



MINISTERIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ DO PAUÍ
CAMPUS SENADOR HELVÍDIO NUNES DE BARROS
Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas



GABRIELE DE SOUSA MENESES

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DOS EXTRATOS ETANÓLICOS DE *Turnera
ulmifolia* L. ATRAVÉS DO BIOENSAIO DE LETALIDADE FRENTE AO
MICROCRUSTÁCEO *Artemia salina* Leach.**

PICOS – PI
JULHO DE 2016

GABRIELE DE SOUSA MENESES

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DOS EXTRATOS ETANÓLICOS DE *Turnera
ulmifolia* L. ATRAVÉS DO BIOENSAIO DE LETALIDADE FRENTE AO
MICROCRUSTÁCEO *Artemia salina* Leach.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Piauí, Campus Senador Helvídio Nunes de Barros, como requisito parcial obrigatório para obtenção do grau de licenciamento em ciências biológicas.

Orientador (a): Dra. Marcia Maria Mendes Marques Duque

PICOS – PI
JULHO DE 2016.

FICHA CATALOGRÁFICA
Serviço de Processamento Técnico da Universidade Federal do Piauí
Biblioteca José Albano de Macêdo

M543a Meneses, Gabriele de Sousa

Avaliação da toxicidade dos extratos etanólicos de *Turnera ulmifolia*
L. através do bioensaio de letalidade frente ao microcrustáceo *Artemia*
salina Leach / Gabriele de Sousa Meneses.– 2016.

CD-ROM : il.; 4 ¾ pol. (33 f.)

Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Licenciatura Plena em
Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Piauí, Picos, 2017.

Orientador(A): Prof^a. Dra. Márcia Maria Mendes Marques Duque

1. Plantas Medicinais. 2.Compostos Bioativos. 3.Chanana. I.
Título.

CDD 581.634

GABRIELE DE SOUSA MENESES

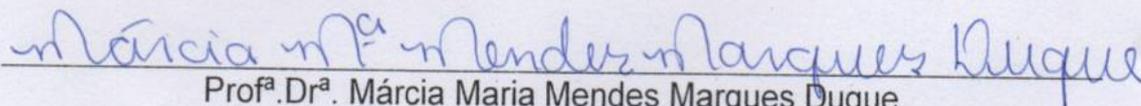
**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DOS EXTRATOS ETANÓLICOS DE *Turnera
ulmifolia* L. ATRAVÉS DO BIOENSAIO DE LETALIDADE FRENTE AO
MICROCRUSTÁCEO *Artemia salina* Leach.**

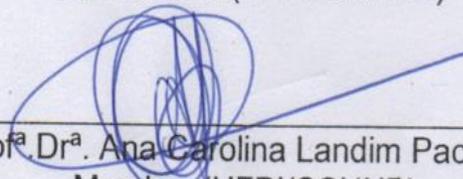
Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Piauí, Campus Senador Helvídio Nunes de Barros, como requisito parcial obrigatório para obtenção do grau de licenciamento em ciências biológicas.

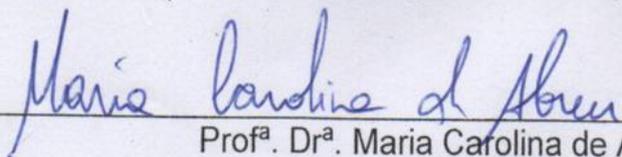
Orientador (a): Dra. Marcia Maria Mendes Marques Duque

Aprovado em 29 / 08 / 2016

BANCA EXAMINADORA:


Prof^a.Dr^a. Márcia Maria Mendes Marques Duque
Orientadora (UFPI/CSHNB)


Prof^a.Dr^a. Ana Carolina Landim Pacheco
Membro (UFPI/CSHNB)


Prof^a. Dr^a. Maria Carolina de Abreu
Membro (UFPI/CSHNB)

AGRADECIMENTOS

Quero agradecer primeiramente a Deus que me concedeu o dom da vida, que me deu forças para continuar focada, por ser meu refúgio e fortaleza em todos os momentos, por me ajudar a superar todas as dificuldades durante essa minha trajetória.

Agradeço aos meus pais Rosilene Sousa e Agostinho Meneses por tornarem o meu sonho possível, enfrentando as dificuldades, abdicando dos seus sonhos em prol dos meus, vocês são os alicerces sustentadores da edificação da minha vida, a vocês meu eterno amor, respeito e gratidão.

Ao meu irmão Marcelo Augusto e meu sobrinho Pedro Enzo crianças da minha vida, por tornarem os meus dias mais coloridos... amo vocês. Ao meu avô Gabriel Meneses grande pilar da família Meneses que sempre me ajudou e é símbolo de humildade e caráter; a minha madrinha Francisca por ter cuidado de mim com imenso amor e dedicação. Agradeço a minha amiga Patrícia Silva por sua amizade que significa muito pra mim, por sempre estar ao meu lado, torcendo e me incentivando, amiga você é um anjo que Deus colocou em minha vida. A toda minha família que sempre me apoia e torce por mim, contribuindo de forma significativa para esta vitória.

Agradeço aos mestres que contribuíram muito para a minha formação acadêmica, em especial a minha super orientadora Márcia Maria Marques que aceitou esse desafio, e que se dedicou e acreditou totalmente em mim neste momento marcante da minha formação, e por ter contribuído para o meu crescimento acadêmico, a você professora a minha eterna admiração, respeito e gratidão.

Agradeço aos meus colegas de curso por terem tornado essa caminhada menos árdua, sempre dispostos a ajudar quando fosse preciso, nos tornamos uma família, e é isso que vai ficar, a cada um de vocês o meu carinho e amor.

A todos o meu muito obrigada!

“Quando o homem aprender a respeitar até o menor ser da criação, seja animal ou vegetal, ninguém precisará ensiná-lo a amar seus semelhantes.”

(Albert Schweitzer)

RESUMO

Os produtos naturais sempre exerceram importante papel na medicina popular, sendo bastante utilizadas para o tratamento de diversas patologias, e em especial destacam-se as plantas medicinais, que são fontes de compostos bioativos com grande importância biológica e/ou farmacológica. No entanto, muitas plantas medicinais não têm sua eficácia e segurança garantida cientificamente, isto torna o seu consumo um risco à saúde, visto que muitas apresentam substâncias que podem ser tóxicas. Diante disto, o presente estudo objetivou verificar a toxicidade dos extratos de folhas e raízes de *Turnera ulmifolia* L. (chanana) utilizando o bioensaio de letalidade frente ao microcrustáceo *Artemia salina* Leach. Os extratos foram testados em diferentes concentrações, 1000, 500, 250, 125, 62, 32 $\mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$ obtidas por diluições seriadas, onde foram adicionadas 10 náuplios (estágio larval da *Artemia*) que ficaram expostos aos extratos durante 24 horas. Após esse período, foi realizada a contagem de vivos e mortos. A CL_{50} foi determinada a partir da reta regressão linear obtida da correlação entre a porcentagem de indivíduos mortos e a concentração dos extratos. Os resultados mostraram que os extratos de *T. ulmifolia* apresentam toxicidade moderada frente a *A. salina*, visto que o extrato das folhas apresentou CL_{50} igual a 253 $\mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$ e o extrato das raízes CL_{50} igual a 229,7 $\mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$. O emprego do bioensaio frente a *A. salina* de extratos vegetais apresenta resultados rápidos e relevantes, bem como demonstra que os extratos de *T. ulmifolia* apresentam compostos bioativos.

