

PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA DE *Sonchus oleraceus* E SUA TOXICIDADE SOBRE O MICROCRUSTÁCEO *Artemia salina*¹

Phytochemical Prospecting of Sonchus oleraceus and its toxicity to Artemia salina

LIMA, J.M.², SILVA, C.A.³, ROSA, M.B.⁴, SANTOS, J.B.⁵, OLIVEIRA, T.G.⁶ e SILVA, M.B.⁷

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, água e diclorometano, bem como 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, observaram-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 5.117,2 ppm, indicando ser um extrato de baixa toxicidade.

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

ABSTRACT - *Sonchus oleraceus* is a common weed in Brazil, also used as a medicinal plant. Phytochemical prospecting of this species was carried out in this work using extracts obtained in ethanol, water and dichloromethane. A toxicity study of the aqueous extract was also conducted, using the micro crustacean *Artemia salina*. The aqueous extract presented sugar reducers, phenolic compounds, tannins, flavonoids and coumarins in its composition. The compounds found in the aqueous extract were also detected in the ethanol extract, except for the coumarins. Saponin, triterpenes and steroids were identified in the dichloromethane extract. The toxicity test on *Artemia salina* pointed to aqueous extract fractions of 5,117.2 ppm, indicative of low toxicity.

Keywords: common sowthistle, phytochemistry, weeds, aqueous extract, toxicity.

INTRODUÇÃO

A planta daninha *Sonchus oleraceus* é conhecida popularmente como serralha, chicória-brava, serralha-lisa, ciúmo ou serralheira. É uma espécie frequente em muitas regiões agrícolas do mundo, infestando lavouras anuais e perenes (Fraga & 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; Cruz, 1982; Lorenzi, 2000).

O gênero *Sonchus* é constituído na sua maioria por plantas anuais, glabras, lactescentes, eretas e caule com 20 a 150 cm de altura. As folhas apresentam formato

¹ Recebido para publicação em 25.6.007 e na forma revisada em 18.2.2009.

² Farmacêutico Generalista, Pós-graduando em Farmacologia Clínica, Farmacêutico Diretor Técnico do Programa Farmácia de Minas em Ouro Verde de Minas, 39855-000 Ouro Verde de Minas-MG, <jadsonmatoslima@yahoo.com.br>; ³ Farm. Bioq. Industrial, M. Sc. Ciências Biológicas - Farmacologia, Professor Adjunto da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade Vale do Rio Doce, UNIVALE, 35030-390 Governador Valadares-MG, <benzoil@bol.com.br>; ⁴ Químico Industrial, Ph.D. em Ciências Naturais, Professor Adjunto da Universidade Federal do Pampa - UNIPAMPA, 96400-970 Bagé-RS, <mbdarosa@lancesm.ufsm.br>; ⁵ Eng^a-Agr^a, Pós-Doctor em Fitotecnia, Professor Adjunto da Faculdade de Ciências Agrárias da UFVJM, 3910-000 Diamantina-MG, <jbarbosa@ufvjm.edu.br>; ⁶ Farmacêutico, <tanncredopocrane@yahoo.com.br>; ⁷ Eng^a-Agr^a, D.Sc. em Fitopatologia, Professor Adjunto da Universidade Federal do Espírito Santo, 29.933-480 São Mateus-ES, <marcelobarreto@ceunes.ufes.br>.



variável, simples, rosulado basilares ou também inseridas ao longo da haste da planta, eventualmente aplexicaules, inteiras ou profundamente dentadas, pinatipartidas ou pinatilobadas. Inflorescência terminal racemosa e capítulos com flores hermafroditas de corola ligulada e amarela. Aquênio ovalado, cortado, encimado por abundante papo branco e piloso. As plantas desse gênero exsudam secreção leitosa, o que facilita sua identificação no campo (Aranha et al., 1982).

S. oleraceus é utilizada na medicina popular em várias regiões do Brasil, sendo considerada diurética e empregada contra anemia, astenia e como auxiliar no tratamento de problemas hepáticos (Correa et al., 1998). O decocto das folhas é antidesintérico e antidiarréico. O seu látex, em uso externo, cura terçóis (Vieira & Albuquerque, 1998). Na última década a serralha tem sido usada no combate ao vitiligo, sendo bastante difundida na região leste do Estado de Minas Gerais. 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).

Entre outras diversas plantas, presentes 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-vitamínicos A, quando comparadas às folhas de salsão e hortelã (Muradian et al., 2000). Com base em resultados obtidos por testes que avaliaram a capacidade de redução, anulação de radicais hidroxil e ensaios com DPPH, Jie Yin & Myeong (2007) concluíram que *S. oleraceus* tem ação efetiva como antioxidante, podendo, assim, ser utilizada como uma fonte natural de antioxidantes.

