

Extrato rico em taninos da casca de *Mimosa tenuiflora* pode atuar no combate ao câncer gástrico

João Gilberto Meza Ucella-Filho¹; Jessica Raquel Borges Monteiro²; Mario Sérgio Lorenço³; Matheus Fernandes de Carvalho Reis¹; Rodrigo Rezende Kitagawa²; Fábio Akira Mori³

¹Departamento de Engenharia Florestal, Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa/MG, Brasil; ²Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), Vitória/MG, Brasil; ³ Departamento de Engenharia Florestal, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras/MG, Brasil. joao.meza@ufv.br

Resumo: Este estudo teve como objetivo caracterizar quimicamente o extrato rico em taninos (EXRT) obtido da casca da *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir. e avaliar seu potencial antitumoral. Para isso, foram coletadas cascas de cinco indivíduos da espécie e realizadas análises para determinar os extrativos totais, o índice de Stiasny e o teor de taninos condensados. A concentração de ácido gálico e catequina foi medida por Cromatografia Líquida de Alto Desempenho (HPLC). A atividade antitumoral foi avaliada por meio do ensaio MTT-tetrazólio com células AGS e RAW. O EXRT apresentou TTC de 37% e concentração de catequina de, aproximadamente, 1218 mg/100g de casca. Além disso, mostrou atividade antitumoral significativa nas células AGS, especialmente na concentração de 100 µg/mL. Assim, o EXRT de *M. tenuiflora* apresenta-se como um produto rico em compostos fenólicos, com potencial para tratamento de doenças, especialmente o câncer gástrico.

Palavras-chave: Compostos fenólicos, Produtos não madeireiros, Antitumoral

Tannin-rich extract from *Mimosa tenuiflora* bark may act in combating gastric cancer

Abstract: This study aimed to chemically characterize the tannin-rich extract (EXRT) obtained from the bark of *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir. and evaluate its potential antitumor activity. For this purpose, bark samples were collected from five individuals of the species, and analyses were conducted to determine total extractives, Stiasny index (SI), and condensed tannin content (CTC). The concentration of gallic acid and catechin was measured by High-Performance Liquid Chromatography (HPLC). Antitumor activity was assessed using the MTT-tetrazolium assay with AGS and RAW cells. The EXRT showed a CTC of 27.42% and a catechin concentration of approximately 1218.33 mg/100g. Furthermore, it exhibited significant antitumor activity against AGS cells, especially at a concentration of 100 µg/mL. Thus, the EXRT from *M. tenuiflora* emerges as a product rich in phenolic compounds with the potential for disease treatment, especially gastric cancer.

Keywords: Phenolic compounds, Non-timber forest products, Antitumor

1. INTRODUÇÃO

O número de incidências de câncer tem aumentado significativamente a cada ano, com mais de 20 milhões de registros em todo o mundo somente em 2022, resultando em mais de 9 milhões de mortes (Bray et al. 2024). Entre os tipos de câncer mais comuns, o câncer gástrico destaca-se como o quinto mais prevalente globalmente (Morgan et al., 2022). No ano de 2020, foram confirmados mais de 1 milhão de novos casos de câncer gástrico, sendo os homens mais afetados do que as mulheres. Vários fatores podem contribuir para o desenvolvimento do câncer gástrico, incluindo a infecção pelo *Helicobacter pylori*, uma bactéria que infecta a mucosa do estômago, e hábitos alimentares inadequados, como dietas ricas em alimentos processados, gordurosos e com baixo teor nutricional (Machlowska et al., 2020).

O tratamento do câncer frequentemente requer o uso de medicamentos, como a cisplatina, que podem causar uma série de efeitos adversos nos pacientes, incluindo náuseas, vômitos, fadiga e danos ao sistema nervoso (Ghosh, 2019). Esses efeitos colaterais podem impactar significativamente a qualidade de vida do paciente durante o tratamento. Diante disso, a busca por novos compostos bioativos com características anticancerígenas torna-se crucial, especialmente quando provenientes de fontes naturais, como plantas, oferecendo uma abordagem potencialmente mais segura e eficaz para o tratamento do câncer.

