

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE
UNIDADE ACADÊMICA DE SAÚDE
CURSO DE BACHARELADO EM FARMÁCIA

LUCIANA SUCUPIRA BATISTA

**ANÁLISE DA TOXICIDADE DE *Chloris gayana* KUNTH (POACEAE) POR MEIO
DA DETERMINAÇÃO DA CL₅₀**

Cuité
2015

LUCIANA SUCUPIRA BATISTA

**ANÁLISE DA TOXICIDADE DE *Chloris gayana* KUNTH (POACEAE) POR MEIO
DA DETERMINAÇÃO DA CL₅₀**

Monografia apresentada à Coordenação do Curso de Bacharelado em Farmácia do Centro de Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina Grande – Campus Cuité, como requisito para obtenção do grau de bacharel em Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Fernando de Sousa Oliveira

Cuité
2015

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA NA FONTE
Responsabilidade Msc. Jesiel Ferreira Gomes – CRB 15 – 256

B333a Batista, Luciana Sucupira.

Análise da toxicidade de *Chloris gayana* Kunth (POACEAE) por meio da determinação da CL₅₀. / Luciana Sucupira Batista. – Cuité: CES, 2015.

44 fl.

Monografia (Curso de Graduação em Farmácia) – Centro de Educação e Saúde / UFCG, 2015.

Orientador: Fernando de Sousa Oliveira.

1. Artemia. 2. Poaceae. 3. Toxicidade. I. Título.

CDU 615.1

LUCIANA SUCUPIRA BATISTA

ANÁLISE DA TOXICIDADE DE *Chloris gayana* Kunth (POACEAE) POR MEIO DA DETERMINAÇÃO DA CL₅₀

Monografia apresentada à Coordenação do Curso de Bacharelado em Farmácia do Centro de Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito para obtenção do grau de bacharel em Farmácia.

Aprovada em ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof.º Dr. Fernando de Sousa Oliveira - CES/ UFCG
(Orientador)

Prof.ª Dr.ª Danielly Albuquerque da Costa - CES /UFCG
(Examinadora)

Prof.ª Dr.ª Igara Oliveira Lima - CES /UFCG
(Examinadora)

Dedico...

Aos meus pais, Luciano Alves Batista e Socorro Sucupira Batista, por todo amor, carinho e dedicação. Ao meu irmão, Hugo Batista, pelas inúmeras vezes que se tornou minha maior companhia nos momentos mais difíceis. Ao meu orientador, por toda paciência, orientação e confiança.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por estar sempre guiando, protegendo e iluminando a minha vida. Por me dar força, discernimento e sabedoria em todos os momentos.

Aos meus pais, Luciano Alves Batista e Socorro Sucupira Batista, pelos princípios e ensinamentos, pelo amor incondicional, dedicação, paciência e apoio, pelo exemplo de vida e por todo esforço exercido para que eu chegasse até aqui.

Ao meu irmão, Hugo Batista, o qual tenho um amor e admiração incondicional, sou grata por todo o carinho e cuidado dedicado a mim.

A todos os meus familiares, pelo apoio e torcida constante.

Ao meu orientador, Fernando de Sousa Oliveira, por toda confiança e paciência demonstrada durante esse período.

Aos meus amigos: Arthur Bezerra, Allana Brunna Sucupira, Natânia Severo, Jesyka Taís, Valmir Ferreira, Jéssica Ventura, Nayr Simões, Raynusce Soraya, Kayo Márcio, Alisson Asevedo e Rita de Cássia por todos os momentos compartilhados, incentivo e motivação nas mais diversas situações, pelo apoio incondicional nesses cinco anos.

Aos mestres, por todos os ensinamentos transmitidos durante esse percurso.

Enfim, a todos que contribuíram de alguma forma para que este sonho fosse realizado.

Muito obrigada!

“Eu tive muitas coisas que guardei em minhas mãos e as perdi. Mas tudo o que guardei nas mãos de Deus, eu ainda possuo.”

(Martin Luther King)

RESUMO

O poder curativo das plantas é tão antigo quanto ao surgimento da espécie humana na terra. Porém, o uso indiscriminado destas podem trazer riscos, tornando-se importante à realização de testes de toxicidade na busca de uma terapêutica eficaz. Diversas espécies de plantas bioativas de conhecido uso popular apresentam propriedades tóxicas, e deve-se ter cuidado não só na identificação correta das espécies no ato da aquisição, como também nas dosagens, para evitar riscos à saúde. Baseado nesses fatos, o seguinte trabalho teve como objetivo determinar a CL_{50} de *Chloris gayana* Kunth (Poaceae) como parâmetro de bioatividade através do bioensaio com *Artemia salina* Leach. Este se baseia na utilização da *A. salina* em seu estágio larval, para avaliação da toxicidade de extratos e substâncias, evitando o sofrimento de animais maiores, como os roedores. É uma metodologia rápida, fácil, de baixo custo e confiável, o que proporciona uma maior segurança em estudos posteriores. O teste foi realizado em triplicata e repetido em pelo menos três experimentos com o extrato bruto e duas fases (hidroalcoólica e hexânica) oriundas da *C. gayana*. Após a realização dos testes, obteve-se como resultados para a espécie *C. gayana*, e este evidenciou que tanto para o extrato etanólico bruto quanto para as fases testadas de *C. gayana* foram consideradas atóxicas. Desta forma, observa-se a necessidade de realização de novos estudos visando à identificação de substâncias que comprovem o potencial bioativo desta espécie.

Palavras-chave: *Artemia*, Poaceae, toxicidade.

ABSTRACT

The healing power of plants is as old as the emergence of the human species on earth. However, the indiscriminate use of these can bring risks, making it important to carry out toxicity tests in the search for an effective therapy. Several species of popular known use of bioactive plants have toxic properties, and should be careful not only in the correct identification of the species at the time of acquisition, as well as the dosages to avoid health risks. Based on these facts, the following study aimed to determine the LC50 *Chloris gayana* Kunth (Poaceae) as bioactivity parameter through bioassay *Artemia salina* Leach. This is based on the use of *A. salina* in their larval stage, to evaluate the toxicity of extracts and compounds, avoiding the suffering of larger animals, such as rodents. It's a quick methodology, easy, inexpensive and reliable, which provides greater security in future studies. The test was performed in triplicate and repeated at least three experiments with the crude extract and two phases (water-alcohol and hexane) originating from *C. gayana*. After the tests, was obtained as results for the species *C. gayana*, and this showed that both the ethanol extract as for phases tested *C. gayana* were considered nontoxic. Thus, there is a need of further studies in order to identify substances that prove the bioactive potential of this species.

Keywords: *Artemia*, Poaceae, toxicity

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS

°C	Grau Celsius
C	Concentração
CES	Centro de Educação e Saúde
CL ₅₀	Concentração Letal Mediana
Cm	Centímetro
DL ₅₀	Dose Letal Mediana
g	Gramma
L	Litro
LABETOX	Laboratório de Ensaio Toxicológicos
mg	Miligramma
ml	Mililitro
n°	Número
OMS	Organização Mundial de Saúde
p.	Página
SINITOX	Sistema Nacional de Informações Toxicológicas
UFMG	Universidade Federal de Campina Grande
V	Volume
W	Watts
µg	Microgramma
µl	Microlitro

