

## AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DA INFUSÃO DO *SAMBUCUS SPP.* FRENTE À *ARTEMIA SALINA LEACH*

Laura Carolina Lima Romeu (1); Herbert Igor Rodrigues de Medeiros (1); Suzana Gabriely de Queiroz Bezerra (2); Juliano Carlo Rufino de Freitas (3)

1 Universidade Federal de Campina Grande, lauraromeuufcg@gmail.com

1 Universidade Federal de Campina Grande, igorpls\_15@hotmail.com

2 Universidade Federal de Campina Grande, suzanaqueiroz@outlook.com

3 Univerdade Federal de Campina Grande, julianocrf@gmail.com

**Resumo:** Desde os primórdios, o uso de plantas para fins terapêuticos é bastante difundido e passado de geração em geração. O uso destas deve ser feito com cautela, uma vez que pode gerar toxicidade, dependendo da parte da planta utilizada. O *Sambucus ssp*, mais conhecido como sabugueiro, é uma planta medicinal utilizada para problemas respiratórios, gripe, resfriado, dentre outros. A parte da planta responsável por esses efeitos são as flores, uma vez que sua folha contém metabólitos tóxicos. Com base em suas propriedades, o trabalho apresentou como objetivo avaliar a toxicidade da infusão do sabugueiro frente à *Artemia salina*, um microcrustáceo bastante utilizado em bioensaio toxicológicos, devido a sua confiabilidade, reprodutibilidade e simplicidade. A solução do *Sambucus ssp* foi preparada de acordo com o método descrito na farmacopeia brasileira, com algumas modificações, a partir da infusão do insumo vegetal seco, obtido comercialmente na feira livre do município de Cuité/PB. A CL<sub>50</sub> das artêmias foi determinada através do *software* POLO-PC. Como resultado, a CL<sub>50</sub> encontrada através do *software* POLO-PC, com 95% de confiança, para a solução do *Sambucus ssp*, foi de 34.123 µg/mL, considerada atóxica. Assim, é mensurável que essa planta apresenta promissoras atividades, uma vez que suas flores mesmo não sendo tóxicas, são utilizadas para fins terapêuticos, conseguindo atingir os devidos fins. Já suas folhas, devido aos metabólitos, são tóxicas, onde pode servir para posteriores estudos de farmacologia e modificação estrutural, para o descobrimento de novas atividades que sirvam para fins medicinais

**Palavras-chave:** Plantas medicinais; Avaliação Toxicológica; Sabugueiro.

### Introdução

A utilização de matéria prima vegetal para fins medicinais é datada desde os primórdios da humanidade, sendo seu uso influenciado pelo grau de desenvolvimento econômico e social de um país (FREITAS; COELHO, 2014), por exemplo, na região Nordeste do Brasil, devido a influência indígena, africana e europeia, mais 90% da população dessa região faz uso das plantas medicinais (MATOS, 2002).

Embora, o uso de plantas medicinais seja comum pela da população mundial, seu uso deve ser realizado com cautela, pois dependendo do tipo de planta a biotransformação de seus metabólitos pode levar a formação de substâncias tóxicas que podem culminar desde uma intoxicação até a morte do indivíduo (LANINI et al., 2009; MELO et al., 2017). No entanto, esse uso indiscriminado é justificado pela falta de interesse por parte da população em obter informações sobre as plantas, como também a ausência de estudos toxicológicos sobre as mesmas, tornando necessário o incentivo a pesquisas

(83) 3322.3222

contato@conbracis.com.br

[www.conbracis.com.br](http://www.conbracis.com.br)

que assegurem a usabilidade deste material vegetal para uso humano (OLIVEIRA; SISENANDO, 2017; SILVA et al., 2014).

