

Artigo

Screening Fitoquímico e Avaliação da Toxicidade de *Croton heliotropiifolius* Kunth (Euphorbiaceae) frente à *Artemia salina* Leach**Silva, J. A. G.;* Lima, I. R.; Santana, M. A. N.; Silva, T. M. S.; Silva, M. I. A. G.; Leite, S. P.***Rev. Virtual Quim.*, 2017, 9 (3), 934-941. Data de publicação na Web: 21 de junho de 2017<http://rvq.sbg.org.br>**Phytochemical Screening and Evaluation of the Toxicity of *Croton heliotropiifolius* Kunth (Euphorbiaceae) on *Artemia salina* Leach**

Abstract: The *Croton heliotropiifolius* Kunth species is used to treat stomach discomforts, vomiting, dysentery and as antipyretic. This work was developed in order to perform a phytochemical screening of the methanol extracts of the stem, flowers and leaves of the species *C. heliotropiifolius*, and evaluate toxicity on *Artemia salina*. The stem extracts, flowers and leaves showed yields of 22.7 %; 31.4 %; 14.2 %, respectively. The presence of chemical compounds such as flavonoids in leaves and flowers, coumarins stem and in lower concentrations in the flowers has been identified. Alkaloids and saponins are absent in the studied material. The methanol extracts showed high toxicity (CL₅₀ values <80 µg / mL) to *Artemia salina*. This study may contribute to the deepening of knowledge of the chemical composition and toxicity of this species.

Keywords: *Croton heliotropiifolius*; phytochemistry; *Artemia salina*.

Resumo

A espécie *Croton heliotropiifolius* Kunth é utilizada no tratamento de desconfortos gástricos, vômitos, disenteria e como antitérmico. Este trabalho foi desenvolvido a fim de realizar um screening fitoquímico dos extratos metanólicos do caule, flores e folhas da espécie *C. heliotropiifolius*, e avaliar a toxicidade frente à *Artemia salina*. Os extratos do caule, flores e folhas apresentaram rendimentos de 22,7 %; 31,4 %; 14,2 %, respectivamente. Foi identificada a presença de compostos químicos, tais como flavonoides nas folhas e flores, cumarinas no caule e em menor concentração nas flores. Alcaloides e saponinas estão ausentes no material estudado. Os extratos metanólicos apresentaram alta toxicidade com valores de CL₅₀ < 80 µg/mL frente a *Artemia salina*. Este estudo pode contribuir para o aprofundamento dos conhecimentos relativos à composição química e toxicidade desta espécie.

Palavras-chave: *Croton heliotropiifolius*; fitoquímica; *Artemia salina*.

* Universidade Federal de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Morfotecnologia, Departamento de Histologia e Embriologia. Campus Recife. Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, CEP 50670-901, Recife-PE, Brasil.

✉ jessica.andrade.gs@gmail.com

DOI: [10.21577/1984-6835.20170060](https://doi.org/10.21577/1984-6835.20170060)

Screening Fitoquímico e Avaliação da Toxicidade de *Croton heliotropiifolius* Kunth (Euphorbiaceae) frente à *Artemia salina* Leach

Jéssica A. G. Silva,^{a,*} Izabela R. Lima,^b Marllon Alex N. Santana,^c Tainá Maria S. da Silva,^d Maria Irene A. G. Silva,^e Sônia P. Leite^a

^a Universidade Federal de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Morfotecnologia, Departamento de Histologia e Embriologia. Campus Recife. Avenida Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife-PE, CEP 50670-901, Brasil.

^b Universidade Federal de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Campus Recife. Avenida Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, CEP 50670-901, Recife-PE, Brasil.

^c Universidade Federal de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica. Campus Recife. Avenida Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, CEP 50670-901, Recife-PE, Brasil.

^d Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências. Curso Licenciatura em Ciências Biológicas. Campus Recife. Avenida Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, CEP 50670-901, Recife-PE, Brasil.

^e Universidade Federal da Paraíba. Cidade Universitária, s/n - Castelo Branco, CEP 58051-900, João Pessoa-PB, Brasil.

