterior liofilização. Inicialmente uma solução de estoque do extrato da espécie foi preparada, e 1,0 g de cada amostra foi dissolvida em solução etanólica. Os testes fitoquímicos foram realizados de acordo com a metodologia adaptada de Matos (2009) e Costa (2007), buscando a triagem dos seguintes metabólitos secundários: fenóis e taninos; antocianinas, antocianidinas e flavonóides; Leucoantocianidinas, flavanonas e catequinas; flavonóis, flavanonas e flavanonóis, xantonas; esteróides e triterpenos, saponinas; e alcalóides.

## Resultados e discussão

O extrato etanólico da espécie *Samanea tubulosa* (EEST) apresentou várias classes de metabólitos secundários nos testes fitoquímicos realizados (Tabela 1). Vários compostos bioativos descritos na literatura científica como alcalóides, saponinas, flavonóides, taninos, flavonas, flavanonas, flavonóis e catequinas foram encontrados. Dentre esses compostos, constatou-se a forte presença de alcaloides, catequinas e taninos, sugerindo que efeitos medicinais podem advir dos mesmos.

**Tabela 1-** Resultados da abordagem fitoquímica do extrato etanólico da *Samanea tubulosa*

TESTE	EXTRATO
Ácidos fixos fortes	-
Alcalóides	+++
Antocianidinas	0
Antocianinas	0
Catequinas	+++
Esteróides	++
Fenóis simples	0
Flavonoides	0
Flavanonas	++
Flavonois	S
Flavononas	S
Flavononois	S
Leucoantocianidinas	0
Saponinas	++
Taninos	+++
Triterpenoides	0
Xantonas	S

Nota: \*PARÂMETROS: não realizado (-), ausente (0), suspeito (S), fraco (+), médio (++), forte (+++). EEST- Extrato etanólico das vagens de *Samanea tubulosa*.

A triagem fitoquímica do EEST constatou uma forte presença de compostos polifenólicos que possuem efeitos antioxidantes, efeito esse já observado em diversos estudos sobre sua presença em extratos de plantas, entre eles se destacam os taninos e catequinas (VAN ACKER et al., 1996). Alcalóides e saponinas também tiveram suas presenças evidenciadas de forma relevante no EEST, no qual agem diretamente sobre a inflamação, inibindo a atividade enzimática das ciclooxigenases e lipoxigenases (HAMBURGER, 2002; LEUNG et al., 2005; COSTA et al. 2008). Portanto, as análises fitoquímicas do EEST demonstram a presença de diversos compostos bioativos capazes de desencadear extensos efeitos biológicos, o que demonstra a necessidade de novos estudos para avaliação dos efeitos terapêuticos dessas substâncias no organismo, para que possam ser utilizados de forma segura em cosméticos, alimentos e demais possíveis aplicações.

## Conclusão

A abordagem fitoquímica do extrato etanólico das cascas de *Samanea Tubulosa* mostrou a presença dos seguintes constituintes: alcalóides, saponinas, taninos, flavanonas, flavononois, flavononas, flavonois e catequinas.

**Palavras-chave:** Plantas tóxicas; toxicologia; extrato.

## Referências

- CARVALHO, P.E.R. Embrapa Florestas. **Circular técnica 132**. Colombo-PR, Novembro, 2007.
- COSTA, A.C.R. **Abordagem fitoquímica e avaliação da atividade larvicida e nematicida de *Astronium fraxinifolium* Schott**. Monografia (Curso de Licenciatura em Química) – Universidade Estadual do Ceará (FAEC); 2007.
- COSTA, H.F.; BEZERRA-SANTOS C.R., BARBOSA FILHO, J.M.; MARTINS, M.A.; PIUVEZAM, M.R. Warifteine, a bisbenzylisoquinoline alkaloid, decreases immediate allergic and thermal hyperalgesic reactions in sensitized animals. **Int Immunopharmacol.**; v.8, p. 519-525, 2008.
- CRUZ, R.B. **Caracterização Estrutural e Atividade Biológica de Constituintes Isolados de *Samanea tubulosa***. In: XXVII Jornada Giulio Massarani de Iniciação Científica, Artística e Cultural, UFRJ, 2006.
- HAMBURGER M. *Isatis tinctoria*- From the rediscovery of an ancient medicinal plant towards a novel anti-inflammatory phytopharmaceutical. **Phytochem Rev.** v.1, p.333-344, 2002.
- LEUNG, C.Y. et al. Saikosaponin-d inhibits T cell activation through the modulation of PKC $\theta$ , JNK e NF- $\kappa$ B transcription factor. **Biochem Biophys Res Commun.** v.338, p.1920-1927, 2005.
- LORENZI H.; SOUZA, H.M. **Plantas ornamentais no Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras**. Editora Plantarum, São Paulo; 1995.
- MATOS, F.J.A. **Introdução a fitoquímica Experimental**; 3 edição, Edições UFC, Fortaleza; 2009.
- PAULISTA, E.U. et al. **Estudos farmacognósticos e avaliação de atividades biológicas de extratos obtidos das cascas pulverizadas de *endopleurauchi* (huber) cuatrec. (humiriaceae)**. Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Faculdade De Ciências Farmacêuticas, Programa De Pós-Graduação Em Ciências Farmacêuticas, 2009.
- VAN ACKER, S.A; VAN DEN BERG, D.J, TROM, P M.N; GRIFFIOEN, D.H.; VAN BENNEKOM, W.P.; VADER VIJGH, W.J.; BAST, A. Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. **Free Radical Biology and Medicine.** v. 20, n. 3, p. 331-42, 1996.



**Ação tóxica da fração etanólica de *Casearia sylvestris* em camundongos e *Artemia salina***

**Toxic action of the *Casearia sylvestris* ethanolic fraction on mice and *Artemia salina***

Amanda Freitas Goudinho<sup>1\*</sup>, Antônia Amanda Cardoso de Almeida<sup>2</sup>, Jurandy do Nascimento Silva<sup>2</sup>,  
Nárcia Mariana Fonseca Nunes<sup>2</sup>, Alberto José Cavalheiro<sup>3</sup>, Paulo Michel Pinheiro Ferreira<sup>2,4</sup>

<sup>1</sup> Curso de Farmácia – UFPI.

<sup>2</sup> Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas – UFPI

<sup>3</sup> Instituto de Química - UNESP

<sup>4</sup> Departamento de Biofísica e Fisiologia - UFPI.

gamandaf@gmail.com

**Introdução**

*Casearia sylvestris*, vulgarmente conhecida como guaçatonga tem sido amplamente utilizada na medicina popular brasileira com propriedades antissépticas, anti-inflamatórias e anti-ulceras. A grande maioria dos compostos isolados das folhas de *C. sylvestris* é representada por clerodanos, um novo grupo de diterpenóides com atividade biológica. Há um aumento constante no número de clerodanos diterpenóides graças a ensaios de fracionamento bioguiado, mostrando que muitos deles, especialmente os ricos em oxigênio, possuem propriedades antifúngicas, antibacterianas e de repelência em insetos (ORBELIES *et al.*, 2002; HUANG *et al.*, 2004).

**Metodologia**

***Artemia salina*:** Inicialmente será realizado um screening toxicológico com todas as amostras, fazendo uso da metodologia proposta por McLAUGHLIN *et al.* (1991), que utiliza microcrustáceo *A. salina* da classe *Anostrac* como bioindicador de toxicidade. Primeiramente, os ovos de *A. salina* serão eclodidos em água de salinidade a 12 ppm e após 48 h, os metanúplios serão coletados para os bioensaios, devido sua maior sensibilidade nessa fase de crescimento. Em seguida, serão preparadas soluções das amostras a serem testadas nas concentrações 1, 5, 10, 25 e 50 µg e adicionadas 10 microcrustáceos em cada frasco, sendo a contagem das sobreviventes realizada após 24 horas. Após a análise dos resultados, o procedimento será repetido em concentrações intermediárias na tentativa de encontrar a concentração que mata 50% dos microcrustáceos e então determinar a CL<sub>50</sub>, por meio da análise de PROBIT, fazendo uso do programa estatístico SPSS Statistic 20.

**Screening hipocrático:** Camundongos Swiss machos (25-30 g; 2 meses de idade) foram tratados com soluções nas concentrações de 12,5; 25; 50 e 100 mg/kg por via intraperitoneal e nas concentrações de 50, 100, 200 e 400 mg/kg por via oral; o controle negativo foi feito com solução de dimetil sulfóxido a 5% tanto para a via intraperitoneal quanto para a via oral. Os animais foram observados seguindo o screening hipocrático nos intervalos de 30 minutos, 1, 2, 3 e 4 horas após

administração da solução. Os camundongos foram observados uma vez ao dia no dia seguinte ao tratamento, e após isso em dias alternados durante 15 dias. Os resultados foram anotados e organizados em tabelas.

## Resultados

**Tabela 1.** Efeitos de dose única de fração etanólica das folhas de *Casearia sylvestris* administrada por via intraperitoneal em camundongos machos.

EFEITOS				
Dose (mg/kg)	N	Morte/Total	Latência de Mortalidade (h)	Sintomas de Toxicidade
Controle negativo	02	0/3	-	Respiração aumentada, ausência de reflexo corneal, piloereção, tremores.
12,5	03	0/3	-	Piloereção, respiração aumentada, ataxia, contorção, straub, tremores, irritabilidade.
25	03	0/3	-	Respiração aumentada, piloereção, tremores, ataxia, contorção.
50	03	0/3	-	Ataxia, frênilo vocal, respiração aumentada, piloereção, diarreia, contorção.
100	03	1/3	24	Respiração alterada, tremores, piloereção, diarreia, straub, ataxia, anestesia.

Fonte: Laboratório de Cancerologia Experimental (LabCancer®).

**Tabela 2.** Efeitos de dose única de fração etanólica das folhas de *Casearia sylvestris* administrada por via oral por gavagem em camundongos machos.

EFEITOS				
Dose (mg/kg)	N	Morte/Total	Latência de Mortalidade (h)	Sintomas de Toxicidade
Controle negativo	03	0/3	-	Piloereção, contorção, respiração aumentada.
50	03	0/3	-	Piloereção, lacrimação, contorção.
100	03	0/3	-	Respiração aumentada, straub, tremores, piloereção, frênilo vocal.
200	03	0/3	-	Frênilo vocal, tremores, straub, piloereção, ataxia, contorção.
400	03	0/3	-	Frênilo vocal, piloereção, hiperatividade, respiração aumentada, ataxia, straub, diarreia.

Fonte: Laboratório de Cancerologia Experimental (LabCancer®).

## Discussão

As TABELAS 1 e 2 mostram os sintomas de toxicidade observados durante os 15 dias de tratamento nos animais que receberam a substância por via oral ou por via intraperitoneal. A fração etanólica de *C. sylvestris* administrada por via oral apresentou menos sintomas tóxicos nos camundongos observados, mesmo a concentração administrada aos animais sendo maior que a administrada por via intraperitoneal. Apesar de todos esses sintomas causados, a substância matou apenas um camundongo, como mostra a TABELA 1.

O aumento da concentração da fração resultou em diminuição do número de microcrustáceos vivos. Por meio da análise de PROBIT, obteve-se a  $CL_{50}$  equivalente a 47,38. Meyer et al. (1982) estabeleceram uma relação entre o grau de toxicidade e a dose letal média,  $CL_{50}$ , apresentada por extratos de plantas sobre larvas de *A. salina*, desde então, considera-se que quando são verificados valores acima  $1.000 \mu\text{g mL}^{-1}$ , estes, são considerados atóxicos. Portanto, a fração casearina pode ser considerada tóxica.

## Conclusão

A fração etanólica de *C. sylvestris* administrada por via oral apresentou menos efeitos tóxicos nos camundongos observados, mesmo a concentração administrada aos animais sendo maior que a administrada por via intraperitoneal. Mostrando que a substância quando aplicada por gavagem causa menos efeitos adversos ao animal. Já o teste frente à *A. salina* mostra que a substância apresenta toxicidade.

**Palavras-chaves:** *Casearia Sylvestris*; Toxicidade; *Artemia salina*.

## Referências

McLAUGHLIN, J.L.; CHANG, C-J.; SMITH, D.L. In: *Studies in Natural Products*, v.9, Ed. Atta-ur-Rahman, **Elsevier Science Publishers B.V.**, Amsterdam, p.383-409, 1991.

MEYER, B.N. et al. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plants constituents. *Planta Medica*, v.45, p.31-4, 1982.

ORBELIES *et al.*, 2002; In: Determinação do potencial antitumoral de diterpenos isolados das folhas de *Casearia sylvestris* Swarts. Ceará: 2006. Disponível em:

< [http://www.repositorio.ufc.br/ri/bitstream/riufc/2616/1/2007\\_dis\\_pmpferreira.pdf](http://www.repositorio.ufc.br/ri/bitstream/riufc/2616/1/2007_dis_pmpferreira.pdf)>; visitado em 10/01/2015.

HUANG *et al.*, 2004; In: Determinação do potencial antitumoral de diterpenos isolados das folhas de *Casearia sylvestris* Swarts. Ceará: 2006. Disponível em:

< [http://www.repositorio.ufc.br/ri/bitstream/riufc/2616/1/2007\\_dis\\_pmpferreira.pdf](http://www.repositorio.ufc.br/ri/bitstream/riufc/2616/1/2007_dis_pmpferreira.pdf)>; visitado em 10/01/2015.



# I SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS

De 17 a 19 de junho de 2015 - Auditório do CTT/UFPI Teresina - PI

## Avaliação da atividade androgênica e antiandrogênica de ratos tratados com extrato etanólico de *Simarouba versicolor*

### Evaluation of Androgenic and antiandrogenic activity in rats treated with ethanol extract of *Simarouba versicolor*

Ana Paula Gomes Pereira Cunha<sup>1</sup>; Maria Zenaide de Lima Chagas Moreno Fernandes<sup>2</sup>; Rozeverter Moreno Fernandes<sup>3</sup>; Ana Liz Bezerra Barradas Mineiro<sup>4</sup>; Ykro Talvanis Duarte Cavalcante<sup>1</sup>; Marllous Henrique Vieira Nunes<sup>1</sup>; Emanuela Ribeiro Moura<sup>5</sup>;

1. Graduandos de Med. Veterinária/Centro de Ciências Agrárias/Universidade Federal do Piauí
2. Depto. Bioquímica e Farmacologia/Centro de Ciências da Saúde/ Universidade Federal do Piauí
3. Depto. Morfofisiologia Veterinária, Centro de Ciências Agrárias/Universidade Federal do Piauí
4. Depto. Clínica e Cirurgia Veterinária/ Centro de Ciências Agrárias/Universidade Federal do Piauí
5. Mestrado em Ciência Animal/ Centro de Ciências Agrárias/Universidade Federal do Piauí  
zenaidemoreno@gmail.com

#### Introdução

Apesar da crescente importância dos medicamentos fitoterápicos, relativamente poucos estudos foram realizados a fim de comprovar sua eficácia e segurança, sendo que muitas plantas ainda são utilizadas com base somente no seu uso popular (TUROLLA; NASCIMENTO, 2006). Entre elas destaca-se a *Simarouba versicolor*, também conhecida como pau-paraíba, pertencente à família *Simaroubaceae*, a qual compreende 28 gêneros com 25 espécies. Plantas do gênero *Simarouba*, especialmente da espécie *S. versicolor*, possuem ampla atividade biológica comprovada. Entretanto, os estudos de sua influência sobre a reprodução dos mamíferos são escassos na literatura científica atual, o que mostra a importância do presente projeto que visa avaliar a atividade androgênica e antiandrogênica de ratos tratados com extrato etanólico de *S. versicolors* (EESv).

#### Metodologia

Para a avaliação da atividade androgênica e antiandrogênica, foram utilizados 64 ratos, divididos em oito grupos com dez animais mantidos em caixas de polipropileno contendo 4 e 5 animais em cada caixa, respectivamente, por grupo experimental (Quadro 1). A metodologia adotada foi a de Hershberger et al. (1953) preliminarmente os animais foram anestesiados com associação de cetamina (90 mg/kg, i.p.) e xilazina (2 mg/kg, i.p.) e em seguida submetidos a orquiectomia, sendo posteriormente deixados em repouso por 30 dias para completa recuperação do processo cirúrgico.

Após 07 dias de tratamento experimental, os animais foram eutanasiados com sobredose de tiopental sódico (100 mg/kg, i.p.). Em seguida, o sangue foi coletado para dosagem hormonal e a próstata e vesículas seminais por serem andrógeno-dependentes foram removidas, pesadas seccionadas e colocadas em frascos com solução para posterior estudo histopatológico. Para as doses do extrato em que a média de peso das glândulas foi superior à média do grupo controle, considera-se que houve atividade androgênica, quando inferior ao grupo testosterona, considera-se que houve

atividade antiandrogênica.

Para avaliação microscópica os órgãos foram re-seccionados e submetidos ao processamento histopatológico: desidratação em xilol, impregnação e inclusão em parafina. Em micrótomo, os fragmentos tissulares foram seccionados em espessura de 3µm e submetidos à coloração com hematoxilina-eosina e examinados microscopicamente para a verificação de possíveis alterações histopatológicas (BEÇAK; PAULETTE, 1976; TOLOSA et al., 2003).

**Quadro 1:** Distribuição de grupos experimentais para a avaliação da atividade androgênica e antiandrogênica.

N	Grupos	Posologias	Vias de administração
08	Controle (-) (H <sub>2</sub> Od + o.m.)	10 mL/kg - H <sub>2</sub> Od + 1 mL/kg - o.m.	v.o. + i.m.
08	EESv 1 + o.m.	10 mg/kg + 1 mL/kg – o.m.	v.o. + i.m.
08	EESv 2+ o.m.	20 mg/kg + 1 mL/kg – o.m.	v.o. + i.m.
08	EESv 3+ o.m.	40 mg/kg + 1 mL/kg – o.m.	v.o. + i.m.
08	Controle (+) (H <sub>2</sub> Od + T)	10 mL/kg - H <sub>2</sub> Od + 5000 µg/kg	v.o. + i.m.
08	EESv 1 + T	10 mg/kg + 5000 µg/kg	v.o. + i.m.
08	EESv 2 + T	20 mg/kg + 5000 µg/kg	v.o. + i.m.
08	EESv 3 + T	40 mg/kg + 5000 µg/kg	v.o. + i.m.

Propionato de Testosterona (T); água destilada (H<sub>2</sub>Od)-veículo de diluição do EEtOH-Cl; óleo de milho (o.m.)-veículo de diluição do Propionato de Testosterona; número de animais (n); via oral (v.o.); via intramuscular (i.m.).

Os dados foram expressos como média ± erro padrão da média (E.P.M.). As análises estatísticas foram realizadas com o programa estatístico, SPSS através da análise de variância ANOVA One-way, seguida do teste de Tukey e teste de Boferroni, com nível de significância  $p < 0,05$ .

## Resultados e Discussão

Observou-se que os resultados neste experimento no grupo tratado apenas com o extrato da *S. versicolor* na dose de 40mg/kg diferiu estatisticamente ( $P < 0,05$ ) do grupo controle negativo, demonstrando que houve um aumento da massa relativa da vesícula seminal esquerda indicando uma possível atividade androgênica para esta concentração. Ou seja, na ausência da testosterona o extrato foi capaz de induzir um aumento da vesícula seminal. No entanto, quando associa a testosterona ao EESv observou-se que o grupo tratado com o extrato na dose de 40mg/kg diferiu estatisticamente ( $P < 0,05$ ) do grupo controle tratado apenas com testosterona (Tabela 1), demonstrando que houve uma redução no aumento da massa da próstata indicando uma atividade anti-androgênica para esta concentração, provavelmente isto tenha ocorrido devido a um antagonismo competitivo.

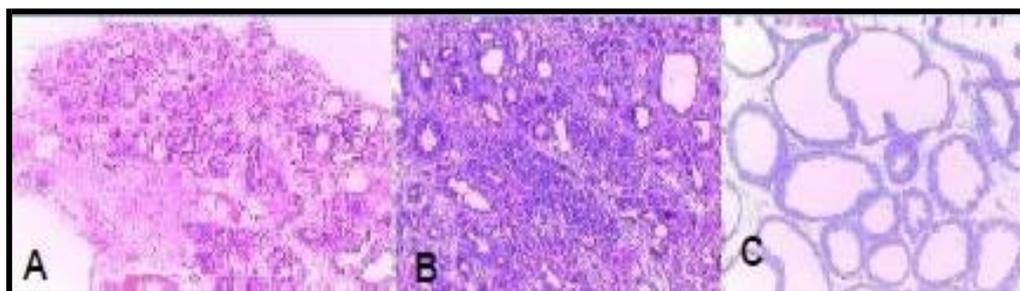
O estudo histopatológico da próstata revelou que o EESv na dose de 40mg/kg demonstrou a presença de infiltrado inflamatório em 100% dos animais avaliados, sendo que um dos animais apresentou prostatite. Este fato também pode ter contribuído para diminuição da massa da próstata levando a um processo de atrofia do tecido prostático. Esse resultado pode ser interessante do ponto de vista terapêutico, o extrato poderá ser usado no tratamento da hiperplasia prostática. Neste estudo verificamos principalmente a presença da chamada Hiperplasia Reativa, onde a morfologia é normal e ocorre apenas o aumento das dobras epiteliais e diminuição da secreção intra-alveolar. Por outro lado, em animais tratados apenas com o extrato nas doses de 40; 20 e 10 mg/Kg, respectivamente,

observa-se que o tecido não apresentou hipertrofia mas, uma atrofia proliferativa inflamatória, principalmente naqueles que receberam maior dose (Figura 1).

**Tabela 01** Resultado da atividade androgênica e anti-androgênica através da avaliação da massa dos órgãos reprodutivos dos ratos do grupo controle negativo (água destilada) e grupos tratados apenas com EE-Sv (10, 20e 40mg/kg).

Tratamentos	Massa corporal (g)	Próstata	Vesículas Seminal (D)	Vesículas Seminal (E)
DMSO+H <sub>2</sub> O	294,77±32,09	0,1319±0,062	0,0452± 0,017	0,4596±0,015
EE-Sv 40 mg/kg	299,06 ± 18,59	0,13394±0,040	0,0779±0,017**	0,0740±0,014**
EE-Sv 20 mg/kg	303,07 ± 33,79	0,1612±0,037	0,0718± 0,03	0,0819± 0,042
EE-Sv 10 mg/kg	308,90 ± 28,90	0,1097±0,035	0,0694±0,019	0,0604±0,022
Testosterona	326,50±23,63	0,2963±0,052	0,4371± 0,074	0,4177±0,127
EE-Sv 40 mg/kg+ Testosterona	329,52 ± 38,36	0,2754±0,059**	0,3881±0,069	0,4320±0,079
EE-Sv 20 mg/kg+ Testosterona	333,59 ± 23,40	0,3640±0,035	0,4409± 0,113	0,4601± 0,107
EE-Sv 10 mg/kg+ Testosterona	332,86 ± 29,85	0,3054±0,061	0,4269±0,100	0,3706±0,102

Valores expressos média ± E.P.M. n= (8 animais/grupo). ANOVA "two-way" seguida de pós teste Bonferroni



**Figura 1.** Próstata. A) Normal; B) Atrofia inflamatória proliferativa; C) Hiperplasia prostática reativa.

### Conclusão

No estudo da atividade androgênica, o EESv foi capaz de induzir o aumento das vesículas seminais, porém não produziu o mesmo efeito na próstata. Quanto à atividade anti-androgênica a maior dose foi capaz de impedir o aumento da próstata induzida pela testosterona.

**Palavras-chave:** *Simarouba versicolor*; Atividade (anti) androgênica; extrato etanólico.

### Referências Bibliográficas

- BEÇAK, W.; PAULETE, J. **Técnicas de citologia e histologia**. Rio de Janeiro: Ao Livro Técnico, 1976.
- TOLOSA, E. M; RODRIGUES, C. J; BEHMER, O. A; FREITAS NETO, A. G. **Manual de técnicas para Histologia normal e patológica**. 2 ed. São Paulo. Manole, 2003.
- TUROLLA, M. S. R; NASCIMENTO, E. S. Informações toxicológicas de alguns fitoterápicos utilizados no Brasil. **Rev. Bras. Ciênc. Farm.**, v. 42, n. 2, p. 289 – 306, 2006.



# I SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS

De 17 a 19 de junho de 2015 - Auditório do CTT/UFPI Teresina - PI

**Avaliação da atividade antioxidante e toxicidade do óleo essencial de *Croton sincorensis* Mart. ex Muell. Arg.**

**Evaluation of antioxidant activity and toxicity of the essential oil of *Croton sincorensis* Mart. ex Muell. Arg.**

Giuliane Sampaio de Souza<sup>1</sup>, Oriel Herrera Bonilla<sup>1,2</sup>, Yuri Pereira Barbosa<sup>2</sup>, Andrieli Lima da Silva<sup>2</sup>, Halisson Araújo de Sousa<sup>3</sup>, Vitor Carvalho Martins<sup>3</sup>, João Francisco Câmara Neto<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Mestrado em Recursos Naturais, Centro de Ciências e tecnologia, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza-CE, Brasil. sampaio.giuliane@gmail.com.

<sup>2</sup>Curso de Ciências Biológicas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza-CE, Brasil.

<sup>3</sup>Curso de Química, Centro de Ciências e Tecnologia, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza-CE, Brasil.

## INTRODUÇÃO

O uso das plantas no tratamento e na cura de enfermidades é tão antigo quanto à espécie humana (MACIEL et al., 2002). Na caatinga nordestina as plantas medicinais são amplamente utilizadas na medicina popular pelas comunidades locais. Estas comunidade possuem uma vasta farmacopéia natural em boa parte proveniente dos recursos vegetais encontrados nos ambientes naturais ocupados por estas populações, ou cultivados em ambientes antropicamente alterados (GOMES et al, 2008).

Espécies do gênero *Croton* L.são frequentemente utilizadas na medicina popular (na forma de infusões, chás e emplastos) para aliviar a dor, para tratamento de cânceres, no alívio da constipação intestinal, no tratamento de diarreias e outras desordens digestivas, no controle da diabetes, na cura de feridas, no tratamento da inflamação e da hipertensão (SALATINO; SALATINO; NEGRI, 2007). O estudo fitoquímico dos marmeleiros aponta um óleo essencial de composição complexa como responsável pelo aroma das folhas e cascas o qual contém pineno, cânfora, guaiazuleno, além de vários outros monoterpenos e sesquiterpenos (LORENZI; ABREU-MATOS, 2002).

O objetivo da pesquisa foi avaliar a atividade antioxidante e a toxicidade do óleo essencial de *Croton sincorensis* Mart. ex Muell. Arg. em diferentes horários de coleta.

## Metodologia

O estudo foi realizado no Laboratório de Ecologia - UECE. As coletas ocorreram na comunidade de Cocal, na cidade de Viçosa do Ceará, a 348,8 km de Fortaleza, uma região serrana com 638 m de altitude, solo do tipo Podzólico Vermelho Amarelo Equivalente Eutrófico, temperatura média de 23,5 °C e precipitação pluviométrica anual de 1350. Foram coletadas de folhas verdes às 6 h, 12 h e 16 h, e levadas para extração em destilador por arraste a vapor de água.

