

## ESTUDO DA TOXICIDADE DO EXTRATO METANÓLICO DE FOLHAS DE *INDIGOFERA SUFFRUTICOSA* SOBRE *ARTEMIA SALINA*

Tainá Maria Santos da Silva; Izabela Rangel de Lima; Jéssica de Andrade Gomes Silva; Sônia  
Pereira Leite;

*Universidade Federal de Pernambuco, Campus: Recife- PE/ Departamento de Histologia e Embriologia.  
E-mail: taina\_mariaa@hotmail.com*

**Resumo:** A utilização de plantas medicinais é um hábito comum entre a população e atualmente o interesse pela utilização e comercialização de plantas medicinais e produtos fitoterápicos no Brasil, tem aumentado. A *Indigofera suffruticosa*, é conhecida popularmente como “anil” ou “anileira”, é geralmente encontrada no Nordeste brasileiro. O bioensaio com *Artemia salina* é utilizado como indicador de toxicidade e de bioatividade de diversas substâncias químicas, inclusive extratos de plantas, apresenta vantagens como: rapidez, praticidade e baixo custo. O objetivo deste estudo foi à obtenção do extrato metanólico das folhas de *Indigofera suffruticosa* e avaliação de sua toxicidade sobre a *Artemia salina*. O extrato metanólico das folhas de *I. suffruticosa* foi testado em 3 concentrações (50, 25 e 12,5 ppm) e as porcentagens de *Artemias* viáveis foram de 95, 100 e 100 respectivamente, desta forma o extrato em estudo não apresentou toxicidade.

**Palavras- chave:** Toxicidade, *Indigofera suffruticosa*, *Artemia salina*.

### Introdução

A utilização de plantas medicinais é um hábito comum entre a população e atualmente o interesse pela utilização e comercialização de plantas medicinais e produtos fitoterápicos no Brasil, tem aumentado. Segundo a Organização Mundial da Saúde, milhões de pessoas utilizam a medicina tradicional como principal e às vezes única fonte de cuidados com a saúde (OMS, 2013).

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 (MARTINS et al., 2012; RODRIGUES; ALMEIDA; PIRES, 2010). Dentre os principais problemas causado pelo uso indiscriminado e prolongado de espécies medicinais, estão as reações alérgicas e os efeitos tóxicos em vários órgãos (MELO, 2007). Portanto, é de suma importância conscientizar a população sobre o uso correto das plantas e medicamentos naturais.

O gênero pantropical *Indigofera* L. (Leguminosae, Papilionoideae, Indigoferaeae) é constituído por cerca de 700 espécies,

representado por plantas herbáceas e arbustivas. Dentre as várias espécies de Indigofera, destacam-se *I. suffruticosa* Mill. e *I. truxillensis* Kunth. por sua distribuição ampla e propriedades medicinais (BARROS, 2008).

Em estudos com plantas medicinais e de novas substâncias, um contraponto entre a atividade biológica e toxicidade é um parâmetro fundamental para verificar sua aplicabilidade (CALIXTO, 2001). *Indigofera suffruticosa* Mill (Fabaceae), comum em Regiões Tropicais e Subtropicais, é uma leguminosa utilizada na adubação verde e cobertura dos solos. Esta forrageira anual ou perene é adaptada à Região do Semi-Árido e Agreste do Estado de Pernambuco (BRAGA, 1985).

Foram realizados diversos estudos farmacológicos dentre eles o extrato aquoso de folhas de *I. suffruticosa* apresentam atividades: antiinflamatória (LEITE et al., 2003), antiparasitaria (LEITE et al, 2003), embriotóxica (LEITE et al, 2004) antimicrobiana (LEITE et al, 2006), antitumoral (VIEIRA et al, 2007), citotóxica (VIEIRA et al, 2007) embriotoxica sobre ovos e larvas de *Aedes egypti* (VIEIRA et al, 2011), repelente nos mosquitos de *Aedes aegypti* (VIEIRA et al, 2011).

O bioensaio com *Artemia salina* é utilizado como indicador de toxicidade e de

bioatividade de diversas substâncias químicas, inclusive extratos de plantas (LOPES et al., 2002). Apresenta vantagens como: rapidez, praticidade (PARRA et al., 2001), simplicidade, baixo custo, requer pouca quantidade de amostra (SILVA et al., 2000), além de apresentar uma boa relação com testes *in vivo*, sugerindo que é um método útil (PARRA et al., 2001) e de confiança (SILVA et al., 2000).

O objetivo deste estudo foi à obtenção do extrato metanólico das folhas de *Indigofera suffruticosa* e avaliação de sua toxicidade sobre a *Artemia salina*.