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - <i>Artemia salina</i> Leach.....	19
Figura 2 - <i>Chloris gayana</i> Kunth.....	21
Figura 3 - Incubadora com divisória contendo furos.....	23
Figura 4 - Parte recoberta do sistema contendo os cistos.....	24
Figura 5 - Incubadora sob exposição à luz.....	25
Figura 6 - Gráfico da CL ₅₀ do extrato etanólico bruto da espécie <i>Chloris gayana</i>	30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Resultados dos testes obtidos na primeira etapa com extrato etanólico bruto da espécie <i>Chloris gayana</i>	27
Tabela 2 - Resultados dos testes obtidos na segunda etapa com extrato etanólico bruto da espécie <i>Chloris gayana</i>	28
Tabela 3 - Resultados dos testes obtidos na terceira etapa com extrato etanólico bruto da espécie <i>Chloris gayana</i>	29
Tabela 4 - Resultados dos testes obtidos na primeira etapa com a fase hidroalcoólica da espécie <i>Chloris gayana</i>	31
Tabela 5 - Resultados dos testes obtidos na segunda etapa com a fase hidroalcoólica da espécie <i>Chloris gayana</i>	32
Tabela 6 - Resultados dos testes obtidos na terceira etapa com a fase hidroalcoólica da espécie <i>Chloris gayana</i>	33
Tabela 7 - Resultados dos testes obtidos na primeira etapa com a fase hexânica da espécie <i>Chloris gayana</i>	34
Tabela 8 - Resultados dos testes obtidos na segunda etapa com a fase hexânica da espécie <i>Chloris gayana</i>	35
Tabela 9 - Resultados dos testes obtidos na terceira etapa com a fase hexânica da espécie <i>Chloris gayana</i>	36

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Triagem fitoquímica das partes aéreas de <i>Chloris gayana</i> Kunth.....	21
--	----

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVOS	15
2.1	OBJETIVO GERAL.....	15
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	15
3	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	16
3.1	TOXICIDADE DE PLANTAS.....	16
3.2	TESTES DE TOXICIDADE.....	16
3.2.1	Investigação da toxicidade com <i>Artemia salina</i>	18
3.3	CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A FAMÍLIA POACEAE.....	19
3.4	CONSIDERAÇÕES SOBRE O GÊNERO <i>Chloris</i>	20
3.5	CONSIDERAÇÕES SOBRE A ESPÉCIE <i>Chloris gayana</i> Kunth.....	20
4	METODOLOGIA	22
4.1	LOCAL DE PESQUISA.....	22
4.2	<i>Artemia salina</i> Leach.....	22
4.3	OBTENÇÃO DOS EXTRATOS E SUBSTÂNCIAS VEGETAIS.....	22
4.4	VIDRARIA E ACESSÓRIOS.....	22
4.5	APARATO.....	23
4.5.1	Incubadora.....	23
5	TÉCNICA DE EXECUÇÃO	24
5.1	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	26
6	RESULTADOS	27
6.1	RESULTADOS OBTIDOS COM O EXTRATO ETANÓLICO BRUTO DA ESPÉCIE <i>Chloris gayana</i> Kunth.....	27
6.2	RESULTADOS OBTIDOS COM A FASE HIDROALCOÓLICA DA ESPÉCIE <i>Chloris gayana</i> Kunth.....	31
6.3	RESULTADOS OBTIDOS COM A FASE HEXÂNICA DA ESPÉCIE <i>Chloris gayana</i> Kunth.....	34
7	DISCUSSÃO	37
8	CONCLUSÃO	39
	REFERÊNCIAS	40

1 INTRODUÇÃO

Desde a antiguidade, as plantas são utilizadas como fonte de medicamentos para o tratamento das enfermidades que acometem o homem, de modo a aumentar suas chances de sobrevivência através da melhoria da saúde (CARVALHO et al., 2010). Mesmo com o incentivo da indústria farmacêutica para a utilização de medicamentos industrializados, grande parte da população ainda utiliza práticas complementares para cuidar da saúde, como o uso das plantas medicinais, visando assim à cura e prevenção de doenças, sendo esta, umas das mais antigas formas de prática medicinal (HOCAYEN, 2012).

Dados da Organização Mundial de Saúde (OMS) demonstram que cerca de 80% da população mundial já fez uso de algum tipo de planta na busca de alívio de alguma sintomatologia desagradável. Desse total, pelo menos 30% deu-se por indicação médica (LIMA et al., 2010). Apesar do intenso consumo das espécies vegetais nas mais diversas formas de processos extrativos, seja como chás, garrafadas ou emplastros, pouco ainda se sabem sobre a toxicologia das espécies utilizadas (ALONSO, 2008).

Plantas bioativas contêm um ou mais de um princípio ativo que lhe confere atividade terapêutica. Caso os princípios ativos não sejam conhecidos e, ainda assim, a planta apresente atividade medicinal satisfatória, ela pode ser utilizada desde que não apresente efeito tóxico (LORENZI; MATOS, 2011).

O uso indiscriminado das plantas pela população pode trazer riscos, por isso é importante à realização de testes de toxicidade na busca de uma terapêutica eficaz. O conceito errôneo de que as plantas são medicamentos naturais e, portanto, livre de riscos e efeitos colaterais deve ser reavaliado. Desta forma, é importante a avaliação do potencial tóxico das plantas medicinais e de seus constituintes através de estudos científicos necessários para que a população tenha acesso a uma terapia alternativa segura e de qualidade. Assim como as plantas podem representar medicamentos poderosos e eficazes, o risco de intoxicação causado pelo uso indevido deve ser sempre levado em consideração e deve-se ter cuidado não só na identificação correta das espécies no ato da aquisição, como também nas dosagens, para evitar riscos à saúde (AZEVEDO; MOURA, 2010; PITA, 2010; LORENZI; MATOS, 2011).

Dentro desse contexto se insere o estudo de espécies da família Poaceae. Esta família é constituída por 700 gêneros e 12.000 espécies, que dominam os ambientes abertos. Estima-se que pastos e savanas compreendem 20% da vegetação que cobre a terra. No Brasil, esta família está representada por cerca de 180 gêneros e 1500 espécies, disseminadas por quase

todas as regiões do país (SILVA, 2008).

Os representantes da família Poaceae predominam em formações campestres, sendo menos comuns no interior das formações florestais. A importância ecológica e econômica desta família é indiscutível, pela dominância em vários ecossistemas vegetais, pela utilização na alimentação dos animais e pelo uso dos cereais no regime alimentar do homem (WELKER, 2007). O perfil químico da família é bastante diversificado, já tendo sido isolado uma variedade de metabólitos secundários como esteroides, terpenos, alcalóides, saponinas, flavonóides e compostos fenólicos (PEREIRA, 2003; DUARTE; ZANETE, 2004; NEGRELLE; GOMES, 2007; SCRIVANTI et al., 2009; LORENZI; MATOS, 2011).

A fim de estabelecer a toxicidade de novos produtos naturais, vários ensaios podem ser utilizados, na busca de uma terapêutica eficaz. Entre eles, o ensaio de letalidade com a utilização de *A. salina*. Os ovos deste microcrustáceo apresenta elevada taxa de eclosão e são facilmente encontrados em lojas especializadas em aquários. Náuplios de *A. salina* são representativas do estágio larval das mesmas, ou seja, é a fase de recém eclosão. Estas são utilizadas para estimar a toxicidade através da concentração letal (CL_{50}) e os resultados podem ser tratados estatisticamente com facilidade (MEYER et al., 1982).

O interesse das indústrias farmacêutica, alimentícia e cosmética por produtos originários de plantas medicinais vêm aumentando cada vez mais. Sendo necessária a ampliação de pesquisas que possa garantir a produção com qualidade da matéria-prima. O número de espécies é muito amplo, porém, os estudos são escassos e as informações vagas (LIMA et al., 2010).

As informações anteriormente citadas foram aliadas ao fato da necessidade constante de estudos que assegurem a utilização de extratos e substâncias de origem vegetal, já que produtos naturais também podem apresentar toxicidade relevante.

Portanto, o presente estudo permite contribuir para a pesquisa no que se refere à avaliação da bioatividade/toxicidade de espécies vegetais, na perspectiva de apresentar a comunidade científica e a população em geral, plantas consideradas com potencial bioativo, ou seja, que podem apresentar toxicidade, pelos constituintes químicos relatados para a família e para a própria espécie, como é o caso da *Chloris gayana* Kunth, caracterizado por ainda não existirem estudos sobre sua possível toxicidade e representando assim, o foco do estudo.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

- Analisar a toxicidade e/ou bioatividade de extratos e substâncias de *Chloris gayana* Kunth.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a concentração letal 50% (CL₅₀) de extratos e fases obtidas da espécie *Chloris gayana* Kunth como parâmetro de toxicidade através do ensaio com *Artemia salina* Leach;
- Contribuir para a avaliação da atividade biológica de *Chloris gayana* Kunth, visando sua utilização em estudos farmacológicos posteriores.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 TOXICIDADE DE PLANTAS

Apesar das plantas possuírem muitos usos terapêuticos que são conhecidos popularmente pelas pessoas, o ser humano desconhece o fato de que elas podem apresentar toxicidade tanto para o homem quanto para os animais (RODRIGUES; ALMEIDA; PIRES, 2010; MARTINS et al., 2012).

