

ESTUDO FITOQUÍMICO BIOMONITORADO DA *Mimosa tenuiflora* (WILLD.) POIR. (JUREMA-PRETA) PELA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.

Maiane dos Santos Neves¹; Hugo Neves Brandão².

1. Bolsista PIBIC/CNPq-AF, Graduanda em Farmácia, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: maiane_santos2@hotmail.com
2. Orientador, Departamento de Saúde, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: hugo@uefs.br

PALAVRAS-CHAVE: *Mimosa tenuiflora*, Atividade antioxidante, Fitoquímica.

INTRODUÇÃO

O interesse na diversidade molecular das plantas tem estimulado a busca pelo conhecimento do seu metabolismo secundário, o qual é responsável pela síntese de grande parte dos compostos vegetais com atividade biológica. Os metabólitos secundários despertam tal interesse, não só pelas atividades biológicas produzidas pelas plantas em resposta aos estímulos do meio ambiente, mas pela imensa atividade farmacológica apresentada por estes compostos (Alves, 2001).

A *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir, popularmente conhecida como jurema-preta, é uma espécie da família Mimosaceae, encontrada facilmente na região da caatinga no Brasil. Na medicina popular, comunidades indígenas e populações do nordeste brasileiro fazem uso da casca da raiz da jurema-preta no tratamento de enfermidades como queimaduras e inflamações, além de ser empregada tradicionalmente como bebida em rituais religiosos (Bezerra, 2008; Maia, 2004). No entanto, muitas das substâncias ativas e propriedades farmacológicas dessa espécie são pouco conhecidas.

Sabe-se que muitas patologias, como as do sistema nervoso central e/ou cardiovasculares, estão claramente relacionadas com o estresse oxidativo. Com isso, tem aumentado a busca por produtos naturais com atividade antioxidante capazes de inibir a formação de radicais livres, uma vez que os antioxidantes naturais são bem indicados para atenuar os efeitos deletérios causados pelo estresse oxidativo celular (Silva, 2006). A capacidade antioxidante destes, por sua vez, pode ser avaliada em laboratório pelo teste do sequestro do radical livre 1,1 – difenil-2-picrilhidrazil (DPPH). Estudos prévios realizados no Laboratório de Extração de Produtos Naturais - LAEX (UEFS) mostraram que o extrato da casca da raiz da espécie *M. tenuiflora* possui atividade antioxidante comparada ao padrão propilgalato.

Diante disso, torna-se importante a continuidade do estudo da casca da raiz de *M. tenuiflora*, realizando-se testes como doseamento de fenólicos totais, para correlação da atividade antioxidante com essa classe de metabólitos; triagem fitoquímica, para melhor conhecimento dos seus constituintes químicos e biomonitoramento para isolamento da substância ou fração ativa responsável pela ação biológica dessa espécie.

MATERIAL, MÉTODOS OU METODOLOGIA

A partir do Extrato Bruto da Casca da Raiz (EBCR) de *M. tenuiflora* (Wild) Poir, já obtido anteriormente em trabalhos prévios, foi realizada triagem fitoquímica através de testes colorimétricos e ensaios de precipitação para detecção de compostos fenólicos, taninos, flavonóides, antocianinas, antraquinonas, alcalóides, esteróides, saponinas e cumarinas, de acordo com a metodologia descrita por Matos (1997).

Em seguida, foi realizado o teste para a determinação do teor de compostos fenólicos contidos no EBCR de *M. tenuiflora*, o qual foi efetuado por método espectrofotométrico, utilizando-se o reagente Folin – Ciocalteau e curva padrão com ácido gálico, segundo metodologia descrita por Oliveira (2009). Foram preparadas concentrações entre 10 a 60 ppm da solução de ácido gálico, e a amostra a ser testada foi diluída numa proporção de 1:10, adicionando-se em tubos de ensaio. Adicionou-se 2,5mL do reagente Folin-Ciocalteau e 2mL de solução de carbonato de sódio 7,5% em cada tubo de ensaio, submetendo-se, ao final, cada concentração à leitura em espectrofotômetro UV/VIS em $\lambda_{\text{max}} = 760\text{nm}$.

Também a partir do EBCR de *M. tenuiflora*, foi feita a partição com solventes orgânicos em ordem crescente de polaridade como hexano, clorofórmio e acetato de etila, e como fase aquosa, utilizou-se água e metanol nas proporções 9:1 e 6:4 para hexano e clorofórmio, respectivamente, e 100% de água para acetato de etila. Em cada fração particionada avaliou-se a atividade antioxidante através do teste do seqüestro do radical livre DPPH, segundo metodologia proposta por Malterud *et al.* (1993). A fração mais ativa, com relação à atividade antioxidante, foi submetida às técnicas cromatográficas como a Cromatografia em Coluna (CC) e Cromatografia em Camada Delgada (CCD) de acordo com Costa (2000). Cada sub-fração obtida foi avaliada quanto à atividade antioxidante, e a que apresentou atividade maior que as demais foi submetida novamente ao fracionamento cromatográfico em coluna e à CCD.

