

Prospecção fitoquímica de *Sonchus oleraceus* e sua toxicidade a *Artemia salina*

Jadson de Matos Lima¹; Marcelo Barreto da Silva¹; Camilo Amaro de Carvalho¹; Tancredo Gonçalves de Oliveira¹; Carlos Alberto Silva¹; José Barbosa dos Santos¹; Marcelo Barcellos da Rosa¹.

¹UNIVALE-FAAG-AGRONOMIA, Cx. Postal 295, 35020-220, Governador Valadares, MG.

RESUMO

A espécie vegetal *Sonchus oleraceus* é uma planta daninha presente em diversas culturas no Brasil e de utilização na medicina popular. Neste trabalho realizou-se a prospecção fitoquímica dessa espécie com extratos em etanol, em água e em diclorometano e testes de toxicidade sobre o microcrustáceo *Artemia salina*. O extrato aquoso apresentou em sua composição açúcares redutores, compostos fenólicos, taninos, flavonóides e cumarinas. No extrato etanólico, observou-se os mesmos compostos qualificados no extrato aquoso, com exceção de cumarinas. Em diclorometano verificou-se a presença de saponinas, derivados triterpênicos e esteróides. No teste de toxicidade sobre *Artemia salina*, os dados convergiram para frações de extrato aquoso de 5117,2 ppm, indicando ser um extrato de baixa toxicidade.

Palavras-chave: serralha, fitoquímica, plantas daninhas, extrato aquoso, toxicidade

ABSTRACT – *Sonchus oleraceus*, vegetal specie from North Africa, Asia and Europe, is a weed that is present in several cultures in Brazil, mainly in winter. However, there are reports about its use in popular medicine. In this study, it was accomplished to this specie the phytochemical prospection in ethanol, in water and in dichloromethane. It was also done essays of toxicity of this specie to *Artemia salina* microcrustacean. The extract in water presented reducing sugars, phenols, tanning barks, flavonoids and coumarins. The extract in ethanol evidenced the same composites except coumarin. There were saponin, terpenic and steroidal derivative on extract in dichloromethane. It could be observed that the toxicities for *Artemia salina* converged to the fractions that contained the extract of 5117,2 ppm, being considered of low toxicity.

Key words: common sowthistle, biological assay, medicinal plant, weed

INTRODUÇÃO

A planta daninha *Sonchus oleraceus* é conhecida popularmente como serralha, chicória-brava, serralha-lisa, ciumo ou serralheira. É uma espécie freqüente em muitas regiões agrícolas do mundo, infestando lavouras anuais e perenes (Fraga e Tasende, 2003). No Brasil, vegeta principalmente no inverno, com sementes facilmente dispersas pelo vento e viáveis no solo por até oito anos (Aranha et al., 1982; Lorenzi, 2000). Na sua composição destacam-se óleos essenciais, esteróides, resinas, glicídios, fitosterina, taninos, derivados terpênicos, pigmentos flavonóides e sais minerais (Correa et al., 1998; Panizza, 1998). Os

ácidos fenólicos (taninos) e flavonóides pertencem a uma classe de metabólitos secundários, largamente encontrados em plantas. Estes contêm pelo menos um anel aromático com um ou mais grupamentos hidroxila, juntamente com outros substituintes (Salunkhe et al., 1990). Os polifenóis de leguminosas e cereais são predominantemente taninos de origem flavonóide (Deshpande & Cheryan, 1985). Os flavonóides conferem uma ação anti-oxidante com potencial terapêutico (Jang et al., 1995). As saponinas são outras substâncias que possuem características lipofílica (triterpeno ou esteróides) e hidrofílica que determinam a propriedade de redução da tensão superficial da água e sua ação detergente e emulsificante. É utilizada como expectorante e diurética. O comportamento antitífico das saponinas e a capacidade de formar complexos com esteróides, proteínas fosfolipídios de membrana determinam um número variado de propriedades biológicas, destacando-se sua ação sobre membranas celulares e relacionadas a esta ação estão as atividades hemolítica e molusquicida. Os heterosídeos cardiotônicos são também encontrados em plantas e recomendados no tratamento de insuficiência cardíaca congestiva (ICC), na profilaxia de algumas arritmias como fibrilação atrial, taquicardia atrial paroxística e ainda no tratamento de choque cardiogênico (Simões et al., 2000). Dentre as plantas na região do Mediterrâneo tratadas com extrato etanólico, observou-se que *Sonchus oleraceus* possui atividade antioxidante, devido à presença de polifenóis (Schaffer et al., 2005). Suas amostras apresentaram os mais altos valores pró-vitâmicos A, quando comparadas às folhas de salsa e hortelã (Muradian et al., 2000). O conhecimento da constituição química das plantas aplicado na medicina popular envolve o estudo de interações do organismo com os efeitos das inúmeras classes de compostos e moléculas que podem existir numa única planta. Os testes de toxicidade são elaborados com o objetivo de avaliar ou prever os efeitos tóxicos nos sistemas biológicos e dimensionar a toxicidade relativa das substâncias (Forbes & Forbes, 1994). A *Artemia salina* é uma espécie de microcrustáceos da ordem Anostraca, utilizada neste trabalho como bioindicador de toxicidade causada por *S. oleraceus*. Esta espécie é utilizada em testes de citotoxicidade devido a sua capacidade de formar cistos dormentes, fornecendo deste modo material biológico que pode ser armazenado durante longos períodos de tempo sem perda de viabilidade e sem necessidade de se manterem culturas contínuas de organismo teste. É uma espécie de fácil manipulação em laboratório e baixo custo econômico (Calow, 1993). A identificação de efeitos positivos de espécies vegetais que infestam lavouras contribui para compactuar com o manejo integrado de plantas daninhas como opção de controle através do conhecimento de princípios ativos presentes em plantas ainda não estudadas. O estudo químico e biológico de *S. oleraceus*,

tem por objetivo a identificação de suas classes de compostos e seu efeito de fitotoxicidade sobre *Artemia salina*.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram amostradas plantas de *Sonchus oleraceus* L., em estágio de pleno florescimento, sendo coletado material da parte aérea como caule, ramos, folhas e flores, em setembro de 2006, no horto da Universidade Vale do Rio Doce – UNIVALE em Governador Valadares – MG. Todo material foi secado em estufa, a temperatura $40 \pm 0,5$ °C sendo conservado ao abrigo da luz e umidade. Após a secagem, este material foi triturada no moinho de martelos e submetidos à extração por ultrasonicação durante 60 minutos. Todos os reagentes utilizados foram o CH_2Cl_2 (diclorometano), e $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ (álcool etílico). A água utilizada no preparo das soluções e limpeza das vidrarias foi filtrada por osmose reversa. Todas as soluções foram preparadas na concentração de 10% m/v (10 g de material seco triturado em 100 ml de extrator). cujo extrato concentrado foi filtrado a vácuo com porosidade de 0,2 μm . A prospecção fitoquímica foi realizada em extratos aquosos, etanólicos e em diclorometano. O extrato bruto foi submetido a uma série de reações de caracterização e isolamento como: açúcares redutores (reação de Benedict), compostos fenólicos (reação de precipitação com cloreto férrico), naftoquinona, (reação ácido/base), caracterização de flavonóides (reação de cianidina e ácido sulfúrico, A-I e A-II), taninos (reação com sais de ferro, precipitação de proteínas, B-I e B-II), cumarinas (observação sob a luz-ultravioleta), triterpenos e esteróides (reação de Liebermann-Burchard), identificação de heterosídeos cardiotônicos (teste de Baljet e teste de Kedde, C-I e C-II) e caracterização de saponinas (reação de Lieberman-Buchard e o índice de espuma), segundo metodologia descrita em Simões et al. (2000). A citotoxicidade sobre a *Artemia salina* foi realizada através da adaptação da a metodologia de Meyer et al. (1982), preparando-se uma solução com sal marinho na concentração de 35g L^{-1} . O pH foi ajustado entre 8,0 – 9,0, por meio de solução $0,1\text{ mol L}^{-1}$ de NaOH. Esta solução foi utilizada para eclosão dos ovos de *Artemia salina* e para o preparo das demais diluições. Os ovos foram colocados para eclodir na solução salina, por 48 horas, com aeração constante a 25°C . Cerca de 10 larvas de *Artemia salina* foram transferidas para tubos de ensaio contendo a solução salina e amostras a ser testada, nas seguintes concentrações do extrato aquoso: 0, 625, 1.250, 2.500, 5.000 e 10.000 mg L^{-1} . Todo o teste foi realizado em triplicata de amostras, sendo a contagem dos animais mortos e vivos realizada após 24 h. Utilizou-se método gráfico de análise para obtenção da DL_{50} (dose letal do extrato para 50% da população) (Figura 1). O teste foi acompanhado de um controle negativo, somente com água salina e positivo com dicromato de potássio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na prospecção fitoquímica verificou-se que apenas saponinas e derivados terpênicos e esteroidais estavam presentes no extrato com diclorometano. No entanto, o extrato aquoso apresentou açúcares redutores, compostos fenólicos, taninos, flavonóides e cumarinas. O extrato etanólico evidenciou os mesmos compostos presentes no extrato aquoso com exceção de cumarinas (Tabela 1). O estudo evidenciou a presença de metabólitos secundários, os quais podem estar relacionados à ação de *S. Oleraceus* em determinados distúrbios patológicos. Estes dados contribuem para realização de estudos posteriores, para descobertas de novos princípios ativos na área da medicina curativa. Quanto a fitotoxicidade sobre *Artemia salina*, visualizou-se DL₅₀ igual a 5120 ppm do extrato, o que indica a baixa toxicidade do extrato teste (Figura 1). Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) são consideradas tóxicas substâncias que apresentam valores de DL₅₀ abaixo de 1000 ppm em *Artemia salina* (Meyer et al, 1982). O motivo que corrobora com a observação da baixa toxicidade de *S. oleraceus* sobre *A. salina* consiste desta planta ser comumente utilizada na complementação da alimentação ou em substituição ao alface na região leste do Estado de Minas Gerais. Pode-se observar, por meio do bioensaio com *A. salina*, que a toxicidade para este crustáceo convergiu para as frações que continham substâncias reconhecidamente não tóxicas como as flavonóides e taninos somente em concentrações inferiores à recomendada pela a OMS. A maior atividade fitotóxica concentrou-se em torno de 10.000 ppm onde houve a morte de 100% da população de microcrustáceos. Dessa forma, é provável que nenhum constituinte presente possua atividade citotóxica em baixas concentrações. A atividade que leva a redução de radicais livres pode ser correlacionada com a presença de flavonóides em *S. oleraceus*, segundo a própria prospecção fitoquímica (Tabela 1). Isso se relaciona à capacidade de deslocalização dos elétrons e por possuírem ligação dupla com a ligação 4-oxo, aumentando a deslocalização a partir do anel B, e/ou pela presença de grupos hidroxila na posição 3 e 5 com função oxo, que promovem a deslocalização eletrônica do grupo 4 oxo para estes dois substituintes. Sendo assim sua atividade antioxidante está apenas relacionada com o anel B enquanto o restante da estrutura base tem apenas uma pequena influência. Percebe-se a partir dos resultados, a necessidade de estudos posteriores, mais específicos na demonstração de mecanismos que levam à redução dos radicais livres para que se possa correlacioná-los, por exemplo, com o efeito antivitalício e outras ações medicinais, caracterizando melhor o potencial de uso na medicina homeopática *S. oleraceus*.

AGRADECIMENTOS

A FAPEMIG e ao CNPq pelo apoio financeiro à realização dessa pesquisa.

