

## ESTUDO TOXICOLÓGICO DO INDICAN DE FOLHAS DE *INDIGOFERA SUFFRUTICOSA* MILL (FABACEAE).

Roberta Kimbelly Farias de Oliveira<sup>1</sup>; Sônia Pereira Leite<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Estudante do Curso de Ciências Biológicas CCB-UFPE; Email:Robertakimbelly@hotmail.com

<sup>2</sup>Docente/pesquisador do Depto de Histologia e Embriologia – CCB – UFPE. E-mail:spleite6@hotmail.com.

**Sumário:** *Indigofera suffruticosa* Mill (Fabaceae) ocorre em abundância no nordeste brasileiro e tem intenso uso popular no tratamento de infecções, inflamações e outros processos. O Indican é o precursor de pigmentos indigóides, presente em plantas do gênero *indigofera*, fungos e urina humana. Este trabalho objetivou investigar a atividade toxicológica do Indican de folhas de *Indigofera suffruticosa*. Nesta pesquisa foi utilizado o indican obtidos de folhas de *I. suffruticosa*. No ensaio toxicológico o Indican de folhas de *I. suffruticosa* foi avaliado frente ao microcrustáceo *Artemia salina*. O Indican de folhas de *I. suffruticosa* foi testado nas concentrações 100, 200 e 400ppm frente *A. salina*. Neste ensaio o composto Indican de *I. suffruticosa* apresentou baixa ordem de toxicidade, com viabilidade de 98% das larvas

**Palavras-chave:** Atividade Artemicida; *Indigofera suffruticosa*; Toxicidade.

### INTRODUÇÃO

A *Indigofera suffruticosa* Mill (Fabaceae) ocorre em abundância no nordeste brasileiro e tem intenso uso popular no tratamento de infecções, inflamações e outros processos, sem relatos de efeitos colaterais nocivos ao ser humano. Os estudos farmacológicos mostraram que 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) embriotóxica sobre ovos e larvas de *Aedes egypti* (Vieira et al 2011), repelente nos mosquitos de *Aedes egypti* (Vieira et al 2011). Índigo e Indirubina são derivados por oxidação e dimerização do indoxil e isatin e liberados pelo composto precursor, Indican ou Isatan B. (MINAMI et al., 1996, 1997). Estudo farmacognóstica com a mesma espécie Vieira (2011) identificou, isolou e quantificou três Alcaloides Bis – indolicos; Indican, índigo e indirubina que estão sendo submetidas a testes farmacológicos (embritoxicidade e oviposição. Os Indigóides são pigmentos característicos das espécies *Indigofera* (Maugardet al., 2001), fungos (Hosoe et al., 1999) e estão presentes na urina humana (Gillamet al., 2000). Esses pigmentos no corpo humano são produtos do catabolismo do triptofano através de bactérias do intestino, onde é absorvido em quantidades significativas. O Indican é precursor dos pigmentos indigóides (índigo e indirubina) material de partida da biossíntese. Recentemente foi realizado o estudo com o composto Indican, isolado de folhas de *I. suffruticosa* que mostrou o efeito hepatoprotetor e antitumoral (LIMA et al., 2014). Este trabalho tem como objetivo avaliar o efeito toxicológico do Indican de folhas de *I. suffruticosa* frente à *Artemia salina*.

### MATERIAIS E MÉTODOS

#### Obtenção do Indican do extrato metanólico de folhas de *I. suffruticosa*

O extrato metanólico de folhas de *I. suffruticosa* rotaevaporado (5g) foi submetido à cromatografia de permeação em gel, utilizando Sílica-gel 60F (200g) como fase

estacionária e metanol como fase móvel. As frações foram coletadas por semelhança em diferentes tubos de ensaio (n= 28 - 10ml cada), monitoradas por CCD, empregando placas prontas em gel de sílica (PPGS) e fase móvel acetato de etila, acetato fórmico, ácido acético, e água (100:11:11:26). As placas foram reveladas em vanilina clorídrica. As frações 10-26 foram positivas para a substância marrom (Indican). O protocolo de isolamento descrito por Vieira (2011) com adaptações.

### **Ensaio Toxicológico do Indican de folhas de *I. suffruticosa* sobre *Artemia salina*.**

Para realização do bioensaio com *A. salina* foi utilizada a metodologia descrita por Meyer e colaboradores (1982) com adaptações. Os ovos da *A. salina* foram colocados para eclodir em uma cuba contendo água do mar filtrada, na presença de luz com lâmpada de 100W sendo aerado por um aerador comercial para aquário, o sistema foi mantido a temperatura ambiente durante 48 horas.