As plantas tóxicas são assim denominadas por apresentarem substâncias capazes de causar alterações metabólicas, que são reconhecidas como sintomas de intoxicação que, em alguns casos, podem causar sérios transtornos e até mesmo levar a óbito. No Brasil, a cada dez casos de intoxicação por plantas, seis ocorrem em crianças menores de nove anos, devido à presença comum em ambientes públicos, inclusive escolas, em praças, parques e ambientes de visitação em geral (AFONSO; AIRES; LIMA, 2013).

De acordo com dados do Sistema Nacional de Informações Toxicológicas (SINITOX), no ano de 2010, no Brasil foram registrados 1132 casos de intoxicação humana por uso de plantas sendo que desses, cinco foram a óbito (SINITOX, 2010). Muitas plantas contêm substâncias capazes de exercer a ação tóxica sobre organismos vivos. É preciso ressaltar que várias plantas medicinais são completamente desconhecidas quanto ao potencial tóxico e que além do vegetal em si, são necessários outros parâmetros para a segurança do uso de plantas medicinais (SILVA; DANTAS; CHAVES, 2010).

Popularmente, muitas espécies são utilizadas sem que haja estudos toxicológicos. Segundo o conhecimento popular no qual a planta, por apresentar origem natural, provavelmente não acarreta riscos à saúde, reforça ainda mais a necessidade de extrema preocupação com relação ao seu uso (BEDNARCZUK et al., 2010).

3.2 TESTES DE TOXICIDADE

Toxicidade é a propriedade potencial de uma determinada substância química de instalar um estado patológico em consequência de sua introdução ou interação com o

organismo. Esta propriedade é verificada através da avaliação toxicológica onde se obtêm dados como dosagem, sinais, efeitos provocados que irão determinar o potencial de toxicidade. Uma das formas de proceder à avaliação toxicológica é através da administração da quantidade de planta ou doses do extrato em animais podendo ser realizada a toxicidade aguda, subcrônica ou crônica (SMOLAREK, 2011).

Os estudos de toxicidade aguda são aqueles utilizados para avaliar a toxicidade produzida por uma droga quando esta é administrada em uma ou mais doses durante um período não superior a 24 horas, seguido de observação dos animais por 14 dias após a administração (ANVISA, 2010). Estes também buscam conhecer a concentração ou dose letal mediana (CL_{50} ou DL_{50} , respectivamente), ou seja, concentração ou dose capaz de causar mortalidade em 50% dos organismos em estudo (OGA; CAMARGO; BATISTUZZO, 2008). Um dos animais que tem sido utilizado nesses bioensaios é uma espécie de crustáceo marinho, a *Artemia salina* Leach, que permite a avaliação da toxicidade aguda e é considerado um bioensaio preliminar no estudo de extratos e produtos de origem natural com potencial ativo biológico. Esse teste é viável devido à semelhança dos limites dos efeitos tóxicos produzidos em *A. salina* com aqueles produzidos no homem (AMARAL; SILVA, 2008).

Os estudos de toxicidade de doses repetidas (subcrônico e crônico) têm como objetivo, caracterizar o perfil toxicológico da substância pela administração repetida. A partir deles é possível à obtenção de informações sobre os efeitos tóxicos, identificação de órgãos alvos, efeitos nas funções fisiológicas, hematológicas, bioquímicas, anátomo e histopatológicas. Os testes de doses repetidas são divididos em subagudos, ou de doses repetidas – menos de 30 dias de tratamento; testes subcrônicos – mínimo de 30 dias ou testes crônicos – mínimo de 90 dias (ANVISA, 2010). Entretanto, este parâmetro vem sofrendo várias críticas por alguns fatores, por exemplo, o alto número de animais usados e pelo fato do evento morte ser o pior de todos os efeitos tóxicos (OGA; CAMARGO; BATISTUZZO, 2008).

A letalidade de organismos simples tem sido utilizada para um rápido monitoramento da resposta biológica, onde existe apenas um parâmetro envolvido: morte ou vida (CASTELLO-BRANCO, 2009). O ensaio de letalidade permite a avaliação da toxicidade geral e, portanto é considerado importante como bioensaio preliminar no estudo de compostos com potencial atividade biológica.

3.2.1 Investigação da toxicidade com *Artemia salina*

O microcrustáceo *A. salina* (Figura 1, p.19), da ordem Anostraca é utilizado na alimentação de peixes e camarões por seu alto valor nutritivo. Dependendo da alimentação ingerida esse microcrustáceo pode adquirir diversas colorações. Suas características são de nadarem com a parte ventral do corpo voltada para cima, ou seja, para a luz e de estarem sempre em locomoção, por serem animais filtradores e dependem disso para alimentar-se e respirar (ASEM, 2008). A utilização da *A. salina* em estudos toxicológicos preliminares deve-se a simplicidade com que pode ser manuseado. A rapidez e o baixo custo favorecem a utilização em diversos estudos. Um inconveniente deste bioensaio, no entanto, é que o meio salino diminui a solubilidade e biodisponibilidade de algumas substâncias, limitando, assim, a detecção de eventuais constituintes bioativos da planta (MAYORGA et al., 2010).

Ensaio de letalidade são muito utilizados em análises preliminares de toxicidade geral podendo estimar a concentração média letal (CL_{50}) (LUNA et al., 2005). Segundo Meyer et al. (1982) foi estabelecido uma relação entre o grau de toxicidade e a concentração letal média, CL_{50} , de extratos de plantas sobre microcrustáceos *A. Salina*, considerando que quando verificados valores acima de 1000 $\mu\text{g/mL}$ e não havendo morte acima de 50%, estes, são considerados sem toxicidade considerável. Diversos trabalhos vêm tentando correlacionar a toxicidade sobre *A. Salina* com atividades antifúngica, viruscida, antimicrobiana, tripanossomicida e parasiticida (DALARMI, 2012).



Figura 1 - *Artemia salina* Leach.

Fonte: <http://www.brasilreef.com/viewtopic.php?t=10932>

3.3 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A FAMÍLIA POACEAE

A família Poaceae inclui 700 gêneros e cerca de 12.000 espécies, que dominam ambientes abertos. No Brasil, encontram-se 180 gêneros e 1.500 espécies, disseminadas por quase todas as regiões do país. Os representantes da família Poaceae predominam em formações campestres, sendo menos comuns no interior das formações florestais.

Há muitas espécies forrageiras, invasoras, utilizadas na alimentação humana (cana-de-açúcar e cereais), na construção civil e artesanato (bambus, taquaras) e na cobertura do solo, inclusive para recuperação de áreas degradadas. O conhecimento da flora agrostológica é de fundamental importância para o embasamento de estudos fitossociológicos e ecológicos campestres. A identificação das espécies que compõem as pastagens é dificultada pelo fato de os representantes da família Poaceae apresentarem uma morfologia peculiar e uma terminologia muito específica (WELKER; LONGHI-WAGNER, 2007; FERREIRA et al., 2009).

Algumas de suas espécies possuem uso na medicina popular, como, por exemplo: *Coix lacryma-jobi*, conhecida por lágrima-de-nossa senhora e usada contra micoses e antisséptica das vias urinárias, a espécie *Gynesium sagitum* utilizada contra queda de cabelos; *Saccharum officinarum*, a popular cana-de-açúcar, utilizadas contra aftas (FENNER et al., 2006). Além destas, merece destaque a *Cymbopogon citratus*, conhecida por capim-limão, que tem grande destaque na família por sua importância socioeconômica e financeira. O “chá” ou “abafado”

preparado de suas folhas frescas ou secas é muito utilizado na medicina popular em quase todos os continentes e abrange uma ampla gama de indicações, como: antigripal, analgésico, antiemético, antitérmico e anti-inflamatório (GOMES; NEGRELLE, 2003; DUARTE; ZANETE, 2004; HAIDA et al., 2007).