* jessica.andrade.gs@gmail.com

Recebido em 3 de outubro de 2016. Aceito para publicação em 18 de junho de 2017

1. Introdução

2. Parte Experimental

2.1. Coleta e Identificação do Material Vegetal

2.2. Preparação dos Extratos

2.3. Estudo Fitoquímico

2.4. Avaliação da Toxicidade frente a *Artemia salina* Leach

3. Resultados e Discussão

3.1. Os extratos brutos

3.2. Estudo Fitoquímico

3.3. Avaliação da Toxicidade frente a *Artemia salina* Leach

4. Conclusões

1. Introdução

As plantas constituem fontes naturais de diversas substâncias e metabólitos secundários como alcaloides, terpenos, flavonoides e esteroides. A riqueza destes compostos fundamenta a exploração das espécies vegetais desde a antiguidade, pois são capazes de conferir resistência ao ataque de pragas e de doenças.¹

Os compostos bioativos geralmente apresentam toxicidade, principalmente em altas doses. Desta forma, a avaliação do potencial tóxico em um organismo animal menos complexo pode ser usada para um monitoramento simples e rápido de extratos.² O microcrustáceo *Artemia salina* Leach (Artemiidae) é um invertebrado de ecossistema aquático salino e marinho usado em ensaios laboratoriais de toxicidade e outras ações de estimativa de dose letal. São usados na avaliação toxicológica de extratos de plantas, por ser um teste rápido, eficiente, barato e que requer uma quantidade pequena de amostra.^{3,4}

A planta *Croton heliotropiifolius* Kunth pertence ao gênero *Croton*, família Euphorbiaceae e constitui uma espécie endêmica do Nordeste Brasileiro, popularmente conhecida como “velame”, “velaminho” e “velame-de-cheiro”, devido aos seus minúsculos pelos. Pode ser encontrada com frequência na vegetação da Caatinga, mas também ocorre em brejos, restingas e cerrados.⁵ Apresenta-se como subarbusto ou arbusto com até dois metros de altura, provido de látex incolor, creme a

avermelhado. As folhas são alternas e ligeiramente subopostas no ápice, sésseis a pecioladas. As flores estão dispostas em inflorescências terminais, racemiformes, congestas. O fruto é uma cápsula, oblonga a subglobosa. Suas sementes são elípticas a oblongas, com tegumento castanho a preto. Floresce em maio, junho, julho e novembro, frutifica em maio e junho. Com base na medicina popular, a espécie vem sendo utilizada para dor de estômago, mal estar gástrico, vômitos, disenteria e como antipirético.⁵⁻⁷

Desta forma, o presente trabalho relata o screening fitoquímico dos extratos metanólicos de caule, flores e folhas de *C. heliotropiifolius* e avaliação da letalidade dos extratos frente à *Artemia salina* Leach.

2. Parte Experimental

2.1. Coleta e Identificação do Material Vegetal

A espécie *Croton heliotropiifolius* Kunth (Figura 1) foi coletada na zona rural do Município de Pesqueira (Pernambuco, Brasil) à aproximadamente 22 km do centro, na comunidade Quilombola. Preparou-se uma excisada, a qual foi identificada pelo engenheiro agrônomo Fernando Antônio Távora Gallindo e acha-se depositado no Herbário Dárdano de Andrade Lima do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA) sob o número de catálogo 89670.



Figura 1. Espécie *Croton heliotropiifolius* Kunth. **Fonte:** SILVA, J. A. G.

2.2. Preparação dos extratos

Extratos foram preparados a partir de 37,11 g de caule, 12,68 g de flores e 41,21 g de folhas de *C. heliotropiifolius*. O material botânico foi separado, pesado, triturado, extraído por maceração em metanol (PA) e mantidos em temperatura ambiente (25° C) por 48 horas. Após este período o extrato foi filtrado e concentrado em rota-evaporador.

