

ESTUDO QUÍMICO E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DAS FRAÇÕES DAS CASCAS DO CAULE DE *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth

Nayana Bruna Nery Monção (Bolsista PIBIC/CNPq), Antônia Maria das Graças Lopes Cító (Orientadora, Depto de Química/UFPI), Bruno Quirino Araújo (Colaborador, UFPI)

Introdução

Mimosa caesalpiniaefolia Benth é popularmente chamada unha-de-gato (PI), sabiá (CE, PE e MG), angiquinho-sabiá (MG) e sansão do campo (MG, RJ e SP). É um arbusto arbóreo perenifólio podendo atingir 7 m, galhos geralmente dotados de acúleos, cascas com 5 mm de espessura, folhas bipinadas e alternadas, inflorescências brancas, pequenas, suavemente perfumadas e dispostas em forma de espigas e frutos com forma de vagens dotados de sementes¹. Este trabalho teve como objetivo realizar partição líquido-líquido do extrato etanólico bruto das cascas do caule de *M. caesalpiniaefolia* para a obtenção das frações hexânica (Hex), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt) e aquosa (AquO) e avaliar o conteúdo de fenóis totais, o potencial antioxidante e a toxicidade das mesmas, bem como a realização de estudos químicos.

Metodologia

As cascas do caule foram coletadas em setembro de 2009, em Teresina-PI no campus da Universidade Federal do Piauí (UFPI). Estas foram secas à temperatura ambiente, moídas fornecendo massa equivalente a 883,54 g e macerada com 10 x EtOH na proporção 1:4 (m/v). O sobrenadante foi filtrado a cada 3 dias e o extrato etanólico reunido foi concentrado em evaporador rotativo, liofilizado e pesado, obtendo-se o extrato etanólico bruto das cascas do caule (EEBC) (36, 63 g). O processo de partição foi realizado em funil de separação de 1 L, onde 30,0 g do EEBC foi suspenso em 330 mL MeOH/H₂O (2:1). A fase hidroalcoólica foi extraída exaustivamente com: 6 x 165 mL de Hex, 7 x 165 mL de DCM e 12 x 165 mL de AcOEt. Ao final, as fases orgânicas reunidas foram evaporadas, liofilizadas e pesadas.

A fração Hex (1 g) foi submetida à cromatografia em coluna (CC) por adsorção, obtendo-se ao final 42 subfrações. As subfrações H₅, HR₃, HR₅ foram submetidas à análise por cromatografia em fase gasosa - espectrometria de massas (CG-EM) e a identificação dos constituintes foi realizada por comparação dos espectros de massas com a biblioteca computacional Wiley229 e NIST 2.0 e com dados da literatura.

Os teores de fenóis totais das frações foram determinados pelo método de Folin-Ciocalteu com modificações².

A avaliação quantitativa do potencial antioxidante foi feita seguindo metodologia descrita na literatura, com pequenas modificações, onde realizou-se o monitoramento do consumo do radical livre DPPH pelas frações num período de 30 minutos de reação³.

O ensaio da toxicidade sobre *Artemia salina* Leach foi desenvolvido de acordo com a metodologia de Meyer et al.⁴, com modificações. As amostras submetidas ao bioensaio foram as frações AcOEt e AquO das cascas do caule de *M. caesalpiniaefolia* nas concentrações de 1000, 850, 700, 650 e 400 µg mL⁻¹. Todos os ensaios foram realizados em triplicatas.

A citotoxicidade também foi avaliada frente a linhagens tumorais realizada pelo método do MTT⁵. As células utilizadas foram SF-295 (Glioblastoma - Humano), OVCAR-8 (Ovário - Humano) e

HCT-116 (Cólon - Humano) cedidas pelo Instituto Nacional do Câncer (EUA). As frações Hex, DCM e AcOEt foram diluídas em DMSO puro estéril e testadas em concentração única de 25 mg L⁻¹. Ao final, observou-se o percentual de inibição do crescimento celular das frações nas células no período de 72 h de incubação.

Resultados e Discussão

A ordem decrescente em relações ao rendimento das frações obtidas foi: AquO > DCM > AcOEt > Hex. Esta variação entre os teores extrativos pode está relacionada com a presença e fitoacumulação de determinadas classes de metabólitos em cada fração.

Da fração Hex, após ser submetida à CC, foi possível identificar por análise dos espectros, alguns de seus constituintes. A subfração H₅ está representada por uma mistura de 13 constituintes e observou-se grande predominância de ésteres tanto metílicos como etílicos. A subfração HR₃ apresentou 4 constituintes. Dentre estes, observou-se a presença do triterpeno pentacíclico, β - amirina, também identificado nas partes aéreas de *M. hostilis*⁶. Observou-se ainda a presença dos fitoesteróis, campestenona e estigmast-4-en-3-ona. Porém, o constituinte majoritário foi o triterpeno lupeol, que é muito abundante em produtos naturais. O mesmo foi isolado das folhas de *M. artemisiana* e das partes aéreas de *M. hostilis*⁶. A subfração HR₅ representada por uma mistura de 16 constituintes, sendo os majoritários o sitosterol, o estigmasterol e o campesterol, esteroides estes muito comuns em plantas. O sitosterol e o estigmasterol foram isolados das folhas de *M. artemisiana* e *M. paraibana* e das raízes de *M. pudica*⁶.