3.4 CONSIDERAÇÕES SOBRE O GÊNERO *Chloris*

O gênero *Chloris* pertencente à família Poaceae, subfamília Chloridoideae, e é composta por cerca de 40 espécies, das quais são amplamente distribuídas em regiões tropicais e subtropicais. O gênero é pouco conhecido e suas espécies são usadas principalmente como forrageiras, como é o caso da espécie *Chloris gayana*. Além destas, também podem ser citadas as espécies *Chloris pycnothrix*, *Chloris grandiflora* e *Chloris barbata*, *Chloris polydactyla* que são conhecidas como plantas daninhas (ervas daninhas, infestantes), denominação para as plantas que crescem em locais indesejados e que geralmente apresentam algum efeito econômico negativo. Este termo é mais utilizado no sentido agrônomo, pois muitas espécies são injustamente enquadradas como negativas, porque essas também apresentam empregos positivos conhecidos (alimentícia, medicinal, impedem a erosão, forrageira, apícola, pioneiras e fixadoras de nitrogênio) e outros, talvez ainda desconhecidos. Seus nomes populares variam de região para região, e podem ser chamados de capim de pé de galinha, capim de Rhodes, capim cebola, capim fino, grama azul, entre outros (SCHNEIDER, 2007; LORENZI, 2008; MACIEL et al., 2013).

3.5 CONSIDERAÇÕES SOBRE A ESPÉCIE *Chloris gayana* Kunth

Chloris gayana Kunth (Figura 2) é nativa da África e foi introduzida no Brasil se tornando naturalizada e tendo registros para os estados de São Paulo e Rio Grande do Sul (MOLINA; AGRASAR 2004; FILGUEIRAS 2012). Entre todas as espécies registradas, é a que apresenta o maior potencial forrageiro (MACIEL et al., 2013).



Figura 2 - *Chloris gayana* Kunth.

Fonte: <http://florabase.dpaw.wa.gov.au/science/timage/267ic1.jpg>

Segundo o estudo realizado por Oliveira (2014) a triagem fitoquímica do extrato etanólico bruto (EEB) e das fases hexânica, hidroalcoólica e clorofórmica de *Chloris gayana* Kunth revelou a presença de importantes classes de metabólitos secundários, como esteróides, flavonóides, taninos, alcaloides, triterpenos e saponinas (Quadro 1, p.21).

PESQUISA		RESULTADO			
METABÓLITO SECUNDÁRIO	TESTE	EEB	FASE HEX	FASE CHCl ₃	FASE MeOH:H ₂ O
Esteroides	Lieberman-Burchard	+	+	-	-
Triterpenos	Lieberman-Burchard	-	-	+	-
Flavonoides	Shinoda	-	-	-	-
	FeCl ₃	-	-	-	+
	NaOH	+	+	+	+
Taninos	FeCl ₃	+	-	-	+
Alcaloides	Dragendorff	+	+	+	-
	Bouchardat	+	+	+	-
Saponinas	Índice de espuma	-	-	-	-

Quadro 1- Triagem fitoquímica das partes aéreas de *Chloris gayana* Kunth. O sinal (+) indica presença e (-) ausência do constituinte químico (OLIVEIRA, 2014).

4 METODOLOGIA

4.1 LOCAL DE PESQUISA

As atividades de pesquisa foram desenvolvidas no Laboratório de Farmacologia e Toxicologia do Centro de Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina Grande – Campus Cuité.

4.2 *Artemia salina* Leach

Os cistos de *Artemia salina* foram provenientes do Laboratório de Ensaio Toxicológicos (LABETOX) da Universidade Federal da Paraíba. Estes foram armazenados sob resfriamento a 5°C até a execução dos experimentos. As larvas de *Artemia salina* foram utilizadas na forma de náuplio para determinação da Concentração Letal Média (CL₅₀) como parâmetro de avaliação da atividade toxicológica (LOPES et al., 2002).

4.3 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS E SUBSTÂNCIAS VEGETAIS

As fases e extratos de *Chloris gayana* Kunth foram obtidos e cordialmente cedidos pela Prof^a. Dra. Danielly Albuquerque da Costa do Laboratório de Farmacognosia da Unidade Acadêmica de Saúde - CES/UFCG.

4.4 VIDRARIA E ACESSÓRIOS

- ✓ Balão volumétrico de 1 L;
- ✓ Balões volumétricos de 5 mL;
- ✓ Bastão de vidro;
- ✓ Béquers de 250 mL;
- ✓ Espátulas;
- ✓ Funil;

- ✓ Galeria para tubos de ensaio;
- ✓ Luminária com lâmpada de 40W;
- ✓ Pipetas volumétricas (2 - 1000 μ L);
- ✓ Pipetas de Pasteur com pêra;
- ✓ Tubos de ensaio de 10 mL;
- ✓ Vidro de relógio;

4.5 APARATO

4.5.1 Incubadora

A incubadora para eclosão dos cistos de *Artemia salina* consistiu de um recipiente retangular de vidro com uma divisória contendo furos de aproximadamente 0,02cm de espessura e distribuídos uniformemente (Figura 3, p. 23).



Figura 3 - Incubadora com divisória contendo furos.

Fonte: Arquivo do Autor.

5 TÉCNICA DE EXECUÇÃO

O bioensaio com *A. salina* é baseado na técnica descrita por Meyer e colaboradores (1982). Após a escolha e preparação do extrato, procedeu-se com a implantação e padronização da metodologia com *A. salina*.

Os testes foram realizados com o extrato etanólico bruto e as fases hidroalcoólica e hexânica oriundas do particionamento de *Chloris gayana*. Primeiramente, foi utilizado o extrato etanólico bruto da espécie *Chloris gayana*. De início, preparou-se a solução salina oriunda da solubilização de 38g de sal marinho (Martinez®) em 1 litro de água destilada. Dessa forma, foi realizado o ensaio e, posteriormente, os náuplios de *A. salina* foram colocados na incubadora, juntamente com a solução salina, em um dos lados do recipiente (Figura 4, p. 24).



Figura 4 - Parte recoberta do sistema contendo os cistos.

Fonte: Arquivo do Autor.

O recipiente permanecerá sob iluminação através de uma lâmpada incandescente (40 W) por um período de 24 horas. A parte do sistema contendo os cistos foi recoberta com papel alumínio, para que as larvas, após a eclosão dos cistos, fossem atraídas pela luz do outro lado do sistema, forçando-as a atravessar à divisória onde foram coletadas com auxílio de uma pipeta *Pasteur* (Figura 5, p. 25).



Figura 5 - Incubadora sob exposição à luz.

Fonte: Arquivo do Autor.

Em um béquer, pesou-se 0,02 g do extrato etanólico bruto da *C. gayana*, que foi dissolvido em 20 μ l de Cremofor (solvente) e 5 ml da solução salina, obtendo-se a solução mãe. Onde sua concentração obtida foi de 0,004 g/ml, encontrada através da fórmula $C = m/v$. Onde, $C = 0,02g / 0,02 + 5$, $C = 4.000 \mu\text{g/ml}$.

Em seguida, em tubos de ensaio, foram adicionados 60, 120, 240, 480, 960, 1920 e 3840 μ l da solução mãe e 5 ml da solução salina.

Em cada tubo foi adicionado 10 artemias que foram coletadas com auxílio de uma pipeta de Pasteur. Cada concentração foi testada em triplicata e repetida em três experimentos.

Um grupo controle foi preparado contendo apenas o solvente (cremofor) e as larvas que serviram de controle para o ensaio.

O conjunto permaneceu em incubação sob luz artificial por um período de 24 horas e, posteriormente, foi realizada a contagem do número de larvas vivas e mortas, para determinação da CL_{50} (concentração que produz 50 % de letalidade).

Posteriormente, o mesmo procedimento foi utilizado para as fases hidroalcoólica e hexânica, usando as mesmas concentrações, exceto para a fase hexânica que não foi necessário a realização do teste na concentração de 1738 μ L por esta ter apresentado mortalidade de 100% em uma concentração inferior. Não foi possível a realização do teste com a fase diclorometânica, tendo em vista que esta não apresentou solubilidade com os

solventes testados.

Após efetuar as diluições para as concentrações em um intervalo de 60 – 3840 µg/ml para os extratos da *Chloris gayana*, obteve-se as seguintes concentrações de 47, 94, 183, 350, 644, 1110 e 1738 µg/ml.

Foi adotado um parâmetro para os valores de CL_{50} , onde, foi considerada de baixa toxicidade quando a dose letal CL_{50} for superior a 500 µg.ml⁻¹; moderada para CL_{50} entre 100 a 500 µg.ml⁻¹ e muito tóxico quando a CL_{50} for inferior 100 µg.ml⁻¹ (MCLAUGHLIN et al., 1993). Meyer et al. (1982) estabeleceu uma relação entre o grau de toxicidade e a concentração letal média, CL_{50} , apresentada por extratos de plantas sobre larvas de *A. salina*, desde então, considera-se que quando são verificados valores acima 1000 µg/mL, estes, são considerados atóxicos (MEYER et al., 1982).

5.1 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os valores de CL_{50} foram calculados através da expressão dos resultados como uma percentagem dos controles, e determinados graficamente a partir das curvas concentração-resposta por regressão não linear com intervalo de confiança de 95%, utilizando-se o programa “Graph Pad Prism” 5.0.

6 RESULTADOS

6.1 RESULTADOS OBTIDOS COM O EXTRATO ETANÓLICO BRUTO DA ESPÉCIE *Chloris gayana* Kunth.

Após a conversão da concentração do extrato etanólico da espécie *Chloris gayana*, obteve-se as concentrações 47, 94, 183, 350, 644, 1110 e 1738 $\mu\text{g.ml}^{-1}$, como representado nas tabelas abaixo.

Na tabela 1, percebe-se que nas concentrações de 47, 94 e 183 $\mu\text{g.ml}^{-1}$ não houve morte de artemias. Na concentração de 350 $\mu\text{g.ml}^{-1}$, inicia-se a morte das mesmas, sendo esta representativa de 11,1% de mortalidade alcançando 91,1% na concentração máxima testada.

Tabela 1 - Resultados dos testes obtidos na primeira etapa com extrato etanólico bruto da espécie *Chloris gayana*.

CONCENTRAÇÃO	Artemias vivas	Artemias mortas	% Artemias vivas	% Artemias mortas
CONTROLE	630	0	100%	0%
47 $\mu\text{g.ml}^{-1}$	90	0	100%	0%
94 $\mu\text{g.ml}^{-1}$	90	0	100%	0%
183 $\mu\text{g.ml}^{-1}$	90	0	100%	0%
350 $\mu\text{g.ml}^{-1}$	80	10	88,9%	11,1%
644 $\mu\text{g.ml}^{-1}$	69	21	76,7%	23,3%
1110 $\mu\text{g.ml}^{-1}$	59	31	65,6%	34,4%
1738 $\mu\text{g.ml}^{-1}$	8	82	8,9%	91,1%

Fonte: Autoria própria.

Na tabela 2, percebe-se que a mortalidade das artemias inicia na concentração de 350 $\mu\text{g.ml}^{-1}$, apresentando 12,2% de mortalidade. Já nas concentrações de 644, 1110 e 1738 $\mu\text{g.ml}^{-1}$ apresentaram respectivamente, 22,2%, 33,3% e 88,9% de mortalidade.

Tabela 2 - Resultados dos testes obtidos na segunda etapa com extrato etanólico bruto da espécie *Chloris gayana*.

CONCENTRAÇÃO	Artemias vivas	Artemias mortas	% Artemias vivas	% Artemias mortas
CONTROLE	630	0	100%	0%
47 $\mu\text{g.ml}^{-1}$	90	0	100%	0%
94 $\mu\text{g.ml}^{-1}$	90	0	100%	0%
183 $\mu\text{g.ml}^{-1}$	90	0	100%	0%
350 $\mu\text{g.ml}^{-1}$	79	11	87,8%	12,2%
644 $\mu\text{g.ml}^{-1}$	70	20	77,8%	22,2%
1110 $\mu\text{g.ml}^{-1}$	60	30	66,7%	33,3%
1738 $\mu\text{g.ml}^{-1}$	10	80	11,1%	88,9%

Fonte: Autoria própria.

Na tabela 3, observa-se que nas concentrações de 47, 94 e 183 $\mu\text{g.ml}^{-1}$ não houve morte de *Artemias salinas*. Os resultados obtidos nesta etapa correspondem a uma média de 0; 0; 0; 0; 12,2; 24,4; 36,7 e 94,4% de artemias mortas, para as concentrações de 47, 94, 183, 350, 644, 1110 e 1738 $\mu\text{g.ml}^{-1}$, respectivamente, como mostra a tabela .

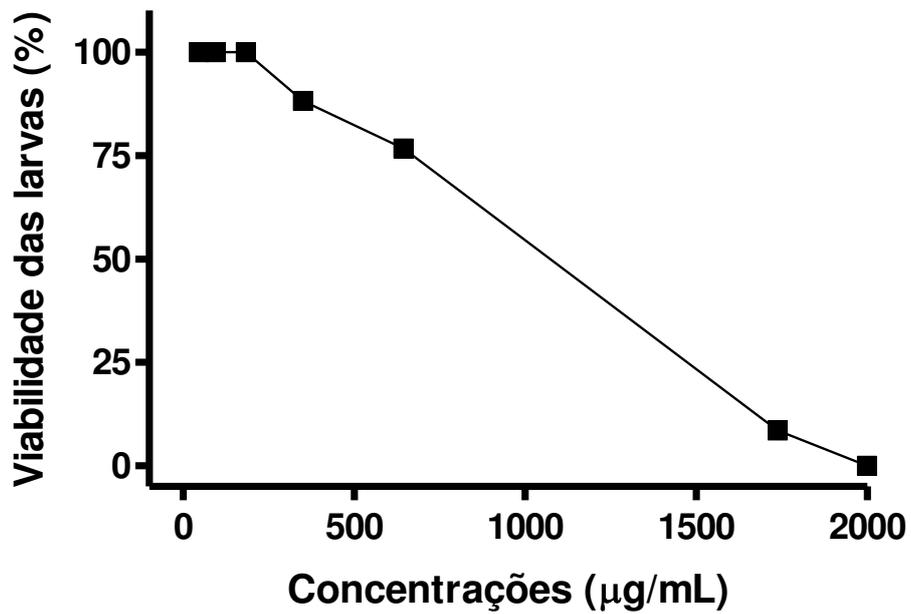
Tabela 3 - Resultados dos testes obtidos na terceira etapa com extrato etanólico bruto da espécie *Chloris gayana*.

CONCENTRAÇÃO	Artemias vivas	Artemias mortas	% Artemias vivas	% Artemias mortas
CONTROLE	630	0	100%	0%
47 $\mu\text{g.ml}^{-1}$	90	0	100%	0%
94 $\mu\text{g.ml}^{-1}$	90	0	100%	0%
183 $\mu\text{g.ml}^{-1}$	90	0	100%	0%
350 $\mu\text{g.ml}^{-1}$	79	11	87,8%	12,2%
644 $\mu\text{g.ml}^{-1}$	68	22	75,6%	24,4%
1110 $\mu\text{g.ml}^{-1}$	57	33	63,3%	36,7%
1738 $\mu\text{g.ml}^{-1}$	5	85	5,6%	94,4%

Fonte: Autoria própria.

