

## TESTES FITOQUÍMICOS E TOXICOLÓGICO COM *Cryptostegia madagascariensis* BOJER EX DECNE. (PERIPLOCOIDEAE, APOCYNACEAE)

Elaine Maia Barbosa (1); Francisca Jéssica Costa Tavares (1); Oriel Herrera Bonilla (4)

(1) *Mestrandas do Mestrado Acadêmico em Recursos Naturais-Universidade Estadual do Ceará*

\*elainemaia10@hotmail.com /\*jessika\_te10@hotmail.com

(4) *Professor Associado – Curso de Ciências Biológicas – Universidade Estadual do Ceará* \* oriel.herrera@uece.br

### INTRODUÇÃO

Nativa de Madagascar a planta *Cryptostegia madagascariensis* encontra-se distribuída em florestas secas, áreas agrícolas, savanas, pastagens (áreas perturbadas), geralmente próximo ao leito de rios. No Continente Africano *C. madagascariensis* tem sido utilizada para a produção de borracha e produção de redes de pesca com suas fibras (Sousa *et al.*, 2016) . Devido suas florescências rosadas, essa espécie foi possivelmente introduzida no Brasil para fins ornamentais, porém por causar diversos impactos no ecossistema natural, a espécie é considerada exótica invasora (Silva *et al.*, 2008).

Embora seja arbustiva essa espécie africana é capaz de crescer e envolver toda a copa de árvores residentes da região alcançando, como trepadeira, até 15 m de altura. Esse crescimento acelerado em plantas nativas prejudica a passagem de luz (sombreamento), ocasionando a morte das mesmas por depleção da fotossíntese, podendo ainda ser responsável por asfixia. Por conta desse sombreamento, a regeneração natural é amplamente impactada (SOUSA *et al.*, 2016).

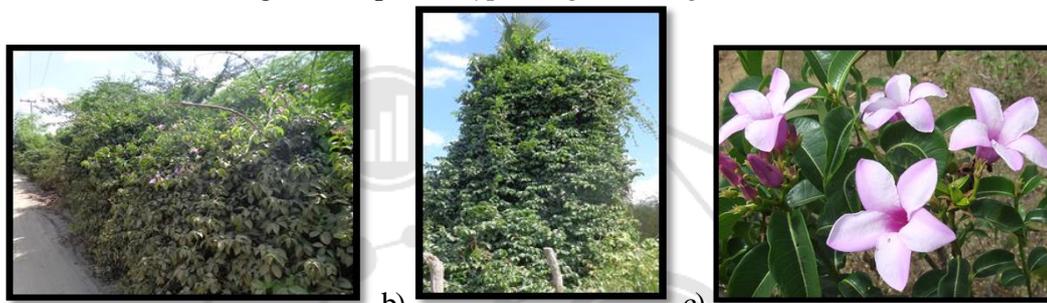
Uma das espécies residentes mais afetadas pela introdução da invasora, anteriormente citada, é a palmeira endêmica *Copernicia prunifera*, popularmente conhecida no Brasil por Carnaúba. Devido a diferentes aplicações relacionadas com todas as partes do vegetal, desde produção de cera (Oliveira *et al.*, 2014) ao uso de raízes na medicina popular, essa espécie é de grande importância para as comunidades extrativistas, servindo diretamente como fonte de renda ou complemento para milhares de famílias (Souza *et al.*, 2016).

Além dos problemas ambientais e sociais anteriormente citados o relato de intoxicação animal por essa espécie também é outro problema para a economia, uma vez que essa intoxicação causa prejuízos ao agronegócio devido a morte dos animais (BARBOSA *et al.*, 2007).

Assim, devido à carência na literatura quanto à constituição dos metabólitos

secundários produzidos por essa espécie, e sua capacidade de intoxicação em organismos, o presente trabalho buscou identificar a presença de alguns compostos no extrato etanólico de *Cryptostegia madagascariensis*, além de verificar a atividade tóxica do mesmo frente à *Artemia salina*.

