

DETERMINAÇÃO DA CITOTOXICIDADE DE EXTRATOS HIDROALCOÓLICOS DE PLANTAS DA FAMÍLIA LAMIACEAE E FABACEAE.

NIELLE VERSTEG¹; CRISTINE CIOATO DA SILVA²; CLAUDIA GIORDANI³;
KARINA AFFELDT GUTERRES⁴; CAROLINE BOHNEN DE MATOS⁵, MARLETE
BRUM CLEFF⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – nielle.versteg@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – criscioato@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – claarte@hotmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – gutierrez.karina@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – bohnencarol@hotmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas – marletecleff@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Os compostos químicos derivados de plantas vêm sendo utilizados para fins medicinais há muito tempo e, têm recebido atenção especial ao longo das últimas três décadas, por apresentarem-se como promissores agentes para prevenção e tratamento de diversas enfermidades (GORDALIZA et al., 2007; NEWMAN, 2008). Os extratos de *Origanum vulgare* e *Bauhinia forficata* apresentam diversos usos na medicina popular, atuando como antibacterianos, antifúngicos, desinfetantes, entre outras aplicações, que vem sendo comprovadas cientificamente (GIORDANI, 2013; SANTIN et al., 2014; GUTERRES, 2015).

Entretanto, mesmo com os avanços das pesquisas realizadas na área de fitoterapia, várias espécies de plantas ainda são utilizadas empiricamente, sem conhecimento do potencial tóxico (ALVIM et al., 2006; GIORDANI et al., 2016). Sendo assim, é importante que sejam realizados os testes de toxicidade, tendo em vista a aplicabilidade do uso das plantas, uma vez que a elevada toxicidade de alguns produtos vegetais poderá inviabilizar o seu uso com fins medicinais (BLANK, 2013). Nesse contexto, os testes toxicológicos *in vitro* servem como triagem para os testes *in vivo* com modelos experimentais e para os ensaios clínicos (BEDNARCZUK et al., 2010).

Frente ao exposto, o objetivo do trabalho foi avaliar a toxicidade *in vitro* dos extratos hidroalcoólicos de plantas da família Lamiaceae e Fabaceae em células de rim bovino.

2. METODOLOGIA

As folhas secas de *Origanum vulgare* (Lamiaceae) e *Bauhinia forficata* (Fabaceae) foram trituradas para preparação das tinturas a 10% em álcool de cereais 70%, e armazenadas por sete dias, protegidas da luz. Após, as tinturas foram filtradas, reconstituídas ao volume inicial com álcool de cereais 70%, e levadas para rotaevaporação a vácuo, sendo posteriormente restituído o volume inicial com água destilada estéril, obtendo-se assim os extratos hidroalcoólicos (SCHIEDECK et al., 2008). A linhagem celular Mandin Darby Bovine Kidney (MDBK) foi gentilmente cedida pelo Laboratório de Virologia – UFPEL.

Para os testes, as células foram semeadas em placas de 96 poços, onde foram adicionados os extratos em triplicata, nas seguintes concentrações (mg.mL^{-1}): 6,25, 3,12, 1,56, 0,78, 0,39, 0,19, 0,09, 0,04 e 0,02.

A viabilidade celular foi avaliada após 24 e 48 horas de incubação, a 37°C com 5% de CO_2 , utilizando o ensaio MTT e leitura em espectrofotômetro (540nm) (MOSMANN, 1983). Células tratadas com MEM (meio essencial mínimo) foram usadas como controle. As concentrações do extrato foram classificadas de acordo com Mahmoud et al. (2011), sendo considerada citotoxicidade alta, quando a viabilidade celular estiver entre 1 e 50%; moderada se a viabilidade ficar entre 51 e 75% e baixa, quando a viabilidade celular estiver entre 75 e 100%.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos nos testes de toxicidade, nas diferentes concentrações dos extratos estão demonstrados na Tabela 1. Quando comparados os dois extratos, *B. forficata* mostrou-se menos tóxico, pois apresentou maior número de concentrações de baixa toxicidade para as células.

Tabela 1. Porcentagem média de viabilidade celular da linhagem MDBK expostas às concentrações dos extratos de *O. vulgare* e *B. forficata*, em 24 e 48 horas de tratamento.

Extrato/Tempo	Concentrações (mg mL^{-1})								
	6,25	3,12	1,56	0,78	0,39	0,19	0,09	0,04	0,02
OV/24	44	41	36	83	96	100	100	100	99
OV/48	23	22	21	79	94	98	100	100	93
BF/24	75	95	98	100	99	94	95	92	91
BF/48	48	98	86	96	95	93	91	92	86

*OV/24=*Origanum vulgare* com 24 horas de tratamento; OV/48=*Origanum vulgare* com 48 horas de tratamento; BF/24=*Bauhinia forficata* com 24 horas de tratamento; BF/48=*Bauhinia forficata* com 48 horas de tratamento. Números em linhas: percentual de viabilidade celular após exposição aos extratos em 24 e 48hs.

A toxicidade dos extratos avaliados se mostrou proporcional à concentração testada, ou seja, quanto menor a concentração, menor a toxicidade, sendo que nas concentrações de 0,78 a $0,02 \text{ mg.mL}^{-1}$ a toxicidade dos dois extratos foi considerada baixa. Já nas concentrações de 6,25 a $1,56 \text{ mg.mL}^{-1}$ o extrato de *O. vulgare* apresentou alta toxicidade e o extrato de *B. forficata* demonstrou toxicidade de moderada a alta.

A citotoxicidade do extrato hidroalcoólico de orégano observada no presente estudo corrobora com Blanck et al. (2013), que avaliaram a citotoxicidade dos extratos aquosos e etanólico de *O. vulgare* frente a células renais de felino (CRFK), canino (MDCK), bovino (MDBK) e coelho (RK), demonstrando que em concentrações a partir de $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ os extratos aquosos de orégano não comprometeram as células, obtendo viabilidade de 100%.

O extrato hidroalcoólico de *O. vulgare* se apresentou mais tóxico em células MDBK após 48 horas de tratamento, sendo esta diferença mais notável nas três primeiras concentrações ($6,25$ a $1,56 \text{ mg mL}^{-1}$). Porém, esse extrato

apresentou viabilidade celular de 100% nas quatro concentrações mais baixas (0,19 a 0,02 mg mL⁻¹) em 24 horas de tratamento e nas concentrações 0,09 e 0,04 mg mL⁻¹ em 48 horas de tratamento.

Já o extrato hidroalcoólico de *B. forficata* demonstrou toxicidade semelhante em 24 e em 48 horas, com exceção da maior concentração (6,25 mg mL⁻¹), assim como foi observado por Miceli e colaboradores (2015), com estudo em linfócitos humanos. Esses autores relataram também que o uso do extrato foi seguro em testes *in vivo* (*Artemia salina*), não sendo letal mesmo em concentrações elevadas (dose letal > 1000 µg mL⁻¹) (MICELI et al., 2015).

Apesar de não ter sido determinada a composição química dos extratos estudados, a literatura aponta os extratos de plantas medicinais como fontes ricas em compostos antioxidantes, como flavonóides, taninos e polifenóis (MORAIS et al., 2009). Dessa forma, a citotoxicidade dos extratos pode ser explicada pela presença dessas substâncias em sua composição, que podem promover uma ação protetiva às células, devido ao seu potencial antioxidante. Fatores como o tipo celular utilizado para a avaliação dos extratos, o tipo de solvente utilizado para a extração e a composição química dos extratos estudados, certamente influenciam na sua atividade biológica (LIMA & CARDOSO, 2007). Mesmo assim, diante dos resultados obtidos e dos trabalhos realizados por outros autores, é possível perceber que as plantas avaliadas apresentam baixa citotoxicidade.