2.3. Screening Fitoquímico

Os extratos de caule, flores e folhas foram submetidos à análise por cromatografia em camada delgada (CCD) para a investigação da presença de alcaloides, cumarinas e flavonoides. Tendo como fase móvel para alcaloides Acetato de etila-Ácido fórmico-Ácido acético-água (AcOEt-HCOOH-AcOH-H₂O, 100:11:11:27 v/v), para cumarinas Éter-tolueno-AcOH 10% (50:50:50 v/v) e para flavonoides Acetato de etila-Ácido fórmico-Ácido acético-água (AcOEt-HCOOH-AcOH-

H₂O, 100:11:11:27 v/v). Os reveladores para alcaloides e flavonoides foram Dragendorff, ácido etilborilaminoéster (NEU), respectivamente. Para cumarinas, foi empregada a visualização por UV em 365 nm.⁸ Para a identificação de saponinas, foi empregado o teste por agitação mecânica do extrato diluído em água destilada. A formação de espuma persistente por 15 minutos foi considerada como pesquisa de saponinas positiva.⁹

2.4. Avaliação da toxicidade frente a *Artemia salina* Leach

A realização do ensaio empregou a metodologia descrita por Meyer *et al.* (1982) com adaptações.¹⁰ *A. salina* encistadas foram colocadas para eclodir em água do mar filtrada durante 48 horas sob ação de um aerador. Após a eclosão, as larvas foram verificadas quanto à viabilidade (motilidade normal) e colocadas em grupos de 10 náuplios em tubos contendo 5 mL de água do mar filtrada. Posteriormente, foram

adicionados aos tubos que continham os náuplios, os extratos diluídos em mesmo volume de água marinha, nas concentrações iniciais de 100,0 µg/mL, 50,0 µg/mL, 25,0 µg/mL. Após serem adicionados atingiu-se as concentrações finais de 50,0 µg/mL, 25,0 µg/mL, 12,5 µg/mL. O teste foi realizado em quadruplicata para todas as concentrações, acompanhado de um controle positivo preparado com água marinha. A contagem do número de larvas viáveis foi realizada após 24 horas e esse número foi usado para o cálculo da CL_{50} utilizando o programa OriginPro 8.¹⁰

3. Resultados e Discussão

3.1. Os extratos brutos

Os rendimentos dos extratos brutos foram calculados em relação ao peso dos materiais coletados e os pesos obtidos após rota- evaporação. Os respectivos valores de estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Pesos e Rendimentos dos extratos metanólicos da espécie *C. heliotropiifolius*

<i>Croton heliotropiifolius</i> Kunth	Peso fresco (g)	Peso do extrato (g)	Rendimento (%)
Caule	31,11	7,06	22,7
Flores	12,68	3,98	31,4
Folhas	40,21	5,70	14,2

3.2. Screening Fitoquímico

A análise fitoquímica dos extratos metanólicos de caule, flores e folhas da

espécie *C. heliotropiifolius* exibiram a presença de diferentes classes de compostos (Tabela 2).

Tabela 2. Prospecção fitoquímica dos extratos metanólicos de *C. heliotropiifolius*

Metabolitos	Caule	Flores	Folhas
Alcaloides	-	-	-
Flavonoides	-	+++	++
Cumarinas	+++	+	-
Saponinas	-	-	-

(+++) = fortemente positivo; (++) = Fracamente positivo; (+) Positiva; (-) Negativo.

Os alcaloides mostraram-se ausentes no caule, nas flores e folhas da espécie em estudo. Resultados semelhantes também foram relatados por Randau (2004), entretanto, em seus estudos foi demonstrada a presença de alcaloides principalmente na casca das raízes.⁷ Os flavonoides estiveram presentes nas folhas e nas flores, corroborando com o estudo realizado por

Randau (2004). Estes compostos são sintetizados por plantas em resposta à infecção microbiana, sendo atribuídas a esses metabólitos a proteção contra fungos, bactérias e insetos. A atividade protetora é provavelmente devido à sua capacidade de formar complexos com proteínas solúveis que se ligam à parede celular bacteriana e alguns flavonoides lipofílicos podendo

também causar ruptura da membrana plasmática de microrganismos.^{7,11,12}

Polifenóis como cumarinas, mostraram-se ausentes nas folhas, no entanto foi observada a presença no caule e de forma discreta nas flores. Essas substâncias são raras na família Euphorbiaceae e no gênero *Croton* existe a comprovação apenas de escopoletina em *Croton sonderianus*.¹³ Os dados apontam a ausência de saponinas em todo material vegetal estudado. Também é constatada a ausência de saponinas em outras espécies do gênero, como *Croton linearifolius*.¹⁴

3.3. Avaliação da Toxicidade frente *Artemia salina* Leach

Segundo Ramos *et al.* (2009)¹⁵ todos os extratos estudados possuem alta capacidade letal frente a *A. salina*, pois apresentaram valores de $CL_{50} < 80 \mu\text{g/mL}$, sendo o extrato do caule o mais tóxico, com $CL_{50} 27,77 \mu\text{g/mL}$, seguido pelas flores, que apresentaram $CL_{50} 42,61 \mu\text{g/mL}$ e a menor letalidade foi vista nos extratos das folhas com $CL_{50} 50,54 \mu\text{g/mL}$ (Figura 2).