Palavras-chave: Plantas medicinais, chanana, compostos bioativos.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: A planta <i>Turnera ulmifolia</i> L. “Chanana”	17
Figura 2: <i>Artemia salina</i> em (A) estágio larval (náuplio aumento 100x) e (B) cistos e náuplios	18
Figura 3: Fluxograma do preparo e execução do teste de toxicidade com <i>Artemia salina</i> Leach	22
Figura 4: Exposição dos náuplios aos extratos de folhas A; e raízes em B	23
Figura 5: Reta de regressão obtida da correlação entre % mortalidade de <i>A. salina</i> versus a concentração do extrato etanólico das raízes de <i>T. ulmifolia</i> (24 horas)	25
Figura 6: Reta de regressão obtida da correlação entre % mortalidade de <i>A. salina</i> versus a concentração do extrato etanólico das folhas de <i>T. ulmifolia</i> (24 horas)	25

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Porcentagem de náuplios mortos de <i>A. salina</i> frente à concentração dos extratos de <i>T. ulmifolia</i>	24
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS

OMS - Organização Mundial da Saúde

SINITOX- Sistema Nacional de Informações Toxicológicas

APG- Angiosperm Phylogeny Group

CL₅₀- Concentração Letal para matar 50% de uma população em teste

DL₅₀ - Dose Letal para matar 50% de uma população em teste.

CMI - Concentração mínima inibitória

PH- Potencial de hidrogênio

IPIMAR- Instituto de Investigação das Pescas e do Mar

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REFERENCIAL TEÓRICO	13
2.1 Plantas medicinais	13
2.2 Considerações botânicas da espécie <i>Turnera ulmifolia</i> L	16
2.3 O microcrustáceo <i>Artemia salina</i> Leach.....	16
2.4 Bioensaio de toxicidade letal em <i>Artemia salina</i> Leach.....	18
3 MATERIAIS E MÉTODOS	20
3.1 Material botânico	20
3.2 Obtenção do extrato etanólico bruto das folhas e raízes de <i>T. ulmifolia</i>	20
3.3 Ensaio de letalidade em <i>Artemia salina</i> Leach.....	20
3.3.1 Preparação das diluições seriadas.....	21
3.3.2 Exposição dos náuplios.....	21
3.4 Análise dos dados	23
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	28
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29

1. INTRODUÇÃO

Os produtos naturais em especial às plantas exercem importante papel na medicina popular e também na medicina moderna, sendo fontes de compostos com importantes atividades biológicas. A falta de acesso à medicina tradicional e aos medicamentos industrializados leva grande parte da população mundial a utilizar compostos de origem natural, seja para prevenção ou para o tratamento de enfermidades (AKERELE, 1993). O conhecimento e o consumo de produtos naturais têm sido difundidos durante várias gerações ao longo do tempo, mesmo sem uma devida investigação científica, envolvendo um risco inerente ao uso de plantas, devido ao desconhecimento químico e de toxicidade de determinadas espécies, que são consumidas de forma inadequada, aumentando os riscos de efeitos indesejados. (FOGLIO et al., 2006; MENDES et al., 2011).

O Brasil é um país rico em biodiversidade, principalmente no que diz respeito à abundância da flora distribuída em diferentes biomas, entre os quais se destaca o bioma Caatinga, pertencente à região Nordeste. Neste bioma a biodiversidade florística é bastante variada, merecendo uma devida atenção voltada ao estudo dos compostos ativos existentes nas plantas. O uso das plantas da Caatinga para fins medicinais muitas vezes não apresenta comprovação científica, ou seja, permanecem desconhecidas do ponto de vista químico e farmacológico. Mas as informações sobre o uso de plantas medicinais representam muitas vezes o único recurso terapêutico de muitas pessoas para o tratamento e cura de enfermidades, onde estas são comercializadas indiscriminadamente apoiadas em propagandas enganosas que prometem “benefícios seguros”, por se tratar de um produto natural.

Na verdade é um grande equívoco, as supostas propriedades farmacológicas não possuem uma comprovação científica de sua eficácia e toxicidade, isso torna o consumo de plantas medicinais um problema sério de saúde (FOGLIO et al., 2006).

O estudo acerca dos efeitos adversos de plantas medicinais, é de grande valia para a medicina atual, para que se possa desenvolver um conhecimento apropriado e um aproveitamento melhor e correto das plantas. As informações sobre as plantas medicinais, difundidas pela cultura popular acumulada durante muito tempo, têm papel fundamental no que diz respeito à divulgação das vantagens terapêuticas (FOGLIO et

al., 2006). Dentre as várias espécies a serem investigadas quanto a sua ação tóxica, destaca-se a *Turnera ulmifolia*, popularmente conhecida como Chanana. É uma espécie típica do semiárido brasileiro, pertencente à família *Passifloraceae*, o seu potencial fitoterápico disseminando pela cultura popular exibiu uma vasta utilidade no tratamento de algumas enfermidades como úlceras gástricas, amenorreias, dores estomacais (AGRA et al., 2007).

A motivação para a realização do presente trabalho deu-se pela observância da escassez de estudos voltados para a investigação da toxicidade de *Turnera ulmifolia* L. um arbusto extremamente abundante na região Nordeste do Brasil e muito utilizado na medicina popular. O presente trabalho objetivou avaliar o potencial tóxico dos extratos etanólico das folhas e raízes de *T. ulmifolia* L. frente ao microcrustáceo *A. salina* Leach. Podendo assim, contribuir com a população que faz uso terapêutico dessa planta buscando informações científicas que mostrem que a planta realmente tem potencial biológico.

2.REFERÊNCIAL TEÓRICO

2.1 Plantas medicinais

Desde os primórdios a humanidade busca adquirir conhecimento sobre o ambiente que a cerca, aperfeiçoando práticas que garantissem a sua sobrevivência, dentre as variadas práticas difundidas pela cultura popular, as plantas medicinais sempre tiveram fundamental importância, sendo bem evidentes as suas propriedades terapêuticas (BADKE et al., 2012). Existem evidências históricas de que as propriedades terapêuticas das plantas medicinais já eram conhecidas desde o período Neolítico (BHATTARAM et al., 2002). De acordo com RATES (2001) planta medicinal não é fitoterápico, pois a legislação brasileira define fitoterápico como um “medicamento obtido por processos tecnologicamente adequados, empregando-se exclusivamente matérias-primas ativas vegetais”.

Novos agentes farmacológicos ativos advêm de produtos naturais, e de acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS) 11% dos medicamentos são oriundos de plantas medicinais; e cerca de 65% a 80% da população mundial ainda depende das plantas medicinais para suprir as suas necessidades básicas de saúde (NIERO et al., 2003). Segundo FOGLIO et al., (2006), no Brasil 20% da população é responsável pelo consumo de 63% dos medicamentos disponíveis; contudo há um grande consumo empírico de plantas medicinais para o tratamento de algumas patologias, mas sem o devido conhecimento científico quanto à verificação da sua eficácia e segurança. Os produtos advindos de plantas medicinais cresceram consideravelmente durante os últimos anos, principalmente no que diz respeito à ação terapêutica de extratos vegetais (DUARTE, 2006).

No Brasil, a recente aprovação da Política Pública de Plantas Medicinais e Fitoterápicas visa garantir o acesso seguro e o uso correto de plantas medicinais e fitoterápicas mediante o uso sustentável da biodiversidade e o desenvolvimento da indústria nacional, e estabelece diretrizes para ações direcionadas à melhoria da qualidade de vida da população e do complexo produtivo na área da saúde. As diretrizes estabelecidas pela nova política preveem para as universidades a atribuição de promover pesquisa e desenvolver técnicas e inovações em produtos naturais e fitoterápicos a partir de modelos e experiências existentes aqui e em outros países (PERAZA et al., 2007).

Segundo SIMÕES et al., (2004) o Brasil está entre os países com maior número de espécies vegetais, mas muitas dessas ainda permanecem desconhecidas tanto do ponto de vista químico quanto do farmacológico, enquanto outras apresentam indícios de extinção. Apesar de tamanha biodiversidade e capacidade técnico-científica dos pesquisadores, somente 15% a 17% das plantas medicinais brasileiras foram estudadas quanto ao seu potencial terapêutico. Apesar do uso disseminado de plantas medicinais, as pesquisas que avaliam a toxicidade desses produtos são escassas (TUROLA; NASCIMENTO, 2006). Isto incentiva a busca de novos estudos voltados a investigações sobre diferentes potenciais das plantas, inclusive o potencial tóxico, que no geral estão presentes em plantas comumente utilizadas na medicina popular (MENDES et al., 2011).

Os principais grupos de compostos com propriedades terapêuticas extraídas de plantas são terpenóides, óleos essenciais, lectinas, polipeptídeos, alcalóides, substância fenólicas, quinonas, flavonas, flavonóis, flavonóides, tanino e cumarinas (MARTÍNEZ et al., 1996). Os compostos fenólicos e flavonóides encontrados em extratos de plantas podem ser conferidos atividades fitoterápicas antimicrobianas, antiinflamatórias, analgésicas, antimutagênica, e ainda estes dois compostos destacam-se por serem considerados os mais importantes grupos de origem natural com atributos antioxidantes (OLIVEIRA et al., 2014).

O surgimento do conceito “natural” vem contribuindo de certa forma para o aumento do consumo de produtos naturais indiscriminadamente, para muitas pessoas esse conceito sugere que o produto não oferece riscos inerentes à saúde, assim os produtos naturais passaram a ser sinônimo de segurança, o que na verdade é um equívoco, pois as plantas são detentoras de substâncias extremamente tóxicas e perigosas (WHO, 2002). O aproveitamento adequado dos princípios ativos de uma planta exige o preparo correto, ou seja, para cada parte a ser usada, grupo de princípio ativo a ser extraído ou doença a ser tratada, existem formas de preparo e uso mais adequados. Erros de diagnóstico, identificação incorreta de espécies de plantas e uso diferente da forma tradicional podem ser perigosos, levando a superdose, inefetividade terapêutica e reações adversas (WHO, 2002). A utilização de chás, de forma indiscriminada, em crianças portadoras de enfermidades hepáticas, renais ou outras doenças, pode trazer sérias consequências para sua saúde se não houver acompanhamento médico (RANG; DALE, 2001).

O uso de plantas medicinais desde épocas remotas mostrou ao longo dos anos que algumas plantas apresentam substâncias com alto nível de periculosidade, Segundo dados do Sistema Nacional de Informações Toxicológicas (SINITOX) em 2011 foram registrados 421 casos de intoxicação humana por uso de plantas, sendo que em 14 desses casos, a intoxicação aconteceu por uso terapêutico, 25 casos por automedicação e 33 casos por uso de plantas como abortivo (SINITOX, 2011). Ao que diz respeito a investigações científicas realizadas sobre plantas medicinais observa-se que muitas devem ser utilizadas com cuidado, visto que há um risco referente ao nível toxicológico das mesmas. Como exemplos de efeitos tóxicos de substâncias que estão presentes em plantas podem ser citados os efeitos hepatotóxicos de apiol, safrol, lignanas, alcalóides, pirrolizidínicos; espécies vegetais que contém terpenos e saponinas podem desencadear ação tóxica renal, e alguns tipos de dermatites, causadas por espécies ricas em lactonas, sesquiterpênicas e produtos naturais do tipo furanocumarinas (CAPASSO et al., 2000).

Componentes tóxicos ou antinutricionais, como o ácido oxálico, nitrato e ácido erúxico estão presentes em muitas plantas de consumo comercial. Diversas substâncias isoladas de plantas consideradas medicinais possuem atividades citotóxicas ou genotóxica e mostram relação com a incidência de tumores. A hipersensibilidade é um dos efeitos colaterais mais comuns causado pelo uso de plantas medicinais. Ela pode variar de uma dermatite temporária, até um choque anafilático. São muito frequentes dermatites provocadas pelo contato com plantas.

No Brasil as pesquisas realizadas para avaliação do uso seguro de plantas medicinais e fitoterápicos são incipientes, bem como o controle da comercialização pelos órgãos oficiais em feiras livres, mercados públicos ou lojas de produtos naturais, facilitando assim alguns tipos de adulterações propositais de quem comercializa tais produtos advindos de plantas medicinais (VEIGA JUNIOR et al., 2005). Além das substâncias em si, existem outros pontos críticos que podem desencadear ações tóxicas, como por exemplo, as condições de coleta, armazenamento, preparação da planta e ainda associação com fármacos acabam contribuindo para o surgimento de possíveis efeitos adversos, tornando-se cada vez mais um risco a saúde humana (MENGUE et al., 2001).

2.2 Considerações botânicas de *Turnera ulmifolia* L.

Dentre as plantas utilizadas para usos medicinais, com potencial fitoterápico destaca-se a *Turnera ulmifolia* L. vulgarmente conhecida como chanana (Figura 1). Este espécime fazia parte da família Turneraceae, e que na APG II (2003) a então família Turneraceae foi incluída em Passifloraceae devido a presença de glicosídeos cianogênicos semelhantes (CLAUSEN et al., 2002; JUDD; OLMSTEAD, 2004) e segundo SOLTIS, et al., (2005) ambas as famílias apresentam similaridades na herança plasmidial biparental para algumas espécies, e presença de glândulas foliares. Uma estreita relação entre essas famílias já teria sido observada por CRONQUIST (1981) e TAKHTAJAN(1991) baseados apenas em características morfológicas.

Espécies de *Turnera* são reconhecidas pelo hábito herbáceo arbustivo, folhas simples, com ou sem estípulas, com folhas de margem serrada e raro inteira, frequentemente providas de glândulas nectaríferas e tricomas. As inflorescências são em racemos, cimeiras ou com flores solitárias, com pedicelo unido total ou parcialmente ao pecíolo. As flores apresentam corola com pétalas brancas, amareladas ou alaranjadas, maculadas na base ou não, com filetes estaminais presos à base do cálice. O fruto é uma cápsula loculicida, esférica, com sementes curvas, e arilo persistente. Espécies de *Turnera* são abundantes no Nordeste brasileiro, e podem ser facilmente encontradas, suas raízes são comercializadas em feiras livres da região, e empregadas na medicina popular no tratamento de amenorréias, dismenorréias e como abortivo. Estudos realizados com algumas espécies de *Turnera* têm revelado várias atividades biológicas, dentre as quais se destacam as atividades: antimutagênica, antihiperlipidêmica, afrodisíaca, antiulcerativa, hipotensiva, antiinflamatória, larvicida, antimalárica, espasmogênica (ARAÚJO et al., 2007) e também vasodilatadora no tratamento de úlceras gástricas (SOUSA et al., 2002). Pesquisadores detectaram a presença de flavonóides, alcalóides, taninos, e compostos fenólicos em preparações desta planta, o que pode conferir potenciais biológicos a planta (CAVALCANTE et al., 1976).

Figura 1. A planta *Turnera ulmifolia* L. “Chanana”



Fonte: própria autora

2.3 O microcrustáceo *Artemia salina* Leach

O microcrustáceo *Artemia salina* (Figura 2) pertence ao filo Arthropoda, classe Crustácea, subclasse Branquiopoda, ordem Anostraca, família Artemidae e Gênero Artemia – Leach, 1819. Possui distribuição cosmopolita e a grande dispersão do gênero pelo mundo em enormes populações pode ser atribuída à característica de produzir cistos (VEIGA; VITAL, 2002). Esse microcrustáceo vive em lagos de água salgada e salina em todo o mundo, estando adaptado para sobreviver a grandes variações sazonais.