### Atividade antioxidante

A avaliação da atividade antioxidante foi realizada pelo método de varredura do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila), descrito por Yepez et al. (2002). Em um tubo de ensaio, colocou-se 3,9 mL da solução metanólica  $6,5 \times 10^{-5}$  M do radical livre DPPH. Em seguida foi adicionado ao tubo 0,1 mL da solução metanólica da fração de acetato, testadas nas concentrações de 10.000, 5.000, 1.000, 500, 100, 50, 10 e 5 ppm, realizadas em triplicata. Após 60 minutos, mediu-se então a absorbância num espectrofotômetro Spekol no comprimento de onda de 515 nm.

O Índice Varredor da amostra em percentual (IV%) foi calculado pela fórmula:  $IV\% = (ADPPH - AAMOSTRA/ADPPH) \times 100$ , onde A é a absorbância ao final dos 60 minutos. Os valores encontrados foram aplicados no Programa estatístico Excel para o cálculo da concentração que inibe 50% dos radicais livres da solução. Na equação da reta:  $y = ax + b$ , y representa 50% do sequestro do radical livre DPPH e x é a concentração da amostra que sequestra 50%, ou seja a concentração eficiente ( $CE_{50}$ ) das amostras analisadas. Comparadas ao padrão timol de  $CE_{50}$  0,02171 mg/ml.

### Toxicidade

A toxicidade foi avaliada frente a *Artemia* sp., utilizando a metodologia proposta por Mc Laughlin (1991). Os ovos de *Artemia* eclodiram em água de salinidade a 12 ppm e após 48 horas, as larvas foram coletadas para os bioensaios. As diluições das amostras e do teste em branco são realizadas em água do mar e 0,5 mL de dimetil sulfóxido concentrado. Foram preparadas soluções em triplicata das amostras a serem testadas nas concentrações 1000, 100, 10 e 1 ppm, e adicionadas 10 *Artemia* em cada frasco, sendo a contagem das sobreviventes realizada após 24 horas. Após a análise dos resultados foi calculado o  $CL_{50}$ , que é a dose letal para 50% dos indivíduos de uma população. As amostras são consideradas ativas quando apresentarem valores de  $CL_{50} < 1000$  µg/mL.

### Resultados e Discussão

Os resultados da atividade antioxidante e da toxicidade do óleo essencial de *C. sincorensis* em diferentes horários de coleta estão mostrados na Tabela 1. Avaliando os resultados obtidos podemos observar que os horários apresentam  $CE_{50}$  aproximados e todos possuem atividade antirradical livre. Alguns estudos têm mostrado que a ingestão de antioxidantes reduz os riscos do aparecimento da doença de Alzheimer (DA) (ENGELHART et al., 2002).

Tabela 1 - Atividade antioxidante ( $CE_{50}$ ) e toxicidade ( $CL_{50}$ ) do óleo essencial de *Croton sincorensis* Mart. ex Muell. Arg. em diferentes horários.

Horários	$CE_{50}$ DPPH (mg mL <sup>-1</sup> )	$CL_{50}$ (µg mL <sup>-1</sup> )
6 h	1,73 ± 0,14	298,32
12 h	1,14 ± 0,09	52,09
16 h	1,36 ± 0,06	48,56
Timol	0,02171	-

$CE_{50}$ : concentração de amostra capaz de sequestrar 50% dos radicais DPPH.  $CL_{50}$ : dose letal para 50% dos indivíduos de uma população.

Fonte. Próprio autor.

Segundo Siqueira et al. (1998) um extrato para ser considerado tóxico deve apresentar uma resposta de CL<sub>50</sub> para *Artemia salina* menor que 1000 µg/mL. Os horários de 12 e 16 h apresentaram valores de CL<sub>50</sub> muito inferiores, demonstrando um alto potencial tóxico frente *Artemia*. O horário de 6 h também apresentou atividade toxicológica, porém com valores superior aos de 12 e 16 h.

### Conclusão

O óleo essencial de *C. sincorensis* possui atividade antioxidante em todos os horários estudados. A toxicidade foi observada em todos os horários, sendo o de 12 e 16 h os mais tóxicos.

**Palavras chaves:** Marmeleiro branco; Planta medicinal; DPPH; *Artemia*.

### Referências

GOMES, E. C. S.; BARBOSA, J.; VILAR, F. C. R.; PEREZ, J. O.; VILAR, R. C.; FREIRE, J. L. O.; LIMA, A. N.; DIAS, T. J. Plantas da Caatinga de uso terapêutico: Levantamento Etnobotânico. **Revista de Engenharia Ambiental**, Espírito Santo do Pinhal, v.5, n. 2, p. 74-85, maio/agosto, 2008.

ENGELHART, M. J. et al. Dietary Intake of Antioxidants and Risk of Alzheimer Disease. **JAMA**, v. 287, n. 24, p. 3223-3229, 2002.

LORENZI, H.; ABREU-MATOS, F. J. **Plantas medicinais: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum de estudos da Flora, 2002. 544 p.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA-JÚNIOR, V. F.; GRYNBERG, N. F.; ECHEVARRIA, A. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.

MCLAUGHLIN, J. M. Crown gall tumours on potato discs and brine shrimp lethality: two simple bioassays for higher plant screening and fractionation. In K. Hostettmann, Assays for Bioactivity, **Academic Press**, San Diego, p. 2-32, 1991.

SALATINO, A., SALATINO, M. L. F., NEGRI, G. Traditional uses, Chemistry and Pharmacology of *Croton* species (Euphorbiaceae). **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 18, n. 1, p. 11-33, 2007.

SIQUEIRA, J. M.; BOMM, M. D.; PEREIRA, N. F. G.; GARCEZ, W. S.; BOAVENTURA, M. A. D. Estudo químico de *Unonopsis lindmanii* – Annonaceae, biomonitorado pelo ensaio de toxicidade sobre a *Artemia salina* Leach. **Química Nova**; v. 21, p. 557-559, 1998.

YEPEZ, B.; ESPINOSA, M.; LÓPEZ, S.; BOLAÑOS, G. Producing antioxidant fractions from herbaceous matrices by supercritical fluid extraction. **Fluid Phase Equil**, v. 194, p. 879-884, 2002.



### **Avaliação da toxicidade oral do alfa-Felandreno em ratas**

#### **Evaluation of oral toxicity of alpha-Phellandrene in rats**

Wilmara de Carvalho Santos<sup>1</sup>, Elza Mayara Antunes de Macedo<sup>1</sup>, Celyane Alves Piauilino<sup>1</sup>, Everton Moraes Lopes<sup>1</sup>, Antonio Carlos dos Reis Filho<sup>1</sup>, Francisco de Assis Oliveira<sup>1</sup>, Fernanda Regina de Castro Almeida<sup>1</sup>

Núcleo de Pesquisa em Plantas Medicinais, Universidade Federal do Piauí, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Teresina-PI, Brasil.  
wilmaracarvalho@hotmail.com

#### **Introdução**

Espécies vegetais aromáticas têm sido utilizadas como uma fonte complementar para o tratamento farmacológico de diversas doenças (HAYTOWITZ; BHAGWAT; HOLDEN, 2013). Os óleos essenciais presentes nessas plantas são constituídos por vários metabólitos secundários, dentre eles destacam-se os monoterpenos. O alfa-Felandreno ( $\alpha$ -Fel) é um monoterpeno presente na constituição química de óleos essenciais de diversas plantas aromáticas com propriedades farmacológicas como antioxidante: *Zingiber officinale* Roscoe (CUMAN et al., 2006); analgésicas: *Rosmarinus officinalis* L. (NAPOLI; CURCURUTO; RUBERTO, 2010) e anti-inflamatórias: *Matricaria chamomilla* L. (TOLOUEE et al., 2010). Em estudos anteriores, o  $\alpha$ -Fel demonstrou atividades anti-inflamatória, antinociceptiva e antioxidante, sendo importante verificar a sua toxicidade (LIMA et al., 2012; SIQUEIRA, 2012). O objetivo deste trabalho foi investigar a toxicidade oral do  $\alpha$ -Fel em ratas.

#### **Metodologia**

Foram utilizados ratas Wistar (170-230 g) tratadas com  $\alpha$ -Fel (12,5, 25, 50 e 100 mg/kg) ou veículo (salina 0,9% em Tween 80 a 2%) (n=8), por 11 dias. As ratas foram pesadas antes e a cada dois dias de tratamento e foi calculada a percentagem de ganho/perda de peso em relação ao peso basal. Ao final do tratamento as ratas foram submetidas à eutanásia com alta dose de tiopental sódico (i.p.), foi realizada a abertura da cavidade abdominal e colheita de sangue da veia cava inferior para a determinação dos níveis séricos de aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), uréia e creatinina. Os órgãos (coração, pulmão, rins, fígado e baço) foram removidos e pesados imediatamente (Comitê de Ética Animal / UFPI, Nº. 82/2014). A análise estatística foi feita utilizando o método de ANOVA duas vias, seguida pelo teste de Bonferroni.

#### **Resultados**

Em relação aos níveis séricos de marcadores de lesão hepática (AST e ALT) os resultados indicam que as ratas que receberam  $\alpha$ -Fel (12,5 25, 50 e 100 mg/kg/dia v.o.) uma vez ao dia durante 11 dias, não apresentaram alterações nos níveis desses marcadores quando comparados com o grupo

veículo e o grupo sham ( $p>0,05$ ). O tratamento subcrônico também não provocou alterações na dosagem de uréia e creatinina quando comparados ao grupo tratado com veículo e sham ( $p>0,05$ ).

**Tabela 1:** Efeito do tratamento subcrônico com  $\alpha$ -Fel sobre o peso fresco de órgãos de ratas Wistar, tratadas por 11 dias com  $\alpha$ -Fel (12,5, 25, 50 e 100 mg/kg, v.o.) ou veículo. No 11º dia os animais foram sacrificados e retirados o coração, pulmões, fígado, rins e Baço para pesagem. Os valores são expressos em g/100 g de animal. Os dados representam a média  $\pm$  EPM. comparado com grupo controle ( $p>0,05$ , ANOVA duas vias, teste de Bonferroni).

Tempo (dias)	Doses em (mg/kg, v.o.)						
	Veículo	$\alpha$ -Fel 12,5	$\alpha$ -Fel 25	$\alpha$ -Fel 50	$\alpha$ -Fel 100	Diclofenaco 5	Sham
Coração	0,73 $\pm$ 0,01	0,7 $\pm$ 0,02	0,68 $\pm$ 0,03	0,65 $\pm$ 0,02	0,64 $\pm$ 0,03	0,7 $\pm$ 0,02	0,65 $\pm$ 0,03
Pulmões	1,36 $\pm$ 0,07	1,24 $\pm$ 0,43	1,2 $\pm$ 0,1	1,26 $\pm$ 0,05	1,4 $\pm$ 0,19	1,27 $\pm$ 0,06	1,33 $\pm$ 0,05
Fígado	6,5 $\pm$ 0,4	7,08 $\pm$ 0,22	5,9 $\pm$ 0,3	6,51 $\pm$ 0,19	6,05 $\pm$ 0,42	6,9 $\pm$ 0,28	6,5 $\pm$ 0,38
Rins	1,48 $\pm$ 0,08	1,41 $\pm$ 0,03	1,38 $\pm$ 0,07	1,29 $\pm$ 0,10	1,31 $\pm$ 0,07	1,5 $\pm$ 0,05	1,35 $\pm$ 0,06
Baço	0,8 $\pm$ 0,12	0,92 $\pm$ 0,09	0,75 $\pm$ 0,04	0,78 $\pm$ 0,09	0,6 $\pm$ 0,05	0,86 $\pm$ 0,10	0,8 $\pm$ 0,06

Fonte. Núcleo de Pesquisa em Plantas Medicinais

**Tabela 2:** Efeito do tratamento crônico com  $\alpha$ -Fel sobre o peso corporal de ratas Wistar, tratadas por 11 dias com  $\alpha$ -Fel (12,5, 25, 50 e 100 mg/kg, v.o.) ou veículo. Os animais foram pesados antes da indução e a cada dois dias do tratamento. Os valores são expressos em g. Os dados representam a média  $\pm$  EPM. comparado com grupo controle ( $p>0,05$ , ANOVA duas vias, teste de Bonferroni).

Tempo (dias)	Doses em (mg/kg, v.o.)						
	Veículo	$\alpha$ -Fel 12,5	$\alpha$ -Fel 25	$\alpha$ -Fel 50	$\alpha$ -Fel 100	Diclofenaco 5	Sham
D1	-6,75 $\pm$ 1,91	-6,5 $\pm$ 1,32	-7,6 $\pm$ 1,03	-7,4 $\pm$ 2,2	0 $\pm$ 1,5	-5,83 $\pm$ 2,4	-5,1 $\pm$ 0,7
D3	-3,25 $\pm$ 2,08	-3,5 $\pm$ 1,55	-5,8 $\pm$ 0,8	-8,2 $\pm$ 3,6	-3,2 $\pm$ 1,32	-7,33 $\pm$ 3,6	-2,8 $\pm$ 1,0
D5	0 $\pm$ 2,3	0,5 $\pm$ 1,19	-2,4 $\pm$ 1,4	-7 $\pm$ 3,8	-2,6 $\pm$ 1,16	-6,5 $\pm$ 1,6	1,3 $\pm$ 0,8
D7	0,13 $\pm$ 2,75	2,25 $\pm$ 1,25	-1,6 $\pm$ 0,4	-3,4 $\pm$ 3,3	-1,6 $\pm$ 1,6	-2,2 $\pm$ 2,07	2,1 $\pm$ 0,8
D9	3 $\pm$ 3,95	6,25 $\pm$ 1,70	0,8 $\pm$ 1,93	1,6 $\pm$ 3,9	0,2 $\pm$ 3,06	-0,83 $\pm$ 3,3	5,3 $\pm$ 1,9
D10	4,5 $\pm$ 3,31	5 $\pm$ 0,81	1,6 $\pm$ 2,23	1,8 $\pm$ 4,3	2 $\pm$ 2,5	0,83 $\pm$ 2,8	5,5 $\pm$ 1,8

Fonte. Núcleo de Pesquisa em Plantas Medicinais

## Discussão

A avaliação da toxicidade foi realizada através da avaliação de enzimas hepáticas AST e ALT que são marcadores de hepatotoxicidade (CARVALHO et al., 2013; SHANG et al., 2014), uréia e creatinina como indicativos de toxicidade renal (SINDHU; NISHANTHI; SHARMILA, 2015), mudanças no ganho de peso corporal e peso ponderado de órgãos (coração, rins, fígado, pulmão e baço)

(ALSARRA et al., 2010). Não ocorreu morte de nenhum animal nem foram observados sinais comportamentais de toxicidade (por exemplo, convulsões, apatia, dificuldades locomotoras) que justificassem a eutanásia dos mesmos. Nenhum dos tratamentos produziu qualquer alteração nos indicadores de toxicidade renal e hepática, também não houve mudança na porcentagem de peso dos órgãos em relação ao peso corporal dos animais ( $p>0,05$ ).

### Conclusão

O  $\alpha$ -Fel nas doses empregadas por 11 dias via oral em ratas não provocou alterações significativas nos níveis de ALT, AST, uréia e creatinina, no peso fresco de órgãos (coração, pulmão, fígado, rins e baço) e no peso corporal, sugerindo baixa toxicidade nessas condições experimentais.

**Palavras-chave:**  $\alpha$ -Felandreno. Monoterpeno. Toxicidade oral.

### Referências

ALSARRA, I. A. et al. Influence of cyclodextrin complexation with NSAIDs on NSAID/cold stress-induced gastric ulceration in rats. **International Journal of Medical Sciences**, v. 7, p. 232–239, 2010.

CARVALHO, W. L. et al. Mecanismos da intoxicação do fígado de rato causada pelo gossipol. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 3, p. 339–344, 2013.

CUMAN, R. . et al. Antiinflammatory and antinociceptive activities of zingiber officinale roscoe essential oil in experimental animal models. **Indian Journal of Pharmacology**, v. 38, p. 58, 2006.

HAYTOWITZ, D. B.; BHAGWAT, S.; HOLDEN, J. M. Sources of Variability in the Flavonoid Content of Foods. **Procedia Food Science**, v. 2, p. 46–51, 2013.

LIMA, D. F. et al. Antinociceptive activity of the monoterpene  $\alpha$ -phellandrene in rodents : possible mechanisms of action. **Journal of pharmacy And Pharmacology**, v. 64, p. 283–292, 2012.

NAPOLI, E. M.; CURCURUTO, G.; RUBERTO, G. Screening of the essential oil composition of wild Sicilian rosemary. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 38, p. 659–670, 2010.

SHANG, X. et al. **Leonurus japonicus Houtt.: Ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology of an important traditional Chinese medicine** *Journal of Ethnopharmacology*, 2014.

SINDHU, G.; NISHANTHI, E.; SHARMILA, R. Nephroprotective effect of vanillic acid against cisplatin induced nephrotoxicity in wistar rats: A biochemical and molecular study. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 39, n. 1, p. 392–404, 2015.

SIQUEIRA, D. S. S. POTENCIAL ANTI-INFLAMATÓRIO DO MONOTERPENO  $\alpha$ -FELANDRENO EM MODELOS ANIMAIS. **Programa de Pós-Graduação em Farmacologia do Núcleo de Pesquisas em Plantas Medicinais NPPM/CCS da Universidade Federal do Piauí**, 2012.

TOLOUEE, M. et al. Effect of Matricaria chamomilla L. flower essential oil on the growth and ultrastructure of Aspergillus niger van Tieghem. **International Journal of Food Microbiology**, v. 139, p. 127–133, 2010.



### **Avaliação da toxicidade oral do monoterpene terpinoleno em ratas**

#### **Evaluation of oral toxicity of terpinolen monoterpene in rats**

Elza Mayara Antunes de Macedo<sup>1</sup>, Wilmara de Carvalho Santos<sup>1</sup>, Celyane Alves Piauilino<sup>1</sup>, Antonio Carlos dos Reis Filho<sup>1</sup>, André Felipe Sousa do Nascimento<sup>1</sup>, Francisco de Assis Oliveira<sup>1</sup>, Fernanda Regina de Castro Almeida<sup>1</sup>

Núcleo de Pesquisa em Plantas Medicinais, Universidade Federal do Piauí, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Teresina-PI, Brasil  
elza.mayara@hotmail.com

#### **Introdução**

Os óleos essenciais são oriundos de vários tipos de plantas aromáticas e, em todo o mundo, são utilizados, como produto farmacêutico, por sistemas tradicionais de medicina para uma variedade de problemas de saúde. São atribuídos a eles atividades antibacteriana, antifúngica, anticancerígena, antimutagênica, antidiabética, antiviral, anti-inflamatória, e anti-protozoária (RAUT, KARUPPAYIL, 2014). O monoterpene terpinoleno (TPL) é um dos metabólitos secundários dos óleos essenciais presente em várias espécies vegetais (BAKKALI et al, 2008), como *Rosmarinus officinalis* L. (CLEFF, et al, 2012), *Protium heptaphyllum* M. (MARQUES, et al, 2010) e *Tagetes patula* L. (RESTELLO, MENEGATT, MOSSI, 2009). Além da provável participação desse monoterpene em atividades farmacológicas dos óleos essenciais citadas anteriormente, também foi verificada atividade antinociceptiva nos modelos de dor aguda (MOURA, 2012), ficando relevante estudar sua toxicidade. O objetivo desta pesquisa foi identificar a toxicidade subcrônica do TPL em ratas.

#### **Metodologia**

O terpinoleno foi fornecido pelo Prof. Dr. Damião Pergentino de Sousa, membro do Laboratório de Química de Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos /UFPB. Foram utilizadas ratas Wistar (170-230 g/ n= 6-8) (Comitê de Ética Animal / UFPI, N°. 82/2014), tratadas com TPL (3,125; 6,25; 12,5 e 25 mg/kg, v.o.) (MOURA, 2012) ou veículo (salina 0,9% em Tween 80 a 2%, v.o.), por 10 dias consecutivos. Os animais foram pesados antes e a cada dois dias de tratamento e foi calculada a média de ganho/perda de peso em relação ao peso basal. No décimo dia de tratamento as ratas foram eutanasiadas com alta dose de tiopental sódico (i.p.), foi realizada a abertura da cavidade abdominal e coletado sangue da veia cava inferior para a determinação dos níveis séricos de alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), uréia e creatinina. Os órgãos (coração, pulmão, rins, fígado e baço) foram removidos e pesados imediatamente. A estatística do trabalho foi feita a partir da análise de variância duas vias, ANOVA, seguida pelo teste de Bonferroni.

## Resultados

**TABELA 1.** Ganho ou perda de peso de ratas que receberam tratamento crônico. Verificação realizada a cada dois dias, do primeiro ao nono dia (D1-D9). Os valores representam a média  $\pm$  E.P.M., com n = 6 a 9 ratas Wistar por grupo (\*p<0,05, comparado ao veículo, ANOVA duas vias, seguida do Teste de Bonferroni).

GRUPOS (doses em mg/Kg, v.o.)	D1	D3	D5	D7	D9
Salina	-7,89 $\pm$ 1,80	-4,56 $\pm$ 2,08	-2,33 $\pm$ 2,78	-3,00 $\pm$ 2,70	0,11 $\pm$ 3,87
TPL 3,125	-8,83 $\pm$ 2,27	-5,33 $\pm$ 1,76	-2,33 $\pm$ 2,54	0,67 $\pm$ 2,33	4,33 $\pm$ 2,58
TPL 6,25	-9,38 $\pm$ 1,88	-3,75 $\pm$ 2,14	1,50 $\pm$ 2,45	1,75 $\pm$ 1,51	8,00 $\pm$ 2,10
TPL 12,5	-7,33 $\pm$ 1,88	-5,89 $\pm$ 1,12	-1,11 $\pm$ 1,96	-0,89 $\pm$ 2,20	3,11 $\pm$ 1,92
TPL 25	-11,29 $\pm$ 2,35	-7,86 $\pm$ 1,71	-3,71 $\pm$ 2,40	-3,00 $\pm$ 2,06	0,29 $\pm$ 3,87

**Fonte.** Núcleo de Pesquisa em Plantas Mediciniais – NPPM/UFPI, 2014.

**TABELA 2.** Peso dos órgãos das ratas após deis dias de tratamento farmacológico. Os valores representam a média  $\pm$  E.P.M., com n = 6 a 9 ratas Wistar por grupo (\*p<0,05, comparado ao veículo, ANOVA duas vias, seguida do Teste de Bonferroni).

GRUPOS (doses em mg/Kg, v.o.)	Coração	Pulmões	Fígado	Rins	Baço
Salina	0,73 $\pm$ 0,02	1,39 $\pm$ 0,08	6,69 $\pm$ 0,44	1,49 $\pm$ 0,09	0,68 $\pm$ 0,06
TPL 3,125	0,68 $\pm$ 0,02	1,37 $\pm$ 0,10	7,38 $\pm$ 0,22	1,47 $\pm$ 0,03	0,97 $\pm$ 0,08
TPL 6,25	0,71 $\pm$ 0,02	1,21 $\pm$ 0,08	6,91 $\pm$ 0,13	1,47 $\pm$ 0,03	1,01 $\pm$ 0,09
TPL 12,5	0,70 $\pm$ 0,02	1,33 $\pm$ 0,06	7,02 $\pm$ 0,40	1,43 $\pm$ 0,05	0,70 $\pm$ 0,12
TPL 25	0,74 $\pm$ 0,03	1,32 $\pm$ 0,04	6,70 $\pm$ 0,35	1,47 $\pm$ 0,04	0,79 $\pm$ 0,05

**Fonte.** Núcleo de Pesquisa em Plantas Mediciniais – NPPM/UFPI, 2014.

**TABELA 3.** Dosagens bioquímicas das ratas após dez dias de tratamento farmacológico crônico. Os valores representam a média  $\pm$  E.P.M., com n = 6 a 9 ratas Wistar por grupo (\*p<0,05, comparado ao veículo, ANOVA duas vias, seguida do Teste de Bonferroni).

GRUPOS (doses em mg/Kg, v.o.)	ALT	AST	Uréia	Creatinina
Salina	55,50 $\pm$ 9,67	112,83 $\pm$ 13,30	37,00 $\pm$ 3,08	0,37 $\pm$ 0,02
TPL 3,125	55,33 $\pm$ 5,58	94,33 $\pm$ 8,85	30,17 $\pm$ 4,13	0,45 $\pm$ 0,06
TPL 6,25	57,14 $\pm$ 6,37	104,29 $\pm$ 9,45	38,29 $\pm$ 3,59	0,33 $\pm$ 0,02
TPL 12,5	58,17 $\pm$ 10,07	105,67 $\pm$ 12,65	47,67 $\pm$ 3,11	0,37 $\pm$ 0,01
TPL 25	57,00 $\pm$ 8,20	102,38 $\pm$ 10,55	29,38 $\pm$ 4,81	0,33 $\pm$ 0,02

**Legenda:** ALT (aspartato aminotransferase), AST (alanina aminotransferase).

**Fonte.** Núcleo de Pesquisa em Plantas Mediciniais – NPPM/UFPI, 2014.

## Discussão

Com o tratamento subcrônico do TPL em várias doses, não foi observado alteração no peso das ratas e nem no peso de seus órgãos: coração, pulmão, fígado, rins e baço; quando comparado ao grupo controle. Em relação aos parâmetros bioquímicos, foi estudado a atividade sérica de ALT e AST, como marcadores de função hepática, e de uréia e creatinina, como marcadores da função renal (ZHAO et al, 2011) . No presente estudo não foi verificadas alterações significativas nestes quatro indicadores usados para avaliação de toxicidade. A ausência de toxicidade do TPL está corroborando com outros estudos, pois segundo Raut e Karuppayil (2014), Os óleos essenciais apresentam menor toxicidade e genotoxicidade, capacidade de agir sobre vários alvos celulares e baixo custo de produção. Além disso, Siddhartha e Mahua, (2013), acrescentam que os óleos vegetais mostram um papel protetor contra o estresse oxidativo renal.

## Conclusão

O monoterpeno TPL não apresentou toxicidade após tratamento oral subcrônico por dez dias, pois não se identificou alteração nos parâmetros hepáticos e renais, também não foi observado ganho ou perda de peso dos animais e nem alteração do peso médio de seus órgãos.

**Palavras-chave:** Monoterpeno. Terpinoleno. Toxicidade.

## Referências

- BAKKALI, F. et al. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 446–475, 2008.
- CLEFF, M. B., et al. Perfil de suscetibilidade de leveduras do gênero *Candida* isoladas de animais ao óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* L. **Rev. bras. plantas med.**, v. 14, n. 1, 2012.
- MARQUES, D. D., et al. Composição química do óleo essencial de duas subespécies do *Protium heptaphyllum*. **Acta Amaz.**, v.40, n.1, p. 227-230, 2010.
- MOURA, J.B. **Avaliação da atividade antinociceptiva do terpinoleno em roedores e possíveis mecanismos de ação envolvidos**. 2012. 111f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) - Programa de pós-graduação em Farmacologia. Universidade Federal do Piauí, Teresina, PI, 2012.
- RAUT, J. S.; KARUPPAYIL, S. M. A status review on the medicinal properties of essential oils. **Industrial Crops and Products**, v. 62, p. 250-264, 2014.
- RESTELLO, R. M.; MENEGATT, C.; MOSSI, A. J. Efeito do óleo essencial de *Tagetes patula* L. (Asteraceae) sobre *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera, Curculionidae). **Rev. Bras. entomol.**, v. 53, n. 2, p. 304-307, 2009.
- SIDDHARTHA S. S., MAHUA G. Protective effect of conjugated linolenic acid isomers present in vegetable oils against arsenite-induced renal toxicity in rat model. **Nutrition**, v. 29, n. 6, p. 903-910, jun. 2013.
- ZHAO, Y-L et al. Rhein protects against acetaminophen-induced hepatic and renal toxicity. **Food and Chemical Toxicology**, v. 49, n. 8, p. 1705-1710, ago. 2011.