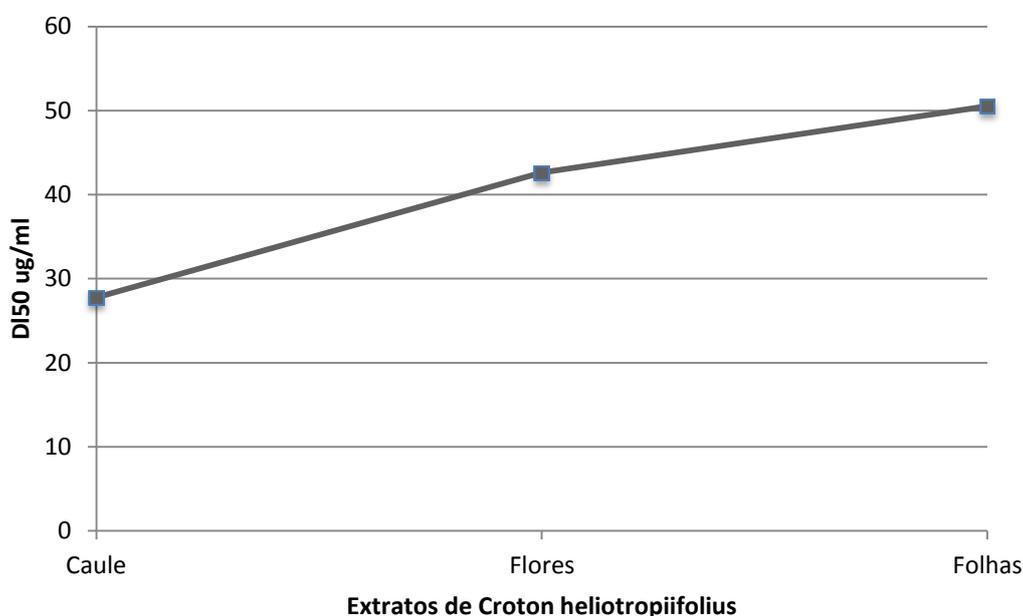


Figura 2. Valores de DL_{50} ($\mu\text{g/mL}$) frente à *Artemia salina* para os extratos de caule, flores e folhas da espécie *Croton heliotropiifolius* Kunth

Ensaio de toxicidade contra a traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (L.) demonstraram o extrato etanólico das folhas de *C. heliotropiifolius* como o mais tóxico à fase larval, seguido do extrato etanólico de caule da mesma espécie, apresentando CL_{50} de 14,95 e 42,40 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente.¹⁶ Os representantes do gênero *Croton* costumam apresentar-se como ervas ou arbustos, que são utilizadas simplesmente como bebidas na forma de chás, sendo

reconhecidos tanto por suas propriedades medicinais, quanto tóxicas. As espécies que compõe esse gênero são geralmente odoríferas e contém um látex cáustico que é responsável por causar dermatite e que pode ser venenoso. A toxicidade do gênero está associada à presença de diterpenóides.¹⁷⁻¹⁹

4. Conclusões

Foram identificados nos extratos metanólicos da espécie *C. heliotropiifolius* a presença de flavonoides nas flores e folhas, cumarinas no caule e nas flores e ausência nas folhas. Alcaloides e saponinas não foram identificados em todas as estudadas da espécie. Quanto à toxicidade, os extratos metanólicos do caule, flores e folhas da espécie *C. heliotropiifolius* apresentaram alta toxicidade frente a *Artemia Salina*.