As artemias são extremamente tolerantes, sendo que podem sobreviver em salinas que vão de 5 a 280 ‰ (a salinidade do mar é 35‰), suportam temperaturas entre 6 e 35 °C e níveis de oxigênio menores que 1 mg/litro graças aos seus seis tipos de hemoglobina permitindo-a captar o escasso oxigênio presente nas salinas. Por causa das difíceis condições ambientais que tem que suportar, estes animais têm desenvolvido outros eficientes mecanismos de adaptação: osmorregulação, pigmentos respiratórios e oviparidade.

O sistema de osmorregulação da *A. salina* é o mais notável que se conhece no reino animal; graças a isto, a mesma consegue viver em salinidades onde nenhum ser vivo, a não ser algumas microalgas e bactérias pode resistir. A oviparidade é a responsável pela preservação das espécies, quando no verão, os corpos d'água

hipersalinos secam, a população de adultos morre, mas não os cistos que podem resistir em estado em latência por vários anos. Ao sinal das primeiras chuvas ou maré grande que hidrate os cistos, fará com que a eclosão aconteça e surjam novas indivíduos para que se reinicie uma nova população (VINATEA, 2016).

Por ser um microcrustáceo que não possui carapaça é bastante utilizado como alimento para alevinos, seus ovos não eclodidos (cistos) ficam metabolicamente inativos, e podem permanecer assim por vários períodos de tempo, se forem devidamente conservados em local seco e em baixas temperaturas; quando reidratados em água salina em condições favoráveis, eclodem num período de 48 horas, em fase larval são chamados de náuplios que medem apenas 0,45 mm (IPIMAR, 2016). Esses indivíduos atuam como elo trófico entre as comunidades planctônicas e comunidades superiores.

A *A. salina* está em constante estado de locomoção, pois são animais filtradores que dependem disso para alimentar-se e respirar, quando em meio hipertônico, as minúsculas partículas dissolvidas podem passar direto por seu tubo digestivo tornando o indivíduo subnutrido; de fácil dimorfismo sexual atingem a fase adulto em apenas 20 dias após a eclosão (VINATEA 2016).

Figura 2. *Artemia salina* em (A) estágio larval (náuplio aumento 100x) e (B) cistos e náuplios.



Fonte própria autora

2.4 Bioensaio de toxicidade letal em *Artemia salina* Leach.

Os testes de avaliação de toxicidade são realizados objetivando avaliar, prever ou verificar os efeitos de certas substâncias nos sistemas biológicos (BARBOSA et

al., 2006). As técnicas utilizadas envolvem uma série de dados que possam ser obtidos por meio de animais de laboratório, microrganismos, entre outros, a fim de avaliar possíveis interações com o organismo, podendo assim elucidar que se trata de um bioensaio preliminar essencial no estudo de substâncias com atividades biológicas. A letalidade de organismos simples vem sendo utilizada para um rápido e relativamente simples monitoramento de respostas biológicas, onde os resultados podem ser facilmente obtidos por meio de cálculos estatísticos (CAVALCANTE et al., 2000).

Nos estudos de extratos vegetais e suas atividades biológicas, é imprescindível a seleção de bioensaios para a avaliação de efeitos específicos, os sistemas de ensaio devem ser simples e sensíveis, podendo envolver organismos inferiores como os microrganismos e microcrustáceos, ensaios bioquímicos, e culturas de células humanas ou animais. No entanto o teste adequado dependerá do estudo em questão.

O ensaio de letalidade de organismos simples, utilizando o microcrustáceo *Artemia salina* Leach, permite uma avaliação da toxicidade de forma geral, e é considerado um bioensaio preliminar no estudo de extratos e metabólitos especiais com potencial atividade biológica. A *A. salina* vem sendo amplamente utilizada em testes de toxicidade visto a sua sensibilidade elevada, e por se tratar de um animal de fácil manutenção em condições de laboratório, e podem ser adquiridos facilmente por baixo custo em comércios aquaristas. A simplicidade desse teste, que não requer métodos assépticos, nem equipamentos especiais, favorece sua utilização rotineira, podendo ser desenvolvido no próprio laboratório (SIQUEIRA et al., 1998).

O teste com *A. salina* consiste na exposição dos náuplios (fase larval) durante 24/48 horas a concentrações crescentes da amostra que se pretende testar, com análise do número de organismos mortos ao final do período de exposição (VEIGA; VITAL., 2002. CETESB, 1987). O bioensaio com este animal permite uma rápida avaliação da toxicidade, no qual apenas o parâmetro morte ou vida está envolvido; que é verificado pela imobilidade dos náuplios após o período de exposição (AZEVEDO; CHASIN, 2003).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Material botânico

O material botânico, folhas e raízes da *T. ulmifolia* foram coletadas no município de Picos Piauí, nos bairros Ipueiras e Junco, Entre os meses de junho e julho de 2015. A identificação foi realizada por comparação com material digital disponível no site [http: www.mobot.org](http://www.mobot.org).

3.2 Obtenção do extrato etanólico bruto das folhas e raízes de *T. ulmifolia*

Após a coleta da planta selecionou-se as folhas, e foram descartadas as que apresentavam algum defeito. As folhas foram lavadas e submetidas à secagem em temperatura ambiente até a completa desidratação; e depois maceradas manualmente. Através de uma balança de precisão pesou-se 80g do macerado, e posteriormente foi submetida a extração com etanol colocado em um pote de vidro devidamente esterilizado, adicionando-se 600 ml de etanol (99,5%), permanecendo por sete dias; após esse período a solução resultante foi filtrado com auxílio de papel filtro, e funil de vidro simples, e a evaporação do solvente se deu por meio do banho-Maria a temperatura de 50° C, obtendo-se o extrato bruto das folhas.

As raízes foram lavadas e secas em temperatura ambiente, e depois cortadas com o auxílio de uma faca. Pesou-se 90g das raízes cortadas, em seguida submetidas à extração etanólica, adicionando-se 700 ml de etanol (99,5%)”, permanecendo por sete dias; após esse período a solução resultante foi filtrada com o auxílio de papel filtro, e funil de vidro simples, e a evaporação do solvente se deu por meio do banho-Maria a temperatura de 50° C, obtendo-se o extrato bruto das raízes.

3.3 Ensaio de letalidade em *Artemia salina* Leach.

O ensaio de letalidade de em *Artemia salina* Leach foi realizado de acordo com a metodologia descrita por PAREDES et al., (2016), com algumas modificações, conforme (fluxograma 1).

Os cistos de *A. salina* foram colocados para eclodir em uma solução com sal marinho a uma concentração de 30 g/L de NaCl utilizando água deionizada. A solução