Dentre as plantas utilizadas para fins terapêuticos, uma que merece destaque é o sabugueiro que vêm sendo utilizado no tratamento de problemas respiratórios como gripes e resfriados, antitérmica, diurética, anti-inflamatória, expectorante e para o tratamento de reumatismo. Ele também é conhecido como “remédio do peito” pela eficiência contra problemas respiratórios (ALVES; SANTOS, 2017; LORENZI; MATOS, 2002; NUNES, et al., 2007; WILLIAMSON, et al., 2012; NICOLETTI, et al., 2012).

Apesar de todos os benefícios que as plantas medicinais oferecem dependendo da forma de utilização, preparo ou concentração podem se torna tóxicas, devido a isto é importante ter cautela em seu uso e ter ciência dos seus efeitos adversos e colaterais no organismo. Assim, a investigação do potencial tóxico de compostos naturais permite uma utilização segura, respeitando seus possíveis riscos toxicológicos (Amaral & Silva, 2008), o que salienta a necessidade de estudos toxicológicos sobre esse material vegetal.

Embora, a literatura relate o bioensaio de toxicidade de vários extratos de plantas frente a *Artemia Salina*, até o presente momento não há relato desse bioensaio na infusão do material vegetal do sabugueiro. O sabugueiro é uma espécie arbustiva pertencente ao gênero *Sambucus* da família Adoxaceaa, sendo uma espécie naturalizada, a *Sambucus nigra*, e outra nativa que a *Sambucus australis*, ambas apresentam discretas diferenças (ALVES; SANTOS, 2017).

A *Artemia salina* Leach é um invertebrado que tem sido amplamente usado em ensaios laboratoriais de toxicidade, devido ao seu baixo custo e fácil cultivo (LUNA et al., 2005). Esta se mantém em sua forma de resistência (cística), e estes são adquiridos no comércio por um preço acessível, além de se manterem viáveis por anos em armazenamento seco (POMPILHO, MARCONDES & OLIVEIRA, 2014).

O bioensaio envolvendo este microcrustáceo é considerado um método simples e de fácil execução, uma vez que não é necessário o uso de equipamentos especiais e acondiciona facilmente milhares de náuplios (larva), atendendo as necessidades rotineiras de triagem toxicológica, requeridos pelo monitoramento industrial ou para fins regulatórios (RAJABI et al., 2015).

O ensaio de letalidade permite a avaliação da toxicidade geral, por isso é considerado um importante bioensaio preliminar no estudo de substâncias que tenham potenciais (MEYER, et al., 1982). São bastante usadas na avaliação toxicológica de extratos de plantas, por ser um teste rápido, eficiente, barato e que requer uma

quantidade pequena de amostra (AYO; AMUPITAN; ZHAO, 2007).

Diante do exposto, a pesquisa apresenta como objetivo principal a avaliação da toxicidade a infusão do material vegetal do sabugueiro comercializado na feira livre do município de Cuité-PB utilizando para isso a *Artemia Salina*.

## **Metodologia**

### **Procedimento para a preparação do chá do *Sambucus nigra L.***

A solução foi baseada no protocolo descrito pelo Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira (2011), com algumas adaptações. Em um béquer com capacidade de 250 mL foram adicionados 150 mL de água destilada e o mesmo ficou sob aquecimento até a efervescência. Depois foi adicionado 3g do insumo vegetal seco do *Sambucus nigra L.*, obtido da feira livre do município de Cuité-PB, e abafou-se o béquer com um vidro de relógio e esperou-se ficar a 37 °C aproximadamente. Depois filtrou-se a solução em outro béquer com capacidade de 250 mL.