RESULTADOS E/OU DISCUSSÃO

Os testes de triagem fitoquímica demonstraram a provável presença da maior parte dos grupos de compostos analisados no EBCR da jurema-preta, sendo que o resultado negativo para alguns grupos, não exclui necessariamente a presença destes. Isso pode ser explicado talvez, pelo fato da concentração de tais compostos no extrato, ser menor que a mínima detectável pela técnica empregada, uma vez que se trata de testes qualitativos. Os resultados da triagem fitoquímica estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Triagem fitoquímica do EBCR da *M. tenuiflora*

Teste	<i>M. tenuiflora</i>
Fenóis	+
Taninos	+
Flavonoides	+
Antraquinonas	+
Antocianinas	-
Esteroides	-
Triterpenoides	+
Saponinas	+
Cumarinas	-
Alcaloides	+

O teor de compostos fenólicos encontrado no EBCR da *M. tenuiflora*, a partir do teste de fenóis totais, foi de 39,8g/100g de extrato, obtido por interpolação da absorbância da amostra testada contra curva de calibração construída com padrões de ácido gálico (10 a 60ppm), em que os resultados foram expressos em mg de ácido gálico por 100g de extrato (Figura 1).

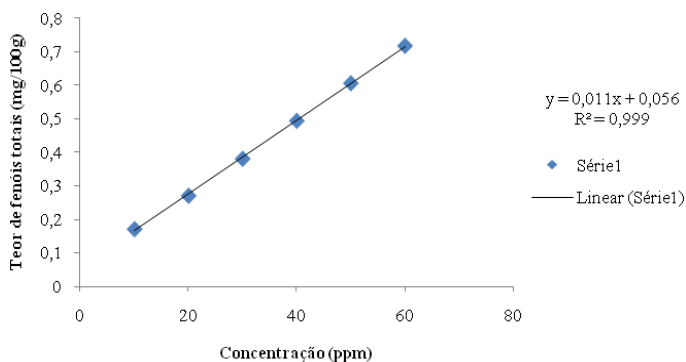


Figura 1: Gráfico: curva padrão de ácido gálico com valores expressos em mg por 100g de extrato.

Curva Padrão: Ácido gálico

O resultado obtido demonstra que o EBCR da jurema-preta contém alto teor de compostos fenólicos, observando-se, desta forma, correlação positiva entre a presença de fenóis totais e a alta atividade antioxidante apresentada pelo extrato nos experimentos anteriores. A provável presença de alguns destes metabólitos ativos no EBCR da *M. tenuiflora* pôde ser demonstrada através dos testes de triagem fitoquímica realizados anteriormente, o que sugere que estas substâncias, contribuem particularmente e mais efetivamente para o seu potencial antioxidante.

O biomonitoramento pela atividade antioxidante iniciou-se realizando a partição líquido-líquido de 82,78g de extrato da *M. tenuiflora* com solventes orgânicos de polaridades crescentes como hexano, clorofórmio e acetato de etila, resultando em frações, que após processo de secagem, obtiveram rendimento de 1,11%, 3,4% e 8,3%, respectivamente. Em seguida, as frações particionadas foram submetidas ao teste do seqüestro do radical livre DPPH, em que foram obtidos os seguintes valores de IC₅₀ (concentração que atinja o seqüestro de 50% do radical DPPH): 5,4mg/mL, 1,6mg/mL e 0,25mg/mL para as frações de hexano (FH), clorofórmio (FC) e acetato de etila (FA), respectivamente.

A FA foi a que apresentou maior potencial antioxidante, sendo submetida à CC, utilizando como solução eluente CHCl₃/MeOH em diversas proporções. Foram coletadas 60 sub-frações, codificadas como MTA₁ a MTA₆₀ (Figura 2).

