

Referências

- ¹ Barbosa WLR. Untersuchung brasilienischer Arzneipflanze *Cissus sicyoides* (C. verticillata). Tese de Doutorado, Universidade de Bonn, Alemanha, 1994
- ² Barbosa WLR. Abordagem Etnofarmacêutica de Cipó pucá (*C. verticillata*) na Comunidade do Tacajós, Santa Izabel do Pará -PA, 1996
- ² Abreu IN. Universidade de Lavras. Comunicação pessoal. Belém, Pará, 1996
- ³ Barbosa G, Oliveira M, Santos WRA Sasaki Y, Pinto LN, Quignard E, Barbosa WLR. Boll. Chim. Pharm., 138 (2), 294, 1999
- ⁴ Ali AA, Mohamed MH, Kamel MS, Fouad MA, Spring O. Pharmazie, 53 (3), 710-5, 1998

Determinação da atividade citotóxica a artemia de extratos de Annonaceae**Sergio Alexandre Frana*; Ivana Barbosa Suffredini**

Laboratório de Extração da Universidade Paulista
Av. Paulista 900, 1º andar, São Paulo, SP, Brasil
sergiofrana@unip-objetivo.br

A família das Annonaceae pertence à classe Magnoliopsida, subclasse Magnoliidae e ordem Magnoliales. Estima-se que existam entre 2.000 e 2.300 espécies^{1,2}, sendo a maior de sua Ordem¹. As espécies de Annonaceae são encontradas nos trópicos e são especialmente características de florestas sempre verdes de planícies em grande parte dos trópicos do velho mundo². No Brasil, encontram-se amplamente distribuídas.

O potencial farmacológico de espécies de Annonaceae é pouco conhecido, e segundo estudos recentes³, a pesquisa fitoquímica e farmacológica vem crescendo nos últimos 15 anos. Para este trabalho, foram coletadas 3 espécies que ocorrem na região Amazônica, nas proximidades de Manaus. Dessas espécies, foram obtidos 12 extratos orgânicos e aquosos que foram submetidos ao teste de letalidade da artêmia, como base para a identificação de extratos potencialmente citotóxicos às células tumorais humanas, *in vitro*. Os extratos mais ativos foram submetidos ao fracionamento biodirecionado, a fim de se identificar frações ou substâncias bioativas presentes. A coleta de material botânico foi feita de acordo com técnicas previamente descritas⁴. As três espécies de Annonaceae que se encontravam na fenofase reprodutiva ou que apresentavam caracteres vegetativos peculiares foram coletadas e identificadas pelo botânico Alexandre A. de Oliveira. As exsiccatas encontram-se depositadas no Herbário da UNIP.

Os extratos 1, 2, 5, 6, 10, 11 e 12 foram selecionados entre os 12 testados, para serem submetidos à verificação da DL₅₀. Os valores encontrados foram respectivamente 0,103; 0,184; 1,233; 1,233; 1,088, 0,477 mg/ml e para o extrato 12, não foi possível calcular a DL₅₀, segundo a análise de Finney. A partir dos resultados de DL₅₀, três extratos foram selecionados para serem submetidos ao fracionamento biodirecionado por terem apresentado valores de DL₅₀ inferiores a 500 mg/ml (extratos 1, 2 e 11). Os extratos 1, 2 e 11 foram fracionados com clorofórmio(A), acetona(B), metanol(C), hexano(D) e água(E), empregados subsequentemente. Os solventes foram evaporados e as frações 1A, 1B, 1C, 1D, 1E, 2A, 2B, 2C, 2D, 2E, 11A, 11B, 11C, 11D e 11E foram submetidas ao ensaio da letalidade da artêmia, seguindo o mesmo critério empregado para os extratos durante a primeira

fase dos testes.