A Tabela 1 apresenta o resultado dos teores de composto fenólico das frações.

Tabela 1 – Teores de fenóis (FT) expressos em mg de equivalente de ácido gálico/g de fração (F) e mg de equivalente de ácido gálico/g de material vegetal seco (MS)

| FRAÇÃO | (FT mg de EAG/g F) | FT (mg de EAG/g de MS) |
|--------|--------------------|------------------------|
| Hex | 43,60 ± 5,54 | 0,16 ± 0,02 |
| DCM | 103,04 ± 1,84 | 0,56 ± 0,01 |
| AcOEt | 618,10 ± 7,17 | 3,17 ± 0,04 |
| AquO | 335,98 ± 5,03 | 6,42 ± 0,09 |

média ± desvio padrão (DP)

Estes teores foram considerados baixos, segundo a classificação de Rufino et al.⁷, pois apresentaram teores menores que 10 mg de EAG / de MS.

A atividade antioxidante mostrou a seguinte sequencia: F. AcOEt > F. AquO > F. DCM > F. Hex. Esta mesma sequencia foi observada no acúmulo de fenóis (FT mg de EAG/g F), mostrando a relação direta entre estas propriedades. A F. AcOEt apresentou potencial antioxidante superior a rutina (CE₅₀ = 47,08 ± 4,65 mg L⁻¹), uma vez que mostrou menor CE₅₀ de 39,74 ± 1,81 mg L⁻¹.

As frações AcOEt e AquO mostraram-se inativos ao bioteste da *Artemia salina*, uma vez que não apresentou morte dos microcrustáceos na maior concentração avaliada (1000 mg L⁻¹), assim estas frações são consideradas atóxicas. As frações Hex e DCM não foram avaliadas.

A Tabela 2 mostra o percentual de inibição das frações Hex, DCM e AcOEt na avaliação da toxicidade frente ao MTT.

Tabela 2 – Percentual de inibição do crescimento celular (GI%) das amostras em três linhagens tumorais testadas em dose única de 25 mg L⁻¹

| FRAÇÃO | GI% (média) | | |
|--------|--------------|--------------|---------------|
| | HCT-116 | OVCAR 8 | SF-295 |
| Hex | 86,37 + 4,46 | 74,53 + 7,60 | 65,46 + 10,28 |
| DCM | 90,87 + 0,54 | 88,23 + 0,75 | 86,90 + 0,86 |
| AcOEt | -3,79 + 0,29 | 5,98 + 5,75 | 9,72 + 6,52 |

média ± desvio padrão (DP)

As frações Hex e DCM foram as mais ativas e selecionadas como agentes citotóxicos por apresentarem percentual de inibição de crescimento celular superior a 75% em, no mínimo, duas linhagens tumorais testadas. A fração AcOEt não apresentou potencial citotóxico $\geq 75\%$ em nenhuma das três linhagens testadas.

Conclusão

O presente estudo foi de fundamental importância para a espécie visto que, um grande número de constituintes foi identificado na *M. caesalpiniaefolia* sendo alguns dos mesmos já relatados em outras espécies do gênero *Mimosa*. Observou-se ainda a correlação direta entre os teores de fenóis totais e o potencial antioxidante das frações. A fração AcOEt apresentou atividade antioxidante superior até mesmo frente a rutina, um potente oxidante. Na avaliação de toxicidade frente a *Artemia salina* as frações AcOEt e AquO mostraram-se atóxicas. Enquanto que, na citotoxicidade frente a linhagens tumorais as frações Hex e DCM demonstraram potencial citotóxico. A fração AcOEt não apresentou potencial citotóxico em nenhuma das três linhagens testadas, esta mesma não toxicidade foi observada frente a *Artemia salina*.

Apoio: CNPq

Referências

- CARVALHO, P. E. R. **Circular Técnico 135 da Embrapa**, p. 1-7, 2007.
- BONOLI, M.; VERARDO, V.; MARCONI, E.; CABONI, M. F. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 16, p. 5195-5200, 2004.
- SOUSA, C. M. M.; SILVA, H. R.; VIEIRA-JÚNIOR, G. M.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. L. S.; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAÚJO, P. B. M. BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.
- MEYER, B. N.; FERRIGNI, N. R.; PUTNAM, J. E.; JACOBSEN, L. B.; NICHOLS, D. E.; MCLAUGHLIN, J. L. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 45, n. 31, 1982.
- MOSMANN, T. **Journal of Immunological Methods**. v. 65, p. 55-63, 1983.
- ARAÚJO, B. Q. **Dissertação de Mestrado** - Universidade Federal do Piauí, 2010.
- RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F.; MANCINI-FILHO, J. **Food Chemistry**, v. 121, p. 996-1002, 2010.

Palavras-chave: Atividades Biológicas. Constituintes Químicos. *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth.