



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM QUÍMICA – BACHARELADO**

**Francinara da Silva Alves**

**Estudo fitoquímico e avaliação de toxicidade dos extratos  
de *Furcraea cubensis* frente a *Artemia salina* Leach**

**João Pessoa-PB**

**2017**

**Francinara da Silva Alves**

**Estudo fitoquímico e avaliação de toxicidade dos extratos de  
*Furcraea cubensis* frente a *Artemia salina* Leach**

Trabalho de Conclusão de Curso,  
requisito parcial para obtenção do  
grau de Bacharel em Química,  
submetido ao Curso de Graduação  
em Química – Bacharelado da  
Universidade Federal da Paraíba.

**Orientador: Prof. Dr. Marçal de Queiroz Paulo**

**João Pessoa-PB**

**2017**

### Catálogo na publicação Seção de Catalogação e Classificação

A 474e Alves, Francinara da Silva.

Estudo fitoquímico e avaliação de toxicidade dos extratos de *Furcraea Cubensis* frente a *Artemia Salina* Leach / Francinara da Silva Alves. - João Pessoa, 2017.

41 f.

Orientação: Marçal Paulo.

Monografia (Graduação) - UFPB/CCEN.

1. Metabólitos secundários. 2. *Furcraea cubensis*. 3. Toxicidade. 4. *Artemia salina* Leach. I. Paulo, Marçal.

II. Título.

UFPB/CCEN

Francinara da Silva Alves

Estudo fitoquímico e avaliação de toxicidade dos extratos de  
*Furcraea cubensis* frente a *Artemia salina* Leach

Trabalho de Conclusão de Curso,  
requisito parcial para obtenção do  
grau de Bacharel em Química,  
submetido ao Curso de Graduação  
em Química – Bacharelado, da  
Universidade Federal da Paraíba.

Data de aprovação: 07/06/2017

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Marçal de Queiroz Paulo

  
\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Gabriela Fehn Fiss

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Fauston Fred da Silva

## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha avó Regina Maria Costa (*in memoriam*), aos meus pais e ao meu avô.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por essa conquista, pois em todos os momentos difíceis ele jamais me abandonou e sempre me deu forças para continuar e não me deixar desistir. A Nossa Senhora, que sempre me cobriu com seu manto divino.

A minha avó Regina (*in memorian*), que sempre foi meu exemplo de pessoa e desde sempre foi mais do que uma avó, e sim uma mãe. Obrigada por todo amor, carinho, paciência, e por sempre ter acreditado em mim mais do que qualquer pessoa, esse trabalho é inteiramente dedicado à senhora que sempre me apoiou e esteve ao meu lado.

Aos meus pais, Aurení e Francisco pela educação e amor que me deram, e por ter tanta paciência comigo durante essa caminhada acadêmica. Ao meu avô Antônio, que sempre foi um exemplo de garra e determinação.

Ao meu orientador Prof. Dr. Marçal de Queiroz Paulo, por em nenhum momento hesitar em me orientar, por seus valiosos conhecimentos e todo o apoio.

A minha irmã Ariely, tios e tias, primos e primas, por sempre acreditarem e torcerem por mim.

Ao Fernando e Marcílio, do Laboratório de Química de Produtos Naturais do DQ/UFPB, que me ajudaram na realização de alguns processos químicos aplicados a este trabalho.

A Bruno Abslão e Isabela Lira por me ajudaram e por estarem sempre comigo, apoiando e dando forças para continuar nessa caminhada.

E a todos os professores e colegas da UFPB que de alguma forma contribuíram para realização desse trabalho.

## RESUMO

As espécies vegetais, como as plantas medicinais, ornamentais e destinadas à alimentação, são também fontes de metabólitos secundários, substâncias orgânicas com propriedades farmacológica, toxicológicas e alimentícias que se prestam para as mais diversas finalidades. Desta forma, é um desafio isolar e determinar a estrutura destes compostos ativos, presentes nos extratos dessas plantas, considerando que um extrato de uma planta pode conter centenas ou milhares de metabólitos secundários que muitas vezes caracterizam a espécie vegetal. Por isso, a literatura sugere alguns métodos de extração desses compostos e o uso de vegetais para fins alimentícios e medicinais, requer a realização de testes de toxicidade para avaliar a segurança da mesma. O teste utilizando *Artemia salina* Leach é de baixo custo e fácil manipulação laboratorial, além de substituir testes *in vivo* com ratos, camundongos e coelhos. A *Furcraea cubensis* é uma planta da família agavaceae, que possui poucos estudos na literatura. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi realizar testes de identificação de metabólitos secundários e realizar teste de toxicidade frente *Artemia salina* a partir dos extratos de *Furcraea cubensis*. As classes dos metabólitos identificados foram saponinas, taninos e alcaloides. Nos testes de avaliação de toxicidade os extratos das folhas de *F. cubensis*, denominados de E1 e E2 foram considerados moderadamente tóxicos e E1 podendo apresentar atividade citotóxica, enquanto que o extrato E3 os resultados indicaram que é atóxico. Estes resultados de toxicidade são considerados importantes, pois de acordo com a literatura, a amostra testada se mostrou tóxica para *A. salina*, seus efeitos também serão os mesmos em humanos. Assim, os resultados indicam que o extrato E3, considerado atóxico, é composto por metabólitos com potencial para uso como fitoterápico.

**Palavras-chave:** Metabólitos secundários, *Furcraea cubensis*, toxicidade, *Artemia salina* Leach

## ABSTRACT

Plant species, such as medicinal plants, ornamental and for food, are also sources of secondary metabolites, organic substances with pharmacological, toxicological and nutritional properties that serve a wide range of purposes. Thus, it is a challenge to isolate and determine the structure of these active compounds present in the extracts of these plants, considering that an extract from a plant may contain hundreds or thousands of secondary metabolites that often characterize the plant species. Therefore, the literature suggests some methods of extraction of these compounds and the use of vegetables for food and medicinal purposes, requires the performance of toxicity tests to evaluate the safety of the same. The test using *Artemia salina* Leach is low cost and easy laboratory manipulation, in addition to replacing in vivo tests with rats, mice and rabbits. *Furcraea cubensis* is a plant of the family agavaceae, which has few studies in the literature. In this way, the objective of this work was to carry out tests of identification of secondary metabolites and to perform toxicity test against *Artemia salina* from the extracts of *Furcraea cubensis*. In this research, the classes of metabolites identified were saponins, tannins and alkaloids. In the toxicity evaluation tests, extracts from the leaves of *F. cubensis*, called E1 and E2, were considered moderately toxic and E1 could present cytotoxic activity, whereas extract E3 the results indicated that it is non-toxic. These toxicity results are considered important because, according to the literature, the sample tested proved to be toxic to *A. salina*, its effects will also be the same in humans. Thus, the results indicate that extract E3, considered nontoxic, is composed of methotolites with potential for use as a herbal remedy.

**Key words:** Secondary metabolites, *Furcraea cubensis*, toxicity, *Artemia salina* Leach

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 01</b>	Planta ornamental da família Agavaceae do gênero <i>Furcraea</i> cultivada em jardim público	14
<b>Figura 02</b>	Partes das folhas de <i>Furcraea cubensis</i> usadas no presente estudo fitoquímico e toxicológico	17
<b>Figura 03</b>	Esqueleto de saponinas esteroidal e triterpênica	20
<b>Figura 04</b>	Saponinas esteroidais isoladas do extrato de <i>Furcraea hexapetalana</i>	21
<b>Figura 05</b>	Estrutura base de tanino hidrolisável (esquerda) e tanino condensado (direita)	22
<b>Figura 06</b>	Estrutura molecular da cafeína, um dos metabólitos presentes nas espécies do gênero	23
<b>Figura 07</b>	Foto obtida em microscópio da <i>Artemia salina</i>	25
<b>Figura 08</b>	Sistema de aquário, iluminado e aeração para criação de <i>Artemia salina</i> Leach	32
<b>Figura 09</b>	Teste de espuma do extrato de <i>Furcraea cubensis</i> , tubo 1 (ao agitar), tubo 2 (após 15 min)	34
<b>Figura 10</b>	Perfil cromatográfico dos extratos de <i>Furcraea cubensis</i>	36

