



ATIVIDADE TÓXICA DO EXTRATO ETANÓLIO BRUTO DAS FOLHAS DE *Zanthoxylum rhoifolium*

Andrei dos Santos Souza¹, Jurandir Ferreira da Cruz², Vanessa Daniele Mottin³, Bruno Oliveira
Moreira⁴, Brunos Lopes Bastos⁴

1Discente do Curso de Agronomia/ UESB/ Vitória da Conquista, BA. E-mail: andrei_souza37@hotmail.com

2 Departamento de Fitotecnia e Zootecnia/UESB – Estrada do Bem Querer, Km 04, Caixa Postal 95, 45083-900, Vitória da Conquista, BA.

3Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Zootecnia/UESB – Praça Primavera, 40, Bairro Primavera, Itapetinga, CEP: 45.700-000.

4Docente do IMS/CAT/UFBA – Rua Hormindo Barros, 58, quadra 17, Lote 58, Bairro Candeias, CEP: 45.029-094.

RESUMO

O objetivo do trabalho foi determinar a toxicidade do extrato etanólico bruto das folhas de *Zanthoxylum rhoifolium*. As folhas foram coletadas em Vitória da Conquista e o extrato etanólico extraído no Laboratório de Reprodução de Caprinos e Ovinos da UESB, *campus* Vitória da Conquista. Realizou-se o ensaio de toxicidade frente ao microcrustáceo *Artemia salina*, utilizando-se seis tratamentos diferentes. O extrato demonstrou baixa atividade tóxica, com CL_{50} de $741,405 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ($R^2=0,99$), sendo o decréscimo da atividade proporcional à diminuição da concentração do extrato. O extrato etanólico bruto das folhas de *Zanthoxylum rhoifolium* coletadas em Vitória da Conquista apresenta baixa atividade tóxica perante o microcrustáceo *Artemia salina*.

Palavras-chave: mamica de porca, *Artemia salina*, concentração letal.

TOXIC ACTIVITY OF THE CRUDE ETHANOL EXTRACT OF THE *Zanthoxylum rhoifolium* LEAVES

RESUMO

The objective of this study was to determine the toxicity of the crude ethanolic extract of *Zanthoxylum rhoifolium* leaves. The leaves were collected in Vitória da Conquista, and the ethanolic extract produced in the Goats and Sheep Reproduction Laboratory of UESB *campus* Vitória da Conquista. The toxicity test against the brine shrimp *Artemia salina* was carried out using six different treatments. The extract showed low toxic activity, with LC_{50} of $741,405 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ($R^2 = 0.99$), with the decrease in activity proportional to the decrease of extract concentration. The crude ethanolic extract of *Zanthoxylum rhoifolium* leaves collected in Vitória da Conquista presents toxic activity low against brine shrimp *Artemia salina*.

Palavras-chave: nut tit, *Artemia salina*, lethal concentration.

INTRODUÇÃO

Ultimamente observa-se um crescente interesse pelo desenvolvimento de pesquisas com plantas medicinais. A ação terapêutica revelada por muitas delas desperta e motiva o desenvolvimento de pesquisas, a fim de se avaliar mais amplamente seus efeitos, tanto benéficos quanto maléficis (MOTTIN et al., 2019).

A utilização de plantas medicinais de forma efetiva e em ampla escala deve estar pautada em evidências científicas, para que seu uso seja direcionado às determinadas enfermidades, respeitando o bem-estar animal (LOLAS, 2008). *Zanthoxylum rhoifolium*, conhecida popularmente como mamica de porca, se destaca por suas ações terapêuticas variadas (PENELUC et al., 2009; HOHLEMWERGER, 2010; KRAUSE et al., 2013), devido aos vários compostos metabólitos secundários presentes em sua constituição (ARRUDA et al., 1992; ZANON, 2010; KRAUSE et al., 2013). Apesar disso, poucos são os estudos relacionados à sua toxicidade (GOMES et al., 2016; FEITOSA; OLIVEIRA, s/a).

A toxicidade de uma planta medicinal pode ser avaliada tanto *in vitro* quanto *in vivo* e, apesar dos testes em laboratórios serem de fácil execução e baixo custo, não são amplamente difundidos e realizados (MOTTIN et al., 2019). O bioensaio com o microcrustáceo *Artemia salina* é um desses testes que, além de ser útil para a descoberta de compostos fitoterápicos que podem ser utilizados em humanos e animais, também é indicado por substituir o uso de animais de laboratório (MEYER et al., 1982). O extrato etanólico bruto das folhas de *Zanthoxylum rhoifolium* é descrito como potencial para controle de verminose em pequenos ruminantes (PENELUC et al., 2009), no entanto, ensaios de toxicidade são necessários para estabelecer concentrações e doses seguras a serem administradas nos animais.

A partir disso, esse estudo objetivou testar a toxicidade do extrato etanólico bruto das folhas de *Zanthoxylum rhoifolium* frente ao microcrustáceo *Artemia salina*, a fim de se estabelecer a CL₅₀.