### **Toxicidade frente a larvas de *Artemia salina* Leach.**

O ensaio toxicológico com *Artemia salina* Leach foi baseado no protocolo descrito por Meyer et al. (1982). Foram utilizados 1200 mg da solução feita a partir da infusão do insumo vegetal seco do sabugueiro, seguindo o protocolo descrito pelo Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira (2011). A solução foi homogeneizada e o volume completado para 20 mL com água salinizada filtrada (água salina artificial preparada a partir de 38 g de sal marinho *Marinex*® em 1 L de água destilada) a pH = 8,0. Desta solução foram retiradas alíquotas de 1666, 2080, 2333, 2500, 2750, 2916, 3333 e 3750 µL que foram transferidas para outros balões volumétricos de 5 mL e os volumes completados com o mesmo solvente, obtendo-se concentrações de 20000, 25000, 28000, 30000, 33000, 35000, 40000 e 45000 µg/mL para a solução aquosa do sabugueiro. O teste foi acompanhado por controle positivo onde utilizou-se o dicromato de potássio (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>). Os cistos da *Artemia salina* (20 mg) foram incubados sob iluminação artificial por 48 horas para que houvesse a eclosão das larvas (metanáuplios), e estas, separadas em nove grupos com 10 artêmias cada. O primeiro e o segundo grupo receberam a solução controle positivo (solvente e dicromato de potássio) e os oito seguintes receberam a solução aquosa do composto em diferentes concentrações. As amostras foram submetidas à iluminação artificial durante 24 horas, após este período foram contabilizadas as larvas vivas e mortas. O experimento foi realizado em triplicata para cada substância-teste.

### **Análise estatística**

Para obtenção dos valores da concentração letal para matar 50% das larvas (CL<sub>50</sub>), foi utilizada a análise através do *software* POLO-PC (*Copyright LeOra Software 1987*).

## Resultados e Discussão

A pesquisa foi iniciada com a preparação do chá de sabugueiro pelo método de infusão, utilizando o material vegetal seco comercializado na feira livre do município de Cuité-PB. Embora, este trabalho tenha adotado a metodologia descrita pela Farmacopeia Brasileira (2011) para a preparação da amostra, o protocolo passou por adaptações uma vez que a população não faz uso somente da inflorescência, como descrito na farmacopeia, e sim do produto no seu estado bruto. Deve-se ressaltar que o material analisado apresentou distintas partes da planta, conforme mostra a figura 1. No entanto, a própria Farmacopeia (2011) adverte que o uso de chá contendo apenas as folhas de planta oferece riscos à saúde, pois estas contêm glicosídeos cianogênicos tóxicos.

**Figura 1:** Insumo obtido comercialmente.



**Fonte:** Próprios autores, 2018.

Diante destas observações partiu-se para a avaliação da toxicidade da infusão do sabugueiro frente ao microcrustáceo *Artemia salina* Leach, no qual o valor da taxa de mortalidade deste extrato variou entre 0 e 100 %, visando determinar a concentração letal para matar 50% das larvas (CL<sub>50</sub>). Deste modo, a CL<sub>50</sub> encontrada através do *software* POLO-PC, com 95% de confiança, foi de 34.123 µg/mL com intervalo de confiança nos limites 32.860 a 35.559 µg/mL.

De acordo com Merino e colaboradores (2015) o valor de CL<sub>50</sub> para infusão do sabugueiro implica que

o mesmo apresenta uma baixa toxicidade, uma vez que as amostras com  $CL_{50}$  inferiores a 100  $\mu\text{g/mL}$  são considerados altamente tóxicas, valores entre 100 e 500  $\mu\text{g/mL}$  são moderadamente tóxicas, entre 500 e 1000  $\mu\text{g/mL}$  são levemente tóxicas e acima de 1000  $\mu\text{g/mL}$  possuem baixa toxicidade ou são atóxicas.

Então, a  $CL_{50}$  encontrada para o sabugueiro demonstra que a infusão é atóxica ou apresenta uma baixa toxicidade, o que confirma que o chá do sabugueiro é seguro para os seres humanos, e que mesmo apresentando uma leve toxicidade, este consegue propiciar o seu potencial terapêutico no organismo. Diversos trabalhos avaliam a toxicidade de partes da planta que a população rotineiramente utiliza para fins medicamentosos, a exemplo: Silva, et al. (2016) com uma  $CL_{50}$  de 7647,62  $\mu\text{g/mL}$  para o extrato metanólico de cascas do caule da *Parahancornia amapa*; Barros (2008) com uma  $CL_{50}$  de 801,266  $\mu\text{g/mL}$  para folhas de *Vitex agnus castus*; Lima, et al. (2014) apresenta uma  $CL_{50}$  de 543,5  $\mu\text{g/mL}$  para o extrato etanólico de cascas de *Pithecellobium cochliocarpum*.