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 01</b>	Aplicações de bioensaios com <i>Artemia salina</i>	27
<b>Tabela 02</b>	Massas e rendimentos obtidos após os extratos secos	33
<b>Tabela 03</b>	Triagem fitoquímica realizada para o extrato etanólico de <i>Furcraea cubensis</i>	34
<b>Tabela 04</b>	Valores dos Rfs dos extratos de <i>Furcraea cubensis</i>	37
<b>Tabela 05</b>	Valores de <b>DL<sub>50</sub></b> ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) de extratos de <i>Furcraea cubensis</i> frente <i>Artemia salina</i>	37

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	12
2 OBJETIVOS .....	15
2.1 Objetivo Geral.....	15
2.2 Objetivos específicos.....	15
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	16
3.1 Propriedades e composição das espécies do gênero <i>Furcraea</i> .....	16
3.2 Extração .....	17
3.2.1 Maceração .....	18
3.2.2 Percolação .....	18
3.2.3 Soxhelt .....	18
3.3 Investigação fitoquímica .....	18
3.3.1 Saponinas .....	19
3.3.2 Taninos.....	21
3.3.3 Alcaloides.....	22
3.3.4 Flavonoides .....	23
3.4 Cromatografia em camada delgada .....	23
3.5 <i>Artemia salina</i> Leach .....	25
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	28
4.1 Coleta do material .....	28
4.2 Extrato vegetal .....	28
4.3 Determinação de umidade .....	28
4.4 Determinação do rendimento.....	29
4.5 Triagem fitoquímica.....	29
4.5.1 Identificação de saponinas .....	29
4.5.2 Identificação de Taninos .....	29
4.5.3 Identificação de Alcaloides .....	29
4.5.4 Identificação de Flavonoides.....	30

4.6 Cromatografia em camada delgada.....	30
4.7 Ensaio frente <i>Artemia salina</i> Leach.....	31
5 RESULTADOS .....	33
5.1 Determinação da umidade .....	33
5.2 Determinação dos rendimentos.....	33
5.3 Triagem fitoquímica.....	34
5.4 Cromatografia em camada delgada (CCD) .....	36
5.5 Toxicidade em artemia salina .....	37
6 CONCLUSÃO .....	39

# 1 INTRODUÇÃO

Durante séculos as plantas medicinais foram a única fonte de agentes terapêuticos para o homem. No início do século XIX, com o desenvolvimento da química farmacêutica, as plantas passaram a representar a primeira fonte de substâncias para o desenvolvimento de medicamentos (PINTO, M. A.).

A química de produtos naturais ou fitoquímica, tem como objetivo imediato o esclarecimento e registro dos constituintes, resultantes do metabolismo secundário das plantas, através dos métodos usados em laboratório para o isolamento e elucidação das estruturas moleculares, a partir dos processos de extração, fracionamento químico e separação cromatográfica.

A obtenção de compostos puros, a partir de um extrato vegetal pode ser um processo longo, caro e na sua grande maioria, necessitar de várias etapas incluindo normalmente a cromatografia de coluna (CC), cromatografia de camada delgada (CCD) ou cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Além de processos complexos e onerosos, ao final pode-se conseguir apenas quantidades pequenas e compostos de pouca importância em relação ao desejado e, além disso, o produto final pode ser instável.

Por tudo isso e pela diversidade de moléculas ativas nas plantas, o isolamento e a identificação do metabólito secundário representa um desafio para o químico, que pode associar ao isolamento e identificação as propriedades farmacológicas – ou seja, compostos bioativos. Tudo isso está, portanto, presente num extrato de uma determinada planta que pode conter centenas ou milhares de metabólitos secundários. Desta forma, o fitoquímico disponibiliza de vários métodos de extração e técnicas espectroscópicas e espectrométricas de identificação para realizar as pesquisas dos compostos orgânicos, oriundos dos vegetais.

Espécies vegetais são de grande importância para a indústria farmacêutica, usados para a produção de medicamentos fitoterápicos, a partir do isolamento e identificação de substâncias com ação farmacológica. A produção de fitoterápicos, considerando estas etapas de pesquisa e desenvolvimento (P&D) levam ao mercado farmacêutico produtos com ação terapêutica sinérgica (fitocomplexo), que também são, ainda, muito utilizados na indústria de cosmético, materiais de limpeza e de higiene (SILVEIRA et al., 2008). O uso de plantas para qualquer um dos fins citados

acima, exige a realização de ensaios de toxicidade para verificar a segurança nesta utilização. A maioria de experimentos que tem por objetivo testar a toxicidade dessas espécies vegetais, utilizam modelos baseados em testes com ratos ou camundongos em crescimento. No entanto, esse método apresenta grandes desvantagens como, a utilização de uma grande quantidade de amostra e um elevado custo (RIOS, 1995).

Dessa forma, e devido à realização de campanhas de redução e/ou eliminação do uso de animais em ensaios de laboratório, vem sendo estimulado o desenvolvimento de ensaios *in vitro* para determinar a possível toxicidade das plantas e seus produtos derivados (ANDRADE et al., 2002).

A utilização do microcrustáceo *Artemia salina* para realização desses testes é uma forma de substituir os ensaios *in vivo*, além de ser um método de fácil manipulação em laboratório e baixo custo econômico (HOFFMAN, 1993).

A família *agavaceae* compreende cerca de 20 gêneros e mais de 400 espécies de plantas, de herbáceas a árvores, distribuídas por todo o mundo tropical, porém possui uma maior incidência nas zonas áridas e quentes, como pode-se observar na Figura 1. As folhas estão dispostas em espiral, agrupadas em rosetas, e são normalmente estreitas, por vezes espinhosas na ponta, com frequência suculenta. Inclui muitas plantas de interesse ornamental, assim como fontes de fibras, resina, detergente e bebidas. As flores são em geral hermafroditas, o perianto com dois conjuntos de três peças indiferenciadas, agrupadas em inflorescências. O fruto pode ser uma cápsula ou baga (LERIAS, P et al, 2009).

Os gêneros *Agave* e *Furcraea* são os mais representativos da família *agavaceae*. O gênero *Agave* inclui plantas têxteis, tais como sisal (*Agave sisalana*), ornamentais e de produção de bebidas alcoólicas, como a tequila (*Agave tequilana*) e o mezcal (*Agave angustifolia*, *Agave salmiana*).



**Figura 1** - Planta ornamental da família Agavaceae do gênero *Furcraea* cultivada em jardim público

Fonte: americansouthwest.net.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Este trabalho tem como objetivo realizar uma prospecção sobre as classes de metabólitos secundários e avaliação da citotoxicidade frente *Artemia salina* Leach dos extratos de *Furcraea cubensis*.

### 2.2 Objetivos específicos

Os objetivos específicos são constituídos de cinco parâmetros:

- Preparar extratos aquoso, hidroetanólico e metanólico de folhas de *Furcraea cubensis*
- Determinar a umidade e a partir desta, o rendimento percentual dos extratos.
- Verificar a presença de saponinas, taninos, alcaloides e flavonoides no extrato hidroetanólico.
- Preparar uma partição líquido-líquido do extrato aquoso, utilizando n-butanol e analisar perfil cromatográfico dos extratos, pela técnica de cromatografia em camada delgada
- Realizar teste de toxicidade frente *Artemia salina* Leach dos extratos.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Propriedades e composição das espécies do gênero *Furcraea*

O gênero *Furcraea* compreende cerca de 20 espécies, que estão distribuídas principalmente na América Central, algumas delas são usadas como matéria-prima, utilizando a fibra extraída das folhas, conhecido como sisal, seu uso comercial é limitado a extração da fibra obtida da folha, para a produção de cordas, sacos e artesanato. Apenas 4% da lâmina corresponde à fibra que é utilizada para produção do sisal, os restantes 96% são sumos e fibras curtas que não são utilizados. Este baixo percentual faz com que as culturas não sejam rentáveis, desta forma, muitas das plantações foram abandonadas nas últimas décadas.