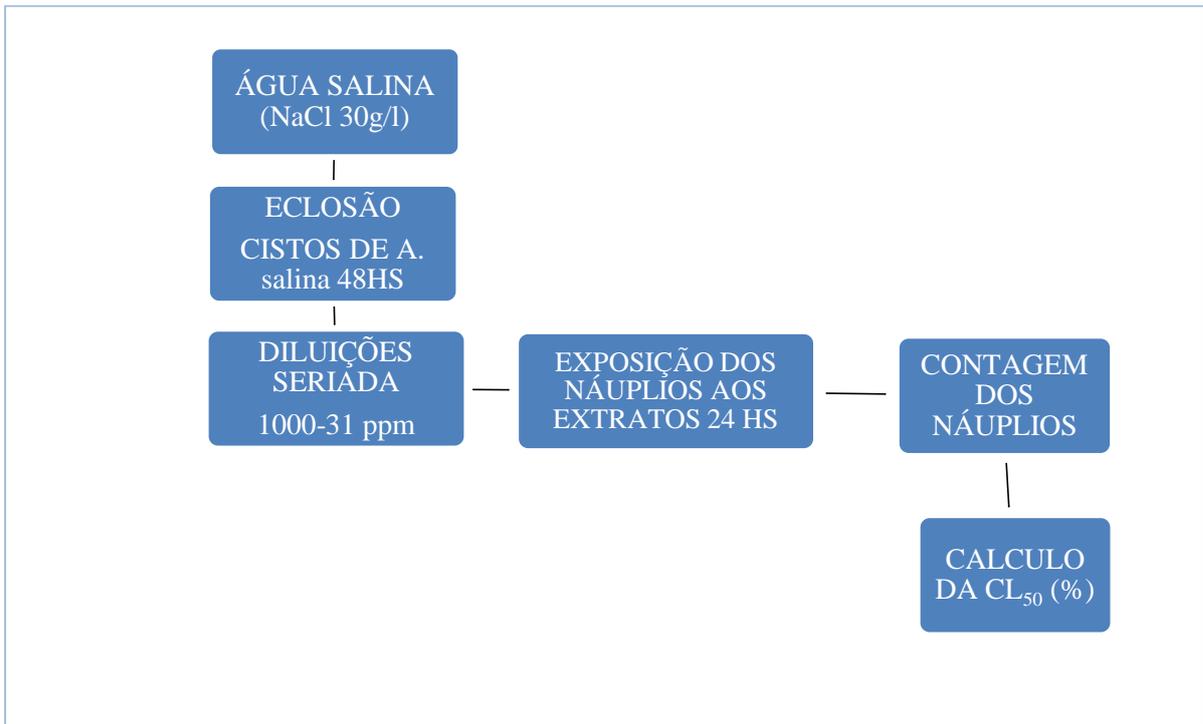
salina (PH 8-9) foi filtrada, sendo que 800 mL foi utilizado para a eclosão de 100 mg de cistos de *A. salina*, e o restante utilizado para preparo das diluições das amostras a serem testadas. A eclosão dos ovos se deu em temperatura ambiente e sob luz de 100 W e aeração constante, em aquário próprio com dimensões (10 x 22 cm) por um período de 48 horas.

3.3.1 Preparação das diluições seriadas

Foram pesadas em balança de precisão 21 mg de extrato bruto das folhas e 18 mg do extrato bruto da raiz, em seguida foram adicionados os volumes de 21 mL e 18 mL de solução salina respectivamente. As soluções foram mantidas em constante agitação para completa homogeneização. Ao final do processo obteve-se uma concentração de $1000\mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$ em ambas as soluções dos extratos.

A partir das soluções preparadas dos extratos $1000\mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$, foram realizadas diluições seriadas de, $500\mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$, $250\mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$, $125\mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$, $62\mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$ e $31\mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$. O processo foi repetido para ambos os extratos. O controle negativo foi preparado utilizando apenas solução salina. O controle foi utilizado para se ter certeza de que a morte dos náuplios seria provocada pela toxicidade dos extratos, e não por falta de algum recurso durante a realização do teste; vale ressaltar que os testes foram realizados em triplicata.

Figura 3. Fluxograma do preparo e execução do teste de toxicidade com *Artemia salina* Leach.

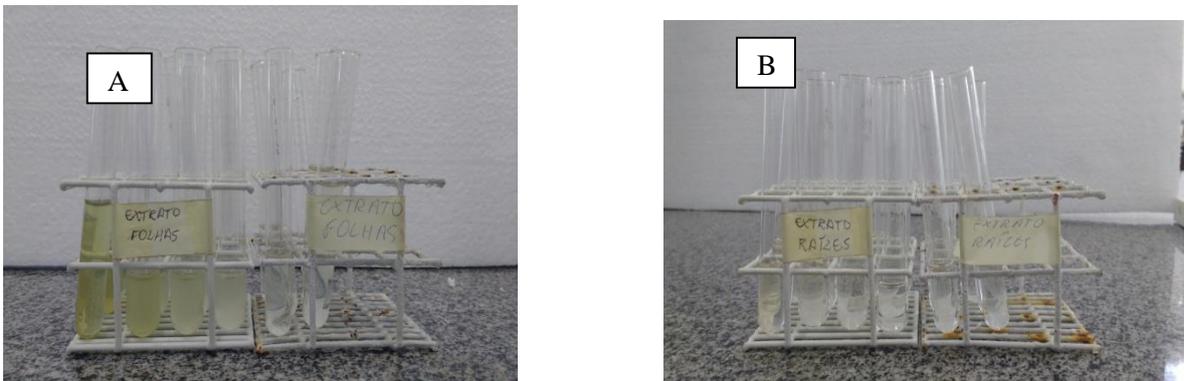


Fonte: própria autora

3.3.2 Exposição dos náuplios

Após o preparo das soluções, 10 náuplios foram coletados com uma micropipeta de vidro e transferidos para os tubos nos quais estavam presentes os extratos em diferentes concentrações (Figura 3). Os tubos foram deixados em temperatura ambiente e sob iluminação por 24 horas. Passado este período, os tubos foram analisados para registrar a quantidade de náuplios vivos e mortos. O número de larvas mortas em relação à concentração dos extratos foi utilizado para calcular os valores da CL_{50} . Sendo assim, diante dos valores da CL_{50} (concentração que mata 50% dos náuplios) obtidos, os extratos testados foram classificadas quanto à toxicidade.

Figura 4. Exposição dos náuplios aos extratos de folhas A; e raízes em B.



Fonte: propria autora

3.4 Análise dos dados

Os extratos etanólicos de *Turnera ulmifolia* L. foram submetidos ao bioensaio com *Artemia salina* Leach, onde foi possível determinar a relação de organismos vivos e mortos. Ao final do ensaio, no tempo de 24 horas, foi estimada a CL₅₀ a partir da reta de regressão linear obtida da correlação entre a porcentagem de indivíduos mortos e a concentração dos extratos.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O bioensaio em *A. salina* tem demonstrado bastante eficiência na avaliação da toxicidade de extratos de plantas, bem como do potencial bioativo. Na literatura existem diversas correlações para a toxicidade geral, citotoxicidade, e atividade inseticida para esse microcrustáceo (LEITE et al., 2009). E ainda atividade anticâncer.

O teste realizado com diferentes concentrações de 1000, 500, 250, 125, 62 e 31 $\mu\text{g/mL}^{-1}$ com os extratos etanólicos das folhas e raízes de *T. ulmifolia*, foram avaliados conforme métodos estabelecidos por PAREDES et al, (2016) com algumas adaptações.

A (Tabela. 1) mostra a percentagem de náuplios mortos de frente as diferentes concentrações dos extratos de *T. ulmifolia* ($\mu\text{g/mL}^{-1}$). A partir desses dados foi gerada uma reta de regressão linear, no programa excel, para obtenção da equação da reta ($y=ax+b$) e assim determinar a concentração letal capaz de causar mortalidade em 50% dos náuplios (CL_{50}).

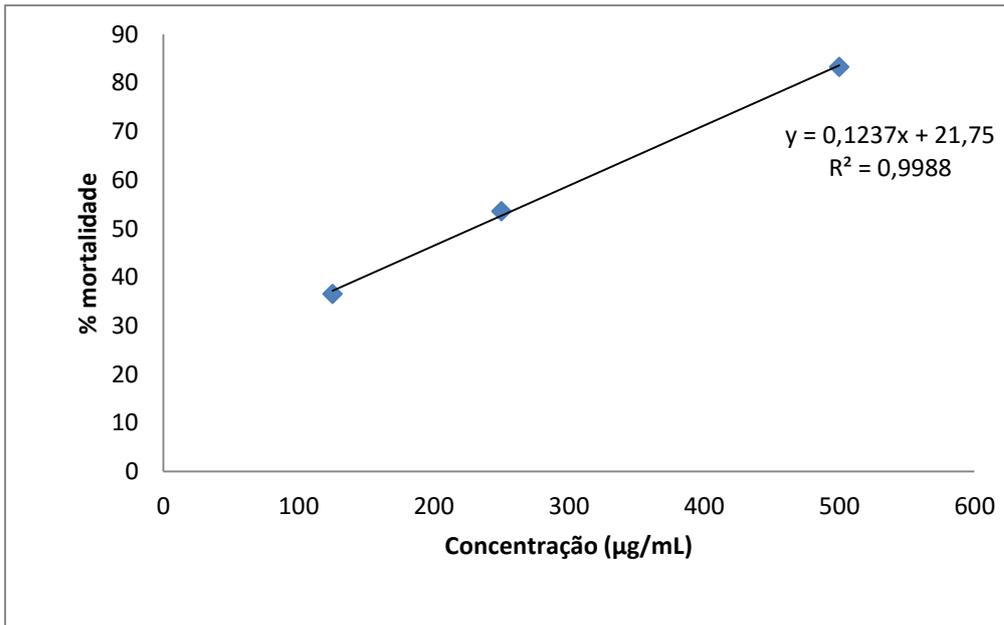
Tabela 1. Percentagem de náuplios mortos de *A. salina* frente à concentração dos extratos de *T. ulmifolia*.

CONCENTRAÇÕES DO EXTRATO ($\mu\text{g/mL}$)						
($\mu\text{g/mL}$) DILUIÇÕES →	1000 →	500 →	250 →	125 →	62 →	31
EXTRATOS						
Raízes	96,6	83,3	53,3	36,6	20,0	6,6
Folhas	93,3	76,6	53,3	33,3	3,3	0
PORCENTAGEM DE INDIVÍDUOS MORTOS (%)						

Fonte: da autora

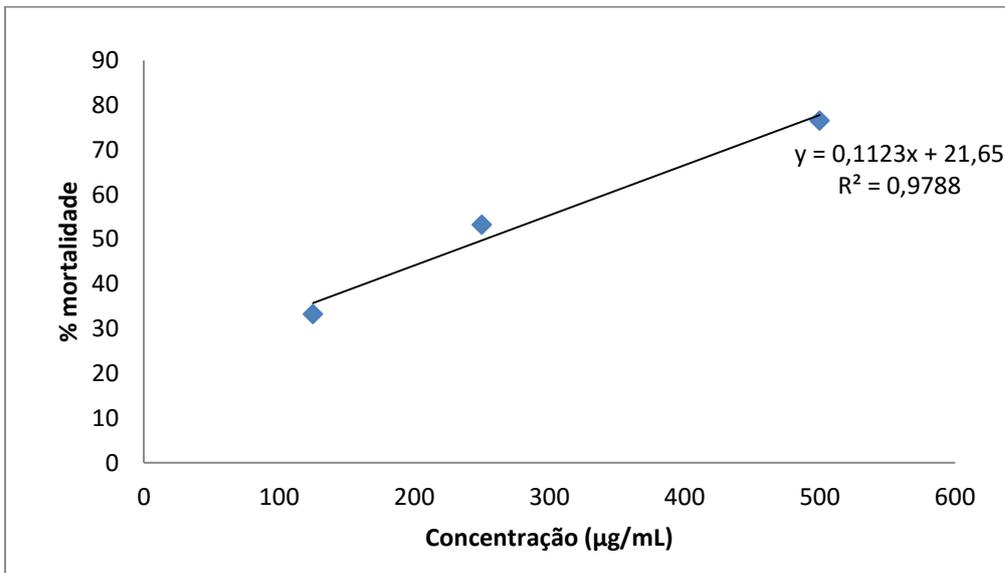
As (Figuras 5 e 6) mostram a reta de regressão linear obtida através da correlação entre a concentração dos extratos de *T. ulmifolia* e a percentagem de letalidade de *A. salina*. Para uma melhor adequação da reta foram retirados os valores extremos de concentração.

Figura 5. Reta de regressão obtida da correlação entre % mortalidade de *A. salina* versus a concentração do extrato etanólico das raízes de *T. ulmifolia* (24 horas).



Fonte: da autora

Figura 6. Retas de regressão obtidas da correlação entre % mortalidade de *A. salina* versus a concentração do extrato etanólico das folhas de *T. ulmifolia* (24 horas).



Fonte: da autora

DOLABELA (1997), considerada uma $CL_{50} < 80 \mu\text{g/mL}$, altamente tóxicos; entre $80 \mu\text{g/mL}$ e $250 \mu\text{g/mL}$, moderadamente tóxico; e $CL_{50} > 250 \mu\text{g/mL}$, com baixa toxicidade ou não tóxico. Os resultados mostraram que os extratos etanólicos de *T. ulmifolia* mostraram-se moderadamente tóxicos, pois os valores da CL_{50} ficaram entre $80 \mu\text{g/mL}$ e $250 \mu\text{g/mL}$, logo os extratos etanólicos de *T. ulmifolia* apresentam moderada toxicidade frente a *A. saliana*, visto que o extrato das folhas apresentou

CL₅₀ igual a 253 µg/mL, e o extrato das raízes apresentou CL₅₀ igual a 229,7 µg/mL, além disso, os extratos podem ser considerados ativos, pois apresentam CL₅₀ menor que 1000 µg/mL (SANTOS et al., 2011). SANTOS et al. (2010) estudando a atividade moluscicida do extrato hidroalcolóico das folhas de *Turnera ulmifolia* L. usando o bioensaio de *A. salina*, observou uma moderada toxicidade (DL₅₀ igual a 224,56 µg/mL⁻¹), estes resultados corroboram os encontrados neste estudo.

De acordo com PARRA et al. (2001) a CL₅₀ encontrada no ensaio de toxicidade *in vitro* de *A. salina*, pode estar correlacionada com os valores de DL₅₀ encontrados em testes *in vivo* realizados em camundongos, sugerindo que o bioensaio em *A. salina* é um modelo alternativo útil, e ainda esta boa correlação entre os métodos podem prever a toxicidade oral aguda em extratos de plantas.

O bioensaio frente a *A. salina* é utilizado em estudos com extratos de plantas para comparar com a atividade antimicrobiana de extratos de plantas, confrontando a CL₅₀ de bioensaios em *A. salina* com a CMI (Concentração Inibitória Mínima), para demonstrar o potencial de plantas como fonte de compostos antibacterianos e justificar, de forma parcial o uso popular de determinadas espécies (STEFANELLO et al., 2006).

Segundo ARCANJO et al., (2012) o bioensaio em *A. salina* é bem correlacionado com a atividade antitumoral (citotoxicidade) e pode ser usado para monitorar a atividade de produtos naturais bioativos. A *A. salina* foi utilizada em um estudo que buscava avaliar a toxicidade preliminar de extratos de plantas, para o teste de toxicidade *in vivo* em camundongos portadores de carcinoma de Ehrlich (EC), observou-se que os extratos que se mostram moderadamente tóxicos em *A. salina* exibiram uma significativa atividade antitumoral em camundongos portadores de (EC) (SILVA et al., 2008).

Estudos avaliam a toxicidade preliminar de extratos etanólicos utilizando *A. salina* em consequente realizam testes para verificar o potencial antioxidante, tornando os resultados mais seguros, o que pode assegurar a aplicabilidade terapêutica de plantas no tratamento de patologias associadas aos radicais livres (MERINO et al., 2015). Todos estes resultados refletidos da literatura corroboram para boas perspectivas acerca do uso do bioensaios de toxicidade preliminar frente ao microcrustáceo *A. salina*, para determinar a CL₅₀ de extratos de plantas, tornando os resultados deste estudo confiáveis.