A partir disso, pode-se determinar graficamente curvas concentração-resposta por regressão não linear com intervalo de confiança de 95% a CL_{50} para *Artemia salina* frente ao extrato etanólico bruto, como demonstrado na figura 6.

Para o extrato etanólico bruto, obteve - se uma CL_{50} de $1.562 \mu\text{g/ml}^{-1}$ com intervalo de confiança de 1.018 a $2.399 \mu\text{g/ml}^{-1}$.



$$CL_{50} = 1.562 (1.018 - 2.399) \mu\text{g/ml}$$

Figura 6 – Gráfico da CL_{50} do extrato etanólico bruto da espécie *Chloris gayana*.

6.2 RESULTADOS OBTIDOS COM A FASE HIDROALCOÓLICA DA ESPÉCIE *Chloris gayana* Kunth

Os resultados obtidos para a fase hidroalcoólica demonstram que há morte crescente de *Artemias salinas* em decorrência do aumento das concentrações testadas. Percebe-se que, mesmo em sua concentração máxima, não há morte de 100% destas, como demonstrado nas tabelas 4, 5 e 6.

Segundo os dados apresentados na tabela 4, observa-se apenas mortalidade na concentração máxima testada, sendo esta indicativa de apenas 20% de mortalidade de artemias.

Tabela 4 - Resultados dos testes obtidos na primeira etapa com a fase hidroalcoólica da espécie *Chloris gayana*.

CONCENTRAÇÃO	Artemias vivas	Artemias mortas	% Artemias vivas	% Artemias mortas
CONTROLE	630	0	100%	0%
47 µg.ml⁻¹	90	0	100%	0%
94 µg.ml⁻¹	90	0	100%	0%
183 µg.ml⁻¹	90	0	100%	0%
350 µg.ml⁻¹	90	0	100%	0%
644 µg.ml⁻¹	90	0	100%	0%
1110 µg.ml⁻¹	90	0	100%	0%
1738 µg.ml⁻¹	72	18	80%	20%

Fonte: Autoria própria.

Na tabela 5, observa-se que nas concentrações de 47, 94, 183, 350, 644 e 1110 $\mu\text{g.ml}^{-1}$ não há presença de mortalidade de *Artemias salinas*. Na concentração mais elevada, percebe-se um baixo índice de mortalidade, sendo este representativo de 16,7% .

Tabela 5 - Resultados dos testes obtidos na segunda etapa com a fase Hidroalcoólica da espécie *Chloris gayana*.

CONCENTRAÇÃO	Artemias vivas	Artemias mortas	% Artemias vivas	% Artemias mortas
CONTROLE	630	0	100%	0%
47 $\mu\text{g.ml}^{-1}$	90	0	100%	0%
94 $\mu\text{g.ml}^{-1}$	90	0	100%	0%
183 $\mu\text{g.ml}^{-1}$	90	0	100%	0%
350 $\mu\text{g.ml}^{-1}$	90	0	100%	0%
644 $\mu\text{g.ml}^{-1}$	90	0	100%	0%
1110 $\mu\text{g.ml}^{-1}$	90	0	100%	0%
1738 $\mu\text{g.ml}^{-1}$	75	15	83,3%	16,7%

Fonte: Autoria própria.

De acordo com a tabela 6, os resultados obtidos apresentaram uma média de 0% de mortalidade para as concentrações de 47, 94, 183, 350, 644 e 1110 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. Apenas a concentração de 1738 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ apresentou mortalidade de artemias, sendo esta representada por 27,8% das artemias mortas.

Tabela 6 - Resultados dos testes obtidos na terceira etapa com a fase Hidroalcoólica da espécie *Chloris gayana*.

CONCENTRAÇÃO	Artemias vivas	Artemias mortas	% Artemias vivas	% Artemias mortas
CONTROLE	630	0	100%	0%
47 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$	90	0	100%	0%
94 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$	90	0	100%	0%
183 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$	90	0	100%	0%
350 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$	90	0	100%	0%
644 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$	90	0	100%	0%
1110 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$	90	0	100%	0%
1738 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$	65	25	72,2%	27,8%

Fonte: Autoria própria.

6.3 RESULTADOS OBTIDOS COM A FASE HEXÂNICA DA ESPÉCIE *Chloris gayana* kunth

Com base nos dados observados na tabela 7, 8 e 9, percebe-se a ocorrência de mortalidade apenas nas concentrações mais elevadas.

Na tabela 7, percebe-se que não há mortalidade de artemias nas concentrações de 47, 94, 183 e 350 $\mu\text{g.ml}^{-1}$. Há uma baixa mortalidade na concentração de 644 $\mu\text{g.ml}^{-1}$, sendo representada por 5,6% de mortalidade. Na concentração de 1110 $\mu\text{g.ml}^{-1}$, houve 100% de mortalidade das artemias, não sendo necessário realizar os testes em concentrações mais elevadas.

Tabela 7 - Resultados dos testes obtidos na primeira etapa com a fase hexânica da espécie *Chloris gayana*.

CONCENTRAÇÃO	Artemias vivas	Artemias mortas	% Artemias vivas	% Artemias mortas
CONTROLE	630	0	100%	0%
47 $\mu\text{g.ml}^{-1}$	90	0	100%	0%
94 $\mu\text{g.ml}^{-1}$	90	0	100%	0%
183 $\mu\text{g.ml}^{-1}$	90	0	100%	0%
350 $\mu\text{g.ml}^{-1}$	90	0	100%	0%
644 $\mu\text{g.ml}^{-1}$	84	6	94,4%	5,6%
1110 $\mu\text{g.ml}^{-1}$	0	90	0%	100%
1738 $\mu\text{g.ml}^{-1}$	-	-	-	-

Fonte: Aatoria própria.

Na tabela 8, os resultados obtidos demonstram que nas concentrações de 47, 94, 183 e 350 $\mu\text{g.ml}^{-1}$ não apresentou mortalidade de artemias. Por outro lado, na concentração de 644 $\mu\text{g.ml}^{-1}$, 6,7% das artemias morreram e, na concentração de 1110 $\mu\text{g.ml}^{-1}$ houve 100% de mortalidade, ou seja, no intervalo das concentrações de 644 e 1110 $\mu\text{g.ml}^{-1}$, houve morte de artemias, sendo estas, mais significativas para a concentração de 1110 $\mu\text{g.ml}^{-1}$, totalizando 100% de mortalidade.

Tabela 8 - Resultados dos testes obtidos na segunda etapa com a fase hexânica da espécie *Chloris gayana*.

CONCENTRAÇÃO	Artemias	Artemias	% Artemias	% Artemias
	vivas	mortas	vivas	mortas
CONTROLE	630	0	100%	0%
47 $\mu\text{g.ml}^{-1}$	90	0	100%	0%
94 $\mu\text{g.ml}^{-1}$	90	0	100%	0%
183 $\mu\text{g.ml}^{-1}$	90	0	100%	0%
350 $\mu\text{g.ml}^{-1}$	90	0	100%	0%
644 $\mu\text{g.ml}^{-1}$	84	6	93,3%	6,7%
1110 $\mu\text{g.ml}^{-1}$	0	90	0%	100%
1738 $\mu\text{g.ml}^{-1}$	-	-	-	-

Fonte: Autoria própria.

Na tabela 9, observa-se que não há mortalidade nas concentrações mais baixas, ou seja, nas concentrações de 47, 94, 183 e 350 $\mu\text{g.ml}^{-1}$. Houve 5,6% de mortalidade na concentração de 644 $\mu\text{g.ml}^{-1}$ e 100% de mortalidade na concentração de 1110 $\mu\text{g.ml}^{-1}$, como representado na tabela abaixo.

Tabela 9 - Resultados dos testes obtidos na terceira etapa com a fase hexânica da espécie *Chloris gayana*.