#### Imagens da espécie *Cryptostegia madagascariensis*



a) tamanho natural arbustivo; b) crescimento como trepadeira nos canaúba; c) flores da espécie usadas para ornamentação. Fonte: Bonilla, 2014.

## METODOLOGIA

### Descrição da área e coleta do material

A coleta foi realizada no mês de maio de 2017, às 14:00h da tarde, na Universidade Estadual do Ceará, localizada no município de Fortaleza. As folhas de *Cryptostegia madagascariensis*, conhecida popularmente como unha-do-cão, viuvinha alegre, unha-do-diabo, foram coletadas sendo, posteriormente, devidamente armazenadas e transportadas para secagem do material em temperatura ambiente.

### Preparo do extrato etanólico e testes fitoquímicos realizados

A prospecção do material foi realizada no Laboratório de Química de Produtos Naturais – Lqpn. O material coletado foi pesado, resultando em 190g de folhas secas de *C. madagascariensis*, que foram picotadas e colocadas em recipiente de plástico, onde foi adicionado 2 litros de álcool 70%, sendo posteriormente vedado. Após 15 dias, o extrato obtido foi filtrado, com auxílio de gazes, e guardado em um recipiente com tampa.

Os testes fitoquímicos realizados com o extrato etanólico obtido da espécie foram realizados de acordo com a metodologia adotada de Matos (2009). Inicialmente tubos de ensaio foram separados e quantidades do extrato etanólico obtido das folhas da espécie africana foram fracionadas nos tubos. Os testes realizados foram direcionados para constatar a presença ou não dos seguintes grupos químicos: Fenóis e Taninos, Antocianinas, Antocianidinas e Flavonóides,

Leucoantocianidinas, Catequinas e Flavononas, Flavonóis, Flavanonas, Flavanosóis e Xantonas, Saponinas e Alcalóides.

Quanto ao teste toxicológico, o presente trabalho realizou testes com microcústáceos (*Artemia salina*), pois são frequentemente usados em ensaios de toxicidade aguda para pesquisas preliminar de atividade biológica (Merino *et al.*, 2015), além de apresentarem fácil manipulação em laboratório e baixo custo econômico. De acordo com a metodologia de Meyer *et al.* (1982), inicialmente uma solução salina foi preparada onde os ovos de *Artemia salina* foram colocados para eclodirem em 48 horas. Em seguida, 10 larvas do microcústáceo foram transferidas com auxílio de uma micropipeta para tubos de ensaios, contendo diferentes concentrações do extrato com clorofórmio. As concentrações realizadas foram de 10, 100, 1000 e 10.000 ppm.

Após 24h foi realizada a contagem dos animais vivos e mortos, onde a falta de movimento é indicativo de morte dos indivíduos (PARRA *et al.*, 2001). Para análises foi levada em consideração a concentração letal mediana - CL50 como a necessária para levar a óbito 50% da população usada como teste.

## RESULTADOS

Como resultado da presença dos grupos químicos analisados, temo a tabela a seguir, onde o sinal de positivo indicou presença dos metabólitos secundários e o sinal negativo indicou ausência dos mesmos no extrato etanólico da folha de *Cryptostegia madagascariensis*.

Testes fitoquímicos	Resultados obtidos
Fenóis	(++)
Taninos flobafênicos	(++)
Antocianinas	(--)
Antocianidinas	(--)
Flavonóides	(--)
Leucoantocianidinas	(--)
Catequinas	(--)
Flavononas	(--)
Flavonóis	(--)
Flavanonas	(--)
Flavanosóis	(--)
Xantonas	(--)
Saponinas	(--)
Alcalóides	(--)

Sobre o teste toxicológico do extrato de *C.madagascariensis* nos microcrustáceos usados, após a contagem dos vivos e dos mortos a média foi realizada apresentando como resultado final CL50 >1000 µg/mL, sendo indicativo de baixa toxicidade do extrato etanólico frente à *Artemia salina*.