MATERIAIS E MÉTODOS

As folhas das plantas foram coletadas entre os meses de agosto e novembro de 2017, em Vitória da Conquista, Bahia. Foram encaminhadas ao Laboratório de Reprodução de Caprinos e Ovinos da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, *campus* Vitória da Conquista, onde passaram pelas etapas de secagem em estufa com circulação de ar à 40°C, trituração em moinho de facas, pesagem e extração por exaustão. O líquido resultante da extração foi concentrado em rotaevaporador à 40°C no Laboratório de Fisiologia Animal localizado na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, *campus* Itapetinga.

Para o ensaio com *Artemia salina*, o extrato foi diluído em água marinha artificial: dimetilsulfóxido (DMSO) (0,5%) para o preparo de seis concentrações diferentes, sendo a última considerada o controle negativo (Tab. 1). A leitura foi realizada após 24 horas de incubação dos tubos em estufa com luminosidade direta. Foi observado o número de náuplios mortos e determinada a CL₅₀ por meio de análise de regressão de Probit. Os ensaios foram realizados em triplicata.

Tabela 1. Quantidades de solução mãe de extrato, água marinha artificial e água marinha artificial com os náuplios em cada tubo

	Concentração extrato					
	2.000 ug/ml	1.000 ug/ml	500 ug/ml	250 ug/ml	125 ug/ml	0 ug/ml
Solução mãe extrato (4.000 ug/mL)	1,0 mL	0,5 mL	0,25 mL	0,125 mL	0,075 mL	0,0 mL
H ₂ O marinha artificial	0,0 mL	0,5 mL	0,25 mL	0,875 mL	0,925 mL	1,0 mL
10 náuplios de <i>Artemia salina</i> com água marinha artificial	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O extrato etanólico bruto das folhas de *Zanthoxylum rhoifolium* demonstrou CL₅₀ de 741,405 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (Fig. 1). Foi observado decréscimo da atividade tóxica de acordo à diminuição da concentração do extrato (Tab. 2).

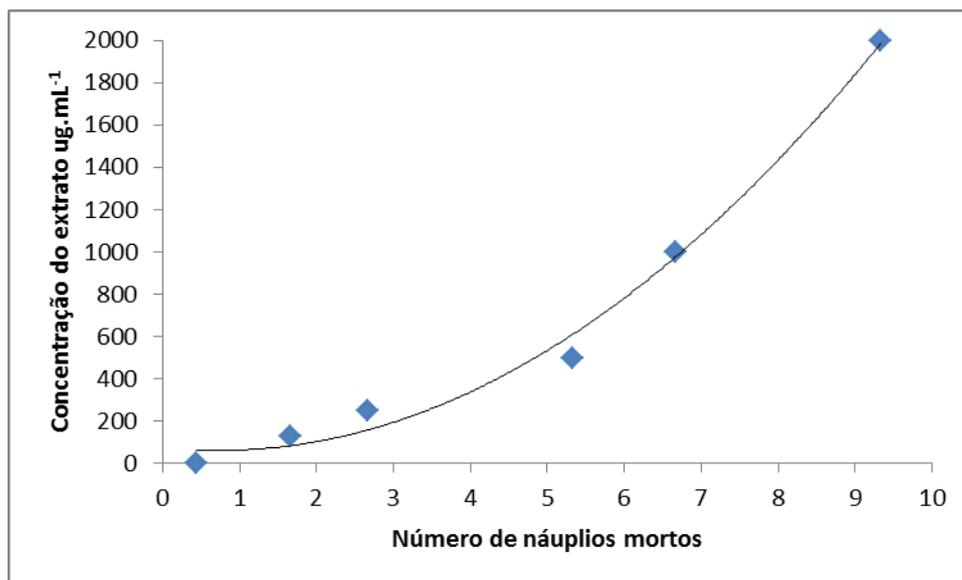


Figura 1. Curva de regressão polinomial da atividade tóxica de *Zanthoxylum rhoifolium* frente à *Artemia salina*.

Conforme escala proposta por Meyer et al. (1982), a toxicidade de uma planta pode ser classificada de acordo à CL_{50} encontrada: $CL_{50} < 500 \mu\text{g.mL}^{-1}$ indica alta atividade tóxica; CL_{50} entre 500 e $1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$ indica baixa atividade tóxica; $CL_{50} > 1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$ indica ausência de toxicidade.

Nesse estudo, a CL_{50} encontrada classifica o extrato como “de baixa atividade tóxica”, de acordo com Meyer et al. (1982). Resultado semelhante foi encontrado por Gomes et al. (2016), no entanto, esse autor indica atenção quanto ao uso de extratos desta espécie vegetal pois, mesmo sendo baixa, ainda há atividade tóxica. Apesar disso, Feitosa e Oliveira (s/a) encontraram valores muito inferiores e classificaram o extrato da planta como altamente tóxica

Tabela 2. Mortalidade (%) de náuplios de *Artemia salina* após exposição a diferentes concentrações do extrato de *Zanthoxylum rhoifolium*.