Os valores similares de CL_{50} de ambos os extratos de *T. ulmifolia* nos leva a predizer que os extratos etanólicos das folhas e raízes apresentam compostos de classe química semelhante, e que podem apresentar as mesmas atividades biológicas. Estudos posteriores são necessários para determinar os metabólitos presentes nesses extratos, bem como avaliar atividades biológicas e ou farmacológicas, visto que ambos os extratos apresentaram potencial bioativo.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os extratos etanólicos das folhas e raízes de *T. ulmifolia* apresentaram uma toxicidade moderada frente ao microcrustáceo *A. salina*, o que confirma o potencial bioativo dos extratos, isto quer dizer que a planta pode sim ser utilizada de forma consciente pela população para fins medicinais. O estudo mostra que o emprego deste bioensaio para avaliar a toxicidade preliminar de extratos vegetais apresenta resultados rápidos, seguros e relevantes, gerando dados positivos para o objetivo da pesquisa, porém os conhecimentos obtidos sobre a espécie ainda são bem modestos, quando comparados as suas possíveis potencialidades. Portanto a pesquisa da margem a descoberta de novos compostos ativos, contribuindo como fonte para outros estudos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRA, M. F.; FRANÇA, P. F.; BARBOSA, F. JM. **Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil.** Rev Bras.Farmacologia 17: 114-140, 2007.
- AKERELE, O. **Summary of WHO guidelines for the assessment of herbal medicines.** Herbal Gram, 28: 13-20, 1993.
- APG II. **Na updat of the angiosperm phylogeny group classification for the ordens and families of flowering plants:** APG II. Bot. J. Linn. Soc. 141: 399-436.2003.
- ARAÚJO, B. D.; SILVA, KIRIAKI, Nt.; FÁTIMA, A. Maria. **Estudo farmacobotânico comparativo de folhas de Turnera chamaedrifolia Cambess. e Turnera subulata Sm. (Turneraceae).** Brazilian Journal of Pharmacognosy, v. 17, n. 3, p. 396-413, 2007.
- ARCANJO, D. D. R., ALBUQUERQUE, A. C. M., MELO, N. B., SANTANA, L. C. L. R., MEDEIROS, M., CITÓ, A. M. G. L. **Bioactivity evaluation against Artemiasalina Leach of medicinal plants used in Brazilian Northeastern folk medicine.** *Brazilian Journal of Biology*, 72(3), 505-509. 2012.
- ARCOLINE, T. **Saúde e cura pelas plantas: Fitoterapia.** São Paulo: On Line, n.1, p.34, 2003.
- AZEVEDO, F. A.; CHASIN, A. A.M. da. **As bases toxicológicas da ecotoxicologia.** São Carlos: Rima, 340p. 2003
- BADKE, M. R. **Texto Contexto Enferm**, Florianópolis.; 21(2): 363-70.2012.
- BARBOSA-FILHO, J. M., PIUVEZAM, M. R., MOURA, M. D., SILVA, M. S., LIMA, K. V. B., CUNHA, E. V. L. da, FECHINE, I. M. & TAKEMURA, O. S. 2006. **Antiinflammatory activity of alkaloids: a twenty-century review.** Rev. Bras. Farmacog, 16: 109-134. C
- BHATTARAM, V. A.; GRAEFE, U.; KOHLERT, C.; VEIT, M.; DERENDORF, H. **Pharmacokinetics and bioavailability of herbal medicinal products.** *Phytomedicine*, v. 9, n. 3, p.1-33, 2002.
- BRASIL. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária.** Resolução RDC nº 48, de 16 de março de 2004.
- CELIK TAS, O. Y.; KOCABAS, E. H.; BEDIR, E.; SUKAN, F. V.; OZEK, T.; BASER, K. H. C. **Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of.**
- CAPASSO, R.; IZZO, A. A.; PINTO, L.; BIFULCO, T.; VITOBELLO, C.; MASCOLO, N.; **Fitoterapia**, 71, S58. 2000.

CAVALCANTE, M. F.; OLIVEIRA, M. C. F.; VELANDIA, J. R.; ECHEVARRIA, A.; BRAGA R: **Plantas do Nordeste, Especialmente do Ceara´**. ESAM (Coleção Mossoroense), Fortaleza, Brasil, *Quim. Nova*,23, 20. 1976.

CETESB. **Água do Mar – Teste de Toxicidade Aguda com Artemia**. Norma Técnica L5.021, São Paulo. 1987

CLAUSEN, V.; FRYDENVANG, K.; KOOPMANN, R.; JORGENSEN, L.; ABBIW, DK.; EKPEP, P.; JAROSZEWSKY, J. **Plant analysis by butterflies: Occurrence of cyclopentenylglycines in Passifloraceae and Turneraceae and discovery of the novel nonproteinogenic amino acid 2-(3'-cyclopentenyl) glycine in Rinorea**. *J. Nat. prod* 65: 542-547. 2002.

CRONQUIST, A. **An integrated system of classification of flowering plants**. New York: Columbia University, 1262 p. 1981.

DOLABELA, M. F. **Dissertação de Mestrado**. UFMG. 128. 1997

DUARTE, M. C. T. **Atividade antimicrobiana de plantas medicinais e aromáticas utilizadas no Brasil**, 2006.

FOGLIO, M. A.; QUEIROGA, C. L.; SOUSA, I. M. O; RODRIGUES, R. A. F. **plantas medicinais como fontes de recursos terapêuticos: um modelo multidisciplinar – Construindo a história dos produtos naturais**. Divisão de Fitoquímica, CPQBA/UNICAMP. Out, 2006.

IPIMAR. **Instituto de Investigação das Pescas e do Mar** – Disponível em: <http://ipimariniap.ipimar.pt/crips/estacao_piscicultura/artemia.html - Acesso em: 13 de maio de 2016.

JUDD, W, S.; OLMSTEAD, R, G. **A survey of tricolpate phylogenetic relationships**. *Am. J. Bot.* 91: 1627-1644. 2004.

LEITE, J. J. G., BRITO, E. H. S., CORDEIRO, R.S., BRILHANTE, R. S. N., SIDRIM, J. J. C., BERTINI, L. M., MORAIS, S. M. de ROCHA, M. F. G.; **Chemical composition toxicity and larvicidal and antifungal activities of *Persea Americana* (avocado) seed extracts**. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* [on line], 42(2): 110-113. 2009

MATERIAL DIGITAL. Disponível em: <<http://www.mobot.org>>. Acesso em 14 de Maio de 2016.

MARTÍNEZ, M.J.; BETANCOUR, T. J.; GONZÁLEZ, A. N.; JAUREGUI, A. **Screening of some Cuban medicinal plants for antimicrobial activity**, *J. of Ethnopharmacol.* 52(3): 171-174, 1996.