Nesse contexto, o Brasil se destaca devido sua biodiversidade de espécies vegetais nativas com interesse medicinal. Entre essas espécies, a *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir., endêmica do bioma Caatinga e popularmente conhecida como Jurema Preta, apresenta-se como uma espécie de interesse na medicina popular, pois sua casca é composta por diversos compostos fenólicos, especialmente taninos, que apresentam uma variedade de aplicações, incluindo propriedades antimicrobianas, antifúngicas, anti-inflamatórias, baixo potencial hemolítico, entre outras. (Silva et al., 2024). Diante desse potencial multifuncional, esses compostos também podem apresentar propriedades anticancerígenas. Portanto, levando em consideração todos os fatores abordados, este trabalho teve como objetivos:

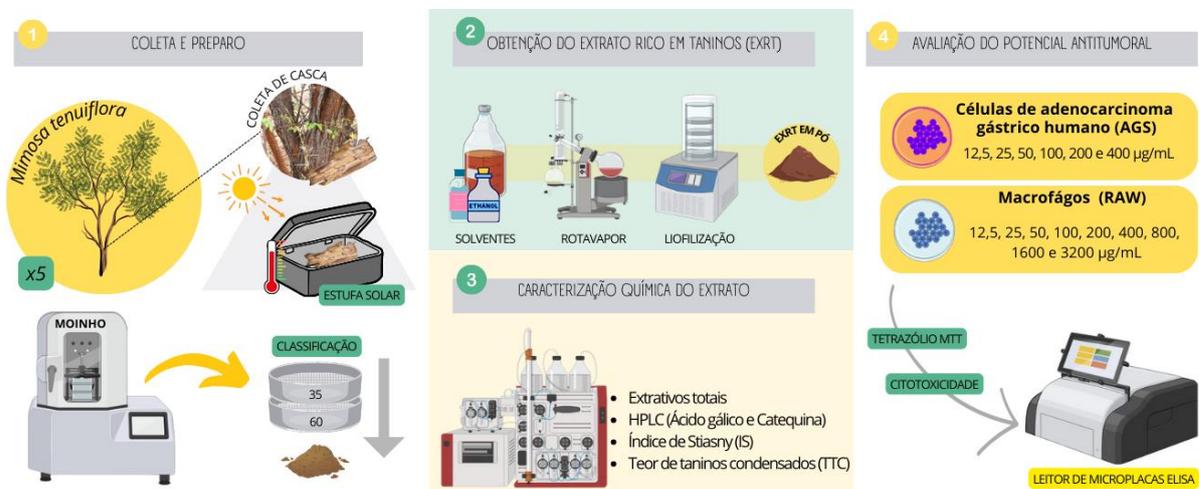
- i) caracterizar quimicamente o extrato rico em taninos da casca da *M. tenuiflora*; e

- ii) avaliar seu potencial antitumoral, visando seu uso potencial no tratamento do câncer gástrico.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Para a execução da pesquisa, a metodologia foi dividida em quatro partes: coleta e preparo da amostra, caracterização química da casca, obtenção do extrato rico em taninos e avaliação do potencial antitumoral, conforme exemplificado na Figura 1.

Figura 1. Fluxograma da metodologia adotada no experimento.



Fonte: autor (2024)

2.1 Coleta e preparo das amostras

Foram coletados cascas de cinco indivíduos da espécie arbórea *M. tenuiflora* localizados em plantio experimental no município de Macaíba, Rio Grande do Norte, Brasil (5°51'30" S e 35°21'14" W). A região apresenta clima em transição entre os tipos As e BSw, de acordo com a classificação de Köppen. As árvores selecionadas apresentavam bom estado fitossanitário, com um diâmetro médio à altura do peito (DAP) de 13,8±2,28 cm. Após a coleta, as cascas foram homogeneizadas, secas em estufa solar e posteriormente moídas em um moinho tipo Wiley. Para a caracterização química e obtenção do extrato foi utilizada a fração da casca resultante da peneiração entre as malhas 35 e 60 (0,25 mm).

2.2 Obtenção do extrato rico em taninos

A obtenção do extrato rico em taninos (EXRT) foi conduzindo seguindo a metodologia descrita por Ucella-Filho et al. (2024). Para tanto, foram utilizados 10 g de casca, que foram adicionados a 100 mL de uma solução de etanol e acetona (80:20 v/v) para extração dos taninos. Após agitação e repouso por 24 horas, o material foi filtrado e a solução evaporada a 60°C em um evaporador rotativo. O EXRT em pó foi obtido após liofilização do material.

2.3 Caracterização química do extrato

O teor de extrativos totais presente na casca foi determinado conforme a norma TAPPI T204 cm-97 (TAPPI, 1997). A concentração de ácido gálico e catequina foi estimada por Cromatografia Líquida de Alto Desempenho (HPLC - Shimadzu®, coluna Shim-pack GVP-ODS-C18 (4,6 x 250 mm, 5 µm) conectada a uma pré-coluna Shim-pack GVP-ODS-C18 (4,6 x 10 mm, 5 µm)), seguindo o método descrito por Ucella-Filho et al. (2024). O índice de Stiasny (SI) e teor de taninos condensados (TTC) foram determinadas conforme a metodologia de Sartori et al. (2018).