Entretanto, pesquisas realizadas nos últimos anos criaram novas expectativas para a utilização de planta desse gênero. No seu suco foram encontrados, compostos precursores de produtos hormonais, esteroides, ácidos graxos, açúcares, sulfatos e substâncias com atividade biopesticida. As plantas desse gênero são classificadas como xerófitas que se adaptaram para sobreviver em ambientes desérticos, com solos com baixo teor de nutrientes, incidência direta de vento seco e sol abundante (RIVAS C., 1996). Uma das plantas desse gênero é a *Furcraea cubensis* (Figura 2), que serve como alimento para os animais na cidade de Areia-PB, onde a planta foi coletada e posteriormente foi utilizada nesse trabalho.



**Figura 2** - Partes das folhas de *Furcraea cubensis* usadas no presente estudo fitoquímico e toxicológico

Fonte: Elaborada pelo autor

### **3.2 Extração**

A preparação dos extratos brutos das plantas é o ponto de partida na etapa de isolamento e purificação dos constituintes químicos presente das plantas. Para a escolha de um método extrativo, deve-se levar em conta, a eficiência, a estabilidade das substâncias extraídas, disponibilidade dos meios e o custo do processo escolhido, dependendo da finalidade do extrato que se quer preparar. Como a composição química das plantas é complexa, ocorre frequentemente a extração concomitante de vários tipos de substâncias, farmacologicamente ativas ou não. Portanto, deve-se primeiramente definir, com a maior precisão possível, o que se deseja obter. De acordo com essa definição e levando-se em consideração os fatores envolvidos no processo extrativo, pode-se escolher o método e o solvente que serão empregados.

O termo extração significa retirar, de forma mais seletiva e completa possível, as substâncias ou fração ativa contida em um material vegetal, utilizando, para isso, um líquido ou mistura de líquidos tecnologicamente apropriados e toxicologicamente seguros. As operações extrativas geralmente mais utilizadas são: a maceração,

percolação e Soxhelt, obtendo-se assim os chamados extratos brutos vegetais. (SIMOES O. et al, 2001)

### 3.2.1 Maceração

Consiste na extração da matéria-prima vegetal, realizada em recipiente fechado, em temperaturas variadas, durante um período prolongado de horas ou dias, sob agitação ocasional e sem renovação do líquido extrator. Pela sua natureza, não reduz ao esgotamento a matéria-prima vegetal, seja devido à saturação do líquido extrator ou ao estabelecimento de um equilíbrio difusional entre o meio extrator e o interior da célula. A utilização de água ou de misturas hidroalcoólicas, com concentrações etanólicas inferiores a 20%, deve ser evitada para evitar a ocorrência de proliferação microbiana (SIMOES, O. et al, 2001)

### 3.2.2 Percolação

Tem como característica comum a extração exaustiva das substâncias ativas. Nesta extração, o material vegetal moído é colocado em um recipiente cônico ou cilíndrico (percolador), de vidro ou metal, através do qual é passado o líquido extrator. Diferente da maceração, a percolação é uma operação dinâmica, indicada na extração de substâncias, farmacologicamente muito ativas, presente em pequenas quantidades ou pouco solúveis (SIMOES, O. et al, 2001)

### 3.2.3 Soxhelt

É utilizada, para extrair sólidos com solventes voláteis, exigindo o emprego do aparelho Soxhelt. Essa extração, em nível laboratorial, também não deixa de ser um tipo de percolação cíclica, com destilação simultânea e reaproveitamento do solvente. A desvantagem é que utiliza a temperatura. (SIMOES, O. et al, 2001).

## **3.3 Investigação fitoquímica**

A fitoquímica estuda cada grupo da planta, desde a sua estrutura química molecular até as propriedades biológicas, tendo como objetivo o esclarecimento e registro dos constituintes resultantes do metabolismo secundário dos vegetais, através do isolamento e conhecimento de suas estruturas moleculares. Além disso,

faz levantamentos e análises dos componentes químicos das plantas, como os princípios ativos, os odores, pigmentos, entre outros.

As plantas produzem uma larga e diversa ordem de componentes orgânicos divididos em metabólitos primários e secundários. Os metabólitos primários possuem função estrutural, plástica e de armazenamento de energia. Os metabólitos secundários aparentemente não possuem relação com crescimento e desenvolvimento da planta.

Os metabólitos secundários, por serem fatores de interação entre organismos, frequentemente, possuem atividades biológicas importantes, muitos são de grande valor comercial tanto na área farmacêutica quanto nas áreas alimentícias, agrônômica e cosmética, entre outras. Do ponto de vista farmacêutico, o maior interesse vem essencialmente do número elevado de substâncias farmacologicamente importantes (SIMÕES et al. 2001). Desta forma, despertam grande interesse, não só pelas atividades biológicas produzidas pelas plantas em resposta aos estímulos do meio ambiente, mas pela imensa atividade farmacológica desses compostos.

Os metabólitos secundários nas plantas, podem ser divididos em três grupos quimicamente distintos: terpenos, compostos fenólicos e componentes contendo nitrogênio.

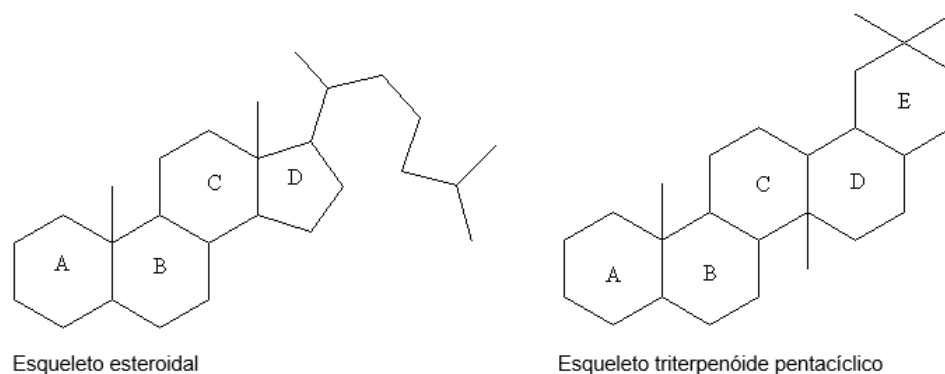
### 3.3.1 Saponinas

As saponinas são substâncias derivadas do metabolismo secundário das plantas, do grupo dos terpenos, relacionados, principalmente, com o sistema de defesa. Em solução aquosa, as saponinas formam uma espuma persistente e abundante. Essas atividades provem do fato de apresentarem em sua estrutura uma parte lipofílica denominada aglicona ou sapogenina e uma parte hidrofílica constituída por um ou mais açúcares (SCHENKEL et al., 2001).

São encontradas nos tecidos propícios a uma maior vulnerabilidade ao ataque fúngico, bacteriano ou predatório dos insetos, considerando-se parte do sistema da defesa das plantas e indicadas como “fitoprotetoras”. Tal atividade seria devido a interação com os esteróis da membrana. A espuma formada é estável à ação de ácidos minerais diluídos, diferenciando-se dos sabões comuns. Alguns dos compostos saponósidos desorganizam a membrana dos glóbulos vermelhos do

sangue, o que pode levar à hemólise. Dentre as atividades mais citadas, em relação as saponinas na literatura, destacam-se a atividade moluscicida, hemolítica, antiinflamatória, antifúngica, antimicrobiana, antiparasitária, antitumoral e antiviral. (SPARG et al, 2004). A capacidade da ligação de saponinas com esteróis, principalmente com o colesterol vem sendo o principal objeto de estudo, pois, atividades hipocolesterolemiantes são relatadas. O mecanismo é explicado pelo aumento da excreção do colesterol por formação de complexo com as saponinas administradas por via oral.