## Metodologia

O material vegetal utilizado neste trabalho, folhas de *I. suffruticosa* (Figura 1) foi coletado na cidade de Nova Cruz no Estado de Pernambuco, cerca de 200 gramas de folhas foram trituradas e submetidas a extração metanólica a temperatura ambiente, durante 48 horas. Em seguida o extrato foi filtrado e evaporado com o auxílio do rotaevaporador sob temperatura de 40 °C (Figuras 1 à 4).

O extrato metanólico de folhas de *I. suffruticosa* foi solubilizado em água salina e dissolvidos em diferentes concentrações. Após esse procedimento foi realizada análise de toxicidade baseado na metodologia de

Fontenele (1988) - preparação numa cuba de vidro contendo água salina devidamente tratada e ovos de *A. salina* até o período de eclosão das larvas. As Artemias encistadas foram colocadas para eclodir em água do mar filtrada e postas durante 48 horas sob ação de um aerador. Após a eclosão, foram verificadas quanto à viabilidade (motilidade normal) e colocadas em grupos de 10 dentro de tubos de ensaio junto com 2,5 ml de água do mar filtrada. Nos tubos contendo 2,5 ml de água do mar e as 10 artemias, foram adicionados 2,5 ml do extrato que foi diluído nas concentrações (100, 50 e 25 µg/ml), fazendo com que cada concentração caísse para a metade, finalizando nos tubos as concentrações de 50, 25 e 12,5 µg/ml. Cada concentração foi realizada em quadruplicata. As *Artemias* ficaram expostas ao extrato durante 24h e então foi feita a leitura dos resultados, levando-se em consideração o número de *Artemias* vivas e mortas (Figura 5).



Figura 1. *Indigofera suffruticosa*.



Figura 2. Folhas trituradas de *I. suffruticosa*, submetidas a extração metanólica.



Figura 3. Filtração do extrato metanólico de folhas de *I. suffruticosa*.



Figura 4. Rotaevaporação do solvente.



Figura 5. Tubos de ensaio com as *Artemias* expostas ao extrato metanólico de *I. suffruticosa*.

## Resultados e Discussão

A *Artemia salina* é um microcrustáceo muito utilizado na alimentação de peixes. É bastante empregada em ensaios toxicológicos, pois é de fácil manuseio, além disso, possui baixo custo, fácil cultivo e obtenção. Os ensaios de letalidade são largamente empregados em testes toxicológicos podendo-se obter a concentração letal mediana (CL50), que é a dose necessária para causar a morte de 50% de uma amostra em estudo (BEDNARCZUK et al., 2010). De acordo com MEYER, et al., (1982), existe uma relação entre a toxicidade e a concentração letal mediana (CL50) de extratos vegetais sobre a *Artemia salina*, sendo que, quando são encontrados valores de CL50 maiores que 1000 µg/mL e não é observada a morte de mais de 50% de uma população, estes extratos não são considerados tóxicos. O extrato metanólico de *Indigofera suffruticosa*, foi testado em 3 concentrações (50, 25 e 12,5 µg/ml) e as porcentagens de artemias viáveis foram de 95, 100 e 100 respectivamente. O extrato de *I. suffruticosa* apresentou CL50 >50, pois nenhuma de suas concentrações matou 50% das artemias, somente teste com

concentrações mais altas poderiam dizer a CL50. O resultado do teste toxicológico encontra-se expresso na tabela 1 e gráfico 1.

Concentrações	1	2	3	4
<b>Controle</b>	10 vivas	10 vivas	10 vivas	10 vivas
<b>50 µg/ml</b>	10 vivas	9 vivas	9 vivas	10 vivas
<b>25 µg/ml</b>	10 vivas	10 vivas	10 vivas	10 vivas
<b>12,5 µg/ml</b>	10 vivas	10 vivas	10 vivas	10 vivas

Tabela 1. Quantidade de *Artemias salinas* viáveis.

Teste Toxicológico *Indigofera suffruticosa*

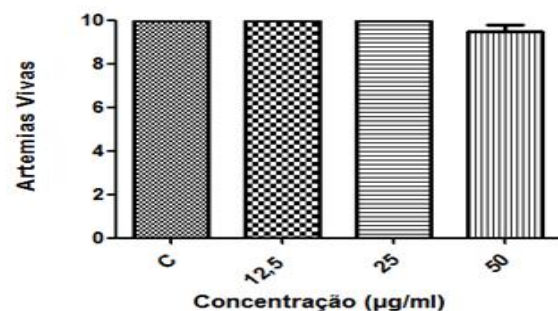


Gráfico 1. Toxicidade da *Indigofera suffruticosa* frente à *Artemia salina*.