# I SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS

De 17 a 19 de junho de 2015 - Auditório do CTT/UFPI Teresina - PI

## Avaliação das atividades tóxica e oxidativa do óleo da *Copaifera langsdorfii*

### Evaluation of toxic and oxidative activities of oil *Copaifera langsdorfii*

João Pedro Alves Mendes e Sousa<sup>1</sup>, Ag-Anne Pereira Melo de Meneses<sup>2</sup>, Denise Costa da Silva<sup>2</sup>,  
Geórgia Amanda Miranda Farias<sup>2</sup>, Hudson Felipe de Sousa Almeida<sup>2</sup>, João Victor Alves Oliveira<sup>3</sup>, Ana  
Amélia de Carvalho Melo Cavalcante<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Acadêmico de Biomedicina. Centro Universitário UNINOVAFAPI, Teresina-PI, Brasil  
joao\_pedro\_news@yahoo.com.br

<sup>2</sup> Acadêmico de Biomedicina. Centro Universitário UNINOVAFAPI, Teresina-PI, Brasil

<sup>3</sup> Docente co-orientador. Centro Universitário UNINOVAFAPI, Teresina-PI, Brasil

<sup>4</sup> Docente orientador. Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, Brasil

### Introdução

O uso de plantas medicinais desde os tempos remotos até os dias atuais vem crescendo consideravelmente. Tais medicamentos naturais são usados para prevenção como tratamento de variadas enfermidades, promovendo por muitas vezes efeitos eficazes (MENGUE et al., 2001). A árvore de copaíba pertence à família Leguminosae, subfamília Caesalpinoideae e ao gênero *Copaifera*, sendo comumente encontrada na América Latina e África Ocidental (YAMAGUCHI, 2012). Da árvore da copaíba é extraído um óleo-resina, de cor que varia de amarelo ouro a marrom, dependendo da espécie (PIERI, et. al., 2009). Através da análise cromatográfica do óleo de copaíba foi verificado que ele é composto por sesquiterpenos e diterpenos (MONTES, et. al., 2009). O principal sesquiterpeno é o beta-cariofileno. Esse é responsável pelo aroma e também pela atividade anti-inflamatória (SILVA, et. al., 2012), testadas tanto *in vitro* quanto *in vivo* (ZIECH, et. al., 2013) assim como ações antibacteriana, antifúngica e antiedêmica, e o beta-bisaboleno, analgésico (YAMAGUCHI, 2012). Tendo em vista o acentuado uso de óleo da copaíba para diversos fins e ainda sendo um pouco desconhecido seus efeitos, foram feitos testes para avaliar a possível toxicidade e danos oxidativos do óleo de copaíba.

### Metodologia

Com o objetivo de identificarmos a presença de substâncias tóxicas e genotóxicas em determinada substância, foi escolhido o teste de mutação cromossômica com *Allium cepa*. Utilizou-se 3 amostras do óleo puro de copaíba, permanecendo os bulbos da cebola expostos por 48 horas em câmara escura. Foram usados dois controles: Positivo (solução de sulfato de cobre a 0,0006 mg/mL) e negativo (água desclorificada). A fim de se obter a diferenciação, seja qualitativa ou quantitativa, da capacidade antioxidante e oxidativa, utilizou-se a espécie *Saccharomyces cerevisiae* para testar o óleo puro nas diluições de 25, 50 e 100 com DMSO. Em placas com agarose foram expostas as diluições

do óleo da copaíba as leveduras proficientes (SODWT) para danos oxidativos, e (SOD1, SOD2 e CAT1) mutadas em defesa antioxidante. Como controle positivo o peróxido de hidrogênio. Após 72 horas na estufa para o desenvolvimento das leveduras, foram observados crescimento, como também inibição, fazendo assim logo em seguida as medições das leveduras para a realização dos resultados a partir do GraphPad Prism® 5.00.

## Resultados

A exposição do *A. cepa* ao óleo da copaíba da espécie *C. langsdorffii*, por 48 horas em câmara escura, observou-se que em meristemas de raízes de *A. cepa* a copaíba pura apresentou toxicidade pela inibição do crescimento de suas raízes. Desta forma, o óleo da copaíba, caracteriza uma substância nociva para um organismo vivo ou para uma parte específica desse organismo. Em teste de leveduras da espécie *S. cerevisiae* colocado em exposição com óleo da copaíba puro e diluído em H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Tabela 1), a SODWT, SOD1 e SOD2 apresentaram danos oxidativos, porém não ocorreu o mesmo na SOD2 e CAT1, onde a copaíba inibiu os danos do peróxido de hidrogênio, ou seja, tem atividade antioxidante, com significância para  $p < 0,0001$  em relação ao peróxido.

**Tabela 1** – Estatística teste leveduras da espécie *Saccharomyces cerevisiae* com óleo da copaíba, apontando significância para SODWT, SOD1 e SOD2, apresentando danos oxidativos e significância  $P < 0,0001$  em relação ao peróxido de hidrogênio para SOD2 e CAT1, apontando efeito antioxidante.

PRODUTO	SODWT	SOD1	SOD2	SOD1/SOD2	CAT	CAT/SOD1
Copaíba 25%	0,72 ± 00,9	0,57 ± 0,12	0,58 ± 00,1	0,55 ± 0,5	0,87 ± 0,18	0,62 ± 00,9
Copaíba 50%	0,67 ± 00,5	0,67 ± 00,4	0,81 ± 0,19	0,62 ± 0,9	0,72 ± 0,26	0,37 ± 00,9
Copaíba 100%	0,82 ± 00,9	0,90 ± 0,14	1,07 ± 0,24	0,72 ± 0,42	0,82 ± 00,9	0,65 ± 0,12
Copaíba 25% + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0,67 ± 00,5	0,72 ± 0,20***	0,87 ± 0,21	0,55 ± 0,12***	0,60 ± 00,8***	1,0 ± 00,8***
Copaíba 50% + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	1,50 ± 0,21***	0,76 ± 0,15***	1,0 ± 0,41***	1,0 ± 0,18***	1,02 ± 0,12***	0,40 ± 0,21***
Copaíba 100% + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	2,12 ± 0,15***	1,05 ± 0,10***	1,06 ± 00,1***	0,65 ± 0,12***	0,82 ± 00,9***	0,52 ± 0,22***
SALINA	0,17 ± 0,09	0,77 ± 00,9	0,66 ± 0,15	0,77 ± 00,9	0,77 ± 00,9	0,62 ± 00,9
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	8,25 ± 0,95***	13 ± 2,1***	12,75 ± 0,35***	13 ± 2,1	13 ± 2,1	14 ± 2,1
DMSO	0,30 ± 00,8	0,70 ± 0,14	0,81 ± 0,15	0,70 ± 0,14	0,7 ± 0,14	0,72 ± 0,12
VITAMINA C	0,42 ± 00,9	0,42 ± 00,9	0,52 ± 0,14	0,47 ± 00,4	0,42 ± 00,9	0,42 ± 00,9

Fonte. Pesquisa direta

## Discussão

Segundo Cavalcanti et al., (2006) alguns estudos anteriores com o óleo da copaíba em padrões reprodutivos de camundongos e no desenvolvimento embrio-fetal mostra que o ganho de peso materno e o peso relativo dos órgãos não sofrem alterações causadas pelo tratamento com óleo de copaíba, portando, fica claro que este fitoterápico não apresenta toxicidade para as fêmeas tratadas, pois a alteração desses parâmetros é um indicador de toxicidade materna. Na avaliação do efeito do oleoresina de copaíba (*Copaifera* sp.) na proliferação celular in vitro demonstraram uma clara influência positiva do oleoresina de copaíba sobre a proliferação celular, principalmente quando utilizou-se as diluições 10<sup>-5</sup> e 10<sup>-4</sup>. Outros efeitos do óleo de copaíba relevantes na evolução das feridas vêm sendo

amplamente estudados, como sua atividade anti-inflamatória, ação contra vários microrganismos, destacando-se o *Staphylococcus aureus*, e atividade antioxidante. Por si só, estes efeitos justificam a ampla utilização desde produto na medicina tradicional de comunidades do Norte e Nordeste do país e sua difusão por outras regiões (NOGUEIRA E.O. et al., 2012).

#### Conclusão

O óleo de copaíba da espécie *C. Langsdorffii* mediante os testes realizados, apresentou toxicidade em *A. cepa*, mas na maioria das leveduras testadas induziu oxidação, mas também teve atividade antioxidante. Desse modo, os dados apontam necessidade de diferenciar os sistemas testes, bem como a dose resposta para o uso correto e seguro da copaíba, evidenciando a importância de orientações de especialistas para uso do fitoterápico, em benefício da saúde pública.

**Palavras-chave:** Fabaceae; Fitoterapia; Toxicidade.

#### Referências

CAVALCANTI, B.C. et al. Genotoxicity evaluation of kaurenoic acid, a bioactive diterpenoid present in copaíba oil. **Food and Chemical Toxicology**, v.44, p.388-92, 2006.

MENGUE, S.S. et al. Uso de plantas medicinais na gravidez. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.11, p.21-35, 2001.

MONTES, L. V.; BROSEGUINI, L. P.; ANDREATTA, F. S.; SANT' ANNA, M. E. S.; NEVES, V. M.; SILVA, A. G. Evidências para o uso do óleo-resina de copaíba na cicatrização de feridas- uma revisão sistemática. **Natureza on line**. V. 2. N. 7, p. 61-67, 2009.

NOGUEIRA, E. O.; NOVAES, A. S. M.; SAMCHEZ C.M. S.; ANDRADE, C. M.; SILVA, M. F. A. Avaliação do efeito do óleo-resina de copaíba (*Copaifera sp.*) na proliferação celular in vitro. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, São Paulo, v.49, n.4,p.293-300. 2012.

PIERI, F. A.; MUSSI, M.C; MOREIRA, M. A. S. Óleo de copaíba (*Copaifera sp.*): histórico, extração, aplicações industriais e propriedades medicinais. **Ver. Bras. Plantas Med.**, Botucatu, v. 11, n. 4, p. 456-472, 2009.

SILVA, E. S.; MATHIAS, C.S.; LIMA, M. C. F. JUNIOR, V. F. V.; RODRIGUE, D. P.; CLEMENT, C. R. Análise físico-química do óleo-resina e variabilidade genética de copaíba na Floresta Nacional do Topajós. **Pesq. Agropec. Bras.**, Brasília, v. 47, n. 11, p. 1621-1628, nov. 2012.

YAMAGUCHI, M. H.; GARCIA, R. F. Óleo de copaíba e suas propriedades medicinais: revisão bibliográfica. **Revista Saúde e Pesquisa**, v. 5, b. 1, p. 137-146, 2012.

ZIECH, R.E E.; FARIAS, L. D.; BALZAN, C.; ZIECH, M. F.; HEINZAMANN, B. M.; LAMEIRO, O. A.; VARGAS, A. C. Atividade antimicrobiana de oleoresina de copaíba (*Copaifera Reticulata*) frente a *Staphylococcus coagulase positiva* isolados de casos otite em cães. **Pesq. Vet. Bras.** V. 7, n, n. 33, p. 909-913, julho 2013.



**Citogenotoxicidade do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* L.  
Citogenotoxicity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil**

Nárcia Mariana Fonseca Nunes<sup>1</sup>, Rosinete Ferreira<sup>2</sup>, Dhyôvanna Carine Cardoso Beirão<sup>3</sup> Aldeídia  
Pereira de Oliveira<sup>4</sup>, Elisângela Cláudia Alves de Oliveira<sup>5</sup>.

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF) da Universidade Federal do  
Piauí, Teresina-PI,  
aicran@hotmail.com.

<sup>2</sup>Discente do Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas da Universidade Federal do Piauí,  
Floriano-PI, Brasil

<sup>3</sup>Discente de Pós-graduação em Morfologia e Genética da Universidade Federal de São Paulo, São  
Paulo-SP, Brasil <sup>4</sup>

Docente do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, Brasil <sup>5</sup>

Docente do Curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Piauí, Floriano-PI, Brasil

## **Introdução**

Ervas e temperos naturais contendo inúmeros fitoquímicos têm sido utilizados desde os tempos ancestrais para dar sabor aos alimentos. Atualmente, muitas destas plantas são de interesse na indústria alimentícia por prolongar a estabilidade dos alimentos e também são utilizadas em preparações farmacêuticas para o tratamento de diversas doenças (ZEGURA et al., 2011).

A espécie *Rosmarinus officinalis* L. comumente conhecida como alecrim, é bastante apreciada pelas suas propriedades terapêuticas, destacando-se à sua atividade antioxidante. Também tem sido relatada a sua ação como analgésico, diurético, antiepilético (NOGUEIRA DE MELO et al., 2011). Apesar dos inúmeros benefícios terapêuticos atribuídos aos seus constituintes analisados isoladamente, são pouco conhecidos os efeitos genotóxicos do óleo essencial total desta espécie.

Esse trabalho teve como objetivo avaliar o potencial citogenotóxico do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* L. através do bioensaio *Allium cepa*.

## **Metodologia**

Para a realização deste trabalho foi utilizado a metodologia de *Allium cepa* proposta por Guerra e Souza (2002) com algumas modificações. As concentrações do óleo essencial de *R. officinalis* analisadas foram de 750, 243, 81 e 27 µg/ml. Todos os ensaios foram realizados ao menos em triplicata e comparados ao controle negativo. Para a análise estatística foi utilizado o teste T Student e análise de variância (ANOVA) com valores de *p* inferiores a 0,05.

## **Resultados**

A Tabela 1 mostra um aumento significativo do número de células em intérfase para todas as concentrações e conseqüente diminuição no número células em divisão em relação ao controle negativo, não estabelecendo uma curva dose resposta.

Os resultados positivos para os parâmetros de genotoxicidade são demonstrados pelo aumento significativo no número de aberrações cromossômicas, em relação ao controle negativo, porém com a maior concentração (750 µg/ml) apresentando menor número de aberrações.

**Tabela 1.** Efeitos citogenéticos da infusão do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* L. em células de *Allium cepa*.

Concentrações µg/ml	Total de células analisadas	Interfase	Células em divisão	IM	Aberrações	
					Cromossômicas	MN
<b>Controle</b>	<b>5.000</b>	<b>2.280</b>	<b>2.720</b>	<b>0,5440</b>	<b>1</b>	<b>0</b>
750	5.000	4.746**	254**	0,0508*	136**	0
243	5.000	4.613**	387**	0,0774*	233**	0
81	5.000	4.610**	390**	0,0780*	155**	0
27	5.000	4.593**	407**	0,0814*	151**	0

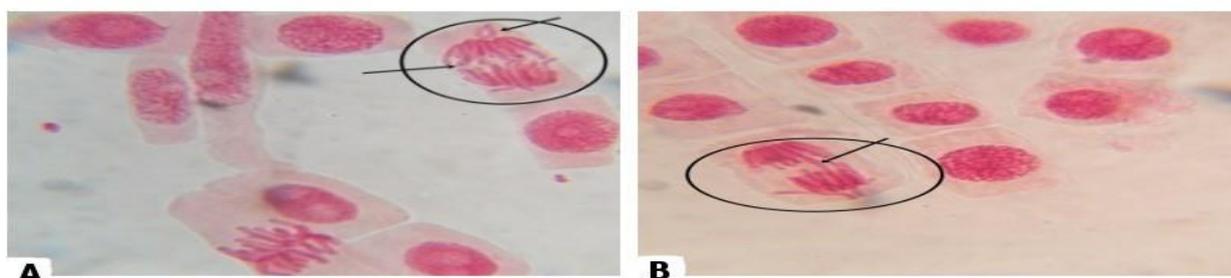
\* $p < 0,05$  para as concentrações de 750 µg/ml, 243 µg/ml, 81 µg/ml e 27 µg/ml em relação ao controle negativo. **IM** – Índice mitótico; **AC** – Aberrações cromossômicas; **MN** – Micronúcleo.

Não foi observado efeito mutagênico para o óleo essencial desta espécie, ao menos no ensaio e concentrações utilizadas, uma vez que não foi detectado o aparecimento de micronúcleos.

A drástica diminuição no índice mitótico em todas as concentrações utilizadas e em comparação com o controle negativo, reflete a citotoxicidade do óleo essencial de *R. officinalis*.

Também foram detectados vários tipos de lesões cromossômicas (Figura1), sendo as mais frequentes os atrasos cromossômicos, fragmentos cromossômicos, cromossomos soltos e pontes cromossômicas.

**Figura 1.** Principais Aberrações Cromossômicas encontradas após tratamento com a *R. officinalis* em todas as concentrações utilizadas com teste *Allium cepa*. **A).** Fragmento Cromossômico. **B).** Ponte Cromossômica.



## Discussão

Diante da expressiva redução do IM nas células meristemáticas tratadas com o óleo essencial de *R. Officinalis* em relação ao controle negativo, sugere-se que haja uma interferência no

funcionamento do ciclo celular, com detenção destas células em intérfase e bloqueio da mitose. Esse mecanismo também é relatado por Gomurgen (2005) e Sudhakar, Gowda e Venu (2001).

Já a detecção de vários tipos de lesões cromossômicas como atrasos cromossômicos, fragmentos de cromossomos, cromossomos soltos e pontes cromossômicas após o tratamento do óleo essencial de *R. officinalis*, pelas células meristemáticas de *Allium cepa* pode demonstrar uma ineficiência dos mecanismos de reparo de DNA das células tratadas, especialmente para a concentração de 234 µg/ml,

Com relação às aberrações cromossômicas encontradas após o tratamento das células meristemáticas de *A. cepa* com a concentração de 750 µg/ml do óleo essencial de *R. officinales* estarem diminuídas em relação às demais concentrações (Tabela 1), sugere-se que nesta concentração a presença elevada de compostos fenólicos no óleo essencial de *R. officinalis* possa induzir a ação antioxidante da espécie com o possível “sequestro de radicais livres” formados na célula. Esta ação reparadora contra espécies reativas de oxigênio (EROs) é bem descrita por Barreiros e David (2006).

## Conclusão

Tomados em conjunto, os resultados obtidos para a análise do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* L. sobre o sistema de *Allium cepa*, apontam um forte potencial citotóxico e genotóxico, porém não mutagênico do composto, pelo menos no ensaio e concentrações aqui utilizados.

**Palavras-chave:** *Rosmarinus officinalis* L., Genotoxicidade, Aberrações Cromossômicas.

## Referências

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M. Estresse Oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Quim. Nova**. v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006.

GÖMÜRGEN, A. N. Cytological effect of the potassium metabisulphite and potassium nitrate food preservative on root tips of *Allium cepa* L. **Cytologia**, v. 70, n. 2. p. 119-128, 2005.

GUERRA, M.; SOUZAS, M. J. Como observar cromossomos: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal, e humana. Ribeirão Preto, SP: Fundação de Pesquisas Científicas de Ribeirão Preto, 2002.

NOGUEIRA DE MELO, G. A.; GRESPAN, R.; FONSECA, J. P.; FARINHA, T. O.; SILVA, E. L.; ROMERO, A. L.; BERSANI-AMADO, C. A.; CUMAN, R. K. *Rosmarinus officinalis* L. essential oil inhibits *in vivo* and *in vitro* leukocyte migration. **J Med Food**. v. 14, n. 9, p. 944-946, 2011.

SUDHAKAR, R.; GOWDA, N.; VENU, G. Mitotic abnormalities induced by silk Dyeing Industry Effluents in the cells of *Allium cepa*. **Cytologia**. v. 66, p. 235–239, 2001.

ZEGURA, B.; DOBNIK, D.; NIDERL, M. H.; FILIPIČ, M. Antioxidant and antigenotoxic effects of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extracts in *Salmonella typhimurium* TA98 and HepG2 cells. **Environ Toxicol Pharmacol**, v. 32, p. 296-305, 2011.



# I SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS

De 17 a 19 de junho de 2015 - Auditório do CTT/UFPI Teresina - PI

## Citotoxicidade de um hemiterpeno frente ao teste de exposição à *Artemia salina*

### Cytotoxicity of a hemiterpene against exposure test of *Artemia salina*.

Alexandre Xavier de Lira da Silva<sup>1</sup>, Brenda Nayranne Gomes dos Santos<sup>2</sup>, Livia Queiroz de Sousa<sup>1</sup>,  
Rivelilson Mendes de Freitas<sup>1</sup>, Maria das Graças Freire de Medeiros<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, Brasil.

alexandrexavier\_@hotmail.com

<sup>2</sup> Curso de Graduação em Farmácia, Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, Brasil

### Introdução

*Artemia salina* é um crustáceo da ordem *Anostraca* (sem carapaça) que vive em salinas e lagos de água salgada de todo o mundo. O método de análise com *Artemia salina* é proposto como um simples bioensaio para pesquisa preliminar de atividade de produtos naturais. Por esse método, é possível determinar a Concentração letal média (CL<sub>50</sub>) de moléculas ou componentes biologicamente ativos, frações ou extratos de produtos naturais frente a este microcrustáceo, em um meio salino. Esse simples organismo pode ser usado como um monitor conveniente para a citotoxicidade de produtos, além de ser um método rápido, seguro e acessível. Uma vez que o ensaio permite a avaliação da toxicidade geral, é considerado um importante bioensaio da toxicologia dos produtos naturais com potencial atividade biológica (ARAÚJO et al, 2010).

O seguinte trabalho teve como objetivo avaliar a citotoxicidade preliminar e determinar a Concentração letal média (CL<sub>50</sub>) do hemiterpeno 3MB frente ao microcrustáceo *Artemia salina*.

### Metodologia

A avaliação da toxicidade frente à *A. salina* foi realizada segundo metodologia descrita por McLaughlin (1998). Inicialmente, foram preparados dois litros de solução de sal marinho em água mineral não clorada (30 g/L) para incubação dos ovos de *A. salina* (10 mg). O pH foi ajustado entre 8,0 e 9,0, por meio de solução 0,1 mol/L de NaOH. Estes foram expostos à luz artificial (lâmpada incandescente de 60 watts) a 25 °C, com aeração constante, durante 24 horas para que houvesse a eclosão das larvas (náuplios). Para efetuar o ensaio, foram colocados, em triplicata, dez exemplares de náuplios em tubos de ensaio contendo 5 mL de solução salina e alíquotas do hemiterpeno 3MB, nas seguintes concentrações: 0,1 mM, 0,54 mM, 1,1 mM, 2,2 mM e 5,4 mM.

Grupos-controle também foram preparados, sem a presença do hemiterpeno (controle negativo) e com o dicromato de potássio (controle positivo). Após o período de 24 horas, foi realizada a contagem do número de náuplios sobreviventes dos grupos-controle e dos grupos expostos ao hemiterpeno 3MB. Os dados de toxicidade foram analisados a fim de determinar os valores de CL<sub>50</sub> e as médias de sobrevivência para cada concentração, por análise de Probit através do software

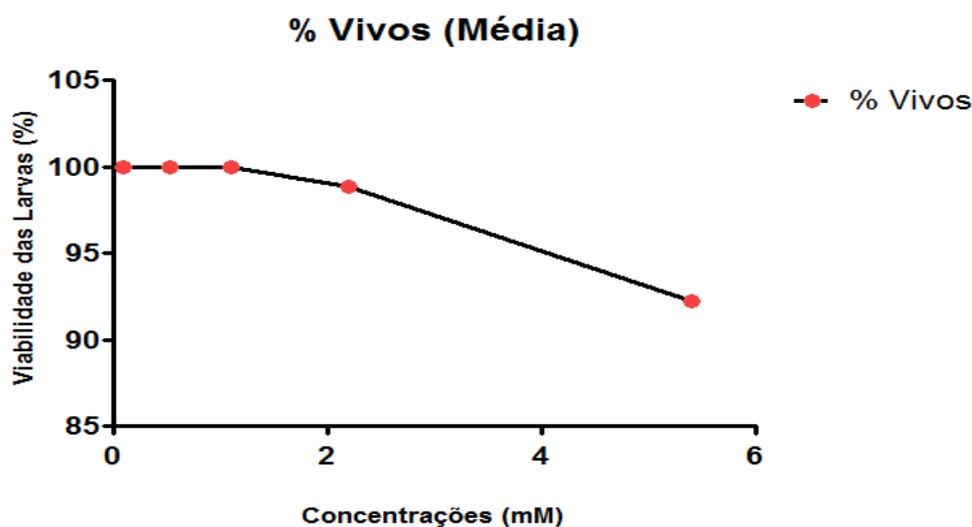
GraphPad Prism,®, versão 5.0, com 95 % de intervalo de confiança.

## Resultados

Os resultados obtidos com o teste de citotoxicidade preliminar frente à *Artemia salina* das concentrações do hemiterpeno 3MB estão descritos na **tabela 1** (quantidades de larvas expostas x mortas). No **gráfico 1**, as médias de sobrevivência/viabilidade das larvas para as concentrações 0,1 mM, 0,54 mM e 1,1 mM, 2,2 mM e 5,4 mM, foram de 100%, 100%, 100%, 98,89% e 92,22%, respectivamente. A  $CL_{50}$  do hemiterpeno 3MB foi de 8254  $\mu\text{g/mL}$  (**tabela 2**).

**Tabela 1.** Contagem de *Artemias salinas* mortas após 24 h de exposição ao hemiterpeno 3MB

Concentração das soluções (mM)	Quantidade de <i>A. salinas</i> expostas	Quantidade de <i>A. salinas</i> mortas
0,1	30	0
0,54	30	0
1,1	30	0
2,2	30	1
5,4	30	2
CN	30	0
CP	30	30



Legenda: CN – Controle Negativo; CP – Controle Positivo. Fonte: Pesquisa Direta, 2015.

**Gráfico 1.** Viabilidade dos náuplios de *Artemia salina* nas concentrações do hemiterpeno 3MB.

Os valores representam a média dos valores de sobrevivência/ viabilidade das larvas, *in vivo*,  $n = 5$ , experimentos realizados em triplicata. GraphPad Prism, 2015. Fonte: Pesquisa Direta, 2015.

**Tabela 2.** Valor da  $CL_{50}$  do hemiterpeno 3MB, com o intervalo de confiança de 95%

Intervalo de Confiança de 95%	
Amostra	$CL_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
Hemiterpeno 3MB	8254

GraphPad Prism, 2015. Fonte: Pesquisa Direta, 2015.

## Discussão

O bioensaio de toxicidade com *A. salina* é em geral simples, rápido, sensível e de baixo custo, e consiste na estimativa da concentração de uma substância através da medida de uma resposta biológica, na qual existe apenas um parâmetro envolvido: vida ou morte. O ensaio de letalidade permite a avaliação da toxicidade aguda e como bioensaio preliminar no estudo de compostos com potencial atividade biológica, é atualmente aceito pela comunidade científica.

Na **tabela 1**, observa-se o baixo número de mortes dentro de todas as concentrações testadas do hemiterpeno. Mesmo aquelas mais elevadas (2,2 e 5,4 mM), a média de letalidade foi pequena dentro do universo amostral; a média de sobrevivência variou de 92% a 100% (**Gráfico 1**), um indicativo de baixa toxicidade. Não houve morte de nenhuma *A. salina* no controle negativo, o que mostra que o solvente utilizado é inofensivo a este microcrustáceo; no controle positivo houve 100% de letalidade com o uso do dicromato de potássio ( $K_2Cr_2O_7$ ).