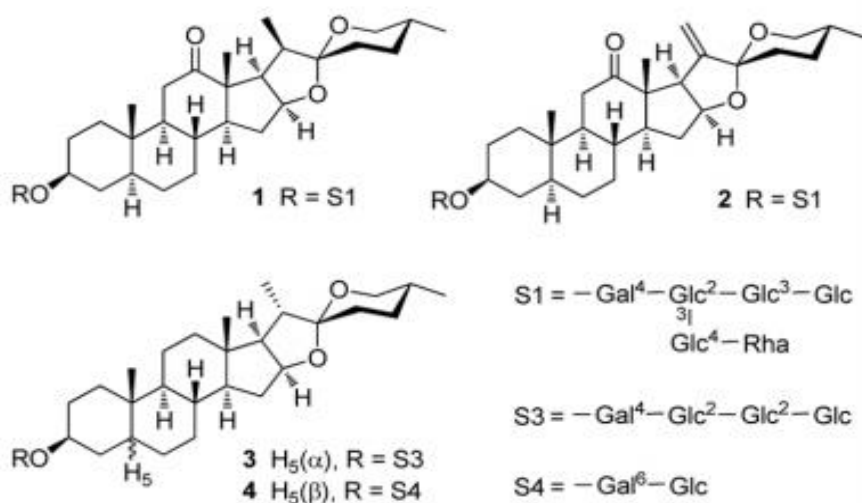
As saponinas esteroidais e triterpênicas (Figura 3) apresentam distribuição diferenciada no reino vegetal. As saponinas esteroidais neutras são encontradas quase que exclusivamente em monocotiledôneas, principalmente nas famílias Liliaceae, Dioscoreaceae e Agavaceae. Por suas propriedades surfactantes, são usadas na indústria na preparação de emulsões para filmes fotográficos e na indústria de cosméticos em batons e shampoo (CHEEKE, 1999). São usadas na indústria alimentícia como flavorizante e agente espumante



**Figura 3** - Esqueleto de saponinas esteroidal e triterpênica

Fonte: Elaborada pelo autor

Juan et al (2016) isolou, através de dados espectroscópicos obtidos por RMN, 17 tipos de saponinas esteroidais em extrato etanólico de *Furcraea Hexapetalana*, onde quatro foram isoladas pela primeira vez, denominadas de furcrossides A-D (1-4), conforme mostra Figura 4. Olga (2012), identificou duas saponinas, a tigogenina e hecogenina, no suco fresco e fermentado de *F. gigantea*.



**Figura 4** – Saponinas esteroidais isoladas do extrato de *Furcraea hexapetalana*

Fonte: Juan *et al*, 2016.

Salazar et al, utilizando extrato etanólico e clorofórmico de *Furcraea Macrophylla baker*, determinou a sua eficácia no controle da germinação de sementes de coentro, papunga e caruru. Esta pesquisa concluiu que a planta produz substâncias com efeito citotóxico, particularmente metabólitos polares, provavelmente saponinas e cumarinas, que os tornam potenciais bioerbicida.

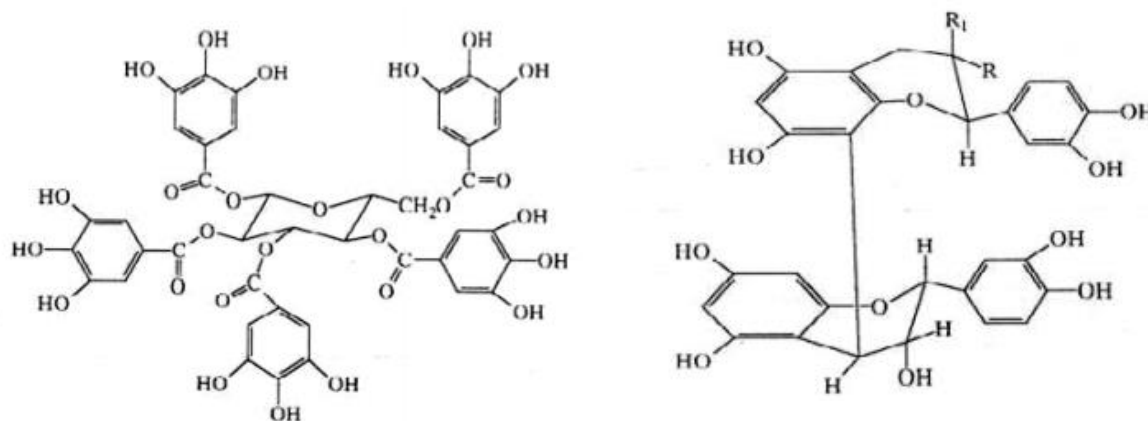
Itabashi et al, identificaram no extrato de *F. foetida* (L.) Haw, uma saponina esteroidal que diminui a viabilidade de mutação do gene p53, sendo uma molécula com potencial para o tratamento de câncer.

Devido aos relatos acima citados, comparado com outros metabólitos, a saponina é o metabólito secundário mais estudado dentro do gênero *Furcraea*.

### 3.3.2 Taninos

Os taninos são substâncias polifenóis naturais, hidrossolúveis e são divididos em dois grupos: taninos hidrolisáveis e taninos condensados (Figura 5). Os taninos hidrolisáveis consistem em ésteres de ácidos gálicos e ácidos elágicos glicosilados, formados a partir do chiquimato, onde os grupos hidroxila do açúcar são esterificados com os ácidos fenólicos. Os taninos condensados são polímeros de

flavan-3-ol e/ou flavan-3,4-diol, produtos do metabolismo do fenilpropanol (HELDT, 1997).



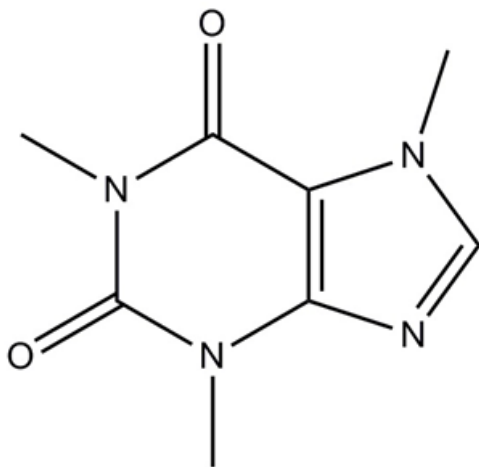
**Figura 5** - Estrutura base de tanino hidrolisável (esquerda) e tanino condensado(direita)

Fonte: NOZELLA, 2001

### 3.3.3 Alcaloides

Desde os tempos antigos que os alcaloides são utilizados como supostas poções mágicas, medicamentos e venenos. O nome alcaloide foi proposto por um farmacêutico em 1819 e essa terminologia aplica aos compostos de origem vegetal e que possuem propriedades alcalinas (básicas). Sua biossíntese ocorre através de um aminoácido e sua natureza básica tem origem devido a presença do nitrogênio em suas estruturas.

Os alcaloides possuem estruturas moleculares complexas (Figura 6) e atividade farmacológica importante. Estão presentes nas folhas, raízes e sementes das plantas pertencentes a certas famílias e dentro de cada família, a certos gêneros (GROS, G. et al,1985.). Os alcaloides mais conhecidos são: cocaína, nicotina, cafeína, morfina, entre outros.



**Figura 06** - Estrutura molecular da cafeína, um dos metabólitos presentes nas espécies do gênero.

Fonte: Elaborada pelo autor

#### 3.3.4 Flavonoides

Os flavonoides se caracterizam por ter um esqueleto de 15 carbonos (C6-C3-C6) e incluem substâncias coloridas e incolores. Sua função biológica é de atrair certos insetos, favorecendo, assim, a polinização, protegendo contra o ataque de outros insetos, as infecções por vírus. A sua ação farmacológica é bastante extensa e variada, conhecida pela sua ação contra a fragilidade capilar, diurética, antiedematosa, entre outras.

### 3.4 Cromatografia em camada delgada

Entre os métodos de análise de extratos de produtos naturais, a cromatografia possui um lugar de destaque, devido a sua eficiência em efetuar a separação, identificação e quantificação de espécies químicas, utilizando apenas essa técnica ou junto com outras técnicas instrumentais de análise. (COLLINS, 1990)

A cromatografia é um método físico-químico de separação dos componentes de uma mistura, que ocorre através da distribuição desses componentes em duas

fases que estão em contato. Um sistema cromatográfico é constituído pela fase estacionária e pela fase móvel, ambas relacionadas com a natureza das substâncias a separar. As separações cromatográficas são efetuadas conforme a distribuição diferencial dos componentes da mistura entre a fase estacionária e a fase móvel. A separação inicia-se quando um dos componentes apresenta maior afinidade pela fase estacionária desloca-se menos que o outro que tem tendência a deslocar-se com a fase móvel (ZUANON N, 2005). Existem diversas modalidades de cromatografia e uma delas é a cromatografia em camada delgada (CCD).

A CCD é a mais econômica e mais simples das técnicas cromatográficas, quando tem por objetivo a separação rápida e identificação visual. A cromatografia em camada delgada consiste na separação dos componentes de uma mistura através da migração diferencial sobre uma camada delgada de adsorvente retido sobre uma superfície plana. O processo de separação está fundamentado, principalmente, no fenômeno da adsorção. Nesse caso, a separação se dá pela diferença de afinidade dos componentes de uma mistura pela fase estacionária.

A escolha da fase móvel geralmente é constituída por um ou mais solventes. No entanto, uma vez que as fases estacionárias mais usadas são extremamente polares, não devem ser utilizados solventes pouco polares, que não removeriam os compostos do ponto de aplicação, nem solventes muito polares, capazes de arrastar os componentes da amostra até o topo da placa. Em vista disso, melhores resultados são obtidos com misturas de solventes, de modo a se obter uma polaridade média em relação à polaridade dos componentes da amostra.

Para essa técnica são necessários adsorventes como a sílica, suporte para o adsorvente usado em placas de vidro; aplicadores (capilares); cubas cromatográficas e revelador. A CCD é uma técnica utilizada para fins de análise tanto de extratos vegetais brutos quanto para avaliar um processo de separação.

A sílica é empregada na separação de compostos lipofílicos como ácidos graxos, aldeídos, aminoácidos, alcaloides, cetonas, fenóis, terpenóides e esteroides, utilizando o mecanismo de adsorção.

Muitos compostos podem ser visualizados através de luz ultravioleta, por se tornarem fluorescentes quando excitados por essas radiações. Quando as

substâncias não são fluorescentes, pode-se utilizar adsorventes impregnados com reagentes fluorescentes, e, neste caso, observamos manchas escuras contra fundo claro. Existem várias lâmpadas ultravioletas portáteis que emitem radiações a 254nm e 366nm, combinadas no mesmo equipamento ou isoladas.

O fator de retenção ou de retardamento ( $R_f$ ) pode ser calculado pela razão entre a distância percorrida pela substância ( $d_r$ ) e a distância percorrida pela fase móvel ( $d_m$ ) (COLLINS et al, 2006).

### 3.5 *Artemia salina* Leach

*Artemia salina* Leach (Figura 7) é um microcrustáceo marinho, pertence à subclasse Branchiopoda, ordem Anostraca, comumente conhecido por larva de camarão ou “nauplius”. Possui o tamanho e coloração variada, que vão do rosa-pálido ao avermelhado, branco ou esverdeado dependendo do seu tipo de alimentação. Apresenta dimorfismo sexual e atinge a fase adulta em 20 dias. Habitam em lagos e lagoas de água salgada, mares e tanques de água salina. Alimenta-se de microalgas, matéria orgânica e fungos (ALMEIDA, 1980).



**Figura 7** - Foto obtida em microscópio de *Artemia salina*

Fonte: [www.kribensis.kit.net](http://www.kribensis.kit.net)

Seu ciclo de vida tem início com a eclosão de cistos dormentes, os quais são embriões encapsulados metabolicamente inativos. Estes cistos podem ficar em estado de dormência por muitos anos, desde que fiquem em lugar seco, já que em contato com água salgada hidratam-se e reassumem seu desenvolvimento (BORTOLOTTI, 2007). Os cistos apresentam diâmetro médio de 250 µm, podem ser armazenados a seco, suportando o vácuo. Os náuplios recém-eclodidos possuem 450 µm de comprimento e uma *A. salina* adulta possui corpo alongado, medindo cerca de 10 mm de comprimento (IGARASHI 2008). É utilizado na alimentação de peixes e os ovos deste microcrustáceo podem ser facilmente adquiridos em lojas de animais marinhos.

O ensaio de toxicidade utilizando *A. salina* é um teste de baixo custo, rápido, eficiente e requer uma pequena quantidade de amostra, não requer métodos assépticos, nem a utilização de equipamentos especiais. A simplicidade desse teste favorece a sua utilização rotineira, podendo ser desenvolvido no próprio laboratório (SIQUEIRA et al., 1998).

Em geral este bioensaio detecta uma ampla faixa de atividades biológicas e uma diversidade de estruturas químicas. McLaughlin et al. (1998), relatam que este ensaio tem uma relação com a atividade citotóxica em alguns tumores humanos e levou à descoberta das acetogeninas em espécies vegetais da família das *Annonaceae*, como nova classe de agentes antitumorais ativos. Os pesquisadores observaram que os valores de ED<sub>50</sub> encontrados para citotoxicidade, em geral eram 1/10 dos valores de DL<sub>50</sub> encontrados nos testes realizados com *A. salina*, ou seja, significa que o teste pode ser utilizado como uma análise inicial do potencial citotóxico de novos compostos.

Uma das principais metodologias empregadas nos testes de *A. salina* para avaliação de extratos e frações de produtos naturais foi proposta por Meyer em 1982. Esta metodologia é uma das mais citadas e utilizadas para adaptações.

A *Artemia salina* já foi utilizada como bioensaio em vários estudos relatados na literatura, a Tabela 1 abaixo, mostra alguns desses estudos realizados.

**Tabela 1:** Aplicações de *Artemia salina* em bioensaios como modelo de avaliação de citotoxicidade

<b>Análises realizadas com aplicação de bioensio com <i>Artemia salina</i></b>	<b>Referências</b>
Toxicidade de águas correntes	HOLD et al.,1960
Toxicidade de fármacos	ROBINSON et al., 1965
Toxicidade de dispersantes do petróleo	ZILLIUOX et al., 1973
Toxicidade de extratos medicinais	MEYER et al., 1982
Toxicidade de compostos fenólicos em efluentes	GUERRA, 2001
Toxicidade de compostos anticoagulantes e seus produtos de degradação	OKAMURA <i>et al.</i> , 2009

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Coleta do material

As folhas de *Furcraea cubensis* utilizadas para o desenvolvimento dessa pesquisa foram coletadas no mês de janeiro de 2017, no município de Areia – Paraíba.

### 4.2 Extrato vegetal

Para obtenção dos extratos, as folhas de *Furcraea cubensis* foram lavadas, secas, pesadas e devidamente picadas.

Para o extrato aquoso (E1), foram utilizadas cerca de 500 g do material vegetal picado, que foi triturado em um liquidificador, juntamente com 500 mL de água destilada, por alguns minutos. Em seguida foi peneirado e filtrado, e levado a estufa por aproximadamente 12 horas à temperatura de 50° C, para obter o extrato seco.

Para o extrato hidroetanólico (E2) e metanólico (E3), foram utilizadas cerca de 500 g do material vegetal, que foi macerado em 1L(litro) de etanol 90% (e metanol para o E3), durante o período de 7 dias. Após esse período, os extratos foram filtrados e levados à estufa por aproximadamente 12 horas à temperatura de 50° C, para obter o extrato seco.

### 4.3 Determinação de umidade

Para determinação da umidade das folhas, foram utilizadas 100 g da folha, sendo, em seguida, levado à estufa com temperatura de 50 °C até atingirem peso constante. Decorrido esse tempo, calculou-se esta variável através da seguinte equação (CHAVES F; COSTA J, 2012):

$$\%U = (MF - MS) / MF \times 100$$

onde:

MF - massa do material fresco;

MS - massa do material seco

#### **4.4 Determinação do rendimento**

Para determinar o rendimento dos extratos, foi utilizada a seguinte equação (CHAVES F; COSTA J, 2012):

$$\% \text{Rendimento} = M1/M2 \times 100,$$

Onde:

M1 - massa do extrato seco;

M2 - massa do material fresco

#### **4.5 Triagem fitoquímica**

##### **4.5.1 Identificação de saponinas**

Foram transferidos aproximadamente 100 mg do extrato hidroetanólico seco para um tubo de ensaio, completando-se com 10 ml de água destilada, com posterior agitação por 15 segundos. O tubo permaneceu em repouso por 15 minutos.