CONCENTRAÇÃO	Artemias vivas	Artemias mortas	% Artemias vivas	% Artemias mortas
CONTROLE	630	0	100%	0%
47 $\mu\text{g.ml}^{-1}$	90	0	100%	0%
94 $\mu\text{g.ml}^{-1}$	90	0	100%	0%
183 $\mu\text{g.ml}^{-1}$	90	0	100%	0%
350 $\mu\text{g.ml}^{-1}$	90	0	100%	0%
644 $\mu\text{g.ml}^{-1}$	85	5	94,4%	5,6%
1110 $\mu\text{g.ml}^{-1}$	0	90	0%	100%
1738 $\mu\text{g.ml}^{-1}$	-	-	-	-

Fonte: Autoria própria.

7 DISCUSSÃO

É consenso na literatura que uma forma de complementar os estudos fitoquímicos é associá-los a bioensaios simples, no intuito de selecionar e monitorar a pesquisa de extratos de plantas na procura de plantas bioativas (NASCIMENTO et al., 2008).

O extrato etanólico bruto da *Chloris gayana* apresentou uma baixa toxicidade, com uma $CL_{50} = 1.562 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ e um intervalo de confiança entre 1.018 a $2.399 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ (figura 6). Diferentemente dos resultados encontrados em estudos anteriormente realizados no laboratório do CES/ UFCG, observou-se que o extrato bruto da *Sida santaremnensis*, apresentou uma $CL_{50} = 24,44 (20,00 - 28,88) \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, sendo assim considerada de elevada toxicidade (ALVES, 2014). Enquanto que, o extrato etanólico bruto da *Erythroxylum revolutum*, também analisada no laboratório no CES apresentou uma $CL_{50} = 308,1 (241,1 - 393,6) \mu\text{g}/\text{ml}^{-1}$, sendo considerada com toxicidade moderada (PEIXOTO, 2014).

Segundo Fu et al. (2007) a característica de toxicidade elevada em extratos brutos podem estar associadas a maior quantidade de metabólitos secundários existentes nesses extratos, refletindo assim, uma maior potencialidade tóxica da planta, o que explica o fato de que alguma fração separadamente pode apresentar baixa, moderada ou elevada toxicidade. Pelo fato de não ter sido testada a fase clorofórmica.

Para a fase hidroalcoólica da *Chloris gayana*, não foi necessário calcular a CL_{50} , tendo em vista que houve uma pequena porcentagem de mortalidade com artemias, sendo estas observadas apenas na concentração máxima testada, ou seja, na concentração de $1.738 \mu\text{g}/\text{ml}^{-1}$.

O estudo de Déciga et al. (2007) estabeleceu uma relação entre o grau de toxicidade e a concentração letal média, CL_{50} , apresentada por extratos de plantas sobre larvas de *A. salina*, desde então, consideraram que quando são verificados valores de CL_{50} acima $1.000 \mu\text{g}/\text{ml}^{-1}$, estes são considerados atóxicos.

A fase hexânica apresentou morte de artemias apenas nas concentrações de $644 \mu\text{g}/\text{ml}^{-1}$ e $1110 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, apresentando 100% de morte para a concentração de $1110 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. Mesmo apresentando esses dados, não foi necessário calcular a CL_{50} da mesma. Segundo estudo realizado por Déciga et al. (2007), extratos e frações que promovem mortalidade menor que 30% na concentração de $1.000 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ são considerados atóxicos. Já os extratos e frações com mortalidade maior ou igual a 30% nesta concentração, continuam a serem submetidos aos testes toxicológicos. Nota-se então que há mortalidade de 100% para concentrações acima de

1110 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$.

Nota-se que o extrato etanólico bruto apresentou maior toxicidade, tendo em vista a elevada mortalidade de artemias nas concentrações testadas. Ao comparar este resultado com aqueles obtidos para as fases hidroalcoólica e hexânica, percebe-se que estas conferem baixa toxicidade. Este fato, pode ser em parte justificado, porque o extrato etanólico bruto contém um representativo de todos os constituintes de *Chloris gayana* indicando que o efeito tóxico apresentado deve-se à associação das várias substâncias presentes neste. Contudo, pelo fato de não ter sido possível testar a fase diclorometânica, outra possibilidade seria os constituintes tóxicos estarem presentes nesta fase.

Segundo Carballo et al. (2002) e Mclaughlin (1991) os resultados obtidos com ensaios de letalidade com larvas de *A. salina* apresentam uma boa correlação para extratos de plantas, sugerindo que este bioensaio seja utilizado para testar produtos naturais com atividade farmacológica. Como por exemplo, a citotoxicidade em linhagens de células tumorais.

Os dados demonstram que a ausência de toxicidade é indispensável para o uso seguro, elegendo esse extrato à condição de promissor, para ser avaliado quanto ao seu potencial biológico, uma vez que a ausência de toxicidade diz respeito aos efeitos adversos que o extrato possa vir a apresentar. Nos estudos de plantas e de novas substâncias, um balanço entre a atividade biológica versus a toxicidade é um parâmetro fundamental para verificar sua aplicabilidade (SANTOS, 2014).

8 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados da pesquisa, conclui-se que:

- O extrato etanólico bruto não apresentou toxicidade significativa nas concentrações testadas;
- Para as fases hidroalcoólica e hexânica não foi necessário calcular a concentração letal;
- A baixa de toxicidade promove o extrato da *Chloris gayana* como promissor quanto ao seu potencial biológico;
- Reforça a ideia de realização de novos estudos com a espécie para determinação de constituintes que possam ser úteis na indústria farmacêutica, alimentícia, cosmética ou agroindustrial, tendo em vista que hoje, a planta é principalmente conhecida pelo seu potencial forrageiro.

REFERÊNCIAS

AFONSO, A.P.; AIRES, I.C.S.; LIMA, R.A. **Identificação de plantas tóxicas em praças públicas centrais no município de porto velho - RO**. Belo Horizonte, 2013.

ALONSO, J. **Fitomedicina: curso para profissionais da área da saúde**. Editora Pharmabooks. São Paulo, p. 28 – 33, 2008.

ALVES, J. D. **Investigação da toxicidade de *sida santaremnensis* através do bioensaio com *Artemia salina* Leach**. 2014. 52f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) – Universidade Federal de Campina Grande – Cuité, 2014.

AMARAL, E. A.; SILVA, R. M. G. Avaliação da toxidade aguda de angico (*anadenanthera Falcata*), pau-santo (*kilmeyera coreacea*), aroeira (*myracrodruon urundeuva*) e cipó-de-são-jão (*pyrostegia Venusta*), por meio do bioensaio com *artemia salina*. **Perquirêre- Revista Eletrônica da Pesquisa**. Ed.5, Ano 5, jun 2008.

AZEVEDO, C.D.; MOURA, M.A. **Cultivo de Plantas Medicinais – Guia Prático**. Niterói: Programa Rio Rural. Manual Técnico. 20p. 2010.

BEDNARCZUK, V.O; VERDAM, M.C.S; MIGUEL, M.D; MIGUEL, O.G. **Testes in vitro e in vivo utilizados na triagem toxicológica de produtos naturais**. Curitiba, v.11, n.2, Jul. - Dez./ 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) . Gerência de Avaliação de Segurança e Eficácia – GESEF. **Guia para a condução de estudos não clínicos de segurança necessários ao desenvolvimento de medicamentos**. Brasília, DF. mar, 2010.

CARBALLO, J. L.; HERNÁNDEZ, Z. L. I; PÉREZ, P.; GARCÍA-GRÁVALOS, M. D. A comparison between two brine shrimp assays to detect *in vitro* cytotoxicity in marine natural products. **BMC Biotechnol**, v. 2, p. 1-5, 2002.

CARVALHO, M.C.G.; PIRES, R.L.; FLORINDO, W.S.; CAVALCANTI, A.S.S. Evidências para o uso de *Indigo naturalis* no tratamento da psoríase tipo placa: uma revisão sistemática. **Natureza online**, v. 8, n. 3, p. 127-131, 2010.

CASTELLO BRANCO, A. C. S. **Avaliação da toxicidade crônica pré-clínica de *Foeniculumvulgaremill***. 2009. 136f. Tese (Doutorado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.