#### Resultado da toxicidade frente à *Artemia salina*

Espécie	CL50 (µg/mL)
<i>Cryptostegia madagascariensis</i>	CL50 >1000 CL50 encontrado = 18,61367

## DISCUSSÃO

Em trabalhos relacionados com outras espécies da família Apocynaceae, que também são consideradas tóxicas, como *Nerium oleander*, é evidenciada a presença de diversos compostos em extratos etanólicos das folhas, como alcaloides, flavonoides, cumarinas, terpenóides e politerpenos (Sayed; Bassiony, 2016). No entanto, no presente estudo e de acordo com as técnicas usadas e grupos de compostos analisados, o extrato etanólico das folhas da *Cryptostegia madagascariensis* apresentou resultado positivo apenas para a presença de taninos flobafênicos e fenóis. onde todos os outros resultados foram classificados como negativo para os outros grupos químicos, como apresentado na tabela e nas imagens das reações observadas nos tubos a seguir.

Os taninos são considerados compostos fenólicos procedentes do metabólito secundário das plantas apresentando propriedades biológicas e farmacológicas, onde são responsáveis pela adstringência, considerados muito reativos quimicamente. Esses compostos podem ser usados no auxílio da regulação enzimática e proteica, por ser um composto facilmente oxidável apresentam atividade antioxidante, além de ação antibactericida, antifúngica, antiprotozoária, auxiliando ainda na reparação de tecidos e em patologias estomacais (BESSA *et al.*, 2013).

É presumível que os resultados negativos encontrados em relação à presença dos outros compostos analisados tenha ocorrido devido aos metabólitos secundários serem afetados quanto à quantidade e proporções relativas dos componentes em relação aos fatores ambientais, como variações cicardianas, idade e desenvolvimento da planta, temperatura, disponibilidade hídrica, estímulos mecânicos (vento, areia, pastagem de herbívoros) e ataque de patógenos (NETO; LOPES, 2007), ou pelo fato de não ocorrer de fato à presença dos compostos escolhidos para análise no

extrato das folhas dessa espécie.

Em relação à toxicidade, a mortalidade de animais que entram em contato com a planta africana pode ocorrer devido aos compostos tóxicos presentes em maiores concentrações estarem no látex produzido, uma vez que as espécies pertencentes a família Apocynaceae, embora apresentem látex com inúmeras aplicações medicinais, ambientais e agrícolas, podem promover toxicidade nos organismos, onde casos de alergia na pele e na mucosa, distúrbios cardiovasculares, respiratórios, neurológicos, gastrintestinais (Campos *et al.*, 2016) e até óbito são documentados (BARBOSA *et al.*, 2008; CORTINOVIS; CALONI, 2015).

## CONCLUSÕES

Os resultados obtidos foram diferentes do esperado, visto que apenas um dos compostos analisados foi encontrado presente no extrato etanólico de *C.madagascariensis*. Infelizmente diversos fatores podem ter causado alterações nos resultados das análises que foram realizadas, onde desde ciclos cicardianos, idade do vegetal até impurezas no material utilizado podem alterar os dados encontrados.

Assim, há necessidade de repetição dos testes realizados, além de serem realizados outros testes com os extratos de folhas e do látex dessa espécie exótica invasora, principalmente direcionada para identificação e controle de suas reações de toxicidade em organismos. Importante ressaltar, que essas pesquisas apresentam grande relevância na descoberta de novos compostos bioativos que podem ser usados a favor da sociedade, fazendo com que essa espécie invasora que causa diversos prejuízos ambientais e econômicos, também possa trazer benefícios para a sociedade.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARBOSA, R. R.; RIBEIRO, M. R. F.; SILVA, I, P.; BLANCO, B. S. Plantas tóxicas de interesse pecuário: importância e formas de estudo. **Acta Veterinaria Brasília**, v.1.n.1, p.1-7, 2007.