##### **4.5.2 Identificação de Taninos**

Foram dissolvidos 50 mg de extrato seco em 5 mL de água destilada, filtrou-se e adicionou-se de uma a duas gotas de solução alcoólica de  $\text{FeCl}_3$  (Cloreto de ferro (III)) a 1%. Qualquer mudança na coloração ou formação de precipitado é indicativa de reação positiva, quando comparado com o teste em branco ( $\text{H}_2\text{O}$  + solução de  $\text{FeCl}_3$  a 1 %). Precipitado escuro de tonalidade azul indica presença de taninos hidrolisáveis e verde a presença de taninos condensados (BARBOSA, 2007).

##### **4.5.3 Identificação de Alcaloides**

Foram dissolvidos 8 mg da casca da *Furcraea Cubensis* em 2 mL de metanol, adicionando 2 ml de solução de HCl (ácido clorídrico) e aqueceu-se essa mistura por 10 min. Esperou-se esfriar e em seguida, filtrou-se, e foi adicionado algumas gotas do Reativo de Mayer no tubo. Havendo a formação de precipitado da cor branca no tubo de ensaio, então a planta possui a presença de alcaloide (OLIVEIRA, G).

#### 4.5.4 Identificação de Flavonoides

Foram dissolvidos 100 mg do extrato seco em 10 mL de metanol. Filtrou-se. Adicionaram-se cinco gotas de HCl concentrado e raspas de magnésio. O surgimento de uma coloração rósea na solução indica reação positiva (BARBOSA, 2007).

### 4.6 Cromatografia em camada delgada

Uma fração de E1 foi obtida através da partição líquido-líquido utilizando como solvente o n-butanol. Foi transferido 1g do extrato seco, solubilizado em 5 mL de H<sub>2</sub>O, em seguida foi adicionado 5 mL de butanol. Após uma leve agitação, houve a separação da fase butanol (E1B) da fase aquosa, utilizando um funil de separação.

Foi realizada uma análise através de cromatografia em camada delgada dos extratos E1, E1B, E2, E3. As amostras foram aplicadas com o auxílio de um capilar, na extremidade inferior de uma cromatoplaça de alumínio impregnada com sílica gel 60F254 (Merck). As fases móveis testadas foram metanol 100%, metanol:etanol (1:1), metanol:hexano(1:1), ácido acético:butanol(1:1). A fase móvel foi depositada na cuba cromatográfica de maneira a cobrir o fundo da cuba e até uma altura inferior àquela da linha de aplicação das amostras na placa. Em seguida, foi colocado papel de filtro nas paredes da cuba e esta foi tampada até a saturação. Após a saturação da cuba cromatográfica, a placa foi colocada na cuba e retirada quando o solvente atingiu a parte superior da placa. Em seguida, foi seca à temperatura ambiente e revelada sob luz ultravioleta (UV).

A revelação permite tornar visíveis substâncias incolores presentes na amostra em análise. As placas cromatográficas foram reveladas em luz ultravioleta ( $\lambda = 254 \text{ nm}$ ). A luz ultravioleta permite observar compostos que se tornam fluorescentes quando excitados pela radiação.

Os  $R_f$  foram calculados através da equação:

$$R_f = \frac{dr}{dm};$$

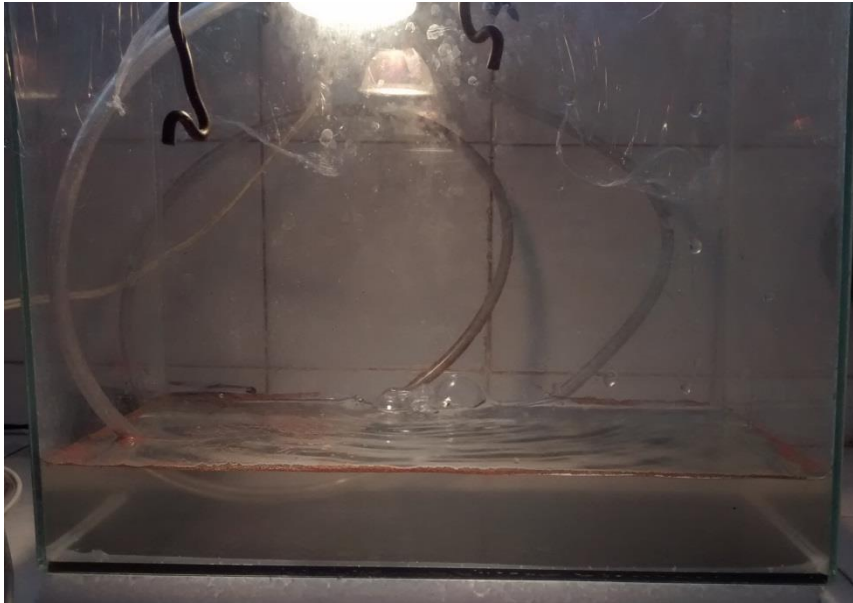
onde:

**dr**:distância percorrida pela substância;

**dm**:distância percorrida pela fase móvel .

#### **4.7 Ensaio frente *Artemia salina* Leach**

O ensaio de toxicidade sobre a *Artemia salina* foi conduzido segundo metodologia descrita por Meyer (1982), adaptada quanto à quantidade de ovos de *A. salina* para cada litro de solução salina e quanto às concentrações testadas. A solução marinha foi preparada utilizando-se sal marinho sintético e água destilada (38 g de sal / litro de água), sendo esta dividida em duas partes, uma para a eclosão dos ovos e a outra para a preparação das diluições das substâncias-teste, com pH variando entre 8-9. Em um litro de solução salina acondicionado em uma cuba de vidro foi adicionado aproximadamente 80 mg de ovos comerciais de *A. salina*, submetidos a um choque de luz com lâmpada de 100 W, até eclodir. O sistema foi mantido em temperatura ambiente e aerado com uso de aerador comercial para aquário, conforme segue Figura 8 abaixo.



**Figura 08** – Sistema de aquário iluminado e aeração para criação de *Artemia salina* Leach

Fonte: Elaborada pelo autor

Os extratos foram diluídos em 1 mL de solução de DMSO a 1% e para cada diluição foram montadas triplicatas, adicionando-se em cada frasco transparente de 10 mL, uma diluição dos extratos de *Furcraea cubensis* nas proporções 1000, 500, 250, 125, 62,5 mg. L<sup>-1</sup> e com auxílio de uma pipeta Pasteur, foram inseridas dez larvas de *A. salina* em sua fase náuplio. Os frascos foram mantidos por 24 horas em temperatura e iluminação ambientes e protegidos de poeira e insetos. Após tal período, foi realizada a leitura, considerando-se mortos aqueles microcrustáceos que não se movimentaram durante a observação e nem com a leve agitação do frasco.

A ação larvicida foi expressa em DL<sub>50</sub>, concentração letal capaz de matar 50% das larvas, com limite de confiança de 95%, por meio do método de regressão linear, através do gráfico da concentração das amostras versus a porcentagem de mortos, e determinados através da análise de probitos, usando programa Excel.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Determinação da umidade

A umidade foi de 92%, calculada conforme mostra seção 4.3, ou seja, um valor bastante elevado de H<sub>2</sub>O na planta. Retirando essa porcentagem de H<sub>2</sub>O do valor da massa de planta fresca (500 g), foi obtida a massa, sem a porcentagem de H<sub>2</sub>O, dos extratos que foi de 40 g. A partir dessa massa, foram efetuados os cálculos para determinar os rendimentos.

### 5.2 Determinação dos rendimentos

As massas obtidas após os extratos serem secos em estufa e seus respectivos rendimentos são mostrados na Tabela 2 abaixo. O melhor rendimento obtido foi da amostra E3, o extrato metanólico.