Referências Bibliográficas

- ¹ Silvia, C. G. V.; *Dissertação Mestrado*, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2007.
- ² Maciel, M. A. M.; Pinto, A. C.; Veiga, J. V.; Grynberg, N. F.; Echevarria, A. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. *Química Nova* **2002**, *25*, 429. [[CrossRef](#)]
- ³ Ayo, R. G.; Amupitan, J. O.; Zhao, Y. Cytotoxicity and antimicrobial studies of 1, 6, 8-trihydroxy-3-methyl-anthraquinone (emodin) isolated from the leaves of *Cassia nigricans* Vahl. *African Journal of Biotechnology* **2007**, *6*, 1276. [[Link](#)]
- ⁴ Pimenta, L. S.; Pinto, G. B.; Takahashi, J. A.; Silva, L. G. F.; Boaventura, M. A. D. Biological screening of annonaceous brazilian medicinal plants using *Artemia salina* (Brine Shrimp Test). *Phytomedicine* **2003**, *10*, 209. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵ Randau, K. P.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2001.
- ⁶ Silva, J. S.; de Sales, M. F.; Carneiro-Torres, D. S. O gênero *Croton* (Euphorbiaceae) na microrregião do vale do Ipanema, Pernambuco, Brasil. *Rodriguésia* **2009**, *60*, 879. [[Link](#)]
- ⁷ Randau, K. P.; Florêncio, D. C.; Ferreira, C. P.; Xavier, H. S. Pharmacognostic study of *Croton rhamnifolius* HBK and *Croton rhamnifolioides* Pax & Hoffm. (Euphorbiaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia* **2004**, *14*, 89. [[CrossRef](#)]
- ⁸ Wagner, H.; Bladt, S. *Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas*, 2.ed. Berlin: Springer, 1996.
- ⁹ Simões, C. M. O.; Schenkel, E. P.; Melo, J. C. P.; Mentz, L. A.; Petrovick, P. R. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*, 5ªed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS / Editora UFSC, 2004.
- ¹⁰ Meyer, B. N.; Ferrigni N. R.; Putnam J. E.; Jacobsen L. B.; Nichols D. E.; McLaughlin J. L. Brine shrimp: a conveniente general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica* **1982**, *45*, 31. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹¹ Dixon, R. A.; Dey, P. M.; Lamb, C. J. *Phytoalexins: enzymology and molecular biology. Advances in enzymology and related areas of molecular biology*, London: England, 1983.
- ¹² Tsuchiya, H.; Sato, M.; Miyazaki, T.; Fujiwara, S.; Tanigaki, S.; Ohyama, M.; Iinuma, M. Comparative study on the antibacterial activity of phytochemical flavanones against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of ethnopharmacology* **1996**, *50*, 27. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹³ Craveiro, A. A.; Silveira, E. R. Two cleistanthane type diterpenes from *Croton sonderianus*. *Phytochemistry* **1982**, *21*, 2571. [[CrossRef](#)]
- ¹⁴ Cunha, S. L.; Gualberto, S. A.; Carvalho, K. S.; Fries, D. D. Avaliação da atividade larvicida de extratos obtidos do caule de *Croton linearifolius* Mull. Arg. (Euphorbiaceae) sobre larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae). *Biotemas* **2014**, *27*, 79. [[CrossRef](#)]
- ¹⁵ Ramos, S.; Oliveira, J.; da Câmara, C. A.; Castelar, I.; Carvalho, A. F.; Lima-Filho, J. V. Antibacterial and cytotoxic properties of some plant crude extracts used in Northeastern folk medicine. *Revista Brasileira de Farmacognosia* **2009**, *19*, 376. [[CrossRef](#)]
- ¹⁶ Silvia, C. G. V.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2007.

¹⁷ Hoehne, F. C.; *Plantas e substâncias vegetais tóxicas*. Graficars: São Paulo, 1935.

¹⁸ Abreu, A. S.; Barbosa, P. S.; Müller, A. H.; Guilhon, G. M. S. P. Constituintes químicos do caule e das cascas do caule de *Croton pullei* var *Glabrior* (Euphorbiaceae). *Revista Virtual de Iniciação Científica* **2001**, *1*, 1. [[Link](#)]

¹⁹ Rodríguez, J. A.; Hiruma-Lima, C. A.; Brito, A. R. S. Antiulcer activity and subacute toxicity of trans-dehydrocrotonin from *Croton cajucara*. *Human & experimental toxicology* **2004**, *23*, 455. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]