MAYER, B. N.; FERRIGNI, N. R.; JACOBSON, J. E.; NICHOLS, D. E.; MCLAUGHEIN, J. L.; *Plantamed.* 45, 31. 1982

- MENDES, L. P. M.; MACIEL, K. M.; VIEIRA, A. B. R.; MENDONÇA, L. C. V.; SILVA, R. M. F.; ROLIM, N. P. J.; BARBOSA, W. L. R.; VIEIRA, J. M. S. **Rev. de Ciências Farmacêuticas**. 2011.
- MENGUE, S. S.; MENTZ, L. A.; SCHENKEL, E. P. **Uso de plantas medicinais na gravidez**. Ver. Bras. de Farmacognosia, v. 11, n. 1, p. 21-35, 2001.
- MATOS, F. J. A. **Plantas Medicinais no Brasil: Nativas e Exóticas**. 2^a.ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2008.
- MERINO, F., OLIVEIRA, V., PAULA, C., CANSIAN, F., SOUZA, A., ZUCHETTO, M., MIGUEL, O. **Phytochemical analysis, antioxidant potential and toxicity of crude ethanol extract and fractions of the species *Seneciowestermanii* Dusén against *Artemiasalina***. *Rev. Bras. de Plantas Medicinai*s, 17(4), 1031-1040. 2015
- MEYER, B. N.; FERRIGNI, N. R.; PUTNAM, J. E.; JACOBSEN, L. B.; NICHOLS, DE, MCLAUGHLIN, J. L. **Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents**. *Planta Medica*, v. 45, n. 5, p.31-34, 1982.
- MISSOURI BOTANICAL GARDEN. 2016. Disponível em: <<http://www.mobot.org>> Acesso em: 16 de jun.2016.
- NASCIMENTO, G. G. F.; LOCATELLI, J.; FREITAS, P. C. D.; SILVA, G. L. **Antibacterial activity of plant extract and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria**. *Braz J Microbiol* 31: 247-256, 2000.
- NIERO, R, MALHEIROS A, MEYRE-SILVA C, BIAVATTI, M. W.; LEITE, S. N, CECHINEL, F. V.; **Aspectos químicos e biológicos de plantas medicinais e considerações sobre fitoterápicos**. Itajaí: UNIVALI, p. 10-56. 2003
- NOGUEIRA, M. J. C. **Fitoterapia popular e enfermagem comunitária**. *Rev. Esc. Enf. USP* 1983.
- OLIVEIRA, F. C. S., BARROS, R. F. M.; MOITA NETO, J. M. **Plantas medicinais utilizadas em comunidades rurais de Oeiras, semiárido piauiense**. *Rev. Bras. de Plantas Medicinai*s, 12(3): 282-301. 2006
- PAREDES, P. F. M., VASCONCELOS, F. R., PAIM, R. T. T., MARQUES, M. M. M., DE MORAIS, S. M., LIRA, S. M., GUEDES, M. I. F. **Screening of Bioactivities and Toxicity of *Cnidos colusquercifolius* Pohl**. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2016.
- PARRA, A. L., YHEBRA, R. S., SARDIÑAS, I. G., BUELA, L. I. **Comparative study of the assay of *Artemiasalina* L. and the estimate of the medium lethal dose (LD50 value) in mice, to determine oral acute toxicity of plant extracts**. *Phytomedicine*, 8(5), 395-400. 2001.
- PERAZA, G.G.; RODRIGUES S. T.; MEDEIROS, S. H. L.; BAISCH, A. L. M. **O uso de animais para avaliar o potencial antinoceptivo dos produtos de origem natural**. *VITTALLE*, Rio Grande, 19(1): 35-44, 2007.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M. **Farmacologia**. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001

RATES, S. M. K. **Plants as source of drugs**. *Toxicon*, v. 39, n. 5, p. 603-613, 2001.
ROSMARINUS OFFICINALIS, depending on location and seasonal variations. *Food Chemistry*, v. 100, n. 2, p. 553-559, 2005.

SANTOS, N. C.; DIAS, C. N.; COUTINHO-MORAES, D. F.; VILANOVA, C. M.; GONÇALVES, J. de R.; SOUZA, N. da S.; ROSA, I. G. **Toxicidade e avaliação de atividade moluscicida de folhas de *Turnera ulmifolia* L.** *Rev. Bras. de biociência*, v. 8, n.4, p. 324 - 329, out./dez. 2010.

SANTOS, R. A. F.; DAVID, J. P.; DAVID, J. M. **Atividade citotóxica de extratos polares de seis espécies de Leguminosae**. In: 34a REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, Florianópolis, 2011.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**, 5 ed. Porto Alegre: UFSC, 2004.

SOARES, M. S. S.; CHAVES, M. H. **Rev. bras. farmacologia**. vol.18 no.1 João Pessoa Jan./Mar. 2008.

SOUSA, C. M. D. M.; SILVA H. R.; VIEIRA JR, G. M.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. L. S. D.; ARAÚJO, D.S. **Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais**. *Quím.Nova*.30:351-5. 2007.

SOUSA, G. J.; VILEGAS, W.; HIRUMA-LIMA, C. A.; SOUZA, B. A. R. M. **Effects of tea from *Turnera ulmifolia* L. on mouse gastric mucosa support the Turneraceae as a new source of antiulcerogenic drugs**. *BiolPharm Bull* 25: 487-491. 2002.

SILVA, C. B. S. **Avaliação da atividade antitumoral em extrato de *Indigofera suffruticosa* Mill.** 2008.

SINITOX, **Casos registrados de Intoxicação Humana por Agente tóxico e por circunstancia**. Brasil, 2011. Disponível em: <<http://sinitox.icict.fiocruz.br>> Acesso em: 06 maio. 2016.

SIQUEIRA, J. M.; BOMM, M. D.; PEREIRA, N. F. G.; GARCEZ, W, S.; BOAVENTURA, M. A. D (1998). **Estudo Fitoquímico de *Unonopsis lindmanii*-Annonaceae, biomonitorado pelo ensaio de toxicidade sobre a *Atemia salina* Leach**. *Rev. Química Nova* 21(5). 1998.

STEFANELLO, M. E. A., SALVADOR, M. J., ITO, I. Y., MACARI, P. A.; **Avaliação da atividade antimicrobiana e citotóxica de extratos de *Gochnatiapolymorphasp. floccosa***. *Rev. Bras. de farmacologia*, 16, 525-530. 2006.

TAKHTAJAN, A. **Evolutionary trends in flowering plants**. New York, Columbia University Press, 241 pp, 1991.

TUROLLA, M. S. R.; NASCIMENTO, E.S. **Informações toxicológicas de alguns fitoterápicos utilizados no Brasil**. Rev. Bras. de Ciências Farmacêuticas, v.42, n.2, p.289-306, 2006. Disponível em:<<http://www.scielo.br>>Acesso em: 22 maio. 2016.

VEIGA, L. F. & VITAL, N.; **Teste de toxicidade aguda com o microcrustáceo *Artemia* sp.** Artes Gráficas e Indústria, São Paulo, p.111-122. 2002

VEIGA JUNIOR, V.; PINTO, A; Maciel, M. A.; **Plantas medicinais: cura segura?**.Quim Nova 28: 519-528. 2005.

VINATEA, J, H. **Artemia um ser vivo excepcional**- Disponível em:<<http://http://www.panoramadaaquicultura.com.br>>Acesso em: 08 de maio de 2016.

WHO. **Draft Guidelines for Herbal ATC Classification**. Uppsala Monitoring Centre. Geneva. 2002.



**TERMO DE AUTORIZAÇÃO PARA PUBLICAÇÃO DIGITAL NA BIBLIOTECA
“JOSÉ ALBANO DE MACEDO”**

Identificação do Tipo de Documento

- Tese
 Dissertação
 Monografia
 Artigo

Eu, Gabriele de Sousa Meneses,
autorizo com base na Lei Federal nº 9.610 de 19 de Fevereiro de 1998 e na Lei nº 10.973 de
02 de dezembro de 2004, a biblioteca da Universidade Federal do Piauí a divulgar,
gratuitamente, sem ressarcimento de direitos autorais, o texto integral da publicação
AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DOS EXTRATOS ETANÓLICOS DE
Turnera ulmifolia L. ATRAVÉS DO BIOENSAIO DE LETALIDADE
FRENTE AO MICROCRUSTÁCIO Artemia salina Leach.
de minha autoria, em formato PDF, para fins de leitura e/ou impressão, pela internet a título
de divulgação da produção científica gerada pela Universidade.

Picos-PI 20 de Outubro de 2017.

Gabriele de Sousa Meneses

Assinatura

GM

Assinatura