**Tabela 02:** Massas e rendimentos obtidos dos extratos secos de *Furcraea cubensis*

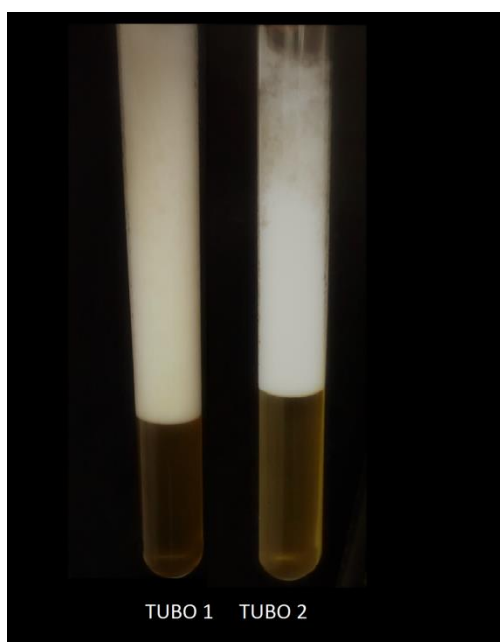
Extratos	Massa (g)	Rendimento (%)
E1	22	55
E2	26	65
E3	33	82,5

### 5.3 Triagem fitoquímica

Os resultados referentes à triagem fotoquímica do extrato hidroetanólico de *Furcraea cubensis*, encontram-se distribuídos na Tabela 3 e Figura 9.

**Tabela 3:** Triagem fitoquímica realizada sobre o extrato hidroetanólico de *Furcraea cubensis*

Classes de metabólitos secundários	Resultado
Saponina	Positivo
Tanino	Positivo
Alcaloide	Positivo
Flavonoide	Negativo



**Figura 9** - Teste de saponina para o extrato hidroetanólico de *Furcraea cubensis*, tubo 1 (ao agitar) e tubo 2 (após 15 min).

Fonte: Elaborada pelo autor

É necessário conhecer a composição química do extrato, utilizando testes qualitativos rápidos e de baixo custo que sugere as possíveis classes de metabólitos secundários de interesse farmacológico que estão presentes no extrato, para, então, poder escolher o melhor método para extrair esses metabólitos.

O teste para saponina é positivo quando há a formação de anel de espuma, com aproximadamente 1 a 2 cm (centímetros) de altura, e essa espuma permanece após transcorrer o tempo de repouso (Farmacopéia Brasileira, 2000 com modificações). A presença de saponinas é importante para a ação de drogas vegetais, destacando-se as tradicionalmente utilizadas como expectorantes e diuréticas. Entretanto, o mecanismo de ação dessas drogas não está bem elucidado. A atividade diurética é atribuída à irritação do epitélio renal causada pelas saponinas (SCHENKEL et al., 2001).

Os taninos têm como ações farmacológicas: antissépticos, antioxidantes, antídotos em intoxicação por metais pesados, cicatrizantes e antidiarreicos. A ação dos taninos como captadores de radicais livres, que ocorre em função da interceptação do oxigênio ativo formando radical estável, ajuda a prevenir várias doenças degenerativas como câncer, esclerose múltipla, aterosclerose e o próprio processo de envelhecimento (SIMÕES et.al, 2001).

Os alcaloides compreendem princípios ativos farmacológicos com diversas aplicações, a exemplo da apresentação de atividades antimalárica, analgésico, antitumorais e antimicrobianas.

Dentro deste contexto, a espécie *Furcraea cubensis* contém princípios ativos potenciais que, através de pesquisas, poderão ser usados, possivelmente, como medicamentos fitoterápicos. Para avaliar preliminarmente a toxicidade como a primeira etapa de segurança e as classes de compostos majoritárias presentes, foram realizados testes de avaliação de citotoxicidade e testes de caracterização das classes de metabólitos secundários presentes nos referidos extratos.

Salazar et al (2009), que realizou um estudo fitoquímico no extrato etanólico de *F. Macrophylla baker*, também identificou a presença dos mesmos metabólitos secundários identificados no extrato de *Furcraea cubensis*.

## 5.4 Cromatografia em camada delgada (CCD)

Nos testes de avaliação do perfil cromatográfico do extrato de *Furcraea cubensis* por cromatografia de camada delgada, a fase móvel mais eficiente para separar os constituintes do extrato foi ácido acético: butanol (1:1). Após revelação sob luz ultravioleta em comprimento de onda 365 nm, a placa de CCD apresentou manchas fluorescentes de coloração rósea e verde claro, como mostra a Figura 10 abaixo.



**Figura 10** - Perfil cromatográfico dos extratos de *Furcraea cubensis*

Fonte: Elaborada pelo autor

As análises cromatográficas das amostras demonstraram que os extratos E2 e E3 apresentaram perfis cromatográficos semelhantes, apresentando manchas características e Rfs próximos, conforme mostra Tabela 4 abaixo. O E1 apresentou uma mancha não bem definida, que pode ter sido ocasionada pela presença de clorofila no extrato, demonstrando a eficiência da extração com n-butanol (E1B) para remoção da clorofila da amostra. Na literatura, não existe valores de Rfs dessa classe de plantas.

**Tabela 04:** Valores dos Rfs dos extratos de *Furcraea cubensis*

Fator de Referencia	E1	E1B	E2	E3
Rf <sub>1</sub>	0,70	0,81	0,63	0,65
Rf <sub>2</sub>	-	-	0,81	0,81

## 5.5 Toxicidade em artemia salina

O ensaio de toxicidade frente ao microcrustáceo *A. salina* foi realizado com três extratos diferentes de *Furcraea cubensis*, E1, E2 e E3. Os resultados obtidos após 24 horas, são mostrados, conforme apresenta Tabela 5 abaixo.

**Tabela 05:** Valores de DL<sub>50</sub> ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) de extratos de *Furcraea cubensis* frente *Artemia salina*.

Extratos	DL <sub>50</sub> ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )
E1	730,118
E2	936,65
E3	>1000

DL<sub>50</sub>: Dose letal média

Conforme podemos observar na tabela acima, E1 e E2 apresentaram DL<sub>50</sub> abaixo de  $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$  e E3 acima de  $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ . Logo E1 é considerado moderadamente tóxico, E2 pouco tóxico e E3 é considerado atóxico. Segundo Meyer e seus colaboradores (1982) amostras que apresentam DL<sub>50</sub> >  $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$  são consideradas atóxicas e amostras que DL<sub>50</sub> <  $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$  são considerados tóxicas frente ao microcrustáceo *A. salina*. Dessa forma, E1 pode apresentar um potencial citotóxico, pois segundo McLaughlin et al. (1998), os ensaios com *artemia salina* tem relação com a atividade citotóxica.

Os resultados apresentados são considerados importantes, pois segundo Simões & de Almeida (2015), se a amostra testada se mostrou tóxica para *A. salina*, seus efeitos provavelmente serão os mesmos em humanos. Porém, Bose et al. (2011) relataram que, extratos vegetais tóxicos contra *A. salina* também podem apresentar potencial pesticida, antimicrobiano e antitumoral. Outras correlações utilizando o microcrustáceo *A. salina* já foram determinadas, como é o caso de bioensaios para determinação de atividades inseticidas (HARADA, 2009).

Como os extratos apresentaram baixa toxicidade frente *A. salina*, estudos mais aprofundados devem ser realizados, para um possível isolamento e extração de princípios ativos desta planta. Vale ressaltar que na literatura não foi encontrado nenhum tipo de teste de toxicidade de *Furcraea cubensis*.

## 6 CONCLUSÃO

A triagem fotoquímica dos extratos hidroetanólicos de *Furcraea cubensis* confirmou a presença de três classes de metabólitos secundários: saponina, tanino e alcaloide. Através de avaliações cromatográficas por CCD, registrou-se que os extratos hidroetanólicos de *Furcraea cubensis* apresentaram componentes majoritários com perfis cromatográficos bem parecidos com revelação em cores fluorescentes e valores de R<sub>f</sub>s bem próximos.

O bioensaio utilizando *Artemia salina*, como parâmetro para a avaliação da citotoxicidade geral mostrou-se bastante viável, rápido e de custo benefício factível. Nos testes *in vivo* com microcrustáceos de *A. salina*, os resultados foram reprodutíveis, confiáveis e se prestarão para obter as conclusões, sem a necessidade de técnicas assépticas, equipamentos ou treinamento especial.

A partir dos resultados, pode-se concluir que, os valores de DL<sub>50</sub> para E1 foram considerados moderadamente citotóxicos, indicando, assim, um possível potencial de citotoxicidade; E2 foi considerado pouco citotóxico e E3 foi considerado atóxico. Se a amostra testada se mostrou tóxica para *A. salina*, seus efeitos também serão os mesmos para os humanos. Este ensaio utilizando *A. salina* foi bastante importante para verificar a segurança de um possível isolamento e extração dos princípios ativos da *Furcraea cubensis*.