Diante do exposto, é evidente que esta planta possui promissores potenciais, tendo em vista que suas folhas são tóxicas, mas suas flores são medicinais.

## Conclusão

Após a realização do presente trabalho, o chá do sabugueiro apresentou uma  $CL_{50}$  de 34.123  $\mu\text{g/mL}$ , o que pode ser considerado como atóxica. Com isto, é possível concluir que o chá do sabugueiro é seguro e condizente com os relatos de sua toxicidade pela população, sendo comprovado pelo valor da  $CL_{50}$  encontrada. Portanto, é de extrema importância mais estudos sobre essa planta, uma vez que tem apresentado promissores atividades terapêuticas.

## Referências

ALVES, M. C.; SANTOS, C. P.F. Propriedades farmacológicas da *sambucus australis* (sabugueiro): uma revisão. In: Congresso Brasileiro de Ciências da Saúde, V. 1, 2017. Campina Grande-PB. *Anais...*Campina Grande: Editora Realize, 2017.

AMARAL, E.A.; SILVA, R. M. G. Avaliação da Toxicidade Aguda de Angico (*Anadenanthera falcata*), pau-santo (*Kilmeyera coreacea*), aroeira (*Myracrodruon urundeuva*) e cipó-de-são-jão (*Pyrostegia venusta*), por meio do bioensaio com *Artemia salina*. *Perquirere*, n. 5. 2008.

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*, 6, 1276, 2007.

(83) 3322.3222

contato@conbracis.com.br

[www.conbracis.com.br](http://www.conbracis.com.br)

BARROS, J.D. Avaliação toxicológica pré-clínica com extrato bruto seco das folhas de *Vitex agnus castus* Linn. 2008. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2008.

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Formulário de Fitoterápicos da Farmacopéia Brasileira / Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 126p, 2011.

FREITAS, A.V.L; COELHO, M.F.B. Os "remédios do mato" por especialistas locais da comunidade São João da Várzea, Mossoró, RN, Brasil. *Interações* (Campo Grande), Campo Grande, v. 15, n. 2, p. 249-264, 2014.

LANINI, J; ALMEIDA, J.M.D; NAPPO, S; CARLINI, E.A. "O que vêm da terra não faz mal": relatos de problemas relacionados ao uso de plantas medicinais por raizeiros de Diadema/SP. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 1a, p. 121-129, 2009.

LIMA, C.M.P; SOARES, R.P.F.; BASTOS, I.V.G.A; GRANGEIRO, A.R.S; GURGEL, A.P.A.D; SILVA, A.C.P; SILVA, J.G; OLIVEIRA, R.A.G; SOUZA, I.A. Avaliação da toxicidade aguda do extrato das cascas de *Pithecellobium cochliocarpum* (Gomez) Macbr. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v.16, n.4, p.832-838, 2014.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 512p, 2002.

LUNA, J. S.; SANTOS, A. F.; LIMA, M. R. F.; OMENA, M. C.; MENDONÇA, F. A. C.; BIEBER, L. W.; SANT'ANA, A. E. G. A study of the larvicidal and molluscicidal activities of some medicinal plants from northeast Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 97, p. 199-206, 2005.

MATOS, F. J. A. Farmácias vivas: sistemas de utilização de plantas medicinais projetado para pequenas comunidades. 4. ed. Fortaleza: Editora UFC. 267p, 2002.

MENEZES, S.A; COSTA, A.Y; GILDO, M.G.P; COSTA, H.U; VANDESMET, L.C.S. Levantamento Bibliográfico De Plantas Mediciniais Com Caráter Tóxico Da Região Nordeste. **Revista Expressão Católica Saúde**, v. 1, n. 1, jun. 2016.