A  $CL_{50}$  é definida como a concentração de um agente que em um meio, causa a mortalidade em cinquenta por cento (50%) da população exposta, durante um determinado período de tempo. Quanto maior o valor de uma  $CL_{50}$ , menos tóxica é a substância frente a um organismo-teste; segundo os valores da  $CL_{50}$  resultante dos trabalhos de Alves e colaboradores (2000) e Araújo e colaboradores (2010), são consideradas tóxicas substâncias que apresentam valores de  $CL_{50}$  abaixo de 1000  $\mu\text{g/mL}$  utilizando o organismo teste *A. salina*. Como já mostrado, a  $CL_{50}$  do hemiterpeno 3MB resultou em um valor de 8254  $\mu\text{g/mL}$ , 8x maior que o valor de segurança relatado (**tabela 2**).

## Conclusão

Após a análise dos resultados da  $CL_{50}$ , concluiu-se que o hemiterpeno 3MB em estudo não apresenta efeitos tóxicos frente às *A. salinas*, segundo critérios relatados na literatura. O seguinte hemiterpeno em estudo ainda precisa ser analisado por meio de outros testes de avaliação toxicológica para a confirmação dos resultados obtidos.

**Agradecimentos:** PPGCF; Lapnex; CAPES

**Palavras-chave:** *Artemia salina*, Citotoxicidade, terpenos.

## Referências

ALVES, T.M.A.; SILVA, A.F.; BRANDÃO, M.; GRANDI, T.S.M.; SMÂNIA, E.F.A.; JÚNIOR, A.S.; ZANI, C.L. **Biological Screening of Brazilian Medicinal Plants**, v.95, n.3, p.367-73, 2000.

ARAÚJO, M.G.F.; CUNHA, W.R.; VENEZIANI, R.C.S. Estudo fotoquímico preliminar e bioensaio toxicológico frente a larvas de *Artemia salina* Leach. de extrato obtido de frutos de *Solanum lycocarpum* A. St.-Hill (*Solanaceae*). **Rev Ciênc Farm Básica Apl.**, v.31, n.2, p.205-209, 2010.

MCLAUGHLIN, J.L. The use of biological assays to evaluate botanicals. **Drug Inf J.** v.32, p.513-24, 1998.



# I SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS

De 17 a 19 de junho de 2015 - Auditório do CTT/UFPI Teresina - PI

**Efeito do óleo essencial dos frutos da aroeira-vermelha (*Schinus terebinthifolius Raddi*) sobre parâmetros reprodutivos em ratas Wistar.**

**Effect of essential oil of the fruits of aroeira-vermelha (*Schinus terebinthifolius Raddi*) on reproductive parameters in Wistar rats.**

Moema Sousa de Oliveira<sup>1</sup>, Karoline Figueredo Rodrigues<sup>1</sup>, Janylla Mirk Guerra de Oliveira<sup>1</sup>, Emanuela Ribeiro Moura<sup>1</sup>, Marlene Sipaúba de Oliveira<sup>1</sup>, Rozeverter Moreno Fernandes<sup>1</sup>, Maria Zenaide de Lima Chagas Moreno Fernandes<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Departamento de Morfofisiologia Veterinária, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, Brasil. karol-figueredo@hotmail.com

<sup>2</sup> Departamento de Bioquímica e Farmacologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, Brasil.

## Introdução

As plantas medicinais são importantes por fornecerem matéria-prima para a síntese de drogas, além de serem utilizadas como agentes terapêuticos (ZHAN; ZHOU, 2003). Entre essas diversas espécies vegetais estão a *Schinus terebinthifolius Raddi*, popularmente conhecida como aroeira-vermelha, pimenta rosa ou aroeira-do-sertão. Esta espécie tem bastante destaque no uso popular para diversos fins medicinais: azia, gastrite, uretrite, tosse, diarreia, dor-de-dente e reumatismo (BALBACH, 1969). Este trabalho teve como objetivo analisar padrões de ratas tratadas com óleo essencial de aroeira-vermelha.

## Metodologia

O experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal do Piauí sob o protocolo nº 029/11. Utilizou-se 32 animais em cada protocolo, sendo que cada protocolo os animais foram divididos em 4 grupos (n=8), sendo um controle (polissorbato 80) e três tratados com OE-St nas doses de (25mg/kg (T<sub>1</sub>); 50mg/kg (T<sub>2</sub>) e 100mg/kg (T<sub>3</sub>) do 8º ao 18º dia de gestação, administrado por via oral, utilizando-se uma sonda gástrica, do 8º ao 18º dia de prenhez. Todos os animais ao final do protocolo foram eutanasiados com sobredose de anestésico tiopental sódico (100mg/kg, i.p) associado, na mesma seringa, a lidocaína na concentração de 10 mg/mL, no mesmo volume utilizado para o Tiopental, ao final eram avaliados pesos dos órgãos como: fígado, rins, adrenais, baço, útero, ovários, peso placenta e peso fetal e contagem na lupa de sítios de implantação e corpo lúteo. Os resultados foram comparados com grupo controle e foi utilizado o Software Graph Pad Prism 5.0 para a análise estatística, sendo os resultados considerados significativos quando apresentassem valores de p < 0,05.

## Resultados

O óleo não alterou significativamente os índices reprodutivos como: número de sítios de implantação, número de corpos lúteos, índice placentário, taxa de reabsorção, número de fetos vivos, taxa perdas pós-implante e taxa de viabilidade fetal da progenitora (Tabela 01).

**Tabela 01.** Índices reprodutivos das progenitoras tratadas por via oral com OE-St (25,50 e 100mg/kg), no período de organogênese (8<sup>o</sup> ao 19<sup>o</sup> dia de prenhez).

Variáveis	CONTROLE	OE-St 25mg/kg	OE-St 50mg/kg	OE-St 100mg/kg
Número de implantações	10,14 ±0,55	9,62 ± 0,42	11,12 ± 0,61	11,12 ± 0,51
Nº Corpo lúteo	11,14 ±0,40	10,62±0,59	13,5±1,27	13,62±0,84
Índice placentário	42,29 ±9,48	28,62±6,29	26,32±4,16	33,87±6,84
Taxa reabsorção	4,86 ±3,59	7,19±4,98	11,36±11,36	8,00±4,02
Número de fetos vivos	9,57 ± 0,43	8,87 ±0,67	11,00±0,65	9,75±0,88
Perdas pós-implantes	4,85±3,59	14,69±5,82	6,75±5,46	14,25±6,39
Taxa viabilidade fetal	95,13± 3,59	91,56±4,88	97,81±1,56	85,75±6,4

Valores expressos como média ± E.P.M. (n= 8 animais/grupo). "ANOVA" two-way" seguida de pós-teste de Bonferroni.

A massa absoluta e relativa dos órgãos (rins, baço, adrenais, ovários) das progenitoras tratadas com o óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* no período de organogênese da espécie (período pós-implantação) não diferiram do grupo controle (Tabela 02). No entanto, a massa absoluta do fígado nas três doses administradas aumentou significativamente em relação ao controle (p<0,05) o mesmo aconteceu com a massa absoluta do útero que aumentou na dose de 50mg/kg (Tabela 02).

**Tabela 02 .** Massa absoluta e relativa dos órgãos de progenitoras expostas ao tratamento com óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* no período de organogênese (8<sup>o</sup> ao 19<sup>o</sup> dia de prenhez).

Variáveis	Controle	OE-St 25 mg/kg	OE-St 50mg/kg	OE-St 100mg/kg
<b>Massa absoluta</b>				
Baço	0,86 ±0,04	0,93 ±0,07	0,84 ±0,08	0,87 ± 0,07
Adrenais	0,08 ± 0,02	0,09 ± 0,01	0,07 ± 0,02	0,07 ± 0,01
Rins	0,76 ± 0,04	0,86 ± 0,04	0,8 ± 0,04	0,85 ± 0,04
Ovários	0,14 ± 0,04	0,09 ± 0,01	0,07 ± 0,02	0,17 ± 0,07
Fígado	9,13 ± 0,59	10,29 ± 0,2*	10,51±0,54*	11,17 ±0,51***
Útero	3,58 ± 0,18	3,88 ±0,14	4,46 ±0,45*	3,84± 0,18
<b>Massa relativa (mg/100g)</b>				
Baço	0,36±0,02	0,37±0,03	0,33±0,043	0,34±0,036
Adrenais	0,031±0,006	0,036±0,006	0,029±0,009	0,030±0,007
Rins	0,32±0,01	0,34±0,016	0,31±0,024	0,33±0,020
Ovários	0,056±0,016	0,036±0,006	0,03±0,009	0,067±0,028
Fígado	3,78±0,13	4,1±0,07	4,08±0,22	4,39±0,24***
Útero	0,73±0,17	0,93±0,13	0,7±0,2	0,76±0,15

Valores expressos como média ± E.P.M. (n= 8 animais/grupo). "ANOVA" two-way" seguida de pós-teste de Bonferroni com significância estatística de \*p<0,05 e \*\*\*p<0,001 comparado com o controle.

## Discussão

Neste experimento, as massas absolutas e relativas do órgão reprodutivo (ovários), e de outros órgãos não reprodutivos (rins, baço e adrenal) das progenitoras expostas ao OE-St, no período compreendido entre o oitavo e o décimo oitavo dia de prenhez, não diferiram do grupo controle. No entanto, a massa absoluta do fígado, apresentou-se aumentada em relação ao controle, nas três doses testadas ( $p < 0,001$ ), e também na massa relativa do fígado apresentou-se aumentada na maior dose ( $p < 0,001$ ). Estes resultados foram semelhantes aos obtidos por Moura *et al.* (1991), o qual constatou um aumento significativo do peso do fígado quando administrou *Serrasalmus natteri* durante a gestação. A massa absoluta do útero na dose de 50mg/kg observou-se um aumento o que infere uma ação estrogênica do óleo. A avaliação das massas absolutas dos órgãos não reprodutivos é importante, pois o fígado e os rins são responsáveis pelo metabolismo e eliminação de xenobióticos e, em casos de intoxicação, podem ter a massa aumentada (MELLO, 2007). Não foram observados alterações nos índices do desempenho reprodutivo nos ensaios em que fêmeas prenhes que foram tratadas com óleo essencial dos frutos de aroeira-vermelha. Estes resultados foram semelhantes aos obtidos por Castro et al (2006) que utilizou *Ginkgon biloba* em ratas gestantes e não observou alterações quanto aos índices reprodutivos.

## Conclusão

Com base nos resultados expostos, concluiu-se que o óleo essencial de aroeira-vermelha, nas doses administradas, foi capaz de interferir na reprodução desses animais.

## Referências

BALBACH, A; A Flora Nacional na Medicina Doméstica. 20ª Edição. Vol. II. São Paulo. Ed. A Edificação do Lar. 1969.

CASTRO MLS, CUNHA CJ, MOREIRA PB. Frequência das Malformações Múltiplas em Recém-Nascido na Cidade de Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil, e Fatores Sócio-Demográficos Associados. Cad Saúde Pública; 22(5): 1009-15.2006.

MELLO, M. Avaliação da toxicidade reprodutiva do pesticida trifênil hidróxido de estanho (TPTH) em camundongos. 2007, 131f. Tese (Doutorado em Vigilância Sanitária). Fundação Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro, 2007.

MOURA, E.C.V., QUEIROZ, S.S., CURI, P.R. Influência do concentrado protéico de pescado de água doce (*Serrasalmus natteri*) no metabolismo hepático de ratas gestantes. *Alimentos e Nutrição*, São Paulo, v.3, p.103-109, 1991.

ZHAN, J.; ZHOU, P. A. A simplified method to evaluate the acute toxicity of ricin and ricius agglutinin. *Toxicology*, v. 186, n. 1-2, p. 119-123, 2003.



# I SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS

De 17 a 19 de junho de 2015 - Auditório do CTT/UFPI Teresina - PI

## **Pesquisa da atividade androgênica e antiandrogênica do extrato etanólico das favas de *Senna spectabilis* em ratos Wistar**

### **Search androgenic and anti-androgenic activity of the ethanol extract of beans from *Senna spectabilis* in Wistar rats**

Marina Rebeca Soares Carneiro de Sousa<sup>1</sup>; Marillos Henrique Vieira Nunes<sup>1\*</sup>; Paulo Alex Bezerra Sales<sup>1</sup>; Emanuela Ribeiro Moura<sup>1</sup>; Janylla Mirck Guerra de Oliveira<sup>2</sup>; Karoline Figueredo Rodrigues<sup>1</sup>; Amilton Paulo Raposo Costa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Piauí, Teresina, Piauí, Brasil

<sup>2</sup>Universidade Federal do Piauí, Bom Jesus, Piauí, Brasil

\*marillos\_ivete@hotmail.com

#### **Introdução**

A espécie *Senna spectabilis* é uma leguminosa bastante utilizada como forrageira para animais domésticos sendo ofertada especialmente na época de estiagem e também é utilizada popularmente devido ao sabor adocicado de seus frutos. Essa planta atinge até 9 metros de altura, possui compostas pinadas e flores amarelas em inflorescências terminais. Floresce durante os meses de dezembro a abril, possui fruto tipo legume cilíndrico indeiscente os quais amadurecem nos meses de agosto até setembro. Também é conhecida como Cássia do Nordeste, Acássia, Tula-de-Besouro, Canafístula-de-Besouro e Pau-de-Ovelha. Ocorre na região nordeste do Brasil, no bioma Caatinga (PEREIRA et al., 2013). Estudos fitoquímicos da *S. spectabilis* comprovam a presença de no mínimo quatro substâncias biotivas diferentes. Estão presentes alcaloides, alcaloides piperidínicos, triterpenos pentacíclicos e misturas de fitoesteroides (BOLZANI, et al., 2004). Devido a presença de substâncias bioativas que podem causar toxicidade e à falta de estudos toxicológicos na área da reprodução, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade androgênica e antiandrogênica das favas de *S. spectabilis* em ratos Wistar.

#### **Metodologia**

Para a preparação do extrato etanólico das favas de *Senna spectabilis* (EEFSs), as favas foram coletadas em Teresina- PI, secas em estufa, trituradas em moinho elétrico, submetidas a maceração com etanol para a obtenção do extrato etanólico, que foi concentrado no evaporador rotativo e depois liofilizado. Para a avaliação da toxicidade sistêmica e atividade androgênica e antiandrogênica foram utilizados 64 ratos machos pesando entre 180 – 250 g divididos em oito grupos (n=8). Os animais foram submetidos a um procedimento cirúrgico de castração e foi dado um período de 20 dias para recuperação. Os grupos 1, 2 e 3 (atividade androgênica) receberam EEFSs em três doses diferentes (250, 500 e 1000 mg/kg de peso corporal). Os grupos 4, 5 e 6 (atividade antiandrogênica) receberam, respectivamente, as mesmas doses de extrato (via oral) acrescidas de

testosterona via subcutânea na dose de 250 µg/100g de peso corporal diluída em óleo de milho. Foram feitos dois grupos controles (grupos 7 e 8), um deles recebeu o veículo do extrato por via oral e o outro recebeu, além do veículo do extrato, testosterona via subcutânea (250 µg/100g) diluída em óleo de milho. O EEVSs foi administrado via oral com o auxílio de uma sonda oro-gástrica por 32 dias. Ao término desse prazo os animais foram anestesiados e eutanasiados conforme o protocolo acima descrito. Foram retirados vesículas seminais e próstata. Os órgãos foram pesados para avaliação de atividade androgênica e antiandrogênica. Os dados foram avaliados por análise de variância (ANOVA), seguida do teste Bonferroni, para comparação de médias, adotando-se um nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ) no qual foi utilizado o programa *Graphpad Prism®* versão 6.0.

## Resultados e discussão

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos e os seus respectivos controles (Tabela 1). Pode-se observar o perfeito funcionamento do hormônio utilizado como controle (Testosterona), que aumentou o peso das vesículas seminais, próstata e glândulas adrenais. O EEFSs, nas doses testadas, não apresentou atividade androgênica em ratos castrados, pois não produziu alterações sobre o tamanho da vesícula seminal nem na próstata dos animais em relação ao controle negativo. Também não foi observado efeito antiandrogênico do EEFSs nessas mesmas doses.

**Tabela 1-** Avaliação da atividade androgênica e antiandrogênica através dos pesos dos órgãos (g/100gPC) dos animais tratados com Extrato etanólico das favas de *Senna spectabilis* (EEVSs)

Doses EEVSs	Coração	Fígado	Rins	Adrenais	Próstata	Vesícula seminal
0 (Controle)	0,355±0,009	2,735±0,423	0,718±0,015	0,019±0,001 a	0,038±0,006 a	0,068±0,007 a
250mg/kg	0,367±0,009	2,976±0,090	0,736±0,024	0,017±0,001 a	0,050±0,009 a	0,083±0,010 a
500mg/kg	0,376±0,023	2,489±0,554	1,051±0,299	0,020±0,001 a	0,046±0,006 a	0,072±0,0060a
1000mg/kg	0,304±0,011	3,619±0,086	0,549±0,096	0,019±0,002 a	0,027±0,005 a	0,059±0,005 a
0+Test	0,341±0,011	2,62±0,122	0,752±0,031	0,010±0,002b	0,294±0,021b	0,655±0,073b
250mg/kg + Test	0,009±0,012	2,60±0,179	0,707±0,046	0,013±0,001b	0,338±0,024b	1,010±0,242b
500mg/kg + Test	0,340±0,020	2,88±0,133	0,730±0,021	0,012±0,001b	0,277±0,022b	0,710±0,093b
1000mg/kg + Test	0,340±0,185	2,62±0,046	0,693±0,016	0,014±0,002b	0,290±0,035b	0,682±0,050b

Médias com letras iguais na mesma coluna não diferem entre si no teste de Bonferroni a 5% de probabilidade

Devido a escassez de estudos e a falta de elucidação de possíveis efeitos secundários desta planta, este estudo é importante pois avalia o potencial tóxico e farmacológico das favas da *S. spectabilis* no qual é amplamente consumida por animais domésticos na época da estiagem. Mesmo com a ausência de efeito androgênico e antiandrogênico, outros estudos são requeridos para considerar este material vegetal como uma fonte segura de alimentação para os rebanhos.

## Conclusão

O extrato etanólico das favas de *Senna spectabilis* não apresentou atividade androgênica nem antiandrogênica em ratos castrados, pois não alterou o peso da vesícula seminal nem da próstata. Porém, mais estudos são necessários para que as favas sejam consideradas de baixa toxicidade no sistema reprodutor de ratos.

**Palavras-chave:** Reprodução, vesícula seminal, próstata.

## Agradecimentos

CNPq/CAPES/UFPI

## Referências

BOLZANI, V.S.; VIEGAS JR, C.; FURLAN, M.; BARREIRO, E.J.; YONG, M. C. M.; TOMAZELA, D.; EBERLIN, M. Further bioactive piperidine alkaloids from the flowers and green fruits of *Cassia spectabilis* . **Journal of natural products**. v.67, n. 5 p. 908-910. 2004.

PEREIRA, D. D.; LIMA, W. S.; MOURA, T. M.; COSTA, J. J. D.; FEITOSA, M. A. Projeto de domesticação de essências florestais forrageiras do semiárido: dados biometricos de frutos de Canafistula-de-besouro *Senna spectabilis*. **I mostra de produção científica**. Instituto Nacional do Semiárido, Campina Grande (PB). v.1, 2013.



**Pesquisa de toxicidade do extrato etanólico das folhas de *Myracrodruon urundeuva* Allem.  
frente à *Artemia salina***

**Research toxicity of ethanol extract of the leaves of *Myracrodruon urundeuva* Allem. on  
*Artemia salina***

Ykro Talvanis Duarte Cavalcante<sup>1\*</sup>, Janylla Mirck Guerra de Oliveira<sup>2</sup>, Lia Jacyara Chaves Pereira<sup>1</sup>;  
Paulo Alex Bezerra Sales<sup>2</sup>, Emanuela Ribeiro Moura<sup>2</sup>, Moema Sousa de Oliveira<sup>2</sup>; Amilton Paulo  
Raposo Costa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Piauí, Teresina, Piauí, Brasil

<sup>2</sup>Universidade Federal do Piauí, Bom Jesus, Piauí, Brasil

\* ykroduarte@hotmail.com

### **Introdução**

Dentre as plantas medicinais de uso popular, têm-se a *Myracrodruon urundeuva* Allem., conhecida popularmente como Aroeira-do-sertão ou Urundeúva. Devido às excelentes propriedades físicas, químicas e biológicas, *M. urundeuva* é muito explorada, tornando-se escassa, e está na lista oficial das espécies brasileiras ameaçadas de extinção, na categoria vulnerável (IBAMA, 1992). Ensaios de toxicidade com *Artemia salina* são utilizados em estudos fotoquímicos de extrato de plantas (SIRQUEIRA et al., 1998), para estabelecer a toxicidade de novos produtos naturais ou para detectar compostos bioativos em extratos vegetais (OLIVEIRA et al., 2010), além de ser bem correlacionado com atividade antitumoral (citotoxicidade) (ARCANJO et al., 2012). A *Artemia salina* é um microcrustáceo de água salgada capaz de viver em ambientes extremamente secos, pertence ao Reino animal e ao filo Arthropoda e segundo Igarashi e Ramos Filho (2000) os ovos de *Artemia* são convenientes para o uso devido ao fácil acesso e eclosão. Devido à ampla utilização da *M. Urundeuva* de forma empírica, e tendo em vista o número reduzido de estudos referentes à sua toxicidade, o presente trabalho tem por objetivo a pesquisa de efeitos tóxicos do extrato etanólico das folhas de *Myracrodruon urundeuva* Allem. (EEMu) frente à *Artemia salina*.

### **Metodologia**

Para o experimento foram utilizados ovos de *A. salina* adquiridos em loja especializada em produtos para aquário no município de Teresina, Piauí, Brasil. Para obtenção das condições desejadas à eclosão dos ovos de *A. salina*, a água do mar artificial foi preparada com seguintes reagentes: água destilada, Cloreto de Sódio (35 g/L) e Bicarbonato de Sódio (6,5 g/L). Em um béquer foi preparada uma solução salina (água do mar artificial) contendo 35 g de cloreto de sódio, 6,5 g bicarbonato de sódio e 1000 mL de água destilada. Após ser homogeneizada com um bastão de vidro, a solução foi transferida para uma artemeira e aerada durante 30 minutos. Foram incubados 100 mg de cistos de *Artemia salina* por 48 horas. Durante esse período a artemeira foi mantida em uma caixa térmica (isopor) com iluminação de 9 W. A cultura foi mantida sob aeração e agitação constantes, em uma

temperatura entre 26 a 30 °C. O bioensaio de toxicidade frente à *Artemia salina* foi realizado segundo a metodologia proposta por Meyer et al. (1982) com algumas adaptações. Com o auxílio de uma pipeta de Pasteur foram transferidas 10 larvas para cada tubo de ensaio e o volume foi então completado para 9 mL da solução salina previamente preparada (água do mar artificial). Foi adicionado, então, 1 mL do extrato etanólico das folhas de *Myracrodruon urundeuva* (EEMu) em diferentes concentrações (0.1, 1.0, 10.0, 100.0 e 1000 µg/mL). O teste foi realizado em triplicata para cada concentração do EEMu. Para o controle negativo foi adicionado apenas 10 larvas em 10 mL de solução salina (totalizando 18 tubos). Os náuplios de *A. salina* foram incubados por 24 horas sob iluminação artificial (9 W). Decorrido este período de contato os sobreviventes foram contados com o auxílio de uma lupa. Foram consideradas larvas mortas todas que não apresentavam qualquer movimento ativo em cerca de vinte segundos de observação. Os dados foram tabulados e a Concentração Letal Média (CL50) do EEMu foi determinada utilizando o programa *GraphPad Prism* versão 5.0.

## Resultados e discussão

O extrato das folhas de *M. urundeuva* foi tóxico nas concentrações de 100 e 1000 µg/mL (ppm) foram capazes de causar a morte de mais de 70% de larvas de *A. salina* durante as 24 horas de exposição. Um resultado semelhante foi observado por Amaral e Silva (2008) ao estudar o extrato de *Anadenanthera falcata* que demonstrou toxicidade alta nas maiores concentrações (1000, 500 e 250 µg/mL).

**Tabela 1-** Mortalidade média de *Artemia salina* de acordo com as concentrações do extrato etanólico de *M. urundeuva* (EEMu)

Concentração do EEMu (µg/mL)	Média (%) de náuplios mortos	Desvio Padrão (±)
0 (controle)	10.00	± 10.00
0,1	26.67	± 15.28
1,0	3.33	± 5.77
10,0	20.00	± 20.00
100,0	70.00 <sup>a</sup>	± 30.00
1000,0	76.67 <sup>a</sup>	± 5.77

<sup>a</sup> diferença estatística significativa em relação aos demais grupos. (ANOVA, Tukey.  $p < 0,05$ )

Com os dados de mortalidade obtidos, determinou-se a CL<sub>50</sub> (concentração letal média), isto é, a concentração que causa mortalidade em 50% dos organismos durante o período observado. A CL<sub>50</sub> do EEMu foi de 20,38 µg/mL. De acordo com Nguta et al., (2011), tanto extratos orgânicos, quanto extratos aquosos com valores de CL<sub>50</sub> menores que 100 µg/ml apresentam alta toxicidade. Sendo assim, o extrato etanólico das folhas de *Myracrodruon urundeuva* mostrou, no presente ensaio, alta toxicidade.

## Conclusão

O extrato etanólico das folhas de *M. urundeuva* é tóxico para larvas de *Artemia salina* nas concentrações de 100 e 1000 µg/mL.

**Palavras-chave:** Bioensaio, plantas tóxicas, toxicologia.

### **Agradecimentos**

CNPq/CAPES/UFPI

### **Referências**

AMARAL, E. A.; SILVA, RMG. Avaliação da Toxicidade Aguda de Angico (*Anadenanthera falcata*), pausanto (*Kilmeyera coreacea*), aroeira (*Myracrodruon urundeuva*) e cipó-de-são-joão (*Pyrostegia venusta*), por meio do bioensaio com *Artemia salina*. **Perquirêre**, v. 5, 2008.

ARCANJO, D.D.R., ALBUQUERQUE, A.C.M.; MELO-NETO, B.; SANTANA, L.C.L.R. , MEDEIROS, M.G.F; CITÓ, A.M.G.L.; Bioactivity evaluation against *Artemia salina* Leach of medicinal plants used in Brazilian Northeastern folk medicine. **Braz. J. Biol.**, vol. 72, no. 3, p. 505-509, 2012.

IBAMA. Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Lista oficial de espécies da flora brasileira ameaçada de extinção. **Portaria nº. 37-N** de 3 de abril de 1992.

IGARASHI, Marco Antônio; RAMOS FILHO, Rubens Bastos. Microflora Associada com Ovos de *Artemia* sp. **Revista Científica de Produção Animal**, v. 2, n. 2, 2000.

MEYER, B. N. et al. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta medica**, n. 45, p. 31-4, 1982.

NGUTA, J.M. et al. Biological screening of kenya medicinal plants using *Artemia salina* L. (*Artemiidae*). **Pharmacologyonline**, v. 2, [s.n.] p. 458-78, 2011.