Estes resultados associados aos perfis cromatográficos dos extratos E1, E2 e E3, e a identificação das classes de saponinas, taninos e alcaloides, tornam importante o prosseguimento dos estudos fitoquímicos e toxicológicos mais aprofundados em relação à espécie estudada.

## REFERÊNCIAS

- 1 ALMEIDA, N. C. **Estudo sobre ecologia de Artemia salina**. São Paulo: Nobel, 1980.
- 2 ANDRADE, A.; PINTO, S. C.; OLIVEIRA, R. S. **Animais de Laboratório: criação e experimentação**. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2002
- 3 BARBOSA, W. L. R. **Manual para Análise Fitoquímica e Cromatográfica de Extratos Vegetais**; Belém – Pa: Revista Científica da UFPA, vol. 4, 2001. Disponível em <http://www.ufpa.br/rcientifica>. Acesso em: 11 de janeiro de 2017.
- 4 BORTOLOTTI, T. **Avaliação da atividade tóxica e genotóxica de percolados do aterro sanitário de Sombrio-SC, utilizando Artemia sp. e Allium cepa L.** 2007. 79 f. Trabalho de conclusão de curso (graduação em Ciências Biológicas) Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma.
- 5 BOSE, U.; et al. Antinociceptive, cytotoxic and antibacterial activities of *Cleome viscosa* leaves. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.21, n.1, p.165-169, 2011.
- 6 CHAVES, F.; COSTA, J. In: **Teor e rendimento de extrato das folhas de tres morfotipos de *arrabidaea chica* (bonpl.) b. verl. em função de adubação orgânica em Manaus**. II Congresso brasileiro de recursos genéticos. Belém, 2012.
- 7 CHEEKE, P. R. **Actual and potential applications of *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria* saponins in human and animal nutrition**. In: American Society of Animal Science, Indianapolis: ASAS, p.1-10, 1999.
- 8 COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P.S. **Introdução a Métodos Cromatográficos**, 4 a ed. revisada e ampl., Ed. da Unicamp, Campinas, 1990
- 9 COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Fundamentos de cromatografia**. Campinas: Editora da UNICAMP, p.453, 2006
- 10 FARMACOPÉIA BRASILEIRA. IV ed. Parte I. São Paulo: Atheneu, p.V2.14. – V2.14.4; V2.17.-V2.17.3, 1988.
- 11 GROS, G.; POLILIO, A.; et al. **Introduccion al estudio de los productos naturales**. Editora: Eva V. Chesneau, Buenos Aires,1985
- 12 GUERRA, R. **Ecotoxicological and chemical evaluation of phenolic compounds in industrial effluents**. Chemosphere, v. 44, p.1737 -1747,2001.
- 13 HARADA, T. N. **Correlação entre os ensaios de citotoxicidade em *Artemia salina* Leach e atividade antineoplásica sobre linhagens de células tumorais para algumas classes de produtos naturais**. 2009. 92 f. Dissertação (Mestrado em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2009.

- 14 HOLD, D. W. et al. **Measurement of toxicity of organic wastes to marine organism.** Journal Walter Pollution Control Federation, v 32, p 982, 1960.
- 15 HELDT, H. **Plant Biochemistry and Molecular Biology**, University Press: Oxford, 1997.
- 16 HOFFMAN, D. et al. **Handbook in cytotoxicology.** Oxford: Blackwell Scientific Publication, 1993. v. 1. p. 1-5.
- 17 IGARASHI, M. A. **Potencial econômico das Artemias produzidas em regiões salineiras do Rio Grande do Norte.** PUBVET, Londrina, V. 2, N. 31, 2008.
- 18 ITABASHI H.; SEGAWA K. et al. **Uma nova saponina esteróide bioativo, furcreastatin, a partir da planta foetida *Furcraea*.** Carbohydr Res [serial sobre a Internet]. Janeiro 1999 [cited 06 de maio de 2012]; 323 (1-4): 57-62. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0008621599002554> Acesso em: 20 de fevereiro de 2017
- 19 JUAN, C.; ANDY, J. P. et al. **Steroidal Saponins from *Furcraea hexapétala* Leaves and Their Phytotoxic Activity.** Journal of natural products, v. 79, p. 2903-2911, 2016.
- 20 LERIAS, P.; ESCUDEIRO, A. **Laços de Família: As Famílias dos Agades edos Aloés.** Jardim botânico. Museu nacional de história natural da Universidade de Lisboa. Disponível em <http://cercaldaeira.files.wordpress.com/2009/10/distribuivelagavefolha1.pdf> Acesso em: 24 de janeiro de 2017
- 21 MCLAUGHLIN, J. L.; ROGERS, L. L.; ANDERSON, J. E. **The Use of Biological Assays to Evaluate Botanicals,** Drug Information Journal 32: p.513-524, 1998
- 22 MEYER, B. N.; FERRIGNI, N. R.; PUTNAM, J. E. et al. **Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents.** Planta Medica, v. 45, n. 5, p.31-34, 1982.
- 23 NOZELLA, F. E. **Determinação de taninos em plantas com potencial forrageiro para ruminantes.** 2001. Dissertação ( Mestrado em Ciências), Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.
- 24 OKAMURA, H. et al. **Ecotoxicity of degradation products of triphenylborane pyridine(TBPB) antifouling agente.** Chemosphere, v.74. p. 1275-1278, 2009
- 25 OLGA, L. et al. **Cuantificación de Sapogeninas del Jugo Fresco y Fermentado de Figue (*Furcraea gigantea*) mediante Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC-PDA).** Inf tecnol. v 23, n 3, 2012
- 26 OLIVEIRA, G. et al. **Identificação de metabólitos secundários da casca da *bauhinia forficata platypetala* e *bauhinia unguiculata*.** IFPI.

- 27 PINTO, M. A. S. **Técnicas de sepração e identificação aplicadas a produtos naturais**. 2005. 34f. Bacharel em Química. Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina.
- 28 RIVAS, C.; SUCULENTAS, R. M. **Lankester Jardim Botânico**. 1<sup>a</sup> ed. Editorial Universidad Estatal a Distância. p. 88, 1996.
- 29 ROBINSON, A. B. et al. **Anesthesia of Artemia larvae- method for quantitative study**. Science, v .149, p. 1225, 1965
- 30 SALAZAR, L. O.; VALVERDE, F. A. et al. **Evaluación de extractos de fique, coquito, sorgo y ruda como posibles bio-herbicidas**. ACTA AGRON (PALMIRA), v. 58(2), p. 103-107,2009.
- 31 SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento** .3 ed. Porto Alegre: Ed. UFRGS/Ed. UFSC, 2001. cap.27, p.597-619.
- 32 SILVEIRA, P.F. et al., **Farmacovigilância e reações adversas às plantas medicinais e fitoterápicos: uma realidade**. Revista Brasileira de Farmacognosia, v.18, p.618-26, 2008.
- 33 SIMÕES, C. M. O.; SCHEKEL, E. P. et al, **Farmacognosia: da planta ao medicamento**, 5<sup>a</sup> edição, Porto Alegre/ Florianópolis, Ed. da UFRGS/ Ed. da UFSC, 2000.
- 34 SIQUEIRA, J. O.; CARNEIRO, M. A. C. et al. **Mycorrhizal colonization and mycotrophic growth of native woody species as related to sucessional groups in Southeastern Brazil**. For. Ecol. Manag., 107:241-252, 1998
- 35 SPARG, S. G.; LIGHT, M. E.; STADEN, J. **Biological activities and distribution of plant saponins**. Journal of Ethnopharmacology, n. 94, n. 2-3, p. 219–243, 2004.
- 36 ZILLIOUX, E. J. et al. **Using Artemia to assey oil dispensant toxicities**. Journal Water Pollution Control Federation, v 45, p 2389, 1973.
- 37 ZUANON, N. J.; CAZETTA, O. **Cromatografia plana**. Jaboticabal: Funep, 130p, 2005.