DALARMI, L. **Estudo fitoquímico e avaliação das atividades biológicas da *Dalbergia brasiliensis*, Vogel**. 2012. (Dissertação) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

DÉCIGA, C. M.; RIVERO, C. I.; ARRIAGA, A. M.; CASTAÑEDA, C. G.; ANGELES, L. G. E.; NAVARRETE, A. M. R. Acute toxicity and mutagenic activity of Mexican plants used in traditional medicine. **Journal Ethnopharmacol**, v. 2 , p. 42-334, 2007.

DUARTE, M. R.; ZANETE, C. C. Estudo farmacobotânico de folhas de capim-limão: *Cymbopogon citratus* (DC.) STAPF, Poaceae. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 5, p. 117-124, Jul.- Dez./ 2004.

FENNER, R.; BETTI, A. H.; MENTZ, L. A; RATES, S. M. K. Plantas utilizadas na medicina popular brasileira com potencial atividade antifúngica. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 42,n.3, p.369-394, set, 2006.

FERREIRA C. G. T.; OLIVEIRA R. C.; VALLS J. F. M .; LOIOLA M. I. B.; Poaceae da Estação Ecológica do Seridó, Rio Grande do Norte, Brasil. **Hoehnea** , São Paulo, v.36 , n.4, p.679-707, 2009.

FILGUEIRAS, T.S. 2012. *Chloris*. In: **Forzza, R.C. et al. (eds.). Lista de espécies da flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2011/FB013081>>. Acesso em 22 Jun 2012.

FU, Y.; ZU, Y.; CHEN, L.; SHI, X.; WANG, Z.; SUN, S.; EFFERTH, T. Antimicrobial activity of clove and rosemary essential oils alone and in combination. **Phytotherapy Research**, v.21, p. 989-994, 2007.

GOMES, E. C.; NEGRELLE, R. R. B. *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf: Aspectos botânicos e ecológicos. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 4, n. 2, p. 137-144, 2003.

HADA, K. S.; PARZIANELLO, L.; WERNER, S.; GARCIA, D. R.; INÁCIO, C. V. Avaliação in vitro da atividade antimicrobiana de oito espécies de plantas medicinais. **Arquivos de Ciências da Saúde Unipar**, Umuarama, v. 11, p. 185-192,set.-dez./ 2007.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. **As Plantas Medicinais no Brasil: Nativas e Exóticas** – 2. ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2008. 544p. Reimpresso em março de 2011 com algumas correções e revisão ortográfica.

LUNA, J. S.; SANTOS, A. F.; LIMA, M. R. F.; OMENA, M. C.; MENDONÇA, F. A. C.; BIEBER, L. W.; SANT'ANA, A. E. G. A study of the larvicidal and molluscicidal activities of some medicinal plants from northeast Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 97, p. 199-206, 2005.

MACIEL, J.R., SILVA, W.C; COSTA-E-SILVA, M.B. O gênero *Chloris* (Poaceae) em Pernambuco, Brasil. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v.64, n.1, p. 169-177, jan.-mar./2013.
MARTINS, R. T. et al. Receptores opióides até o contexto atual. **Revista Dor**, São Paulo, v. 13, n. 1, p. 75-9, jan/mar. 2012.

MAYORGA, P.; PÉREZ, K. R.; CRUZ, S. M.; CÁCERES, A. **Comparison of bioassays using the anostracan crustaceans *Artemia salina* and *Thamnocephalus platyurus* for plant extract toxicity screening.** 898p. 2010.

McLAUGHLIN, J. L. Crown gall tumours on potato discs and brine shrimp lethality: two simple bioassays for higher plant screening and fractions. In: Dey PM, Harbone JB (ed.) **Methods in Plant Biochemistry.** New York: Academic Press, p.1-32, 1991.

MEYER, B. N.; FERRIGNI N. R.; PUTNAM, L. B.; JACOBSEN, L. B.; NICHOLS D. E.; McLAUGHLIN, J. L. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 45, p. 31-34, 1982.

MOLINA, A. M.; AGRASAR, Z. E. R. Revisión taxonómica de las especies del género *Chloris* (Poaceae: Chloridoideae) em Sudamérica. **Candollea**, v.59, p. 347-428, 2004.

NASCIMENTO, J. E. et al. Estudo fitoquímico e bioensaio toxicológico frente a larva de *Artemia salina* Leach. de três espécies medicinais do gênero *Phyllanthus* (Phyllanthaceae). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 29, n.2, p. 145-150, 2008.

NEGRELLE, R. R. B.; GOMES, E. C. *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf: chemical composition and biological activities. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, Botucatu, v. 9, p. 80-92, 2007.

OGA, S.; CAMARGO, M. M. A.; BATISTUZZO, J. A. O. **Fundamentos de toxicologia.** 3ª Ed. São Paulo: Atheneu, 2008.

OLIVEIRA, M. J. C. **Prospecção fitoquímica de *Chloris gayana* Kunth (Poaceae).**2014. 53f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) – Universidade Federal de Campina Grande – Cuité, 2014.

PEIXOTO, L. R. **Determinação da cl50 de fases dos extratos *erythroxylum caatingae* plowman e *erythroxylum revolutum* mart como parâmetro de bioatividade.** 2014. 50f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) – Universidade Federal de Campina Grande – Cuité, 2014.

PEREIRA, A. A. G. ***Brachiaria humidicola* (Rendle) Schweickardt (POACEAE)- Composição fitoquímica dos extratos polares e análise da atividade alelopática.** 2003. (Dissertação) - Universidade Federal do Pará, Belém.

PITA, J. C. L. R. **Avaliação da atividade antitumoral e toxicidade do Trachylobano-360 de *Xylopia langsdorffiana* St. Hil. & Tul. (Annonaceae).** 2010. (Dissertação) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.

RODRIGUES, E.; ALMEIDA, J. M.D.; PIRES, J. M. Perfil farmacológico e fitoquímico de plantas indicadas pelos caboclos do Parque Nacional do Jaú (AM) como potenciais

analgésicas. Parte I. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 20, n. 6, p. 981-991, dez. 2010.

SANTOS, R. F. E. P.; SILVA, I. S. M.; CAFFARO, K. M. T.; VERÍSSIMO, R. C. S. S.; LINS, T. H.; ARAÚJO – JÚNIOR, J. X.; CONSERVA, L. M. ; CAMPESATTO, E. A.; BASTOS, M. L. A. Avaliação antibacteriana e tóxica da espécie *Cordia nodosa* cham.; Perspectiva no tratamento de feridas infectadas. **Revista Enfermagem Atual In Derme**. v. 69 , 2014.

SCHNEIDER, A. A. A flora naturalizada no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil: herbáceas subspontâneas. **Biociências**, v.15, n.2, p. 257-268, 2007.

SCRIVANTI, L. R.; ANTON, A. M.; ZYGADLO, J. A. Essencial oil composition of *Bothriochloa* Kuntze (Poaceae) from South America and their chemotaxonomy. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 37, p. 206-213, 2009.

SILVA, A. A. **Estudo químico e avaliação de atividades biológicas da planta *Cenchrus echinatus* L. (Poaceae)**. 2008. (Dissertação) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá.

SILVA, J.N.; DANTAS, I.C.; CHAVES, T.P. Plantas utilizadas como abortivas no município de bom jardim –Pe. **Revista de Biologia e Farmácia**, v.4, n.1, 2010.

SINITOX, **Casos, Óbitos e Letalidade de Intoxicação Humana por Agente e por Região**. Brasil, 2009. Disponível em: <http://www.fiocruz.br/sinitox_novo/media/b3.pdf>. Acesso em: 29 set. 2014.

SMOLAREK. F. S. F. **Contribuição ao estudo fitoquímico, toxicológico e das atividades biológicas da espécie vegetal *solidago microglossa* dc (compositae)**. 2011. (Dissertação) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

WELKER C. A. D; LONGHI-WAGNER H. M.; A família Poaceae no Morro Santana, Rio Grande do Sul, Brasil.; **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, n. 4, p. 53-92, out./dez. 2007.