2.4 Avaliação do potencial antitumoral

Células de adenocarcinoma gástrico humano (AGS - ATCC CRL-173) e macrófagos (RAW - ATCC TIB-71) foram utilizados neste experimento. Após tratamento com diferentes concentrações do EXRT (12,5, 25, 50, 100, 200 e 400 µg/mL para AGS; 12,5, 25, 50, 100, 200, 400, 800, 1600 e 3200 µg/mL para RAW), as células foram incubadas e submetidas a ensaios de MTT-tetrazólio para avaliar a citotoxicidade (Mosmann, 1983). Os resultados foram analisados utilizando um leitor de microplacas ELISA.

2.5 Análise estatística

Os dados coletados foram submetidos a uma análise de variância (ANOVA), para verificar a diferença entre os tratamentos, com um nível de significância de 5%. A análise estatística foi conduzida utilizando o software R com o pacote ExpDes.pt.

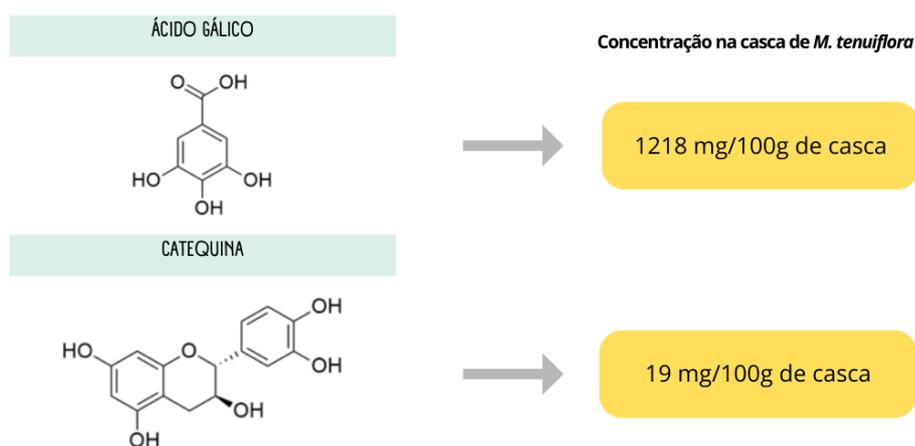
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Composição química

Os resultados da análise química do EXRT de *M. tenuiflora* revelaram um teor de extrativos totais de 28,7% e um TTC em torno de 37%. O SI foi estimado em 65%. O SI corresponde a quantidade de polifenóis totais nos extratos provenientes da reação com formaldeído (Marques et al., 2022). De acordo com Ucella-Filho et al. (2024) o índice de Stiasny está diretamente relacionado à pureza do material, ou seja, livre de impurezas como açúcares e gomas. Portanto, quanto maior o SI, maior sua pureza.

Utilizando a técnica de HPLC, foram detectados e quantificados os picos correspondentes à catequina e ácido gálico, com base na área sob a curva cromatográfica (Figura 2). É importante destacar que a catequina está associada aos taninos condensados, enquanto o ácido gálico está relacionado aos taninos hidrolisáveis (Ucella-Filho et al., 2022). A alta concentração de catequina pode favorecer a aplicação do EXRT para tratamento de diversas doenças, incluindo o câncer, devido suas propriedades bioativas (Bae et al., 2020; Mita et al., 2024).

Figura 2. Estrutura química e concentração do Ácido Gálico e Catequina presentes no EXRT de *M. tenuiflora*.



Fonte: autor (2024)

3.2 Potencial anticancerígeno

O valor IC₅₀ (metade da concentração inibitória máxima) é uma medida que indica a concentração de um composto necessário para inibir determinado processo biológico ou bioquímico em 50% (Gwu; Conradie, 2023). Na presente pesquisa, o valor

de IC₅₀ do EXRT foi de 44,31 µg/mL para células AGS e 398,70 µg/mL para RAW (Células não tumorais). Além disso, o índice de seletividade (IS), que representa a razão entre a concentração tóxica da amostra e sua concentração bioativa efetiva (Ucella-Filho et al., 2024), foi consideravelmente melhor para o EXRT em comparação com a cisplatina, medicamento amplamente utilizado no tratamento do câncer gástrico (Tabela 1). Portanto, esse resultado indica uma seletividade eficaz do EXRT, uma vez que é capaz de inibir seletivamente o crescimento de células cancerígenas associadas ao câncer gástrico sem afetar significativamente células normais.