OLIVEIRA, R.A.G. et al. Avaliação da atividade biológica de plantas medicinais brasileiras contra *artemia salina* leach, **Revista de Enfermagem UFPE on line**, p. 1639-642, out/dez 2010.

SIQUEIRA, J.M.; BOMM, M, D.; PEREIRA, N, F, G. Estudo fitoquímico de *Unonopsis lindmanii* - annonaceae, biomonitorado pelo ensaio de toxicidade sobre a *Artemia salina* Leach. **Química Nova**. v. 21, n. 5, p. 557-559, 1998.



# I SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS

De 17 a 19 de junho de 2015 - Auditório do CTT/UFPI Teresina - PI

## Screening genotóxico do extrato hidroalcoólico da *Operculina alata* (Ham) Urban Genotoxicity screening of hydroalcoholic extract of *Operculina alata* (Ham) Urban

Rosinete Ferreira<sup>1</sup>, Dhyôvanna Carine Cardoso Beirão <sup>2</sup>, Nárcia Mariana Fonseca Nunes <sup>3</sup>, Elisângela Cláudia Alves De Oliveira <sup>4</sup>

<sup>1,3</sup> Discentes do Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas da Universidade Federal do Piauí, Floriano-PI, Brasil.

Rosi-neteferreira@hotmail.com

<sup>2</sup> Discente de Pós-graduação em Morfologia e Genética da Universidade Federal de São Paulo, São Paulo-SP, Brasil

<sup>4</sup> Docente do Curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Piauí, Floriano-PI, Brasil

### Introdução

O uso de plantas com propriedades terapêuticas pela humanidade para a cura de seus males, data da mais remota antiguidade e mesmo nos dias atuais, apesar do avanço da ciência, práticas naturalistas recrutam adeptos em todo o mundo (GRAHAN et al., 2000). Ainda se persiste a crença de que plantas medicinais e fitoterápicos só trazem benefícios à saúde, o que estimula o consumo exagerado e irresponsável de produtos naturais pela população. Uma das preocupações atuais da toxicologia genética é a exposição às substâncias potencialmente tóxicas que oferecem riscos a célula e ao material genético.

A espécie *Operculina alata* (Ham) Urban comumente conhecida como Jalapa-do-Brasil, é encontrada no Nordeste Brasileiro e é utilizada como laxante (MATOS, 1998). Também é matéria prima para a produção do fitoterápico “Aguardente alemã”, produzido na indústria farmacêutica (Laboratório Sobral) do município de Floriano (PI). O objetivo deste trabalho foi analisar o potencial citogenotóxico do Extrato hidroalcoólico da *Operculina alata* (Ham) Urban, identificando e caracterizando também seus constituintes químicos para uma possível correlação com os seus efeitos genotóxicos.

### Metodologia

Foram empregados o Bioensaio de Toxicidade em larvas de *Artemia salina* de acordo com Meyer et al., (1982) e o teste de genotoxicidade em *Allium cepa* de acordo com Guerra e Souza, (2002). Também foram realizados testes de caracterização fitoquímica quantitativa e qualitativa de acordo com a literatura. As concentrações definidas para análise foram de 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, do Extrato Hidroalcoólico bruto da *Operculina alata* comercialmente adquirido.

## Resultados

Os resultados demonstraram uma elevada toxicidade do extrato Hidroalcoólico da espécie *O. alata* detectada em *Artemia salina* e uma forte citotoxicidade, detectada no teste de *Allium cepa*, nas concentrações aqui utilizadas (Tabela 1). A drástica citotoxicidade observada em *A. cepa*, impediu inclusive, o crescimento radicular do sistema teste e desse modo, impossibilitou a análise genotóxica do extrato aqui proposto.

**Tabela 1.** Teste de toxicidade em *Artemia salina* do Extrato Hidroalcoólico de *Operculina alata*.

Concentrações da amostra	% de sobreviventes
100%	0
50%	0
25%	0
12,50%	0
6,25%	0
3,13%	10

Os testes de identificação de metabólitos secundários do EHA de *Operculina alata*, mostraram uma positividade para os triterpenos, esteróis, taninos, flavonóides, alcalóides e saponinas e uma negatividade para quinonas (Figura 1). Já para a análise qualitativa por dosagem espectrofotométrica obteve-se: 5,6 ugEAG/mL de fenóis totais e 25,8 ugER/mL de flavonóides totais.

## Discussão

A forte citotoxicidade encontrada para a espécie *Operculina alata* também foi corroborada por Coelho *et al.*, (2011) sobre o sistema *Artemia salina*, porém em diferentes concentrações, sugerindo ainda que esta espécie tenha potencial de atividade antitumoral, uma vez que causa morte celular. Alcarde e Basso (1997), também detectaram ausência do crescimento do sistema radicular dos bulbos de *Allium cepa* com *O. alata* em concentrações distintas.

Foi observado por Frachinnetto *et al.*, (2007), que a espécie *Achyrocline satureioides* (Lam) rica em taninos e flavonóides, ao ser estudada através do sistema teste *Allium cepa* indica a presença de atividade antiproliferativa nesse extrato. Teixeira *et al* (2003), ressalta que os taninos, por atuarem na precipitação de proteínas e na inibição enzimática das células, podem ser os maiores responsáveis pela inibição da divisão celular em células meristemáticas da *A. cepa*.

Segundo Ya-Quin *et al.*, (2001), a citotoxicidade das espécies *Baccharis trimera* (Less) e *Baccharis articulata* (Lam) se deve ao seu alto teor de flavonóides. Portanto, uma das possíveis explicações para a citotoxicidade verificada para a espécie *O. alata* neste trabalho, pode ser atribuída ao

alto conteúdo de taninos e flavonóides presentes no extrato Hidroalcoólico desta espécie.

### Conclusão

Diante dos resultados obtidos, conclui-se que o Extrato Hidroalcoólico da *Operculina alata* (Ham) Urban é tóxico em todas as concentrações testadas, frente ao microcrustáceo *Artemia salina*, mostrando uma sobrevivência de apenas 10% das larvas na menor concentração. Tal citotoxicidade é confirmada no teste *Allium cepa*, onde não foi observado crescimento radicular em nenhuma concentração do extrato. Ressaltamos a necessidade de mais investigações científicas sobre a espécie em questão para a confirmação do efeito tóxico aqui observado.

**Palavras-chave:** Plantas medicinais; Análise citogenética; Toxicidade.

### Referências

ALCARDE, A. R.; BASSO, L.C. Efeito da Trealose na Manutenção da Viabilidade de Celulas de Leveduras Desidratadas por Liofilização. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 54, n.3, p. 1997.

COELHO, A. G. et al. EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DAS RAÍZES E TESTES DE ATIVIDADE BIOLÓGICA DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE *Operculina alata* (Ham) Urban, **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 3, p.1-9, 2011.

FACHINETTO J.M. et al. Efeito anti-proliferativo das infusões de *Achyrocline satureioides* DC (Asteraceae) sobre o ciclo celular de *Allium cepa*. **Rev Bras Farmacognosia** v.17 n. 1, p.49-54, jan. /Mar. 2007.

GUERRA, M.; SOUZAS, M.J. de **Como observar cromossomos: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana**. Ribeirão Preto, SP: Fundação de Pesquisas Científicas de Ribeirão Preto, 2002.

GRAHAN, J.G. et al. Plants used against cancer- an extension of the work of Jonathan Hartwell. **Journal of Ethnopharmacology**, v.73, p.343-377. 2000.

MATOS, F. J. A. **Farmácias vivas: sistema de utilização de plantas medicinais projetado para pequenas comunidades**. 3. ed. Fortaleza: EUFC, 220p, 1988.

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. **PlantaMed** v.45, p.31-34, 1982.

TEIXEIRA R. O. et al. Assessment of two medicinal plants, *Psidiumguajava* L. and *Achilleamille folium* L. in in vivo assays. **Genet MolBiol**, v. 26, p.551-555, 2003.

YAN-QUIN, S. et al. Cytotoxic flavonoids with isoprenoids groups from *Morus mongolica*. **Journal of Natural Products**, v.64, p.181-8, 2001.



# I SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS

De 17 a 19 de junho de 2015 - Auditório do CTT/UFPI Teresina - PI

## Toxicidade subaguda do extrato etanólico das folhas de *Myracrodruon urundeuva* sobre ratas Wistar

### Subacute toxicity of the ethanol extract of the leaves *Myracrodruon urundeuva* on Wistar rats

Tamnata Ferreira Alixandre<sup>1\*</sup>; Janylla Mirck Guerra de Oliveira<sup>2</sup>, Lia Jacyara Chaves Pereira<sup>1</sup>, Ana Paula Gomes Pereira Cunha<sup>1</sup>, Paulo Alex Bezerra Sales<sup>1</sup>, Marina Rebeca Soares Carneiro de Sousa<sup>1</sup>, Amilton Paulo Raposo Costa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, Brasil.

<sup>2</sup>Departamento de Medicina veterinária, Universidade Federal do Piauí, Campus Professora Cinobelina Elvas, Bom Jesus-PI – Brasil;

\*tamnata.alixandre@hotmail.com

#### Introdução

*Myracrodruon urundeuva* é uma espécie arbórea pertencente à família Anacardiaceae, conhecida popularmente como aroeira, que ocorre naturalmente no Brasil, na Bolívia, no Paraguai e na Argentina (SANTIN; LEITÃO FILHO, 1991). Sua entrecasca possui propriedades anti-inflamatórias, adstringentes, antialérgicas e cicatrizantes (VIANA et al., 1995). Devido à ampla utilização da *Myracrodruon Urundeuva* de forma empírica, e tendo em vista o número reduzido de estudos referentes à sua toxicidade reprodutiva, este trabalho tem por objetivo a pesquisa de efeitos tóxicos com doses repetidas do extrato etanólico de *Myracrodruon urundeuva* Allem. (EEMu).

#### Metodologia

Este protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação com Animais da Universidade Federal do Piauí (CEEA/UFPI) com número de protocolo 035/14. As folhas de *Myracrodruon urundeuva* foram obtidas em novembro de 2011 no Centro de Ciências Agrárias - UFPI no município de Teresina, Piauí. A exsiccata foi identificada no Herbário Graziela Barroso/UFPI, na qual se encontra depositada sob o número TEPB-29.026. Para o processamento do EEMu, as folhas foram secas em estufa, trituradas em moinho elétrico, submetidas a maceração com etanol para a obtenção do extrato etanólico, que foi concentrado no evaporador rotativo e depois liofilizado. No protocolo de toxicidade subaguda foram utilizadas 35 ratas Wistar, divididas em 5 grupos (n=7), tratadas com diferentes doses do EEMU (125, 250, 500 e 1000 mg/kg) e água destilada (controle) por um período de 28 dias. Nesse período foram realizadas mensurações do consumo de água e ração e avaliação comportamental. Após o tratamento, as ratas foram anestesiadas e, em seguida, eutanasiadas para coleta e avaliação dos órgãos internos (coração, pulmão, rins, adrenais, baço, fígado, útero, ovários e mama). Os valores obtidos foram expressos como média  $\pm$  EPM e, os dados submetidos à análise de variância ANOVA (*One Way*) seguido do pós-teste de Tukey adotando o nível de significância estatística  $p < 0,05$ . Os gráficos foram confeccionados utilizando o programa *Graphpad Prism*® versão 5.0.

## Resultados

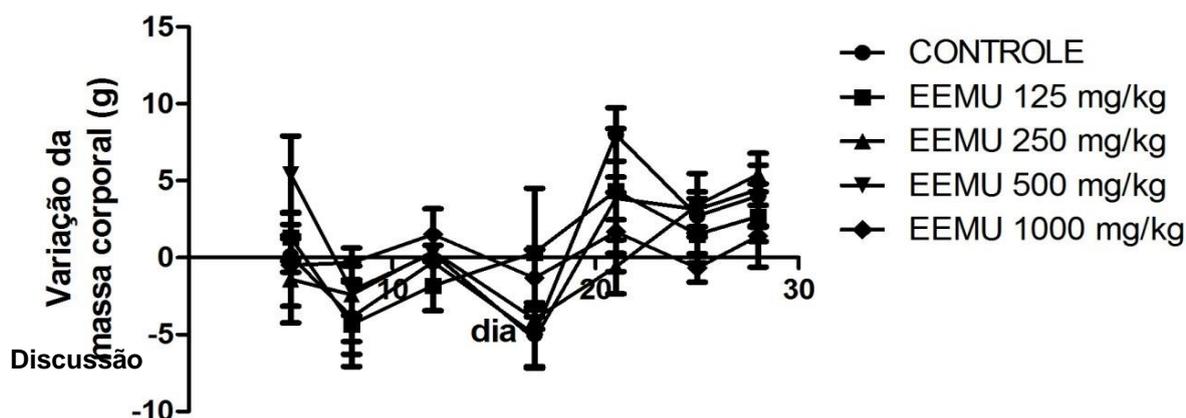
Durante o período de tratamento, os animais não manifestaram alterações comportamentais visíveis e o ganho de peso ao longo do período não diferiu entre os grupos (Figura 1). Não houve diferença estatística significativa entre os grupos avaliados quanto ao consumo de água e ração. Na análise macroscópica os órgãos (coração, pulmão, rins, adrenais, baço, fígado, útero, ovários e mama) não apresentaram alterações patológicas aparentes. A massa relativa não diferiu entre os grupos, com exceção das adrenais dos animais tratados com EEMU na dose de 125 mg/kg que apresentaram um aumento significativo em em relação ao grupo controle (Tabela 1).

**Tabela 1** - Massa relativa (mg/100g de peso corporal) dos órgãos de ratas Wistar tratadas por via oral, com extrato etanólico das folhas de *M. urundeuva* (EEMU) nas doses 125, 250, 500 e 1000 mg/kg durante 28 dias

Órgão	Tratamentos				
	Veículo	EEMU 125	EEMU 250	EEMU 500	EEMU 1000
<b>Coração</b>	0,34±0,010	0,36±0,017	0,37±0,008	0,38±0,017	0,34±0,017
<b>Pulmão</b>	0,92±0,114	0,86±0,070	0,86±0,028	0,94±0,117	0,82±0,025
<b>Adrenais</b>	0,024±0,001	0,034±0,002*	0,028±0,001	0,028±0,002	0,028±0,002
<b>Rins</b>	0,69±0,030	0,75±0,046	0,73±0,009	0,76±0,03	0,69±0,029
<b>Baço</b>	0,28±0,020	0,27±0,009	0,25±0,019	0,28±0,019	0,28±0,021
<b>Fígado</b>	2,59±0,179	2,51±0,061	2,81±0,132	2,73±0,110	2,42±0,090
<b>Útero</b>	0,29±0,042	0,37±0,037	0,34±0,050	0,44±0,050	0,32±0,033
<b>Ovários</b>	0,05±0,004	0,05±0,002	0,04±0,003	0,04±0,002	0,05±0,004
<b>Mama</b>	0,023±0,004	0,017±0,002	0,014±0,003	0,013±0,002	0,016±0,003

Nota: Os valores representam a média ± E.P.M. do número de animais usados no experimento. \* $p < 0,05$ , quando comparado ao grupo Veículo (ANOVA One-way seguido de Teste de Tukey).

**Figura 1** – Ganho de peso de ratas Wistar tratadas por via oral, com extrato etanólico das folhas de *M. urundeuva* (EEMU) nas doses 125, 250, 500 e 1000 mg/kg durante 28 dias. Os valores representam a média ± E.P.M. Não houve diferença estatística significativa no ganho de peso entre os grupos (ANOVA One-way seguido de Teste de Tukey).



A toxicidade sistêmica se manifesta pela redução do desenvolvimento ponderal, redução nos consumos de água e ração, alterações de comportamento, apatia e má condição da pelagem, alterações hematológicas e bioquímicas sanguíneas (CUNHA et al., 2009). O extrato etanólico de *Myracrodruon urundeuva* Allem. (EEMU), nas doses estudadas, não alterou nenhum desses parâmetros, denotando ausência de toxicidade sistêmica, quando administrado por via oral pelo período de 28 dias.

### **Conclusão**

Os resultados apresentados não apontam alterações tóxicas significativas de ratas Wistar tratadas, por via oral, com o extrato etanólico das folhas de *Myracrodruon urundeuva*, nas doses avaliadas, por um período de 28 dias.

**Palavras-chave:** Aroeira; toxicidade; fitoterápico.

### **Agradecimentos**

CNPq/CAPES/UFPI

### **Referências**

CUNHA, Luiz C. et al. Avaliação da toxicidade aguda e subaguda, em ratos, do extrato etanólico das folhas e do látex de *Synadenium umbellatum* Pax. **Revista brasileira farmacognosia**, v.19, n.2a, p. 403-411, 2009.

SANTIN, D. A.; LEITAO FILHO. H.F. Restabelecimento e revisao taxonomica do genero *Myracrodruon* Freire Allemao (Anacardiaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 14, n. 2, p. 133-145, 1991.

VIANA, G. S. B. et al. **Aroeira-do-sertão (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All.): estudo botânico, farmacognóstico, químico e farmacológico**, 2ª edição revisada e ampliada, Fortaleza, Edições UFC, 1995.



# I SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS

De 17 a 19 de junho de 2015 - Auditório do CTT/UFPI Teresina - PI

## Avaliação da atividade antileishmania e hemolítica do extrato etanólico da aroeira-do-sertão

### Evaluation of antileishmania and hemolytic activity of the ethanol extract of aroeira-do-sertão

Michel Muálem de Moraes ALVES<sup>1</sup>, Camila Ernanda Sousa de CARVALHO<sup>2</sup>, Lucas Moreira BRITO<sup>1</sup>,  
Enoque Costa Pereira Sobrinho JUNIOR<sup>1</sup>, Thaynara Parente de CARVALHO<sup>1</sup>, Janylla Mirck Guerra  
de OLIVEIRA<sup>2</sup>, Fernando Aécio de Amorim CARVALHO<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Núcleo de Pesquisa de Plantas Mediciniais-NPPM, Universidade Federal do Piauí. Teresina, Piauí,  
Brasil, [famorim@ufpi.edu.br](mailto:famorim@ufpi.edu.br)

<sup>2</sup>Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, Brasil.

### Introdução

A leishmaniose é uma miscelânea de doenças parasitárias causadas por protozoários do gênero *Leishmania*. No Brasil a Leishmaniose é uma doença de caráter endêmico, concentrando 97% dos casos relatados no continente americano, apresentando maior incidência a forma Tegumentar Americana (LTA), os casos ocorrem em todo país, com exceção da região Sul (BRASIL, 2010). Em função disso, a observação das propriedades terapêuticas de produtos naturais tem levado à pesquisa os princípios ativos de várias espécies vegetais, que possam atuar sobre essa patologia (CHATELAIN; IOSET, 2011). A aroeira-do-sertão é popularmente utilizada em diversas sintomatologias. Sua entrecasca e sua casca possuem propriedades anti-inflamatórias, adstringentes, antialérgicas e cicatrizantes (FURTADO 2012). Assim observando a potencialidade da planta este trabalho tem como objetivo avaliar o efeito do extrato etanólico da *Myracrodruon urundeuva* ALLEMÃO sobre *Leishmania amazonensis*.

### Metodologia

Formas promastigotas de *L. amazonensis* foram cultivadas em placas de 96 poços em meio Schneider's suplementado com 10 % de soro fetal bovino, 10.000 U de penicilina e 10 mg de estreptomicina juntamente com o extrato etanólico em concentrações variando de 800 µg/ml até 6,25 µg mL<sup>-1</sup>, diluindo-se seriadamente (1:2); posteriormente foram adicionadas 1×10<sup>6</sup> promastigotas em cada poço. O controle positivo e cada concentração testada foram feitas em triplicata. A placa foi incubada em estufa de demanda biológica de oxigênio a 26 °C e os parasitas foram observados e contados em Câmara de Neubauer, com o auxílio de microscópio óptico por 24, 48 e 72 horas para a avaliação do crescimento e viabilidade do parasito. Para a avaliação da atividade hemolítica foram utilizados eritrócitos de carneiro, coletado com anticoagulante (EDTA). Após a coleta, os eritrócitos foram diluídos em 80 µL de PBS, ajustando a concentração do sangue para 5 % de hemácias. Em seguida foram adicionadas as diluições do OeMu a serem analisadas (6, 25, 12,5, 25, 50, 100, 200, 400, 800 µg mL<sup>-1</sup>) diluídas em volume de 20 µL de PBS. Logo após, foram incubados durante 1 h a 37 °C e a reação foi interrompida pela adição de 200 µL de PBS. Em seguida, as suspensões foram centrifugadas a 1000 G, por 10 min a temperatura ambiente. O sobrenadante foi submetido à

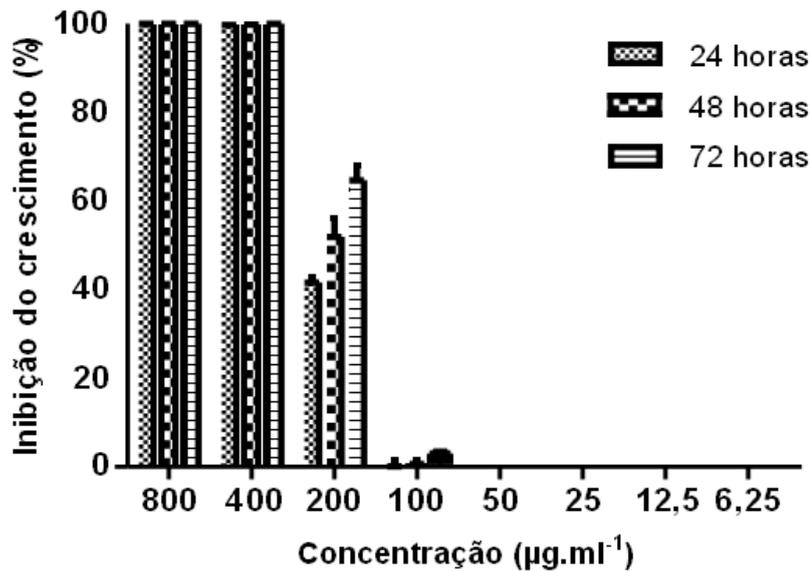
espectrofotometria a um comprimento de onda de 550 nm para quantificar a atividade hemolítica.

Todos os experimentos desenvolvidos neste estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação com Animais da UFPI (CEEA/UFPI Nº 008/2012).

## Resultados

O efeito do extrato etanólico de *Myracrodruon urundeuva* sobre formas promastigotas de *Leishmania amazonensis* e sobre eritrócitos humanos estão representados nos gráficos 1 e 2, respectivamente.

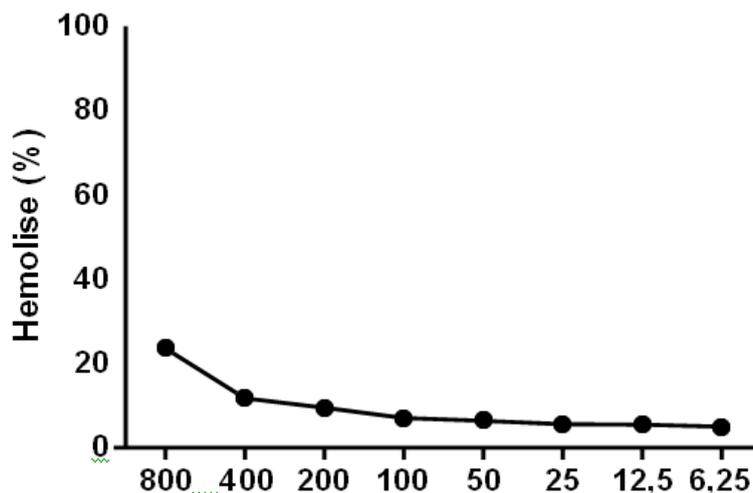
**Gráfico 1:** Efeito do Extrato etanólico de *Myracrodruon urundeuva* sobre formas promastigotas de *Leishmania amazonensis*



O gráfico representa a média  $\pm$  erro padrão da média de três experimentos independentes, considerando o controle como 100% de viabilidade. Foi realizado one-way ANOVA para comparar a inibição observada na presença das diferentes concentrações, sendo\*  $p < 0,0001$ .

**Gráfico 2:** Efeito do Extrato etanólico de *Myracrodruon urundeuva* sobre eritrócitos humanos

Os valores representam a média  $\pm$  erro padrão da média de experimentos realizados em duplicata, com limite de confiança de 95%



## Discussão

Durante o experimento foram observadas, alterações morfológicas das formas promastigotas de leishmania com formato arredondas ou disformes e restos celulares foram observados em microscópio óptico em contrastes com as formas fusiformes encontradas no controle. Os danos morfológicos foram observados nas culturas incubadas em concentrações variando de 800 a 200  $\mu\text{g mL}^{-1}$  do Extrato etanólico. A morfologia presente nestas células suplementa os vários mecanismos de ação possíveis. Acredita-se que o Extrato seja de fácil penetração através da membrana. Ocorre então, um rápido colapso da homeostase interna sendo acompanhada de lise da membrana citoplasmática e das membranas internas com libertação de restos celulares para o espaço extracelular, promovendo um processo inflamatório (MONTEIRO et al., 2003). Os resultados obtidos ao avaliar o potencial hemolítico do *OeMu* mostram que esse óleo apresenta baixa toxicidade, uma vez que apresentou apenas 20 % de hemólise na concentração mais elevada (800  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ). Experimentos realizados em eritrócitos possibilitam à avaliação a possibilidade da substância em causar lesões na membrana plasmática da célula, por ruptura desta ou pela formação de poros, resultando em danos ou alterações de permeabilidade (ORSINE et al., 2012).

## Conclusão

O *EtOHMu* apresentou atividade antileishmania e baixa citotoxicidade a eritrócitos.

**Palavras-chave:** Leishmanioses; plantas medicinais; aroeira.

## Referências

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana. Série A. Normas e Manuais Técnicos.** 2. Ed. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2010.

CHATELAIN, E.; IOSET, J.R. Drug discovery and development for neglected diseases: the DNDI model. **Drug desing, development and therapy**, v.5, p. 175-181, 2011.

FURTADO GB. **Avaliação do efeito terapêutico da aroeira do sertão (*Myracrodruon urundeuva* Allemão) na gastropatia reativa induzida por anti-inflamatórios não esteroides.** (Dissertação de Mestrado em Farmácia). Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, 2012.

MONTEIRO, P.; et al. Mitochondria: role in ischemia, reperfusion and cell death. **Revista Portuguesa de Cardiologia**, v. 22, n. 2, p. 54- 233, 2003.

ORSINE, J. V. C.; et al. The acute cytotoxicity and lethal concentration ( $LC_{50}$ ) of *Agaricus sylvaticus* through hemolytic activity on human erythrocyte. **International Journal of Nutrition Metabolism**, v. 4, n. 11, p. 19-23, 2012.



**Avaliação da atividade antimicrobiana da lectina de sementes de *Lonchocarpus sericeus***

**Evaluation of antimicrobial activity of lectin from *Lonchocarpus sericeus* seeds**

Katia Bonfim Leite de Moura Sérvulo<sup>1</sup>, Lidiane Pereira de Albuquerque<sup>1</sup>, Daniel Pereira Bezerra<sup>2</sup>, Thamara Figueiredo Procópio Vasconcelos<sup>3</sup>, Thiago Henrique Napoleão<sup>3</sup>, Patrícia Maria Guedes Paiva<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Bioquímica e Farmacologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, Brasil. katiaufpi@gmail.com

<sup>2</sup>Fundação Oswaldo Cruz - Fiocruz - BA

<sup>3</sup>Departamento de Bioquímica, Centro de Ciências Biológicas, UFPE

**Introdução**

Antimicrobianos têm sido utilizados para tratamento de doenças causadas por bactérias e fungos e, assim, têm contribuído significativamente para a redução da taxa de mortalidade em humanos e em outros animais. A resistência de microrganismos às drogas comerciais frequentemente usadas, tais como penicilina, oxacilina e metilicina, estimula a avaliação de plantas medicinais como fontes de compostos que possam inibir o crescimento e a sobrevivência de microrganismos (GOMES et al., 2013).