	Mortalidade						LC_{50} $\mu\text{g.mL}^{-1}$
	2.000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (%)	1.000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (%)	500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (%)	250 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (%)	125 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (%)	0 (CN) $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (%)	
Extrato bruto	93,33	66,66	53,33	26,66	16,66	4,44	741,405

É de conhecimento amplo que as condições edafoclimáticas exercem influência sobre a produção dos metabólitos secundários das plantas (COELHO et al., 2013). A partir disso, extratos de plantas cultivadas em locais variados apresentam metabólitos secundários diferentes, ou esses em concentrações diferentes, justificando atividades destoantes.

Dessa forma, os ensaios de toxicidade são essenciais para avaliação de extratos vegetais antes da realização de testes de atividades biológicas e terapêuticas *in vivo*, como forma de assegurar a saúde dos animais.

O extrato etanólico bruto das folhas de *Zanthoxylum rhoifolium* apresentou baixa atividade tóxica perante o microcrustáceo *Artemia salina*, no entanto, os componentes químicos das plantas podem variar em função da região de cultivo/coleta e os resultados podem ser diferentes.

CONCLUSÕES

O extrato etanólico bruto das folhas de *Zanthoxylum rhoifolium* coletadas em Vitória da Conquista apresenta baixa atividade tóxica perante o microcrustáceo *Artemia salina*.

REFERÊNCIAS

- ARRUDA, M. S. P.; FERNANDES, J. B.; VIEIRA, P. C.; SILVA, M. F. G. F.; PIRANI, J. R. Chemistry of *Zanthoxylum rhoifolium*: A new secofuroquinoline alkaloid. *Biochemical Systematics and Ecology*, v. 20, n. 2, p. 173-178, 1992.
- COÊLHO, MM.D.G.; SILVA, V.A.R.; GOKITHI AKISU, J.R.P.; COÊLLO, F.A.S. FURTADO, F.N. Avaliação *in vitro* do potencial acaricida do óleo essencial de *Tagetes minuta* frente a *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887). *Revista Biociências*, v. 19, n. 1, p. 104-110, 2013.
- FEITOSA, T.P.; OLIVEIRA, E.C.A. Avaliação do potencial citotóxico e genotóxico do extrato etanólico da folha de *Zanthoxylum rhoifolium* Lam. Ministério da Educação e Cultura – MEC. Universidade Federal do Piauí – UFPI. Pró-reitoria de pesquisa e pós-graduação, s/a.
- GOMES, J.V.D.; FAITANIN, R.D.; BRASILEIRO, B.G.; SILVEIRA, D.; JAMAL, C.M. Triagem fitoquímica e avaliação das atividades trombolítica e citotóxica de *Cecropia hololeuca* Miq. (*Urticaceae*), *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. ex P. Wilson (*Verbenaceae*) e *Zanthoxylum rhoifolium* Lam (*Rutaceae*). *Infarma: Ciências Farmacêuticas*, v.28, p.10-15, 2016.
- HOHLEMWERTGER, S.V.A. Metabólitos e atividades biológicas de espécies de *Zanthoxylum* da Bahia. 246f. Tese (Doutorado em química) – Instituto de química, Universidade Federal da Bahia.
- KRAUSE, M. S.; BONETTI, A. D. F.; TURNES, J. D. M.; DIAS, J. D. F. G.; MIGUEL, O. G.; DUARTE, M. D. R. Phytochemistry and biological activities of *Zanthoxylum rhoifolium* Lam., *Rutaceae* - Mini review. *Visão Acadêmica*, Curitiba, v.14, n.4, 2013.
- LOLAS, F. Bioethics and animal research. A personal perspective and a note on the contribution of Fritz Jahr. *Biological Research*, v.41, n.1, p.119-123, 2008.
- MEYER, B. N., FERRIGNI, N. R., PUTNAN, J. E., JACOBSEN, L. B., NICHOLS, D. E., MCL. AUGHLIN, J. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Journal of Medicinal Plants Research*, v.45, n.1, p. 31-34, 1982.
- MOTTIN, V.D.; CRUZ, J.F; TEIXEIRA NETO, M.R.; MARISCO, G.; SOUZA, J.F; SOUSA, L.S. Efficacy, toxicity, and lethality of plants with potential anthelmintic activity in small ruminants in Brazil. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, v.20, p.1-23, 2019. DOI: 10.1590/S1519-994020 0232019
- PENELUC, T.; DOMINGUES, L.F.; ALMEIDA, G.N.; AYRES, M.C.C.; MOREIRA, E.L.T.; CRUZ, A.C.F.; BITTENCOURT, T.C.B.S.C.; ALMEIDA, M.A.O.; BATATINHA, M.J.M. Atividade anti-helmíntica do extrato aquoso das folhas de *Zanthoxylum rhoifolium* Lam. (*Rutaceae*). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 18, p. 43-48, 2009.
- ZANON, G. Análise fitoquímica e estudo das atividades antimicrobiana, antioxidante e de inibição da enzima acetilcolinesterase das espécies *Zanthoxylum rhoifolium* e *Zanthoxylum hyemale*. 86 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Setor de Química, Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria, 2010.