As frações 1 A e 1B apresentaram valores relativos à DL₅₀ (28,3 mg/ml; 47,7 mg/ml, respectivamente) inferiores ao valor observado para o extrato 1 (103 mg/ml). Os resultados apresentados sugerem que as frações 1A e 1B são potencialmente mais ativas que o respectivo extrato bruto, o que sugere que possivelmente houve a concentração de substâncias letais à artêmia em tais frações, potencializando assim o efeito. A fração 2A, por outro lado, apresentou DL₅₀ (447 mg/ml) superior ao valor encontrado para o extrato 2 que lhe deu origem (184 mg/ml), sugerindo que a diminuição da atividade letal da fração em relação ao extrato provavelmente ocorreu devido à separação de substâncias que estavam agindo em sinergismo, no extrato 2. As outras frações não apresentaram valores significativos de DL₅₀ e não serão utilizadas em análises posteriores.

As frações ativas 1A e 1B foram fracionadas novamente e as frações geradas (1A.1, 1A.2, 1B.1, 1B.2, 2A.1 e 2A.2) foram cromatografadas e seus R_fs obtidos estão sendo avaliados a fim de elucidarmos os principais grupos de substâncias presentes⁷.

Material e Métodos

O material vegetal coletado foi separado em diferentes órgãos, e cada qual foi armazenado em sacos de algodão para o transporte até o laboratório. No laboratório, o material foi seco em estufa com circulação de ar, regulada a 40 °C. Após a secagem, as partes vegetais foram moídas em moinho de martelo, gerando pó com granulometria de 4 mesh (3/8"). O material em pó foi submetido à maceração por 24 h, utilizando-se uma mistura de diclorometano e metanol, na proporção (1:1). Após esse período, o macerado foi drenado, com auxílio de vácuo, para um balão de fundo chato. O material que restou no percolador foi seco e resubmetido à maceração, empregando-se água destilada como líquido extrator, por mais 24 h. Ambos os extratos obtidos foram concentrados: o orgânico por meio de evaporador rotatório e o aquoso, liofilizado.

Os extratos foram obtidos a partir de *Duguetia uniflora* (Dunal) Mart., e duas espécies não identificadas de *Guatteria*. *A. D. uniflora* originou seis extratos: 1- extrato orgânico da casca; 2-extrato orgânico do caule; 3-extrato orgânico da folha e lenho; 4-extrato aquoso da casca; 5-extrato aquoso do caule e 6-extrato aquoso da folha e lenho. *Guatteria* sp1 originou quatro extratos: 7-extrato orgânico do caule; 8-extrato orgânico da folha; 9-extrato aquoso do caule e 10-extrato aquoso da folha. *Guatteria* sp2 originou dois extratos: 11-extrato orgânico da folha e 12-extrato aquoso da folha.

O ensaio da letalidade da artêmia, descrito anteriormente⁵, foi realizado em duas etapas: (1) avaliação da resposta citotóxica dos extratos e frações em dose única de 1 mg/ml e (2) avaliação da DL₅₀ utilizando-se 3 doses inferiores à primeira, de 0,5; 0,1 e 0,02 mg/ml. Na primeira avaliação, os

extratos que mataram 50% ou mais das artêmias, após 24 h, foram selecionados para serem submetidos à DL₅₀, cuja avaliação é também feita após 24 h de exposição. O sulfato de vincristina foi utilizado como controle positivo e um tubo sem a presença de extrato como controle negativo. Os resultados foram analisados estatisticamente segundo análise proibito⁶.

Referências

- ¹ Cronquist, A. (1988) The Evolution and Classification of Flowering Plants. 2. ed. NYBG, 555p
- ² Heiwood, V.H. (1993) Flowering Plants Of The World. Updated Edition, New York: Oxford University Press, p. 30-31
- ³ Alali, F.Q., LIU, X.X., McLaughling, J.L. (1999) J. Nat. Prod. 62, 504-540
- ⁴ Younes, R.N., Varella, A.D., Suffredini, I.B. (2000) Acta Oncol. Bras. 20, 15-19
- ⁵ Meyer, B.N., Ferrigni, N.R., Putnam, J.E., Jacobsen, L.B., Nichols, D.E., McLaughling, J.L. (1982) Planta Med. 45, 31-34
- ⁶ Finney, D.J. (1971) Probit analysis. 3.ed. Cambridge: Cambridge University Press, 333p
- ⁷ Wagner, H., Bladt, S. (1996) Plant drug analysis. 2.ed. Berlin: Springer, 384p