Após a eclosão, as larvas foram analisadas quanto à viabilidade (motilidade normal) e separadas em tubos de ensaio (10mL), contendo 10 náuplios em cada. Utilizou-se um foco de luz para melhor visualização do microcrustáceo, a transferência para o tubo foi feita com o auxílio de uma pipeta Pasteur<sup>®</sup>. O Indican de *I. suffruticosa* foi dissolvido em água marinha, criando uma solução mãe com uma concentração duas vezes maior que a desejada para o teste. A solução contendo o Indican de *I. suffruticosa* (2,5mL) foi adicionados em cada tubo com igual volume de água marinha, fazendo com que as concentrações caíssem pela metade, obtendo nos tubos 400, 200 e 100ppm. Foi feito um controle positivo com água marinha, os testes foram realizados em quadruplicata.

Os tubos foram mantidos por 24 horas em uma estante, sob temperatura e iluminação ambiente. Após esse período foi feita a leitura do teste, utilizado uma lupa e foco de luz para auxiliar. A vitalidade da *Artemia* foi definida considerando o movimento do microcrustáceo.

## **RESULTADOS**

A figura 1 representa o resultado do ensaio toxicológico do potencial do indican obtido de folhas de *I. suffruticosa* frente ao microcrustáceo *Artemia salina*. O Indican de folhas de *I. suffruticosa* foi testado nas concentrações 100, 200 e 400ppm sobre *A. salina*. O composto indican de folhas de *I. suffruticosa* mostrou 98% de viabilidade das larvas de *A. salina*, apresentando assim baixa ordem de toxicidade.

Tabela 1- Efeito Toxicológico do Indican de folhas de *I. suffruticosa* frente *A. salina*,

<i>*A. salina</i>	Indican de <i>I. suffruticosa</i> (ppm)		
<b>**Controle</b>	<b>100</b>	<b>200</b>	<b>400</b>
<b>10</b>	<b>10</b>	<b>9</b>	<b>10</b>
<b>10</b>	<b>10</b>	<b>10</b>	<b>10</b>
<b>10</b>	<b>10</b>	<b>10</b>	<b>10</b>
<b>10</b>	<b>10</b>	<b>10</b>	<b>9</b>

\*\* Água do mar; \* N – 160 *A. salina*.

## **DISCUSSÃO**

Os bioensaios utilizando organismos menores, como microcrustáceos, são importantes na verificação da qualidade de produtos naturais ou sintéticos. O teste utilizando *Artemia salina* L. é um exemplo de bioensaio bastante conhecido. Os microcrustáceos *A. salina* é utilizado rotineiramente na investigação de efeitos toxicológicos de extratos e substâncias puras. Além disso, pode ser utilizado na detecção da poluição aquática e testes de toxicidade em geral. Siqueira e colaboradores (1998) validaram em seu trabalho a confiabilidade do teste com *A. salina*, ao apresentar resultados semelhantes do bioensaio realizado com crustáceo e a toxicidade de substâncias identificadas na literatura como ativas contra células tumorais (MOREIRA, 2003). Lima et al (2014) demonstrou que o extrato metanólico da casca de *Croton rhamnifolioides* foi testado na concentração de 500, 250 e 125 µg/mL, mostrando a viabilidade de *A. salina* de 27.5, 82.5 e 100% respectivamente. Esse resultado mostra que o extrato metanólico tem uma moderada toxicidade (LC<sub>50</sub> of 486.59 µg/mL) frente *A. salina*. Os nossos resultados demonstram que o indican de folhas de *I. suffruticosa* apresenta baixa ordem de toxicidade com viabilidade de 98% nas doses testada que pode ser bem tolerado no sistema biológico.

### CONCLUSÃO

O Indican de folhas de *I. suffruticosa*, nas doses testadas, apresenta baixa toxicidade sobre *A. salina*. Sugerindo assim, a possibilidade de investigar suas ações farmacológicas com mais segurança.

### AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pelo auxílio financeiro.

### REFERÊNCIAS

- LEITE, S.P et al “Embryotoxicity in vitro with extract of *Indigoferasuffruticosaleaves*,” **Reproductive Toxicology**, vol. 18, no. 5, pp. 701–705. 2004.
- LEITE, S.P et al, “Anti-inflammatoryactivityof*Indigoferasuffruticosa*extract,” **Revbrasa**, vol. 7, pp. 47–52. 2003.
- LEITE, S.P; VIEIRA, J.R.C; LEITE, R.M.P. “Antimicrobialactivity of *Indigoferasuffruticosa*,” *Evidence-BasedComplementary and Alternative Medicine*, vol. 3, no. 2, pp. 261–265. 2006.
- VIEIRA, J.R.C.; SOUZA, I.A.; NASCIMENTO, S.C.; LEITE, S.P. *Indigofera suffruticosa*: na alternativeanticancertherapy. e **CAM**, p.1-5. 2007.
- VIEIRA, J.R.C. *Investigação farmacognóstica e biológica de folhas de Indigoferasuffruticosa Mill sobre Aedes aegypti*. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Departamento de Ciências Farmacêuticas. Recife: Universidade Federal de Pernambuco. 2011.