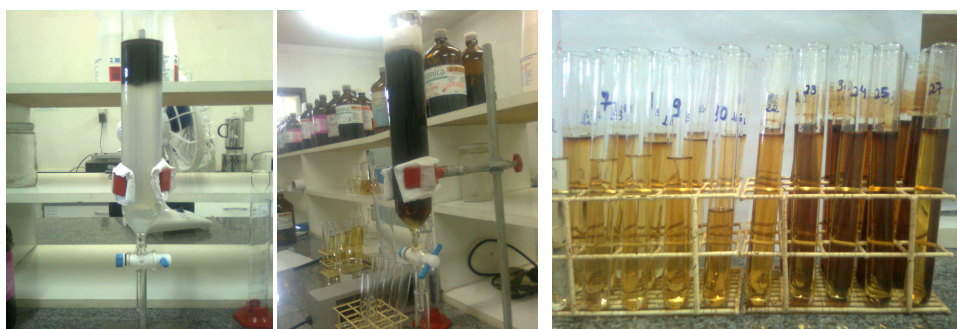


Figura 2: Fracionamento cromatográfico a partir da fração acetato de etila (à esquerda); Sub-frações coletadas após fracionamento (à direita).

A partir da CCD, as sub-frações que apresentaram um perfil cromatográfico semelhante foram reunidas, resultando em 11 sub-frações, as quais foram novamente testadas quanto à atividade antioxidante. Em tal avaliação, para cada sub-fração foi preparada uma concentração de 0,25mg/mL de acordo com o valor do IC₅₀ da fração mais ativa, inicialmente testada, que foi a FA. A sub-fração MTA₃₆ foi a que apresentou maior atividade antioxidante em relação às demais, sendo submetida novamente às técnicas cromatográficas. As 8 sub-frações resultantes do fracionamento (sub-fração MTA₃₆) foram avaliadas pelo ensaio da atividade antioxidante, em que a sub-fração MTA₃₆ 2 demonstrou ser a mais ativa (Tabela 2).

Tabela 2. Percentuais da atividade antioxidante das sub-frações obtidas a partir da sub-fração MTA₃₆

MTA ₃₆ (0,25mg/mL)	Atividade antioxidante (%)
2	77,4
3	48,8
5	72,9
6	46,3
8	32,1
9	16,3
14	5,2

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A análise fitoquímica do EBCR da *M. tenuiflora*, através dos testes de triagem fitoquímica permitiu maior conhecimento sobre a natureza e diversidade de metabólitos secundários presentes na casca da raiz desta espécie.

O alto teor de fenóis encontrado no EBCR desta planta, sugere que grupos de compostos fenólicos provavelmente sejam os principais responsáveis pela alta atividade antioxidante apresentada pelo mesmo. A provável presença de alguns destes metabólitos secundários pôde ser demonstrada no extrato da jurema-preta a partir da triagem fitoquímica.

Na busca de substâncias ativas e/ou frações semipurificadas do EBCR da *M. tenuiflora*, realizou-se o fracionamento cromatográfico do extrato, o qual foi monitorado pelo ensaio direcionado para avaliação da atividade antioxidante. A partir desse estudo, foi possível chegar a uma fração ativa, a que apresentou maior atividade biológica.

Desta forma, o presente estudo contribuiu com informações acerca do perfil fitoquímico e principais grupos de metabólitos secundários responsáveis pela atividade antioxidante apresentada pelo EBCR da *M. tenuiflora*, buscando aprimorar o conhecimento e utilização desta propriedade farmacológica, presente na jurema-preta, a partir de seu popular por comunidades indígenas e populações locais da região nordeste.

REFERÊNCIAS

- ALVES, Hélio de Matos. 2001. Plantas como fonte de fitofármacos. *Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola*. v. 3, p. 01-06.
- BEZERRA, Denise Aline Casimiro. 2008. *Estudo fitoquímico, bromatológico e microbiológico de Mimosa tenuiflora (Willd) Poiret e Piptadenia stipulacea (Benth) Ducke*. 63 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Campina Grande, Patos-PB.
- COSTA, A. F. 2000. *Farmacognosia: farmacognosia experimental* Vol.III. 3. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian.
- MAIA, G. N. 2004. *Caatinga - árvores e arbustos e suas utilidades*. São Paulo: DeZ Computação Gráfica e Editora, p. 237-246.
- MALTERUD, K. E.; FARBROT, T. L.; HUSE, A. E.; SUND, R. B. 1993. *Pharmacology*, v. 47, p. 77-85.
- MATOS, F. J. A. 1997. *Introdução à Fitoquímica Experimental*. 2. ed. Fortaleza: EUFC.
- OLIVEIRA, Taís Silva de. 2009. *Avaliação da composição química e atividade antioxidante do fruto e da bebida alcoólica fermentada de Jamelão (Syzygium cumini Lamark)*. 100 f. Dissertação (Mestrado)- Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana-BA.
- SILVA, J. P.; AREIAS, F. M.; PROENÇA, F. M.; COUTINHO, O. P. 2006. Oxidative stress protection by newly synthesized nitrogen compounds with pharmacological potential. *Life Sciences*, v. 78, p. 1256 – 1267.