LITERATURA CITADA

- ARANHA, C.; BACCHI, O.; LEITÃO FILHO, H. **Plantas invasoras de Culturas**. Campinas, Instituto Campineiro de Ensino Agrícola, 1982, v. 2, p. 412-413.
- CALOW, P. Marine and Estuarine Invertebrate Toxicity Tests. In HOFFMAN, D; RATTNER, B; BURTON, A & CARNS, J. **Handbook in Citotoxicology**. vol.I. Blackwell Scientific Publication, 1993, p. 1-5.
- CORREA, A.D. et al. **Plantas Medicinais – do cultivo a terapêutica – 2ª**. Ed. Editora Vozes, Petrópolis, 1998.
- DESHPANDE, S.S., CHERYAN, M. Evaluation of vanillin assay for tannin analysis of dry beans. **J. Food Sci.**, v.50, n.4, p.905-910, 1985.
- FORBES, V. E.; FORBES, T.L. **Ecotoxicology in Theory and Practice**. Chapman and Hall. Londres, 1994, 247p.
- FRAGA, M.I.; TASENDE, M.G. Mechanisms of resistance to simazine in *Sonchus oleraceus*. **Weed Research**, v.43, p.333-340, 2003.
- JANG, M.; et al. The red wine phenolics trans-resveratrol and quercetin block human platelet aggregation in eicosanoid synthesis: implication for protection against coronary heart disease. **Clin. Chim. Acta**, v.235, p.207-219, 1995.
- LORENZI, H. **Plantas Daninhas do Brasil – terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas**. 3ª. ed. Instituto Plantarum. São Paulo. Nova Odessa, 2000, 608p.
- MEYER, B.N.; et al. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta Médica**, v.45, p.31-34, 1982.
- MURADIAN, L.B.A.; VANDERLINDE, D.W.; SASAKI, R.. Provitamin A Activity Of Raw And Cooked Brazilian Leaves. **Ciênc. Tecnol. Aliment**, v.20, n.2, p.151-153, 2000.
- PANIZZA, S. **Plantas que Curam (Cheiro do Mato) – 3ª**. Ed. IBRASA, São Paulo. 1998.
- SALUNKHE, D.K., CHAVAN, J.K., KADAM, S.S. **Dietary tannins: consequences and remedies**. Boca Raton : CRC Press, 1990. 200p.
- SCHAFFER, S.; et al. Antioxidant Properties Of Mediterranean Food Plant Extracts: Geographical Differences. **J. Physiol. Pharmacol.**, v.56, p.115-124, 2005.
- SIMÕES, C.O.; et al. **Farmacognosia: da Planta ao Medicamento**. 2º ed.. Ed. Da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Santa Catarina – RS. 2000, 1104p.

Tabela 1 – Prospecção fitoquímica de *Sonchus oleraceus* L. em diferentes solventes. Todas as frações foram preparadas a 10% (m/V – extrato seco/solvente) para as análises químicas (A-I: reação formol clorídrico; A- II: gelatina salgada; B-I: reação da cianidina; B-II: reação com ácido sulfúrico concentrado; C-I: Baljet; C-II: Kedde).

Testes	Água	Etanol	Diclorometano
Açúcares Redutores	+	+	-
Compostos Fenólicos	+	+	-
Taninos A- I	+	-	-
Taninos A-II	+	+	-
Flavonóides B- I	+	+	-
Flavonóides B-II	+	+	-
Cumarinas	+	-	-
Heterosídeos Cardiotônicos C- I	+	+	-
Heterosídeos Cardiotônicos C-II	-	-	-
Saponinas	-	-	+
Triterpenos e Esteróides	-	-	+
Naftoquinonas	-	-	-

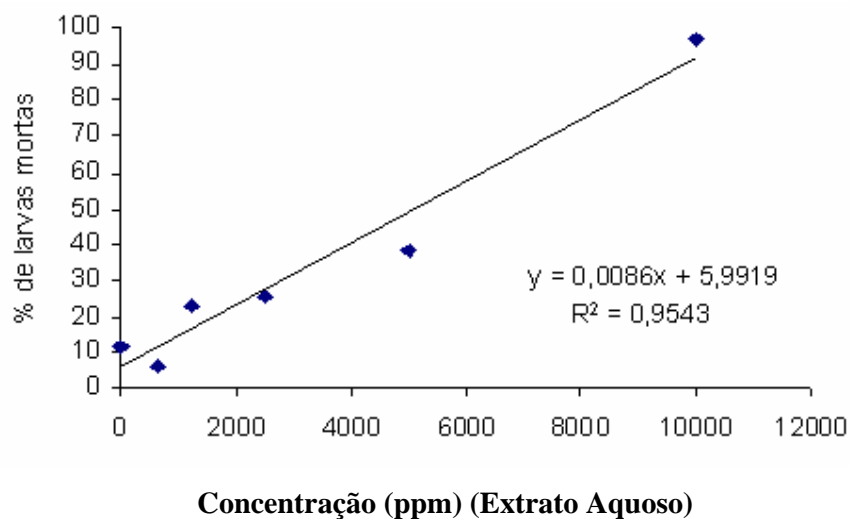


Figura 2 – Porcentagem de larvas de *Artemia salina* mortas em relação ao aumento da concentração do extrato aquoso de *Sonchus oleraceus*, evidenciadas pelos pontos no gráfico. A DL₅₀ (dose letal do extrato para 50% da população) verifica-se em 5117,2 ou 5120 ppm do extrato.