Lectinas são proteínas que reconhecem carboidratos podendo aglutinar diferentes tipos celulares através de interações com glicoconjugados presentes em superfícies celulares. As lectinas estão presentes em todos os reinos da natureza, desde bactérias até organismos superiores (CORREIA et al., 2008). Essas proteínas medeiam diversos efeitos biológicos (tais como ação contra fungos e bactérias), alguns dos quais servindo como base para a aplicação dessas biomoléculas na formulação de novas drogas antimicrobianas (SITOHY et al., 2007).

Lectinas de plantas com atividades antibacteriana e antifúngica contra microrganismos que causam doenças humanas, têm sido isoladas de sementes (CHARUNGCHITRAK et al., 2011). A lectina, isolada de sementes de *Lonchocarpus sericeus* (LsL), liga-se especificamente a resíduos de N-acetil-glicosamina e demonstrou inibição em eventos celulares e vasculares em dois modelos experimentais de inflamação (ALENCAR et al., 1999).

**Metodologia**

**Isolamento da lectina**

Lectina de sementes de *L. sericeus* foi purificada por uma combinação de cromatografias de afinidade (coluna de quitina) e de troca iônica (coluna Mono-Q), rendendo uma lectina pura

analisada por SDS-PAGE, MALDI-TOF e sequência parcial do N-terminal (SÉRVULO K.B.L.M., 2004).

### **Atividade antibacteriana**

Cepas gram-positivas (*Bacillus* sp., *Enterococcus faecali*, *Micrococcus luteus*, e *Serratia marcescens*, *Staphylococcus aureus*) e gram-negativas (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, e *Salmonella enteritidis*) foram fornecidas pelo Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Para determinar a atividade antibacteriana, as bactérias foram cultivadas em caldo nutriente e incubadas enquanto agitadas a 37°C durante 16 horas. Alíquotas (100 µL) de LsL (1,0 mg/mL) foram diluídas 1 : 2 em caldo nutriente (100 µL) e submetidas a uma série de 10 diluições para uma razão final de 1 : 2048. Uma alíquota de 180 µL de cada diluição foi distribuída em um poço de placa de microtitulação. Todos os poços foram inoculados com 20 µL de cultura bacteriana a 37°C por 24 hs. Os ensaios foram realizados em triplicata para cada concentração. Poços para o controle negativo continham meio caldo nutriente e microrganismos. Após incubação, a densidade óptica foi medida a 490 nm utilizando um leitor de microplacas. As concentrações mínimas inibitória (MIC) e bactericida (MBC) foram determinadas.

### **Atividade antifúngica**

*Candida albicans*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis* e *Candida tropicalis* foram obtidos do Departamento de Micologia da UFPE. A atividade antifúngica foi avaliada usando a mesma metodologia para o ensaio antibacteriano, alterando a temperatura de incubação (28°C) e substituindo o meio de cultura. Os ensaios foram realizados em triplicata.

### **Resultados**

O ensaio antibacteriano com a lectina de sementes revelou um ação inibitória sobre o crescimento de *Bacillus* sp. (250 µg/mL), *E. faecalis* (62,5 µg/mL) e *E. coli* (MIC de 500 µg/mL) e nenhum efeito em *K. pneumoniae*, *M. luteus*, *S. enteritidis*, *S. marcescens*, *S. aureus*. Atividade bactericida não foi detectada, indicando que a LsL tem efeito bacteriostático. LsL revelou atividades fungistática (MIC de 500 µg/mL) e fungicida (MFC > 500 µg/mL) sobre *C. albicans*, *C. krusei* e *C. tropicalis*.

### **Discussão**

LsL mostrou atividade bacteriostática contra bactérias gram-positivas e gram-negativas. Similarmente, lectinas isoladas do veneno de *Bothrops leucurus* e do cerne de *Myracrodruon urundeuva* também podem ser consideradas agentes bacteriostáticos contra *S. aureus*, pois os valores de MBC destas lectinas foram maiores que os valores de MIC (SÁ et al., 2009; NUNES et al., 2011). LsL não foi bactericida contra as cepas testadas.

A LsL mostrou ação fungistática e fungicida contra espécies diversas de *Candida*. Resultados similares foram encontrados em lectinas de sementes de *Archidendron jiringa* e de rizomas de *Curcuma longa* (PETNUAL et al., 2010; CHARUNGCHITRAK et al., 2011).

Lectinas de plantas são ativas contra fungos por reconhecer e imobilizar os microrganismos através da ligação com componentes de açúcares, assim comprometendo multiplicação e subsequente crescimento (CORDEIRO et al., 2006). A propriedade de LsL de interagir com a quitina pode estar envolvida em seu mecanismo antifúngico.

### Conclusões

LsL mostrou ação antimicrobiana contra espécies que causam doenças humanas. LsL tem afinidade por N-acetilglicosamina, um componente de quitina encontrado em paredes celulares bacterianas e fúngicas. As características de LsL, incluindo sua habilidade de interagir com o N-acetilglicosamina e a termoestabilidade, podem indicar futuras pesquisas para sua aplicação como biomaterial com propriedades antimicrobianas para o tratamento de infecções.

**Palavras-chaves:** bactérias, fungos, lectina, sementes.

### REFERÊNCIAS

- ALENCAR, N. M. N. et al. Leguminous lectins as tools for studying the role of sugar residues in leukocyte recruitment. **Mediators Inflammation**. v. 8, p. 107-113, 1999.
- CHARUNGCHITRAK, S. et al. Antifungal and antibacterial activities of lectin from the seeds of *Archidendron jiringa* Nielsen. **Food Chemistry**, v. 126, p. 1025-1032, 2011.
- CORDEIRO, R. A. et al. Effect of proteins from the red seaweed *Hypnea musciformis* (Wulfen) Lamouroux on the growth of human pathogen yeasts. **Brazilian Archives of Biology and Technology**. v. 49, p. 915-921, 2006.
- GOMES, F. S. et al. Antimicrobial lectin from *Schinus terebinthifolius* leaf. **Journal of Applied Microbiology**. v. 114, p. 672-679, 2013.
- NUNES, E. S. et al. Purification of a lectin with antibacterial activity from *Bothrops leucurus* snake venom. **Comparative Biochemistry Physiology - Part B**, v. 159, p. 57-63, 2011.
- PETNUAL, P.; SANGVANICH, P.; KARNCHANATAT, A. A Lectin from the rhizomes of turmeric (*Curcuma longa* L.) and its antifungal, antibacterial, and alpha-glucosidase inhibitory activities. **Food Science and Biotechnology**, v. 19, p. 907-916, 2010.
- SÁ, R. A. et al. Antibacterial and antifungal activities of *Myracrodruon urundeuva* heartwood. **Wood Science Technology**. v. 43, p. 85-95, 2009.
- SERVULO K.B.L.M., Isolamento, purificação, caracterização e atividade biológica de uma lectina de sementes de *Lochocarpus sericeus* (Leguminosae-Papilionoidae-Tribo Tephosieae) . 105 f. Tese (Doutorado em Bioquímica), Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará. 2004.
- SITOHY, M.; DOHEIM, M.; BADR, H. Isolation and characterization of a lectin with antifungal activity from Egyptian *Pisum sativum* seeds. **Food Chemistry**, v. 104, p. 971-979, 2007.



# I SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS

De 17 a 19 de junho de 2015 - Auditório do CTT/UFPI Teresina - PI

## Avaliação do efeito do líquido obtido da castanha de caju (*Anacardium occidentale* L.) (LCC) sobre *Leishmania amazonensis* e macrófagos murinos

### Evaluation of the effect of the liquid obtained from cashew nut (*Anacardium occidentale* L.) (LCC) on *Leishmania amazonensis* and murine macrophages

Michel Muálem de Moraes ALVES<sup>1</sup>, Gabriele Taumaturgo MORORÓ<sup>1</sup>, Lucas Moreira BRITO<sup>1</sup>  
Adriana Cunha SOUZA<sup>1</sup>, Camila Ernanda de Sousa CARVALHO<sup>1</sup>, Thaynara Parente de  
CARVALHO<sup>1</sup>, Fernando Aécio de Amorim CARVALHO<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Núcleo de Pesquisa de Plantas Mediciniais-NPPM, Universidade Federal do Piauí. Teresina,  
Piauí, Brasil. [famorim@ufpi.edu.br](mailto:famorim@ufpi.edu.br)

#### Introdução

Protozoários parasitas do Gênero *Leishmania* são responsáveis por um espectro de doenças coletivamente conhecidas como leishmanioses, que afeta pele, membranas mucosas e órgãos internos. Mais de 12 milhões de casos de leishmanioses foram relatados em todo o mundo, com 1 a 2 milhões de novos casos sendo relatados anualmente (KAUR, et al. 2010). A procura por novas drogas busca o desenvolvimento de novos fármacos que sejam eficazes, todavia, com a menor toxicidade possível. Uma grande variedade de produtos naturais tem demonstrado possuir atividades antibacteriana, antifúngica, antiviral, inseticida e propriedades antioxidantes. Canela, cravo e alecrim, por exemplo, plantas que têm mostrado atividade antibacteriana e antifúngica, ademais. (PRABUSEENIVASAN, 2006). O líquido natural da castanha do caju, conhecido como LCC, é constituído, geralmente, por 70% de ácido anacárdico, 20% de cardol, 5% de cardanol e 5% de material polimérico. O ácido anacárdico está relacionado com o ácido salicílico e apresentou várias atividades, tais como ação antibactericida resistente à metilina contra *Staphylococcus aureus* (MUROI E KUBO, 1996), anticancerígeno, anti-inflamatório e radiosensibilizante (SUNG et al., 2008). Assim, ao idealizar novos fármacos para o tratamento contra as leishmanioses, que tenham menos efeitos colaterais, o presente trabalho objetivou avaliar a ação da atividade antileishmania e sua citotoxicidade sobre macrófagos murinos do líquido da castanha de caju (*Anacardium occidentale* L.).

#### Metodologia

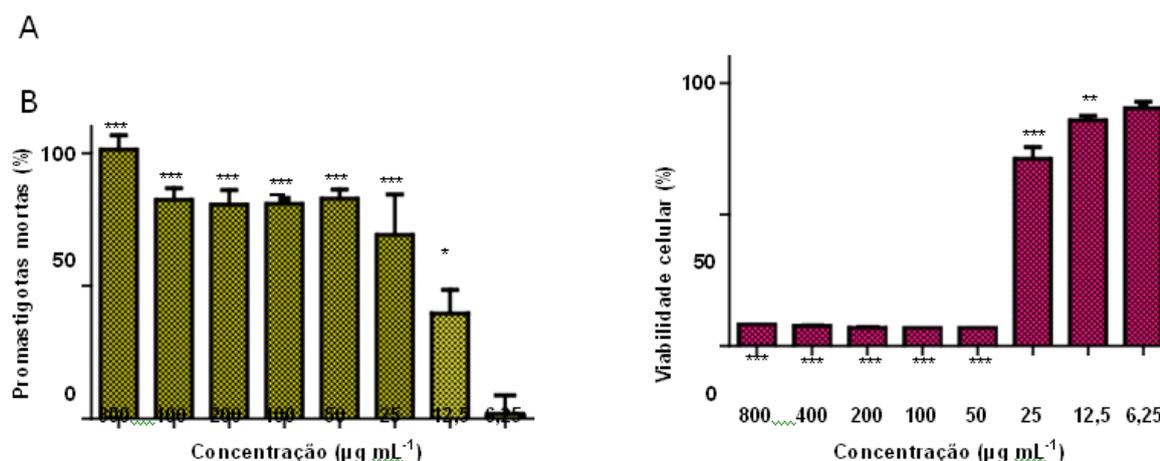
Os ensaios de avaliação da atividade antileishmania do LCC foram realizados com formas promastigotas de *Leishmania amazonensis* em fase logarítmica de crescimento, cultivadas em meio Schneider's suplementado (10% de SFB e antibióticos). Cerca de  $1 \times 10^6$  promastigotas foram distribuídas em placa de 96 poços onde havia as concentrações seriadas de LCC, variando de  $800 \mu\text{g mL}^{-1}$  até  $6,25 \mu\text{g mL}^{-1}$ , em triplicatas. Após 48 h de incubação, avaliou-se a viabilidade das promastigotas empregando o método colorimétrico da resazurina ( $20 \mu\text{l}$  por poço a  $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ), 6 h antes do término da incubação. Realizou-se a leitura em 550 nm em leitor de ELISA. A avaliação da

citotoxicidade foi feita utilizando macrófagos peritoneais murinos. Os macrófagos foram isolados do peritônio de camundongos BALB/c, de ambos os sexos, entre 5 a 6 semanas de vida (20 a 25 g de peso vivo), provenientes do biotério do Núcleo de Pesquisa em Plantas Medicinais (NPPM/CCS/UFPI). Uma quantidade de  $2 \times 10^5$  macrófagos foram cultivados em placas de 96 poços na presença das concentrações de LCC já descritas anteriormente, e incubadas em estufa a  $37^\circ\text{C}$  e 5% de  $\text{CO}_2$  por um período de 48 h. O sobrenadante foi descartado faltando 4 h para o final da incubação, acrescentando-se 90  $\mu\text{L}$  de meio RPMI suplementado com 10  $\mu\text{L}$  de MTT diluído em PBS ( $5 \text{ mg mL}^{-1}$ ). No final da incubação o conteúdo foi desprezado e os cristais de formazam formados no interior das células foram diluídos com 100  $\mu\text{L}$  de DMSO e em seguida feita a leitura em 550 nm em leitor de ELISA. Todos os experimentos desenvolvidos neste estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação com Animais da UFPI (CEEA/UFPI N° 008/2012).

## Resultados

O Efeito do líquido obtido da castanha de caju (*Anacardium occidentale* L.) (LCC) sobre formas promastigotas de *Leishmania amazonensis* e sobre macrófagos murinos estão expressos na figura 1.

**Figura 1:** Efeito do líquido obtido da castanha de caju (*Anacardium occidentale* L.) (LCC) sobre formas promastigotas de *Leishmania amazonensis* e sobre macrófagos murinos



Efeito do líquido obtido da castanha de caju (LCC) sobre formas promastigotas de *Leishmania amazonensis* (A) e sobre macrófagos murinos (B). Os gráficos representam a média  $\pm$  erro padrão da média de três experimentos independentes, considerando o controle como 100% de morte celular e viabilidade celular, respectivamente. Foi realizado one-way ANOVA para comparar a inibição (A) e viabilidade (B) observada na presença de diferentes concentrações, sendo\*  $p < 0,0001$ .

## Discussão

O LCC foi capaz de inibir cerca de 100% do crescimento das promastigotas na concentração de  $800 \mu\text{g mL}^{-1}$ , em 48 h de incubação, mantendo cerca de 80 % de inviabilidade celular na faixa de concentração de 400 a  $25 \mu\text{g mL}^{-1}$  (Figura 1A). O valor de  $\text{IC}_{50}$  em 48 h foi de  $18,821 \mu\text{g mL}^{-1}$ .

A concentração citotóxica média ( $CC_{50}$ ) foi de  $31,36 \mu\text{g mL}^{-1}$ . A partir dos valores de  $CC_{50}$  e  $IC_{50}$  podemos calcular o índice de seletividade (quantas vezes a substância é mais tóxica para o parasito comparado com os macrófagos) que, ao relacionar a  $CC_{50}$  com a  $IC_{50}$ , obteve-se tal índice no valor de 1,66, o qual é relativamente baixo. Este valor revela certo potencial tóxico do LCC para os macrófagos. Osorio, et al (2007) afirmam que o índice de seletividade deve ser próximo de 20.

#### Conclusão

As concentrações padronizadas do LCC, no presente estudo, indicam uma potente atividade antileishmaniana sobre as formas promastigotas das *L. amazonensis*. Porém observou-se elevado potencial citotóxico em macrófagos murinos.

**Palavras-chave:** Leishmaniose; plantas medicinais; toxicidade.

#### Referências

KAUR, S., et al. Antileishmanial effect of cisplatin against murine visceral leishmaniasis. **Parasitology International**. v. 59, n. 1, p. 62–69, 2010.

MUROI, H., KUBO, I. Antibacterial activity of anacardic acid and totarol, alone and in combination with methicillin, against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **J. Appl. Bacteriol.** n. 80, p. 387–394, 1996.

OSORIO, E., et al. Antiprotozoal and cytotoxic activities *in vitro* of Colombian Annonaceae. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 111, n. 3, p. 630–635, 2007.

PRABUSEENIVASAN, S.; JAYAKUMAR, M.; IGNACIMUTHU, S. In vitro antibacterial activity of some plant essential oils. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v.6, n.39, p.1-8,2006.

SUNG, B., et al. Anacardic acid (6-nonadecyl salicylic acid), an inhibitor of histone acetyltransferase, suppresses expression of nuclear factor-kappa B-regulated gene products involved in cell survival, proliferation, invasion, and inflammation through inhibition of the inhibitory subunit of nuclear factor-kappa B/alpha kinase, leading to potentiation of apoptosis. **Blood**. n. 111, p. 4880–4891, 2008.



# I SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS

De 17 a 19 de junho de 2015 - Auditório do CTT/UFPI Teresina - PI

## **Avaliação do emprego do nanomaterial híbrido formado por nanopartículas de prata e ácido tânico no combate à leishmaniose**

### **Employment evaluation of the hybrid nanomaterial composed of silver nanoparticles and tannic acid to combat leishmaniasis**

Lucas Moreira Brito<sup>1</sup>, Lourdes Cristina da Silva Lopes<sup>2</sup>, Fernando Aécio de Amorim Carvalho<sup>1</sup>, Welter  
Cantanhêde<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Núcleo de Pesquisas em Plantas Mediciniais, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do  
Piauí, Teresina-PI, Brasil

<sup>2</sup> Departamento de Química, Centro de Ciências da Natureza, Universidade Federal do Piauí,  
Teresina-PI, Brasil, [welter@ufpi.edu.br](mailto:welter@ufpi.edu.br)

#### **Introdução**

A leishmaniose é uma antropozoonose grave causada por diferentes espécies de protozoários constituintes do gênero *Leishmania*. A doença constitui um problema sério nos países em desenvolvimento, especificamente em regiões tropicais e subtropicais e, devido à diversidade de espécies causadoras, pode apresentar-se de formas clínicas distintas, dependentes da espécie de *Leishmania* envolvida e da relação parasita-hospedeiro. A transmissão ocorre pela picada de fêmeas infectadas de insetos pertencentes à família *Phlebotominae*, via injeção de promastigotas, formas flageladas do protozoário<sup>1-3</sup>. Anualmente, registram-se 2 milhões de novos casos da doença, sendo 1,5 milhão de leishmaniose cutânea e 500.000 casos de leishmaniose visceral, esta última a forma mais crítica. Os antimoniais pentavalentes consistem nas drogas de primeira escolha para o tratamento das leishmanioses, contudo os mesmos são comprovadamente tóxicos aos seres humanos e têm se mostrado ineficazes devido à proliferação de parasitas resistentes, o que contribui para tornar o tratamento demorado<sup>1,2</sup>. Daí, a necessidade da medicina tradicional em desenvolver novas alternativas ao tratamento das leishmanioses. Neste contexto, as nanopartículas metálicas merecem destaque pela potencial aplicação em diagnóstico médico e terapêutica, bem como pela ação bactericida comprovada, fatores estes devidos à singularidade nas suas propriedades físicas, químicas e biológicas<sup>4,5</sup>. Aliada a isto, a incorporação de produtos naturais no preparo de nanopartículas tem se mostrado viável por contribuir para o desenvolvimento de nanomateriais que sejam menos tóxicos, biocompatíveis e, portanto, mais interessantes para a área médica. Desta forma, o presente trabalho objetivou avaliar a atividade antileishmaniana de nanopartículas de prata (Ag<sup>0</sup>) immobilizadas em ácido tânico (AT), um composto orgânico polifenólico, derivado de plantas e com ação antiinflamatória, antioxidante, antimicrobiana, entre outras<sup>6</sup>.

#### **Metodologia**

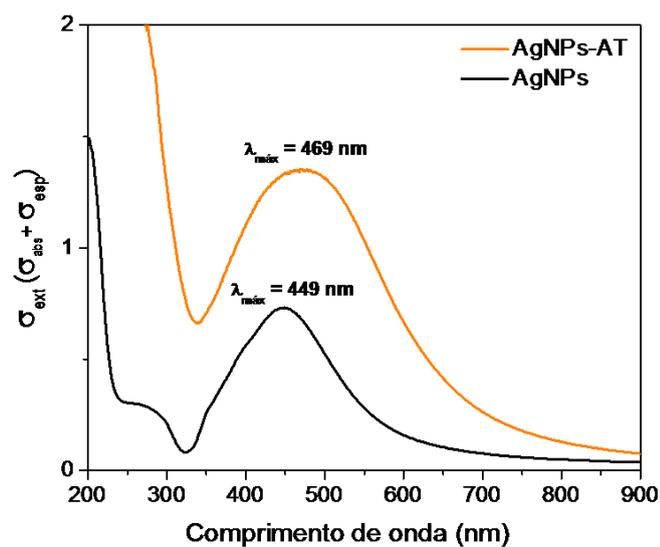
Promastigotas de *Leishmania amazonensis*, em fase logarítmica de crescimento, foram semeadas em placas de cultivo celular de 96 poços contendo meio Schneider's suplementado, em que oito

concentrações de substâncias (167 - 1,30  $\mu\text{g mL}^{-1}$  para AT, 110 - 0,80  $\mu\text{g mL}^{-1}$  para AgNPs-AT, 53,5– 0,42  $\mu\text{g mL}^{-1}$  para AgNPs e 6,67 – 0,05  $\mu\text{g mL}^{-1}$  para o citrato de sódio ) foram adicionadas em triplicata, juntamente com o controle e incubadas por 48h. Restando 6h para o final da incubação, 20  $\mu\text{L}$  da solução de azul de alamar 1 x 10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup> foram adicionados e as placas voltaram a ser incubadas. A leitura das placas foi feita em leitor próprio operando em 550 nm e os resultados foram expressos em termos de inibição do crescimento (%).

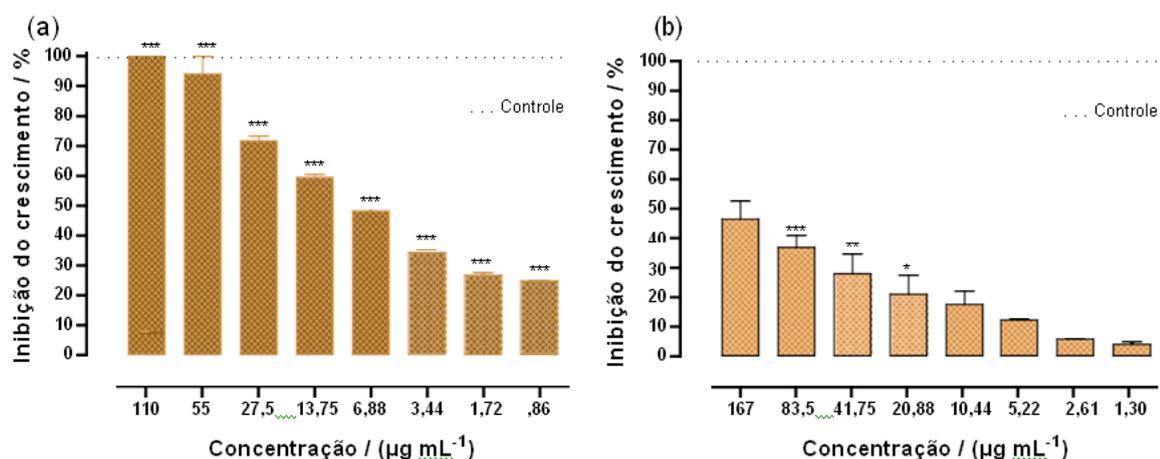
## Resultados

A formação das nanopartículas foi confirmada por espectroscopia eletrônica na região do ultravioleta- visível (UV-Vis), como mostra a Figura 1, sendo as bandas localizadas na região entre 450 e 500 nm características da prata nanoparticulada. Os perfis inibitórios apresentados pelo AT e por AgNPs-AT podem ser observados na Figura 2 e um comparativo mais preciso destes efeitos pode ser feito com base nos valores de CI<sub>50</sub> calculados para os materiais em questão, bem como para AgNPs isoladas, que estão reunidos na Tabela 1.

**Figura 1** – Espectros eletrônicos na região do UV-Vis para AgNPs e AgNPs-AT



**Figura 2** – Efeitos de (a) AgNPs-AT e (b) AT sobre promastigotas de *Leishmania amazonensis*



**Tabela 1** – Valores de  $CI_{50}$  das substâncias em estudo após 48h de incubação

Amostra	$CI_{50}$ ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )
AT	221,81 $\pm$ 97,08
AgNPs-AT	5,85 $\pm$ 1,76
AgNPs	6,96 $\pm$ 3,49

Valores em média  $\pm$  erro padrão, \*\*\* $p < 0,0001$ .

## Discussão

Comparando os perfis de inibição do crescimento para AT e AgNPs-AT, após 48h, verificou-se que AgNPs-AT promoveram 100% de inibição na concentração de 110  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , enquanto AT mostrou-se menos eficaz não havendo inibição total em nenhuma das concentrações testadas. Houve, portanto, um incremento na atividade antileishmania para AgNPs-AT, associado a alterações na morfologia do parasito visíveis em microscópio óptico. AgNPs comportaram-se de modo similar às AgNPs-AT, com os parasitos assumindo uma aparência atípica devido ao rompimento de suas membranas.

## Conclusão

Nanopartículas de prata imobilizadas em ácido tânico mostraram-se promissoras no combate às promastigotas, comportando-se similarmente às AgNPs (isoladas). No entanto, a incorporação do tanino é fundamental para aumentar a estabilidade das AgNPs-AT, uma vez que impede sua aglomeração. Além disso, AgNPs-AT puderam ser preparadas empregando uma rota rápida e um produto regional (AT), fatores estes que encaixam a síntese nos princípios da Química Verde.

**Palavras-chave:** Leishmaniose; nanopartículas metálicas; ácido tânico; *Leishmania amazonensis*.

## Referências

- PASTOR, J. I.; et al. Combinations of ascaridole, carvacrol, and caryophyllene oxide against Leishmania. **Acta Tropica**, v. 145, p. 31-38, 2015.
- CALDEIRA, L. R.; et al. Nanoemulsions loaded with amphotericin B: A new approach for the treatment of leishmaniasis. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 70, p. 125-131, 2015.
- AGUIAR, J. C.; et al. Differentiation of Leishmania species by FT-IR spectroscopy. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 142, p. 80-85, 2015.
- LEE, K. S.; EL-SAYED, M. A. Gold and silver nanoparticles in sensing and imaging: Sensitivity of plasmon response to size, shape, and metal composition. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 110, p. 19220-19225, 2006.
- MELO, M. A.; et al. Preparação de nanopartículas de prata e ouro: Um método simples para a introdução da nanociência em laboratório de ensino. **Química Nova**, v. 35, p. 1872-1878, 2012.
- YI, Z.; et al. Green, effective chemical route for the synthesis of silver nanoplates in tannic acid aqueous solution. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 392, p. 131-136, 2011.