BARBOSA, R.R.; FONTENELE NETO, J.D.; BLANCO, B.S. Toxicity in goats caused by oleander (*Nerium oleander*). **Research in Veterinary Science**,p.279-281, 2008.

BESSA, N.G.F.;BORGES,J.C.M.;BESERRA,F.P.; CARVALHO, R.H.A.; PEREIRA,M.A.B. ;FAGUNDES,R.;CAMPOS, S.L.; RIBEIRO, L.U.; QUIRINO, M.S.; CHAGAS JUNIOR, A.F.; ALVES, A. Prospecção fitoquímica preliminar de plantas nativas do cerrado de uso popular medicinal pela comunidade rural do assentamento Vale Verde- Tocantins. **Rev.Bras.PI.Med.**,

Campinas, v.15.n.4,p-692-707, 2013.

CAMPOS, S. C.; SILVA, C. G.; CAMPANA, P. R. V.; ALMEIDA, V. L. Toxicidade de espécies vegetais. **Rev. Bras. Pl. Med**, v.18.n.1,p.373-382, 2016.

CORTINOVIS, C.; CALONI, F. Alkaloid- Containig Plants Poisonous to Cattle and Horses in Europe. **Toxins**,p.5301-5307, 2015.

MATOS, F.J.A. **Introdução à fitoquímica experimental**. 3.ed-Fortaleza.p.159.Edições UFC, 2009

MERINO, F. J. Z.; OLIVEIRA, V. B.; PAULA, C. S.; CASIAN, F. C.; SOUZA, A. M.; ZUCHETTO, M.; HIROTA, B. C. K.; DUARTE, A. F. S.; KULIK, J. D.; MIGUEL, O. G. Análise fitoquímica, potencial antioxidante e toxicidade do extrato bruto etanólico e das frações da espécie *Senecio westermanii* Dusén frente à *Artemia salina*. **Revista Brasileira Pl. Med**, v.17.n.4,p.1031-1040, 2015.

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. **Journal of Medicinal Plant Research**, v.45.p.31-34,1982.

NETO, L. G.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Quim.Nova**, v.30.n.2,p.374-381, 2007.

OLIVEIRA, G.L.S.; GOMES, J.A.L.; OLIVEIRA, R.A.M.; FREITAS, R.M. Avaliação da capacidade antioxidante *in vitro* e *in vivo* do extrato etanólico da *Copernicia prunifera* (Mill.) H.E.Moore. **Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences** 35:293-300, 2014.

PARRA, A. L.; YHEBRA, R. S.; SARDIÑAS, I. G.; BUELA, L. I. Comparative study of the assay of *Artemia salina* L. and estimate of the medium lethal dose (LD50 value) in mice, to determine oral acute toxicity of plant extracts. **Phytomedicine**, v.8.n.5,p.359-400, 2001.

SAYED, S.H.E.; BASSIONY, G.M.E. Larvicidal, biological and genotoxic effects, and temperature-toxicity relationship of some leaf extracts of *Nerium oleander* (Apocynaceae) on *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). **Journal Arthropod-Borne Dis**,p.1-11, 2016.

SILVA, J. L.; BARRETO, R. W.; PEREIRA, O. L. *Pseudocercospora cryptostegiae-madagascariensis* sp.nov.on *Cryptostegia madagascariensis*, an Exotic Vine Involved in Major Biological Invasions in Northeast Brazil. **Mycopathological**, 2008.

SOUSA, F. Q.; ANDRADE, L. A.; XAVIER, K. R. F. *Cryptostegia madagascariensis* Bojer ex Decne: impactos sobre a regeneração natural em fragmentos de caatinga. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.11.n.1,p.39-45, 2016.

SOUZA, T.A.F.; ECHEVERRIA, S.R.; ANDRADE, R.A.; FREITAS, H. Could biological invasion by *Cryptostegia madagascariensis* alter the composition of the arbuscular mycorrhizal fun gal community in semi-arid Brazil? **Acta Bot. Bras**, 2016.