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 os objetivos de avaliar ou prever os efeitos

tóxicos nos sistemas biológicos e dimensionar a toxicidade relativa das substâncias (Forbes & Forbes, 1994). Muitos ensaios podem ser utilizados, como o ensaio de letalidade com o microcrustáceo *Artemia salina*, que foi desenvolvido para detectar compostos bioativos em extratos vegetais (Meyer et al., 1982).

Artemia salina é uma espécie de microcrustáceo da ordem Anostraca, utilizada neste trabalho como bioindicador de toxicidade causada por *S. oleraceus*. Esta espécie é utilizada em testes de citotoxicidade devido à sua capacidade de formar cistos dormentes, fornecendo desse 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. Os objetivos deste trabalho foram identificar as classes de compostos presentes em *S. oleraceus* e verificar seu efeito sobre *Artemia salina*.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram amostradas plantas de *Sonchus oleraceus* em estágio de pleno florescimento. Coletou-se material da parte aérea total da planta que se encontrava no estágio de florescimento. A coleta foi realizada em setembro de 2006 no horto do Campus II da Universidade Vale do Rio Doce – UNIVALE, em Governador Valadares-MG.

O material foi seco em estufa à temperatura de $40 \pm 0,5$ °C, sendo conservado ao abrigo da luz e umidade. Após a secagem, esse material foi triturado no moinho de martelos e submetido à extração por ultrassonicação 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 usada 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; esses procedimentos foram adaptados de método descrito por Sargenti & Vichnewski (2000).

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 *Artemia salina* foi realizada através da adaptação da metodologia de Meyer et al. (1982), preparando-se uma solução com sal marinho na concentração de 35 g L⁻¹. O pH foi ajustado entre 8,0 e 9,0, por meio de solução 0,1 mol L⁻¹ de NaOH. Esta solução foi utilizada para eclosão dos ovos de *Artemia salina* e no 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 serem testadas, nas seguintes concentrações do extrato aquoso: 0, 625, 1.250, 2.500, 5.000 e 10.000 mg L⁻¹. O ensaio foi realizado em triplicata de amostras, sendo a contagem dos animais mortos e vivos realizada após 24 horas.

Aos dados de porcentagem de larvas de *Artemia salina* mortas, em relação ao aumento da concentração do extrato aquoso de *Sonchus oleraceus*, ajustou-se uma equação linear simples, a qual foi utilizada

para estimar a concentração de extrato responsável por matar 50% das artemias – valor representativo da DL₅₀. Utilizou-se método gráfico de análise para obtenção da DL₅₀ (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 (K₂Cr₂O₇).

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. Esses dados contribuem para realização de estudos posteriores, para descoberta de novos princípios ativos na área da medicina curativa.

Quanto à fitotoxicidade em *Artemia salina*, visualizou-se DL₅₀ igual a 5.120 ppm do extrato, o que indica baixa toxicidade do extrato-teste (Figura 1). Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), são consideradas tóxicas

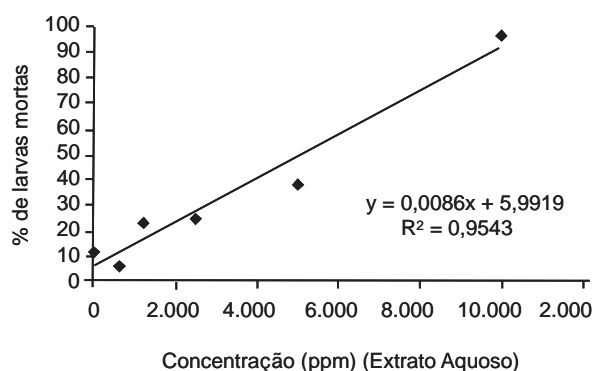


Figura 1 - Porcentagem de larvas de *Artemia salina* mortas em relação ao aumento da concentração do extrato aquoso de *Sonchus oleraceus*, evidenciada pelos pontos no gráfico. A DL₅₀ (dose letal do extrato para 50% da população) é observada em 5.117,2 ou 5.120 ppm do extrato.



Tabela 1 - Prospecção fitoquímica de *Sonchus oleraceus* 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)

Teste	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	-	-	-

substâncias que apresentam valores de DL_{50} abaixo de 1.000 ppm em *Artemia salina* (Meyer et al., 1982). O motivo que corrobora a observação da baixa toxicidade de *S. oleraceus* sobre *A. salina* é o fato de esta planta ser comumente utilizada na complementação da alimentação ou em substituição à alface na região leste do Estado de Minas Gerais.