# I SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS

De 17 a 19 de junho de 2015 - Auditório do CTT/UFPI Teresina - PI

## Avaliação do potencial antileishmania e citotóxico de plantas de uso popular de ocorrência no bioma cerrado piauiense

### Evaluation of the antileishmanial and cytotoxic potential of popular use plants of occurrence at the cerrado piauiense biome

Enoque Costa Pereira Sobrinho JUNIOR<sup>1</sup>, Adriana Cunha SOUZA<sup>1</sup>, Lucas Moreira BRITO<sup>1</sup>, Camila Ernanda Sousa de CARVALHO<sup>1</sup>, Thaynara Parente de CARVALHO<sup>1</sup>, Mariana Helena CHAVES<sup>2</sup>, Fernando Aécio de Amorim CARVALHO<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Núcleo de Pesquisas em Plantas Mediciniais, Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, Brasil, [famorim@ufpi.edu.br](mailto:famorim@ufpi.edu.br)

<sup>2</sup> Departamento de Química, Centro de Ciências da Natureza, Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, Brasil

#### Introdução

As leishmanioses são doenças parasitárias causadas por protozoários do gênero *Leishmania*. Os humanos são infectados pela picada de flebotomíneos, inseto vetor, que vivem em áreas florestais, cavernas ou em tocas de roedores. Amplamente distribuída em todo mundo, as leishmanioses afetam o homem e os animais. Esta patologia ocorre na Ásia, Europa, África e Américas, sendo que existem relatos sobre a doença, no continente americano, desde a época colonial. (RATH 2003; WHO, 2012). Historicamente, a quimioterapia das leishmanioses tem sido baseada no uso dos antimoniais pentavalentes como fármacos de primeira escolha, como o estilbogluconato de sódio (Pentostan®) e antimoniato de meglumina (Glucantime®) (BRENDLE et al., 2002). Poucamente conhecida, a flora do Cerrado é riquíssima, sendo que a maioria das espécies é endêmica. Um inventário florístico revelou que das 914 espécies de árvores e arbustos registradas em 315 localidades de Cerrado, somente 300 espécies ocorrem em mais do que oito localidades, e 614 espécies foram encontradas em apenas uma localidade (RATTER et al., 2003). Nesse contexto, a procura por novos compostos com ação terapêutica, nos direciona em busca de conhecimento sobre princípios ativos de plantas. Este estudo tem como objetivo avaliar a atividade antileishmania de extratos e frações obtidas de plantas de uso popular in vivo.

#### Metodologia

Foram utilizadas neste trabalho o extrato etanólico e fração hexânica de *Bauhinia pulchella* e *Senna acuruensis*, também foram usados o extrato etanólico e fração hexânica da casca do caule de *Platonia insignis*, assim como o extrato etanólico dos galhos de *Oxandra sessiliflora* e das folhas de *Ephedranthus piscarpus*. Os extratos e frações foram preparados no Laboratório de Produtos Naturais, do Centro de Ciências da Natureza, da Universidade Federal do Piauí (LPN/CCN/UFPI). Formas promastigotas de leishmania em fase logarítmica de crescimento foram distribuídas em placas de cultivo (1 x 10<sup>6</sup> por poço). Os extratos e frações foram adicionados aos poços, em diluições seriadas na escala de 1:2, variando de 800 a 6,25 µg mL<sup>-1</sup>. As placas foram incubadas em estufa B.O.D. a temperatura de 26°C ± 1 °C e

observadas por 24, 48 e 72 horas para o acompanhamento do respectivo crescimento e da viabilidade das leishmanias. Em placa de 96 poços foram adicionados cerca de  $2 \times 10^5$  macrófagos por poço e, em seguida, incubada a 37 °C e 5% de CO<sub>2</sub> por 4 horas para adesão. Após, lavagens para retirada das células que não aderiram, foram adicionados os extratos e frações das plantas em estudo, diluídos 1:2, nas concentrações de 800 a 6,25  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , em triplicatas e incubadas por 48 horas. Após, foi adicionado 10  $\mu\text{L}$  de MTT, diluído em PBS, a uma concentração de 5  $\mu\text{g mL}^{-1}$  e incubado novamente por 4 horas em estufa 37 °C com 5% de CO<sub>2</sub>. Por fim, o sobrenadante foi descartado e, então, adicionado 100  $\mu\text{L}$  de dimetilsulfóxido (DMSO). A placa foi agitada por cerca de 30 minutos à temperatura ambiente para dissolução completa do formazan. Por último, foi feita a leitura a 550 nm em leitora de placa. (Nogueira et. al. 2007). Todos os experimentos desenvolvidos neste estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação com Animais da UFPI (CEEAA/UFPI Nº 008/2012).

## Resultados

Os resultados da avaliação da atividade antileishmania e citotoxicidade do extrato etanólico e fração hexânica da casca do caule de *Platonia insignis*, assim como o extrato etanólico das folhas de *Ephedranthus pisocarpus* estão descritos na tabela 1.

**Tabela 1-** Atividade antileishmania e efeito citotóxico em macrófagos de mamíferos

Compostos	Promastigotas	Macrófagos
	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) 48 horas	CC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) 48 horas
EtOH - <i>Platonia insignis</i>	66,08	321,40
FH - <i>Platonia insignis</i>	27,62	34,55
EtOH - <i>Ephedranthus pisocarpus</i>	230,34	215,99

A detecção de IC<sub>50</sub> e CC<sub>50</sub> foram calculadas pelo modelo de regressão de Probitos com auxílio do programa SPSS Statistics 20.

O extrato etanólico de *Bauhinia pulchella* conseguiu inibir cerca de 40% do crescimento na concentração de 800  $\mu\text{g mL}^{-1}$  em 48h e de 23% em 72h, não apresentando atividade nas demais concentrações. Já a fração hexânica não apresentou atividade antileishmania e citotoxicidade sobre macrófagos murinos nas concentrações testadas. O valor de IC<sub>50</sub> ficou acima da faixa de concentrações testadas. O extrato etanólico dos galhos de *Oxandra sessiliflora* foi inibitório nas concentrações de 800 e 400  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , observando-se um aumento gradativo na inibição tempo- dependente, que apresenta baixa citotoxicidade, com valor de CC<sub>50</sub> acima dos limites testados. O extrato etanólico de *Senna acuruensis* que por sua vez só inibiu o crescimento em 800  $\mu\text{g mL}^{-1}$  a partir de 48 horas com médias entre 15 a 20% de inibição, apresentando valor de IC<sub>50</sub> acima das concentrações testadas. A fração hexânica de *Senna acuruensis* não apresentou citotoxicidade sobre macrófagos murinos.

## Discussão

As amostras de *Platonia insignis* apresentaram os melhores resultados sobre a forma promastigota das leishmanias. O extrato etanólico da casca do caule do bacuri (EtOH-CCB) em 24 horas inibiu o crescimento do parasita nas concentrações de 800, 400, 200 e 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . Foi também observada uma atividade tempo-dependente, pois em 48 e em 72 horas, houve atividade leishmanicida na concentração de 800  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , ao passo que a inibição se estendeu até a concentração de 50  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . O valor de  $\text{IC}_{50}$  em 48 horas foi de 66,08  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . No entanto, também apresentam citotoxicidade sobre macrófagos e o valor de  $\text{CC}_{50}$  fica em 321,40  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . A fração hexânica da casca do caule de *P. insignis* em 24 horas foi leishmanicida da concentração de 800 a 200  $\mu\text{g mL}^{-1}$  e com atividade inibitória até 25  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . Em 48 horas foi leishmanicida também em 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . A quantidade da substância necessária para eliminar 50% dos parasitas é de 27,62  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . Entretanto o valor da Concentração Inibitória Média da fração hexânica de *Platonia insignis* apresentou-se muito baixa (34,55  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) revelando alta citotoxicidade. O extrato etanólico das folhas de *Ephedranthus pisocarpus* inibiu o crescimento até a concentração de 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$  em 48 horas. O valor de  $\text{IC}_{50}$  foi de 230,34  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , também se mostrou citotóxico sobre macrófagos murinos e a  $\text{CC}_{50}$  foi de 215,99  $\mu\text{g mL}^{-1}$ .

## Conclusão

Os resultados obtidos indicam uma atividade antileishmania satisfatória utilizando-se o extrato etanólico e a fração hexânica da casca do caule de *Platonia insignis*, assim como o extrato etanólico das folhas de *Ephedranthus pisocarpus*. Os resultados dos testes de citotoxicidade revelam que para o EtOH-*Platonia insignis* pode-se trabalhar com uma margem de segurança satisfatória sem afetar os macrófagos. Já para a FH-*Platonia insignis* a faixa de citotoxicidade sobre os macrófagos é próxima a ideal contra os parasitas. O EtOH-*Ephedranthus pisocarpus* teve valores de  $\text{IC}_{50}$  e  $\text{CC}_{50}$  na mesma faixa de valores.

**Palavras-chave:** Leishmanioses; fitoterápicos; plantas medicinais.

## Referências

BRENDLE, J.J. et al. Antileishmanial Activities of Several Classes of Aromatic Dications. **Antimicrob. Agents chemother**, v.46, p. 797-807, 2002.

RATH S.; et al. Antimoniais empregados no tratamento da leishmaniose. **Estado da Arte**, Quim. Nova, Vol. 26, No. 4, 550-555, 2003

RATTER, J., S. BRIDGEWATER & J.F. RIBEIRO. Analysis of the floristic composition of the Brazilian Cerrado vegetation. III: comparison of the woody vegetation of 376 areas. **Edinburgh Journal of Botany**, v. 60, p. 57-109 2003

WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION). **Leishmaniasis: burden of disease**. Disponível em: <<http://www.who.int/leishmaniasis/burden/en/>> Acesso em: 10 jan 2012.



# I SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS

De 17 a 19 de junho de 2015 - Auditório do CTT/UFPI Teresina - PI

## Características químicas e físico-químicas dos frutos do murici-pitanga (*Byrsonima gardneriana* A. Juss - Malpighiaceae) em diferentes estádios de maturidade

### Chemical and physico-chemical characteristics of the fruits of murici-pitanga (*Byrsonima gardneriana* A. Juss - Malpighiaceae) at different stages of maturity

Nigéria Pereira Gonçalves<sup>1</sup>, Leila Lia Teixeira Cunha<sup>1</sup>, Francisca Jéssica Costa Tavares<sup>2</sup>, Ayrton Victor Saraiva Rios<sup>3</sup>, José Arnaldo Moreira de Sousa<sup>2</sup>; Eliseu Marlônio Pereira de Lucena<sup>1\*</sup>, Oriel Herrera Bonilla<sup>1</sup>

<sup>1\*</sup>Mestrado Acadêmico em Recursos Naturais, Centro de Ciências e Tecnologia, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza-CE, Brasil.  
eliseu.lucena@uece.br

<sup>2</sup>Curso de Ciências Biológicas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza-CE, Brasil

<sup>3</sup>Curso de Química, Centro de Ciências e Tecnologia, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza-CE, Brasil

#### Introdução

As frutíferas nativas ocupam um lugar de destaque nos diversos ecossistemas e de um modo geral, seus frutos são comercializados no mercado regional com grande aceitação popular. Algumas destas espécies oferecem frutos abundantes, nutritivos e suculentos, desempenhando um papel importante na nutrição do nordestino (AVIDOS e FERREIRA, 2003). O Brasil é um dos principais produtores de frutas do mundo, embora ainda exista um amplo número de espécies frutíferas pouco exploradas, como por exemplo, a *Byrsonima gardneriana* A. Juss., conhecida popularmente como murici-pitanga e pertencente à família Malpighiaceae (GOTTLIEB et al., 2001). Sabe-se que ao longo do amadurecimento dos frutos, ocorrem inúmeras mudanças físicas, químicas, físico-químicas e bioquímicas, as quais são responsáveis por determinar seus atributos de qualidade (LUCENA, 2006). Diante disso, objetivou caracterizar os aspectos químicos e físico-químicos dos frutos do murici-pitanga (*Byrsonima gardneriana* A. Juss.) em diferentes estádios de maturidade, visando à definição do ponto de colheita ideal e sua recomendação para ser explorado comercialmente pelo setor de alimentação.

#### Metodologia

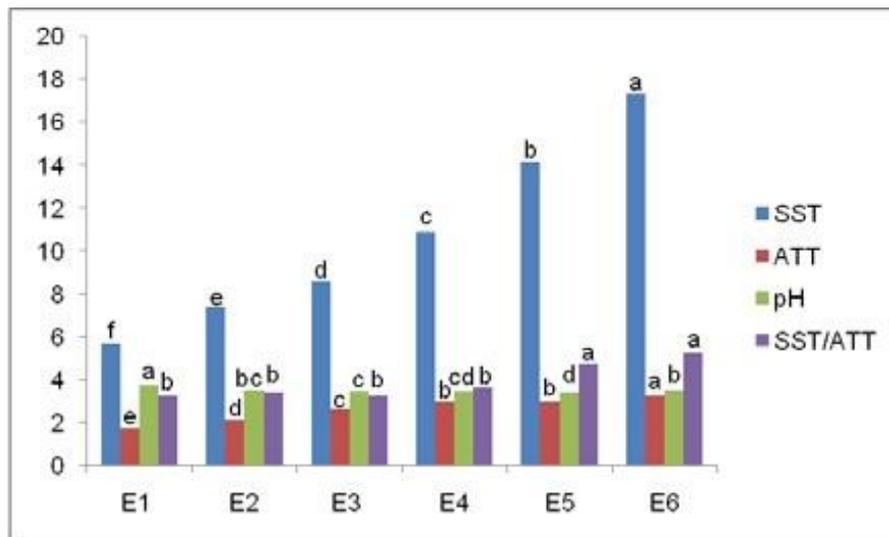
A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Ecofisiologia Vegetal (ECOFISIO), da Universidade Estadual do Ceará (UECE), em Fortaleza-CE, no período de janeiro a novembro/2014. Os frutos do murici-pitanga (*Byrsonima gardneriana* A. Juss.) foram colhidos manualmente no Jardim Botânico de São

Gonçalo, em São Gonçalo do Amarante-CE. Posteriormente, foi realizada a caracterização química e físico-química: sólidos solúveis totais (SST), acidez total titulável (ATT), pH e relação SST/ATT. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, utilizando seis tratamentos (estádios de maturidade) e quatro repetições, constituídas por vinte e cinco frutos cada. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância observando a significância pelo teste F e teste de Tukey, utilizando o software ESTAT (Sistema para Análises Estatísticas).

## Resultados

Os SST apresentaram diferenças significativas entre os seis estádios (E) de maturidade (1, 2, 3, 4, 5 e 6), desde o imaturo (E<sub>1</sub>) ao senescente (E<sub>6</sub>), porém o mínimo de 5,73°Brix foi obtido no E<sub>1</sub> e o máximo de 17,33°Brix no E<sub>6</sub> (Figura 1). Para ATT foi verificado mínimo de 1,78% no E<sub>1</sub> e máximo de 3,29% no E<sub>6</sub>. O parâmetro pH apresentou valor mínimo de 3,44 no E<sub>5</sub> e máximo de 3,75 no E<sub>1</sub>. Para a relação SST/ATT, os frutos do murici-pitanga apresentaram o valor mínimo nos E<sub>1</sub> e E<sub>3</sub> com 3,25 e máximo no E<sub>6</sub> com 5,27.

Figura 1 – Sólidos solúveis totais - SST (°Brix), acidez total titulável - ATT (%), pH e relação SST/ATT dos frutos de murici-pitanga em diferentes estádios de maturidade (E<sub>1</sub>, E<sub>2</sub>, E<sub>3</sub>, E<sub>4</sub>, E<sub>5</sub>, E<sub>6</sub>).



## Discussão

Batista et al. (2015) estudando algumas frutas tropicais produzidas no Submédio do Vale do São Francisco, dentre elas 4 variedades de acerola na maturidade fisiológica, destacando as seguintes cultivares para os SST: os frutos da acerola cultivar Sertaneja apresentaram menor teor de SST, com 7,3°Brix e os frutos da acerola cultivar Okinawa apresentaram maior teor de SST, com 8,7°Brix, sendo assim, os valores relatados foram inferiores aos dos frutos maduros de murici-pitanga observados neste trabalho (E<sub>5</sub>-14,2°Brix). Sales e Waughon (2013) analisando frutos *in natura* do murici (*Byrsonima crassifolia* (L.) Rich) obtiveram o valor de 1,68% de ATT, sendo inferior ao obtido no murici-pitanga em estudo (1,78%). Canuto et al. (2010) estudando o pH das polpas de frutos maduros da Amazônia, dentre elas as do murici (*Byrsonima crassifolia*), obtiveram um valor de 3,7, o qual é superior ao obtido no fruto

maturedo do murici-pitanga (E<sub>4</sub>-3,48) neste estudo. Souza et al. (2014) pesquisando 3 clones de acerola para a relação SST/ATT, obtiveram os seguintes valores mínimos e máximos em quatro estádios de maturidade (I, II, III e IV): cultivar Florida Sweet (E<sub>I</sub>-7,80 e E<sub>IV</sub>-15,42), cultivar Flor Branca (E<sub>I</sub>-4,78 e E<sub>IV</sub>-6,99) e cultivar BRS 366 (E<sub>I</sub>-4,56 e E<sub>IV</sub>-5,98); portanto, os valores supracitados foram superiores aos obtidos no fruto murici-pitanga nesta pesquisa para os estádios inicial e final (E<sub>1</sub>-3,25 e E<sub>6</sub>-5,27).

### Conclusão

Concluiu-se que entre as características químicas e físico-químicas estudadas, os SST, foi o melhor indicativo na determinação do ponto de colheita ideal, pois estratificou em seis estádios de maturidade (E<sub>1</sub>-muito imaturo, E<sub>2</sub>-medianamente imaturo, E<sub>3</sub>-imaturo, E<sub>4</sub>-maturedo, E<sub>5</sub>-maduro e E<sub>6</sub>-senescente). Os frutos do murici-pitanga atingiram a maturidade fisiológica no E<sub>4</sub>, portanto, este é o ponto de colheita ideal. Tendo em vista as características químicas e físico-químicas do murici-pitanga, ele pode ser recomendado para ser explorado comercialmente pelo setor de alimentação.

### Agradecimentos

À Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP) pela concessão da Bolsa de Mestrado ao primeiro autor, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e ao Banco do Nordeste (BNB) pelo apoio financeiro ao projeto de pesquisa.

**Palavras-chave:** Maturação; acidez; pH.

### Referências

- AVIDOS, M. F. D.; FERREIRA, L. T. Frutos do Cerrado: Preservação Gera Muitos Frutos. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v, 3, n. 15, p.36-41, jul. 2003.
- BATISTA, P. F.; LIMA, M. A. C.; TRINDADE, D. C. G.; ALVES, R. E. Quality of different tropical fruit cultivars produced in the Lower Basin of the São Francisco Valley. **Revista Ciência Agronômica**, v. 46, n. 1, p. 176-184, jan./mar. 2015.
- CANUTO, G. A. B.; XAVIER, A. A. O.; NEVES, L. C.; BENASSI, M. T. Caracterização físico-química de polpas de frutos da Amazônia e sua correlação com a atividade anti-radical livre. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 4, p. 1196-1205, dez. 2010.
- GOTTLIEB, O. R.; BORIN, M. R. M. B. **Em Farmacognosia: da planta ao medicamento**. SIMÕES, C. M. O. (Org.) 3. ed. Porto Alegre: UFRGS, 2001.
- LUCENA, E. M. P. de. **Desenvolvimento e maturidade fisiológica de manga "Tommy Atkins" no Vale do São Francisco**. 2006. 152 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal do Ceará, 2006.
- SALES, A; WAUGHON T. G. M. Influência do processamento no teor de compostos bioativos em frutos de murici e cajá. **Revista Agrarian**, v.6, n.19, p.7-15, jan./mar. 2013.
- SOUZA, K. O. de; MOURA, C. F. H.; BRITO, E. S. de; MIRANDA, M. R. A. de. Antioxidant compounds and total antioxidant activity in fruits of acerola from cv. Flor Branca, Florida Sweet and BRS 366. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. 2, jun. 2014.



# I SIMPÓSIO NORDESTINO DE RECURSOS NATURAIS E POTENCIALIDADES TERAPÊUTICAS

De 17 a 19 de junho de 2015 - Auditório do CTT/UFPI Teresina - PI

## Estudo da ação leishmanicida do nanocompósito constituído por nanopartículas de prata e quitosana sobre formas promastigotas de *Leishmania amazonensis*

### Study of the leishmanicidal action of the nanocomposite consisting of silver nanoparticles and chitosan on promastigotes of *Leishmania amazonensis*

Lucas Moreira Brito<sup>1</sup>, Lourdes Cristina da Silva Lopes<sup>2</sup>, Michel Muálem de Moraes Alves<sup>1</sup>, Adriana Cunha Souza<sup>1</sup>, Thaynara Parente de Carvalho<sup>1</sup>, Fernando Aécio de Amorim Carvalho<sup>1</sup>, José Roberto de Souza de Almeida Leite<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Núcleo de Pesquisas em Plantas Mediciniais, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, Brasil

<sup>2</sup> Departamento de Química, Centro de Ciências da Natureza, Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, Brasil

<sup>3</sup> Núcleo de Pesquisa de Biodiversidade e Biotecnologia, Universidade Federal do Piauí, Parnaíba-PI, Brasil, [jrsaleite@gmail.com](mailto:jrsaleite@gmail.com)

#### Introdução

As leishmanioses são enfermidades causadas por protozoários do gênero *Leishmania* e encontradas principalmente em regiões tropicais e subtropicais do mundo, sendo endêmicas em 88 países e ameaçando 350 milhões de pessoas. Embora o tratamento com antimoniais pentavalentes, na maioria das vezes, seja indicado e efetivo, as taxas de cura variam de 60 a 100% (NOGUEIRA e SAMPAIO, 2001; MAYRINK et al., 2006). A necessidade de identificar novos compostos leishmanicidas mais eficazes e menos tóxicos em relação às drogas convencionais tem motivado pesquisas de novos compostos de origem natural, dentre os quais se destaca a quitosana, um polímero derivado do processo de desacetilação da quitina e tido como o segundo polissacarídeo mais abundante na natureza, atrás apenas da celulose. Devido as suas características atóxicas e de fácil formação de géis, a quitosana é um composto de interesse industrial e especialmente de uso farmacêutico (DESBRIÈRES et al., 2000). A busca por novos agentes antimicrobianos vem aumentando o número de estudos que utilizam materiais bioativos em escala nanométrica. Nanopartículas de prata são amplamente empregadas por possuírem propriedades físicas, químicas e biológicas singulares, dentre estas se destaca a ação bactericida, biocompatibilidade elevada e baixa toxicidade em células animais (HAILE et al., 2010). Neste contexto, o trabalho em questão objetivou investigar a atividade antileishmania *in vitro* da Quit e das AgNPs-Quit sobre formas promastigotas de *Leishmania amazonensis*, bem como determinar a citotoxicidade *in vitro* sobre macrófagos peritoneais murinos.

#### Metodologia

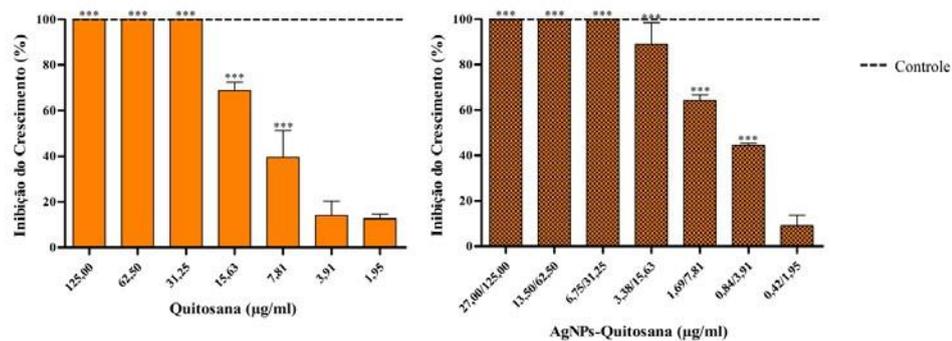
Os ensaios foram realizados em triplicata, com promastigotas cultivadas a 26°C em meio Schneider's suplementado com 10% de soro fetal bovino e antibióticos. Quando em fase logarítmica de

crescimento, as mesmas foram colocadas em placa de 96 poços na qual sete concentrações das soluções (125 a 1,95  $\mu\text{g mL}^{-1}$  para Quit e 27/125 a 0,42/1,95  $\mu\text{g mL}^{-1}$  para AgNPs-Quit) foram adicionadas e incubadas por 24 h. Após o período de incubação, foram adicionados 20  $\mu\text{L}$  da solução de resazurina ( $1 \times 10^{-3} \text{ Mol L}^{-1}$ ) e incubou-se novamente a placa por 12 h. Ao término deste intervalo, realizou-se a leitura a 550 nm em leitor de placas específico. Os resultados obtidos foram expressos em termos de inibição do crescimento (%). Para os ensaios de citotoxicidade, em placas de 96 poços, foram adicionados 100  $\mu\text{L}$  de meio RPMI 1640 suplementado e cerca de  $2 \times 10^5$  macrófagos/poço. Tais células foram incubadas a  $37^\circ\text{C}$  e 5% de  $\text{CO}_2$  por 4 h, para adesão celular. Passado este tempo, foram feitas duas lavagens com o meio para a retirada das células que não aderiram, seguidas da adição de 100  $\mu\text{L}$  de meio juntamente com as soluções diluídas nas concentrações já citadas. Ao final de 48 h de incubação, o conteúdo foi desprezado, adicionando-se 90  $\mu\text{L}$  de meio RPMI suplementado com 10  $\mu\text{L}$  de MTT diluído em PBS ( $5 \text{ mg mL}^{-1}$ ). A placa foi novamente incubada em estufa a  $37^\circ\text{C}$  e 5% de  $\text{CO}_2$  por 4 h, sendo o sobrenadante descartado e adicionando-se 100  $\mu\text{L}$  de DMSO em todos os poços. Por fim, a placa foi colocada em agitador por 30 minutos, para dissolução completa do formazan, sendo a leitura realizada a 550 nm. Todos os experimentos desenvolvidos neste estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação com Animais da UFPI (CEEA/UFPI N° 008/2012).

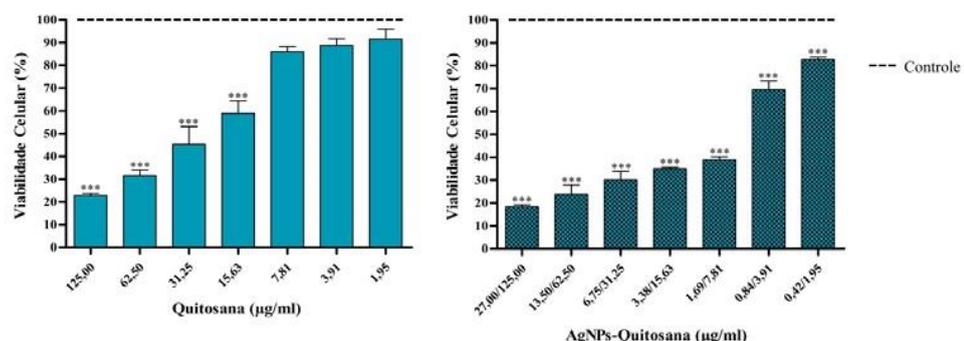
## Resultados

Os perfis inibitórios *in vitro* para Quit e AgNPs-Quit contra promastigotas de *L. amazonensis* estão reunidos na Figura 1. Os resultados de citotoxicidade da Quit e das AgNPs-Quit sobre macrófagos estão apresentados na Figura 2 e na Tabela 1 encontram-se os resultados da  $\text{IC}_{50}$ ,  $\text{CC}_{50}$  e do Índice de Seletividade calculado a partir dos resultados obtidos.