4. CONCLUSÕES

Assim concluímos que, o extrato hidroalcoólico de *B. forficata* foi menos tóxico que o *O. vulgare*, em células MDBK, e que ambos apresentaram baixa toxicidade nas concentrações de 0,39 a 0,02 mg mL⁻¹, sendo necessários estudos complementares para assegurar a utilização destes como fármacos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVIM, N.A.T. et al. O uso de plantas medicinais como recurso terapêutico: das influências da formação profissional às implicações éticas e legais de sua aplicabilidade como extensão da prática de cuidar realizada pela enfermeira. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, v.14, n.3, 2006.

BEDNARCZUK, V.O.; VERDAM, M.C.S.; MIGUEL, M.D.; MIGUEL, O.G. Teste *in vitro* e *in vivo* utilizados na triagem toxicológica de produtos naturais. **Visão Acadêmica**, v.11, n.2, p.43-50, 2010;

BLANK, D. **Investigação da citotoxicidade e atividade anti-viral dos extratos de plantas da família Lamiaceae**. 2013. 84f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Química, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas;

GIORDANI, C. **Investigação de plantas medicinais e tóxicas em Pelotas-RS e determinação da atividade antifúngica frente à *Malassezia pachydermatis***. 2013. 26f. Dissertação (Mestrado em Clínica Veterinária) - Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas;

GIORDANI, C.; MATOS, C.B.; GUTERRES, K.A.; SILVA, C.C.; SANTIN, R.; SCHUCH, L.F.D.; CLEFF, M.B. Plantas com potencial medicinal e tóxico em comunidade atendida pelo Ambulatório Veterinário-UFPEL. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 23, n. 3-4, p. 126-132, 2016.

GORDALIZA, M. Natural products as leads to anticancer drugs. **Clinical and Translational Oncology**, v.9, p.767-776, 2007;



GUTERRES, K. A. **Microrganismos de lesões cutâneas de pequenos animais: Resistência a antimicrobianos e bioprospecção de extratos de plantas da família Lamiaceae e Fabaceae.** 2015. 97f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas;

LIMA, R.K.; CARDOSO, M.G. Família Lamiaceae: importantes óleos essenciais com ação biológica e antioxidante. **Revista Fitos**, v.3, n.3, 2007.

MAHMOUD, T.S.; MARQUES, M.R.; PESSOA, C.O.; LOTUFO, L.V.C.; MAGALHÃES, H.I.F; MORAES, M.O.; LIMA, D.P.; TININIS, A.G.; OLIVEIRA, J.E. *In vitro* cytotoxic activity of Brazilian. **Rev. bras. farmacog.**, v.21, n.3, p.456-464, 2011.

MICELI, N.; BUONGIORNO, L.P.; CELI, M.G.; CACCIOLA, F.; DUGO, P.; DONATO, P; MONDELLO, L.; BONACCORSI, I.; TAVIANO, M.F. Role of the flavonoid-rich fraction in the antioxidant and cytotoxic activities of *Bauhinia forficata* Link. (Fabaceae) leaves extract. **Natural Product Research**, 2015.

MORAIS, S. M.; CAVALCANTI, E. S. B.; COSTA, S. M.O.; AGUIAR, L. A. Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, 19, 315–320, 2009

NEWMAN, D.J. Natural products as leads to potential drugs: an old process or the new hope for drug discovery? **Journal of Medicinal Chemistry**, v.51, p.2589-2599, 2008;

SANTIN, R. et al. Atividade antifúngica do óleo essencial de *Origanum vulgare* frente a *Malassezia pachydermatis*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.66, n.2, p.367-373, 2014.

SCHIEDECK, G.; BEVILAQUA, G.A.P.; NACHTIGAL, G.F.; BAUER, M.V.L. Método de preparo de tintura de plantas bioativas para fins agrícolas. **Comunicado técnico-EMBRAPA**, n.190, 2008.