Pode-se observar, por meio do bioensaio com *A. salina*, que, apesar da presença de compostos potencialmente tóxicos, como flavonóides, taninos e saponinas, entende-se que a concentração destes deva ser baixa, tendo em vista que o extrato avaliado apresentou alta DL_{50} , que é um indicativo de baixa toxicidade.

A atividade que leva à redução de radicais livres pode estar relacionada com a presença de flavonóides em *S. oleraceus*, segundo a própria prospecção fitoquímica (Tabela 1). Martínez-Florez (2002) relata que os flavonóides atuam na estabilização de espécies reativas de oxigênio por possuírem grupo de ortodi-hidroxi ou grupo catecol no anel B, o que confere maior estabilidade à forma radicalar.

A capacidade antioxidante dos flavonóides se relaciona à capacidade de deslocalização dos elétrons e ao fato de possuírem ligação dupla com a ligação 4-oxo, aumentando a deslocalização a partir do anel B, e/ou à presença de grupos hidroxila nas posições 3 e 5 com função oxo, que promovem a deslocalização eletrônica do grupo 4 oxo para esses dois substituintes. Assim, sua atividade antioxidante está apenas relacionada com o anel B, enquanto o restante da estrutura-base tem apenas uma pequena influência.

A capacidade de combater radicais livres – característica de alguns dos compostos presentes no extrato de *S. oleraceus* – sugere que essa planta possa ser utilizada no tratamento de doenças que tenham como causa a ação dos radicais livres. O vitiligo é uma das doenças que poderiam ser tratadas com *S. oleraceus*, pois, segundo Steiner et al. (2004), uma das possíveis causas dessa doença é o acúmulo desses compostos na pele.

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 antivítligo e outras ações medicinais, caracterizando melhor o potencial de uso de *S. oleraceus* na medicina homeopática.

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. et al. **Handbook in cytotoxicology**. Oxford: Blackwell Scientific Publication, 1993. v. 1. p. 1-5.

CORRÊA, A. D.; BATISTA, R. S.; QUINTAS, L. E. M. **Plantas medicinais – do cultivo à terapêutica**. 2.ed. Petrópolis: Vozes, 1998. 245 p.

CRUZ, G. L. **Dicionário de plantas úteis do Brasil**. Rio de Janeiro: Civilização Brasileira, 1982. p. 538.

FORBES, V. E.; FORBES, T. L. **Ecotoxicology in theory and practice**. Londres: Chapman and Hall, 1994. 247 p.

FRAGA, M. I.; TASENDE, M. G. Mechanisms of resistance to simazine in *Sonchus oleraceus*. **Weed Res.**, v. 43, p. 333-340, 2003.

JIE YIN, G. J. K.; MYEONG, H. W. The antioxidant and cytotoxic activities of *Sonchus oleraceus* L. extracts. **Nutr. Res. Practice**, v. 1, n. 3, p. 189-194, 2007.

LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil – terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas**. 3.ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2000. 608 p.

MARTÍNEZ-FLÓREZ, S. et al. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. **Nutr. Hosp.**, v. 17, n. 6, p. 271-278, 2002.

MEYER, B. N. et al. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta Médica**, v. 45, n. 1, p. 31-34, 1982.

MURADIAN, L. B. A.; VANDERLINDE, D. W.; SASAKI, R. Provitamin A activity of raw and cooked Brazilian leaves. **Ci. Tecnol. Aliment.**, v. 20, n. 2, p. 151-153, 2000.

PANIZZA, S. **Plantas que curam (cheiro do mato)**. 3.ed. São Paulo: IBRASA, 1998. 279 p.

SARGENTI, S. R.; VICHNEWSKI, W. Sonication and liquid chromatography as a rapid technique for extraction and fractionation of plant material. **Phytochem. Anal.**, v. 11, n. 2, p. 69-73, 2000.

SCHAFFER, S. et al. Antioxidant properties of mediterranean food plant extracts: geographical differences. **J. Physiol. Pharmacol.**, v. 56, supl., p. 115-124, 2005.

SIMÕES, C. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 2.ed. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2000. 1104 p.

STEINER, D. et al. Vitiligo. **An. Bras. Dermatol.**, v. 79, n. 3, p. 335-351, 2004.

VIEIRA, L. S.; ALBUQUERQUE, J. M. **Fitoterapia tropical – manual de plantas medicinais**. Belém: FCAP - Serviço e Documentação e Informação, 1998. 281 p.