MERINO, F.; OLIVEIRA, V.; PAULA, C.; CANSIAN, F.; SOUZA, A.; ZUCHETTO, M.; HIROTA, B.; DUARTE A.; KULIK J.; MIGUEL M.; MIGUEL O. Análise fitoquímica, potencial antioxidante e toxicidade do extrato bruto etanólico e das frações da espécie *Senecio*



westernmanii Dusén frente à Artemia salina. **Revista brasileira de plantas medicinais**, v. 17, n. 4 supl 3, p. 1031-1040, 2015.

MEYER, B. N.; FERRIGNI N. R.; PUTNAM, L. B.; JACOBSEN, L. B.; NICHOLS D. E.; MCLAUGHLIN, J. L. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 45, p. 31-34, 1982.

NICOLETTI, M.A; FIORE, C.A.L.D; MIGUEL, V.; PINTO, L.H.G. **Fitoterápicos – Principais Interações Medicamentosas**. Associação Nacional De Farmacêuticos Magistrais - Brasil, São Paulo: 1ª edição, 118 Págs, 2012.

OLIVEIRA, M.F; SISENANDO, H.A. Plantas Tóxicas: um Risco Quase Invisível à Saúde Infantil. **Uniciências**, v. 21, n. 2, p.115-119, 6 nov. 2017.

POMPILHO, W. M.; MARCONDES, H. C.; OLIVEIRA, T. T. Bioatividade de três espécies vegetais nativas da Floresta Atlântica brasileira frente ao microcrustáceo Artemia salina. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 16, n. 3, p. 473-480, 2014.

RAJABI, S.; RAMAZANI, A.; HAMIDI M.; NAJI T. Artemia salina as a model organism in toxicity assessment of nanoparticles. **DARU Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 23, n. 1, p. 20, 2015.

RODRIGUES, V.E.G.; CARVALHO, D.A. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais do domínio do Cerrado na região do Alto Rio Grande – Minas Gerais. **Ciência Agrotécnica**, 25(1): 102-123, 2001.

SCHOLL, A. L.; RICARDO, K. R. Conhecimento popular sobre o uso de plantas medicinais. 2012. Disponível em: <[https://www.upplay.com.br/restrito/nepso2012/uploads/Educacao\\_Ambiental/Artigo/11\\_50\\_10\\_Artigo\\_-\\_Conhecimento\\_Popular\\_sobre\\_o\\_uso\\_de\\_plantas\\_medicinais.pdf](https://www.upplay.com.br/restrito/nepso2012/uploads/Educacao_Ambiental/Artigo/11_50_10_Artigo_-_Conhecimento_Popular_sobre_o_uso_de_plantas_medicinais.pdf)>. Acesso em 22 de março de 2018.

SILVA, Laís Raquel Rodrigues; ABREU, Maria Carolina de; FERREIRA, Paulo Michel Pinheiro; PACHECO, Ana Carolina Landim; CALOU, Iana Bantin Felício; CERQUEIRA, Gilberto Santos. Plantas Tóxicas: Conhecimento de populares para prevenção de acidentes. **RevInter Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v. 7, n. 2, p. 17-36, jun. 2014.

SILVA, S.L; NASCIMENTO, A.A; RIBEIRO, E.F.B; RIBEIRO, R.B; ALVEZ, C.M; SANTOS, A.M; BURMANN, A.P.R; MIRA NETO, R.A. Avaliação da toxicidade aguda pré-clínica do extrato metanólico das cascas do caule de *Parahancornia amapa* (Apocynaceae). **Acta Amazonica**, vol. 46 (1), 73 – 80, 2016.

WILLIAMSON, E.; DRIVER, S.; BAXTER, K. Interações medicamentosas de Stockley: plantas medicinais e medicamentos fitoterápicos. Porto Alegre: Artmed,440p. 2012.