**Figura 1** - Efeito de diferentes concentrações de Quit e AgNPs-Quit sobre promastigotas de *L. amazonensis*



**Figura 2** - Efeito da Quit e das AgNPs-Quit sobre a viabilidade de macrófagos peritoneais murinos



**Tabela 1** – Concentrações citotóxicas médias (CC<sub>50</sub>) da Quit e das AgNPs-Quit sobre macrófagos peritoneais murinos em 48 horas de exposição

Amostra	IC <sub>50</sub> (µg mL <sup>-1</sup> )	CC <sub>50</sub> (µg mL <sup>-1</sup> )	Índice de Seletividade
Quit	2,120 ±0,238	29,299 ± 8,156	13,82
AgNPs-Quit	AgNPs	0,422 ±0,046	2,042 ± 0,632
	Quit	1,959 ±0,211	9,451 ± 2,928

## Discussão

Analisando-se os perfis inibitórios, pôde-se verificar que a Quit causou 100% de inibição nas concentrações de 125, 62,5 e 31,25 µg mL<sup>-1</sup> sem ter um aumento da inibição nas concentrações restantes quando comparada às AgNPs-Quit, enquanto estas foram mais eficazes e promoveram 100% de inibição nas concentrações de 27/125, 13,5/62,5 e 6,75/31,25 µg mL<sup>-1</sup>, apresentando maior inibição nas demais concentrações comparativamente à Quit. Apresentando IC<sub>50</sub> de 2,12 µg mL<sup>-1</sup> para Quit e de 0,42/1,96 µg mL<sup>-1</sup> para AgNPs-Quit. A Quit, por sua vez, diminuiu a viabilidade dos macrófagos de forma significativa nas concentrações de 125 a 15,63 µg mL<sup>-1</sup>, tendo uma CC<sub>50</sub> de 29,3 µg mL<sup>-1</sup> enquanto AgNPs-Quit apresentaram-se mais citotóxicas demonstrando que em todas as concentrações avaliadas houve uma citotoxicidade significativa em relação ao controle, gerando um CC<sub>50</sub> de 2,04/9,45 µg mL<sup>-1</sup>.

## Conclusão

Os resultados de atividade antileishmaniana para Quit e AgNPs-Quit mostraram que ambos os materiais apresentaram ação leishmanicida com efeito significativo sobre os parasitos em todas as concentrações estudadas. Todavia, AgNPs-Quit foram mais citotóxicas quando comparadas ao polímero o que reforça a possível aplicação de preparações contendo quitosana na terapêutica das leishmanioses.

**Palavras-chave:** *L. amazonensis*, quitosana, nanopartículas de prata, atividade leishmanicida.

## Referências

- HAILE, T. et al. Mechanistic study of the bactericidal action of silver-loaded chabasite on *Acidithiobacillus thiooxidans*. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 127, n. 1, p. 32-40, 2010.
- MAYRINK, W. et al. Immunotherapy, immunochemotherapy and chemotherapy for American cutaneous leishmaniasis treatment. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 39, n. 1, p. 14-21, 2006.
- NOGUEIRA, L. S. C.; SAMPAIO, R. N. R. Estudo hospitalar da leishmaniose tegumentar americana (LTA): epidemiologia e tratamento. Case series study of mucocutaneous leishmaniasis (MCL): epidemiology and treatment. **An Bras Dermatol**, v. 76, n. 1, p. 51-62, 2001.
- SIGNINI, R.; DESBRIÈRES, J.; CAMPANA FILHO, S. P. On the stiffness of chitosan hydrochloride in acid-free aqueous solutions. **Carbohydrate polymers**, v. 43, n. 4, p. 351-357, 2000.



**Extrato etanólico, fração diclorometano e seu componente principal (ácido betulínico) da casca do caule de *Mimosa caesalpinifolia* na ação antileishmania**

**Ethanol extract, dichloromethane fraction and its major component (betulinic acid) from the stem bark of *Mimosa caesalpinifolia* in antileishman action**

Thaynara Parente de CARVALHO<sup>1</sup>, Lucas Moreira BRITO<sup>1</sup>, Nayana Bruna Nery MONÇÃO<sup>2</sup>, Adriana Cunha SOUZA<sup>1</sup>, Michel Muálem de Moraes ALVES<sup>1</sup>, Antônia Maria das Graças Lopes CITÓ<sup>2</sup>,  
Fernando Aécio de Amorim CARVALHO<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Núcleo de Pesquisas em Plantas Medicinais, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, Brasil [famorim@ufpi.edu.br](mailto:famorim@ufpi.edu.br)

<sup>2</sup>Departamento de Química, Centro de Ciências da Natureza, Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, Brasil

### Introdução

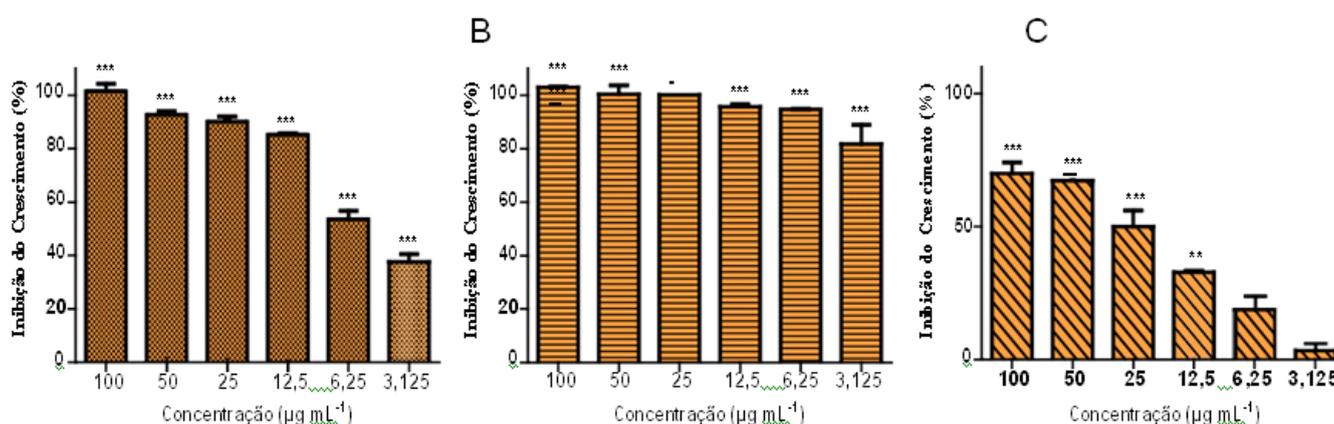
Leishmaniose compreende um complexo de doenças parasitárias causadas por mais de 20 espécies de protozoários do gênero *Leishmania*, Família Trypanosomatidae, que afetam aproximadamente 12 milhões pessoas em 88 países em todo o mundo (FEASEY et al., 2010; SHUKLA et al, 2011; WHO, 2014). As manifestações clínicas são diversas e pode variar a partir de lesões cutâneas ulcerativas a forma visceral, que é a forma mais grave de leishmaniose e está associada com infecção generalizada e alta mortalidade (DAVID E CRAFT, 2009; ABEBE et al., 2012). A quimioterapia atualmente disponível para o tratamento da leishmaniose está longe de ser satisfatória. O tratamento de primeira escolha foi introduzido em 1945 e ainda é baseado em antimoniais pentavalentes ( $Sb^V$ ), antimoniato de meglumina (Glucantime®) e estibogluconato de sódio (Pentostam®). Os medicamentos de segunda linha anfotericina B, pentamidina e paromomicina são utilizados em casos de resistência aos antimoniais. No entanto, essas drogas têm importante limitações, incluindo efeitos tóxicos colaterais, alto custo, e a necessidade de tratamento prolongado (CROFT E COOMBS, 2003). Dado estas limitações, existe uma necessidade urgente para a descoberta de novas terapias contra a leishmaniose. As plantas e os extratos vegetais foram e continuam sendo de grande relevância na área farmacêutica, tendo em vista a utilização das substâncias ativas isoladas como protótipos para a obtenção de fármacos, de adjuvantes, ou ainda, de medicamentos elaborados exclusivamente a base de extratos vegetais. A espécie *Mimosa caesalpinifolia* pertence à família Leguminosae subfamília Mimosoideae (ou família Mimosaceae), uma planta arbórea que ocorre naturalmente na caatinga e no cerrado nordestino brasileiro, sendo conhecida popularmente por sansão-do-campo, unha-de-gato ou sabiá (LORENZI, 1992). O uso medicinal dessa espécie consiste na utilização da casca da planta para o estancamento de sangramentos e lavagem de feridas para a prevenção de inflamação, além da ingestão da infusão da casca no tratamento de bronquites (CARVALHO, 2007), sendo necessário pesquisar ações farmacológicas sobre outras áreas da farmacologia, como por exemplo ação antileishmania.

## Metodologia

Promastigotas de *Leishmania amazonensis*, em fase logarítmica de crescimento, foram cultivadas em placas de cultivo celular de 96 poços contendo meio Schneider's suplementado, em que seis concentrações seriadas do extrato etanólico (EtOH), fração diclorometano (F. DCM) e ácido betulínico ( $100 - 3,125 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) foram adicionadas em triplicata, juntamente com o controle e incubadas por 48h a  $26^\circ\text{C}$  em estufa de demanda biológica de oxigênio (B.O.D.). Restando 6h para o final da incubação,  $20 \mu\text{L}$  da solução de azul de metileno  $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  foram adicionados e as placas voltaram a ser incubadas. A leitura das placas foi feita em leitor próprio operando em 550 nm e os resultados expressos em termos de inibição do crescimento (%).

## Resultados

**Figura 1** – Efeito do (A) EtOH, (B) F. DCM e (C) ácido betulínico sobre promastigotas de *Leishmania amazonensis*.



Efeito do (A) EtOH, (B) F. DCM e (C) ácido betulínico sobre formas promastigotas de *Leishmania amazonenses*. Os gráficos representam a média  $\pm$  erro padrão da média de três experimentos independentes, considerando o controle como 100% de inibição do crescimento. Foi realizado one-way ANOVA para comparar a inibição observada na presença de diferentes concentrações, sendo  $***p < 0,0001$ .

**Tabela 1** – Valores de  $\text{CI}_{50}$  das substâncias em estudo após 48h de incubação.

Amostra	$\text{CI}_{50}$ ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )
EtOH	4,63
F. DCM	0,38
Ácido Betulínico	29,63

Valores em média  $\pm$  erro padrão,  $***p < 0,0001$ .

## Discussão

Comparando os perfis de inibição do crescimento para extrato etanólico (EtOH), fração diclorometano (F. DCM) e ácido betulínico, após 48h, verificou-se que tanto o EtOH e a F. DCM promoveram 100% de inibição na concentração de  $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ , enquanto o ácido betulínico mostrou-se

menos eficaz comparado com o EtOH e a F. DCM, havendo inibição cerca de 70% na maior concentração testada (de 100 µg mL<sup>-1</sup>). O efeito exacerbado da inibição do crescimento tanto do extrato quanto da fração testada pode ser explicado pela ação de um conjunto de metabólitos secundários que possa está compondo estas soluções, já que o ácido betulínico é uma molécula isolada. Entretanto, a fração diclorometano apresentou uma melhor ação leishmanicida que o extrato etanólico e o ácido betulínico, com IC<sub>50</sub> de 0,38 µg mL<sup>-1</sup>, 4,63 µg mL<sup>-1</sup> e 29,63 µg mL<sup>-1</sup>, respectivamente.

### Conclusão

O extrato etanólico e fração diclorometano mostraram-se promissoras no combate às formas promastigotas de *Leishmania amazonensis*. Vale ressaltar que a ação do ácido betulínico, o componente principal da fração diclorometano, teve um comportamento positivo considerável sobre as promastigotas em questão.

**Palavras-chave:** Antileishmania; *Mimosa caesalpinifolia*; *Leishmania amazonensis*.

### Referências

- Abebe, T., Hailu, A., Woldeyes, M., Mekonen, W., Bilcha, K., Cloke, T., Fry, L., Seich, A.I., Basatena, N.K., Corware, K., Modolell, M., Munder, M., Tacchini-Cottier, F., Müller, I., Kropf, P., Local increase of arginase activity in lesions of patients with cutaneous leishmaniasis in Ethiopia. **PLoS Neglected Tropical Diseases** 6, e1684. 2012.
- Carvalho, P.E.R. Sabiá, *Mimosa caesalpinifolia*. In: **Circular Técnica 135 da Embrapa**: 1-7. 2007.
- Croft, S.L., Coombs, G.H., Leishmaniasis— current chemotherapy and recent advances in the search for novel drugs. **Trends in Parasitology** 19, 502–508. 2003.
- David, C.V., Craft, N. Cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. **Dermatologic Therapy**, 22, 491– 502. 2009.
- Feasey, N., Wansbrough-Jones, M., Mabey, D.C.W., Solomon, A.W. Neglected tropical diseases. **British Medical Bulletin** 93, 179–200. 2010.
- Lorenzi, H. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. **Nova Odessa: Plantarum**, 1992.
- Shukla, A.K., Patra, S., Dubey, V.K., Deciphering molecular mechanism underlying antileishmania activity of *Nyctanthes arbor-tristis*, an Indian medicinal plant. **Journal of Ethnopharmacology** 134, 996–998. 2011.
- WHO2014. Leishmaniasis. Available at: (<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs375/en/>). (accessed 20.08.14.).



**Efeito vasorrelaxante das frações de *Sida santaremnensis* em anéis de artéria mesentérica superior isolada e pré-contraídos com KCl 80 mM**

**Vasorelaxant effect of fractions of *Sida santaremnensis* in the upper mesenteric artery rings isolated and pre-contracted with 80 mM KCl**

Fabiana de Moura Souza<sup>1</sup>, Pedro Simão da Silva Azevedo<sup>2</sup>, Ilmara Cecília Pinheiro da Silva Morais<sup>1</sup>, José Couras da Silva Filho<sup>4</sup>, Aníbal da Silva Cantalice<sup>2</sup>, Danielly Albuquerque da Costa<sup>3</sup>,  
Aldeídia Pereira de Oliveira<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Farmacologia - PPGF,  
ffabiana\_ms@hotmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal do Piauí, Teresina - PI, Brasil.

<sup>3</sup>Universidade Federal de Campina Grande, Cuité – PB, Brasil

<sup>4</sup>Empresa Brasileira de Serviços Hospitalares – Hospital Universitário/Universidade Federal do Piauí, Teresina – PI, Brasil

## **Introdução**

As plantas e os extratos vegetais são de grande relevância na área farmacêutica, tendo em vista a utilização das substâncias ativas isoladas como protótipos para a obtenção de fármacos, de adjuvantes, ou ainda, de medicamentos elaborados exclusivamente a base de extratos vegetais. (NGUELEFACK et al, 2009). Na medicina popular o uso das plantas no tratamento das mais diversas patologias é ampla, e inclui espécies do gênero *Sida*, que são utilizadas no tratamento da hipertensão arterial (NOUMI et al, 1999). A espécie *S. santaremnensis*, conhecida como “guanxuma” ou “vassoura”, pertence à família *Malvaceae* (PEIXOTO et al, 2007), pesquisas anteriores mostram que o extrato etanólico das partes aéreas da *S. santaremnensis* promove efeito vasorrelaxante dependente de fatores endoteliais em artéria mesentérica de ratos (ARCANJO et al, 2011). O fracionamento dos extratos de plantas é um importante passo para a obtenção de compostos bioativos isolados, assim o extrato etanólico da espécie *S. santaremnensis* foi particionado em solventes de ordem crescente de polaridade, sendo obtidas as seguintes frações: Diclorometânica (Ssan-Dcm), Hidroalcoólica (Ssan-HA) e Acetato de etila (Ssan-EtOH:H<sub>2</sub>O).

## **Objetivo**

Este estudo como objetivo avaliar o efeito das frações Ssan-Dcm, Ssan-HA e Ssan-EtOH:H<sub>2</sub>O sobre contrações induzidas por KCl 80 mM em anéis de artérias mesentéricas superiores isoladas de ratos normotensos.

## **Metodologia**

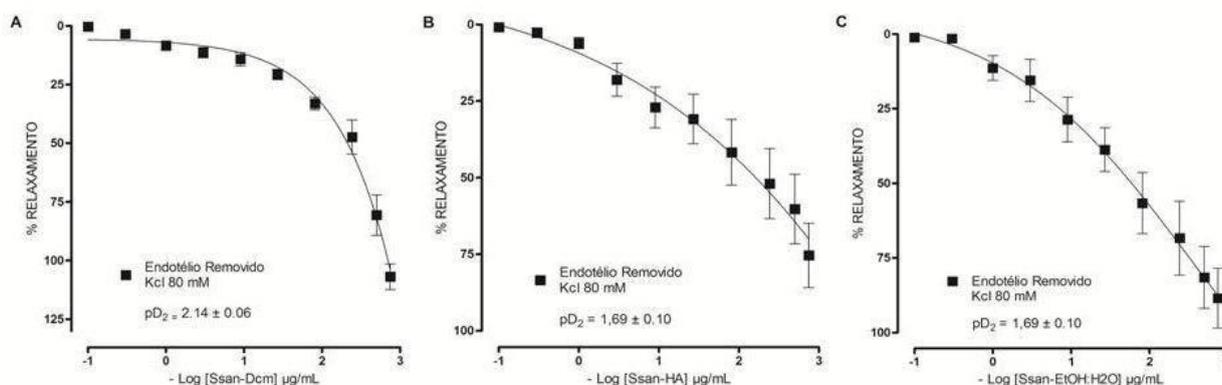
Utilizou-se ratos Wistar (250 - 300 g - 12 semanas/CEEA/UFPI N° 008/2012). Após eutanásia, a artéria mesentérica foi dissecada, limpa de tecido conectivo e adiposo e seccionada em anéis (2 – 4 mm), estes foram suspensos por linha de algodão e fixadas em hastes de aço inoxidável imersos em cubas para

órgãos isolados contendo 6 mL de solução de Tyrode a 37°C, gaseificada com uma mistura carbogênica (5% de CO<sub>2</sub> e 95% de O<sub>2</sub>), sob tensão de 0,75 g/f por 1 hora de estabilização. Os registros de tensão isométrica foram obtidos através de um transdutor de força acoplado a um sistema de aquisição de dados (AECAD 2.08 AVS-PROJETOS-SP). A integridade do endotélio foi verificada através da adição de acetilcolina (10<sup>-5</sup> M) em anéis pré-contraídos por fenilefrina (10<sup>-5</sup> M). Considerou-se com endotélio anéis com relaxamento superior a 70% e sem endotélio relaxamento inferior a 10% (SILVA-FILHO et al., 2012). Em seguida os anéis sem endotélio vascular foram pré- contraídos com uma solução despolarizante de KCl 80 mM, em seguida foram adicionadas concentrações cumulativas das frações Ssan-Dcm, Ssan-HA ou Ssan-EtOH:H<sub>2</sub>O (0,1 a 750 µg/mL) de maneira isolada, na fase tônica das contrações para obtenção de uma curva concentração- resposta.

## Resultados

Neste estudo observou-se que as frações; Ssan-Dcm, Ssan-HA e Ssan-EtOH:H<sub>2</sub>O induziram um efeito vasorrelaxante em anéis de artéria mesentérica superior isoladas de ratos normotensos pré- contraídos com KCl 80 mM na ausência do endotélio vascular apresentando pD<sub>2</sub>=214 ± 0,06, pD<sub>2</sub>= 1,69 ± 0,10 e pD<sub>2</sub> = 1,69 ± 0,10, respectivamente (Figura 1). Observou-se também que a fração Ssan-Dcm apresentou maior porcentagem de relaxamento.

Figura 1 – Efeito vasorrelaxante das frações A: Fração Diclorometano (Ssan-Dcm), B: Hidroalcoólica (Ssan-HA) e C: Acetato de etila (Ssan-EtOH:H<sub>2</sub>O) de *S. santeremnsis* em anéis de artéria mesentérica superior isolados de ratos normotensos e pré-contraídas com KCl 80 mM. Valores expressos como Média ± e.p.m, n=5.



## Discussão

Os mecanismos responsáveis pela contração do músculo liso vascular estão divididos em duas classes: acoplamento eletromecânico (contração dependente das mudanças no potencial de membrana celular) e farmacomecânico (contração induzida por agonista de receptores acoplado a proteína-G) (ZHU et al, 2007; SOMLYO, 1994). O principal estímulo para que ocorra a contração do músculo liso é o aumento das concentrações de cálcio (Ca<sup>2+</sup>) citosólico, o influxo de Ca<sup>2+</sup> ocorre através de dois tipos de canais para Ca<sup>2+</sup> transmembrana: canais de cálcio operados por receptor (ROCC's) e canais de Ca<sup>2+</sup> operados por voltagem (Cav) (JONES et al, 2003). Neste estudo observou-se que Ssan-Dcm, Ssan-AcOEt e Ssan-EtOH:H<sub>2</sub>O promoveram efeito vasorrelaxante sobre as contrações induzidas por KCl 80 mM, nesta concentração de potássio externo ocorre uma despolarização da membrana plasmática e leva ao aumento

do influxo de  $\text{Ca}^{2+}$  extracelular através de canais para cálcio dependentes de voltagem gerando uma contração. Mostrando assim que existe uma via de sinalização celular associada ao mecanismo eletromecânico, no efeito vasorrelaxante dessas frações, e que dentre todas as frações estudadas a Ssa-DCM promoveu um maior efeito vasorrelaxante.

### Conclusão

As frações Ssan-Dcm, Ssan-HA e Ssan-EtOH:H<sub>2</sub>O promovem efeito vasorrelaxante em anéis de artéria mesentérica pré-contraídos com KCl 80 mM, sugerindo uma ação das frações sobre o influxo de cálcio através da membrana.

**Palavras-chave:** *Sida santerimenenses*; artéria mesentérica, vasorrelaxamento

**Suporte Financeiro:** UFPI/CNPq/CAPES/FAPEPI

### Referências

- ARCANJO, D. D. R. et al. Vasorelaxant response induced by *Sida santaremnensis* H. Monteiro ethanol extract on rat superior mesenteric artery. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, p. 14587-14597, 2011.
- JONES, R.D. et al. The vasodilatory action of testosterone: a potassium-channel opening or a calcium antagonist action? **British Journal of Pharmacology**, v. 138, p.733–744, 2003.
- NGUELEFACK, T.B. et al. Phytopharmacology of somemedicinal plants used in cameroonian traditional medicine to handle cardiovascular diseases. **Recent Developments in Medicinal Plant Research**, p. 147-167, 2007.
- NOUMI, E.; HOUNGUE, F.; LONTSI, D. Traditional medicines in primary health care: plants used for the treatment of hypertension in Bafia, Cameroon. **Fitoterapia**. v. 70, p. 134-139, 1999.
- PAIVA, T. B.; FARIAS, N. C. Mecanismos da contração do músculo liso vascular. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v.12, p. 89 - 92, 2005.
- PEIXOTO, A. M. **Enciclopédia Agrícola Brasileira: S-Z**. Esalq - Escola Superior De Agricultura Luiz De Queiroz, USP. EdUSP, 2007.
- SILVA-FILHO, J.C; OLIVEIRA, N.N.P.M; ARCANJO, D.D.R; QUINTANS-JUNIOR, L.R; CAVALCANTI, S.C.H; SANTOS, M.R.V; OLIVEIRA, R.C.M; OLIVEIRA, A.P. Investigation of Mechanisms Involved in ())-Borneol-Induced Vasorelaxant Response on Rat Thoracic Aorta. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 784, p. 1742-7843, 2012.
- SOMLYO, A.P.; SOMLYO, A.V. Signal transduction and regulation in smooth muscle. **Nature**. v. 372, p. 231–236, 1994.
- ZHU, X. M. et al. Endothelium-dependent and –independent relaxation induced by pinocembrin in rat aortic rings. **Vascular Pharmacology**, v. 46, n. 1, p. 160–165, 2007.

# I RENAPTE



[nppmoficial.wix.com/renapte](http://nppmoficial.wix.com/renapte)



/nppmufpi



/renapte

REALIZAÇÃO:

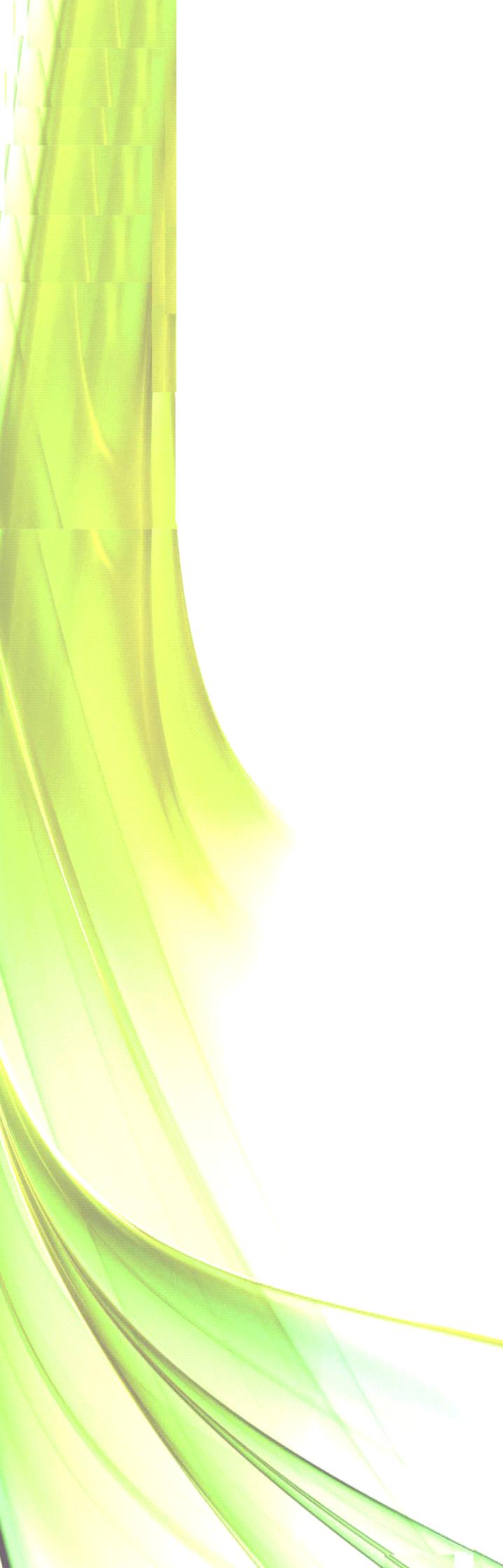


APOIO:



Ministério da  
Educação





# **EDIÇÃO**

**Editor-chefe**

Viriato Campelo

**Editores e avaliadores**

Ivisson Lucas Campos da Silva

Laís Rocha Lima

Brenna Emannuella de Carvalho