## Conclusões

Conclui-se que o extrato metanólico da *Indigofera suffruticosa* não apresentou

toxicidade. O emprego deste bioensaio para avaliar a toxicidade de extratos vegetais foi simples, eficaz, rápido e de baixo custo, mostrando resultados relevantes, que podem servir como fonte para outros estudos.

## Referências

BARROS, G. M. C. C. , TEIXEIRA, S. P. Estudo farmacobotânico de duas espécies de Anileira (*Indigofera suffruticosa* e *Indigofera truxillensis*, Leguminosae) com propriedades farmacológicas. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 18(2): 287-294, Abr./Jun. 2008.

BEDNARCZUK, V. O. et al. Testes in vitro e in vivo utilizados na triagem toxicológica de produtos naturais. *Visão Acadêmica*, Curitiba, v.11, n. 2, p.44, jul/dez 2010.

CALIXTO, J. B., Medicamentos Fitoterápicos In: YUNES, R. A. e CALIXTO, J. B. (orgs.) *Plantas Medicinais sob a ótica da Química Medicinal Moderna Chapecó*: Argos. 297-315, 2001.

LEITE, P.L.; SILVA, L.L.S.; CATANHO, M.T.J.A.; LIMA, E.O.; LIMA, V.L.M. Atividade Antiinflamatória do Extrato de *Indigofera suffruticosa*. *Revista Brasileira de Ciências da Saúde*, v.7, n.1, p.45-52, 2003.

Leite, S. P.; Lima, E. O.; Lima, V.M.L ; SILVA, E. C.; MEDEIROS, P. L. Embryotoxicity in vitro extract of *Indigofera suffruticosa* leaves. *Reproductive Toxicology (Elmsford, N.Y.)*, *Reproductive Toxicology*, v. 18, n.05, p. 701-702, 2004.

LEITE, S.P; VIEIRA, J.R.C; LEITE, R.M.P. “Antimicrobial activity of *Indigofera suffruticosa*,” *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 3, no. 2, pp. 261–265. 2006.

LOPES, W. B., Moroni, F. T., Brandeburgo, M. I. H., & Hamaguchi, A. (2002). Desenvolvimento de um método alternativo ao uso de animais de laboratório para avaliação da toxicidade de extratos vegetais. *Revista Eletrônica Horizonte Científico*, 1: 1-11.

MARTINS, R. T., ALMEIDA, D. B., MONTEIRO, F. M. R., KOWACS, P. A., RAMINA, R. Receptores opioides até o contexto atual. *Revista Dor*, São Paulo, v. 13, n. 1, p. 75-9, jan/mar 2012.

MEYER, B. N., FERRIGNI, N. R., PUTNAM, J. E., JACOBSEN, L. B., NICHOLS, D. E., MCLAUGHLIN, J. L. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Médica*, v.



45, p.31, 1982.

NGUTA, J. M., MBARIA, J. M., GAKUIA, D. W., GATHUMBI, P. K., KABASA, J. D., KIAMA, S. G. Biological screening of kenya medicinal plants using *Artemia salina* L. (Artemiidae). *Pharmacologyonline*, v. 2, p. 458-78, 2011.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE - OMS, *Traditional Medicine Strategy 2014-2023*. Genebra: WHO. 76 p. 2013.

PARRA, A. L.; YHEBRA, R. S; SARDIÑAS, I.G; BUELA, L.I. Comparative study of the assay of *Artemia salina* L. and the estimate of the medium lethal dose (LD50 value) in mice, to determine oral acute toxicity of plant extracts . *Phytomedicine*. v. 8, p. 395-400, 2001.

RODRIGUES, E.; DUARTE-ALMEIDA, J. M.; 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*, v. 20, n. 6, p. 981-991, dez. 2010.

SILVA, G. A.; COELHO, L. P.; LIÃO, L. M.; MONTEIRO, M. R.; ALBUQUERQUE, S. Avaliação da atividade tripanomicida dos

extratos de *Cheiloclinum cognatum*. In: 23<sup>a</sup> REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA. Poços de Caldas, 2000. Disponível em: <<http://www.s bq.org.br/ranteriores/23/resumos/0907/index.html>>. Acesso em: 14/06/2014.

VIEIRA, J.R.C. Investigação farmacognóstica e biológica de folhas de *Indigofera suffruticosa* Mill sobre *Aedes aegypti*. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Departamento de Ciências Farmacêuticas. Recife: Universidade Federal de Pernambuco. 2011.

VIEIRA, J.R.C., SOUZA, I.A.; NASCIMENTO, S.C.; LEITE, S.P.; Antitumoractivity of *Indigofera suffruticosa*. *An. Fac. Med. Univ. Fed. Pernamb.*, Recife, v.52 (2), 2007 – 113.