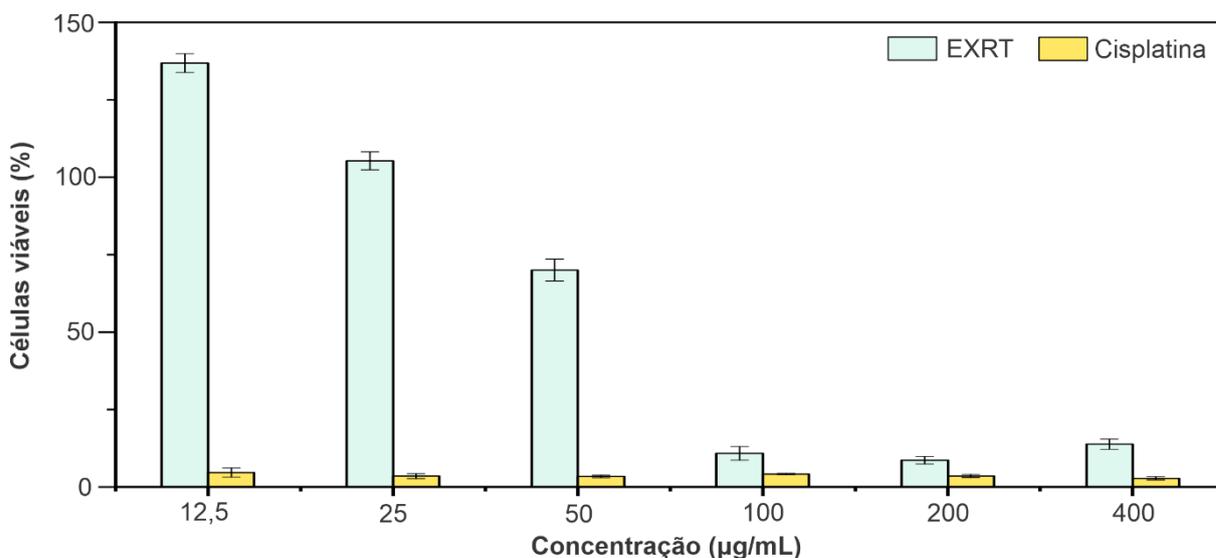
Tabela 1. Citotoxicidade e índice de seletividade do EXRT de *M. tenuiflora*.

Amostras	IC ₅₀ (µg/mL)		IS
	RAW 264.7	AGS	
EXRT	398,70±1,24*	44,31±1,09*	8,99
Cisplatina	4,13±0,28	4,52±0,37	0,92

IS = Índice de seletividade. * = p < 0,05. Fonte: autor (2024)

O EXRT diminuiu em aproximadamente 90% as células viáveis de AGS na concentração de 100 µg/mL, e esse efeito inibitório não variou significativamente com o uso de concentrações mais elevadas, enquanto, a cisplatina, apresentou uma inibição de cerca de 95% nas células AGS na mesma concentração (Figura 3).

Figura 3. Atividade citotóxica em células AGS de acordo com a concentração do EXRT.



Fonte: autor (2024)

Embora a cisplatina tenha apresentado um resultado levemente mais efetivo que o EXRT, é importante ressaltar que o EXRT é um produto natural e mais seletivo em sua ação, como observado no valor estabelecido para o IS (Tabela 1). Enquanto a cisplatina é conhecida por sua toxicidade e efeitos colaterais em células normais (Ghosh, 2019). Essa seletividade é crucial no tratamento do câncer, pois minimiza os efeitos adversos associados ao tratamento e preserva a integridade das células saudáveis do organismo. Essa ação seletiva do EXRT, identificado no presente estudo, pode estar associada aos compostos fenólicos presentes em sua composição, como o ácido gálico e catequina (Figura 2). Esses compostos apresentam propriedades, quimiopreventivas e quimiossensibilizantes, além disso, possuem a capacidade de induzir a apoptose das células cancerígenas, promovendo sua morte programada e, conseqüentemente, reduzindo sua proliferação (Chimento et al., 2023).

4. CONCLUSÃO

O EXRT de *M. tenuiflora* apresentou uma alta concentração de extrativos, notadamente composta por polifenóis. Além disso, revelou atividade antitumoral promissora, destacando-se como potencial fonte natural para o tratamento do câncer gástrico. Portanto, o EXRT torna-se uma alternativa para o setor farmacêutico para o desenvolvimento de terapias antitumorais mais seguras e eficazes.

5. AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG); Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Código Financeiro 001; Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

6. REFERÊNCIAS

BRAY, F.; LAVERSANNE, M.; SUNG, H.; FERLAY, J.; SIEGEL, R. L.; SOERJOMATARAM, I.; JEMAL, A. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **A Cancer Journal For Clinicians**, p. 1-35, 2024.

BAE, J.; KIM, N.; SHIN, Y.; KIM, S.; KIM, Y. Activity of catechins and their applications. **Biomedical Dermatology**, v. 4, n. 1, p. 1, 2020.

CHIMENTO, A.; LUCA, A.; D'AMICO, M.; AMICIS, F.; PEZZI, V. The Involvement of Natural Polyphenols in Molecular Mechanisms Inducing Apoptosis in Tumor Cells: a promising adjuvant in cancer therapy. **International Journal Of Molecular Sciences**, v. 24, n. 2, p. 1680, 2023.

GHOSH, S. Cisplatin: the first metal based anticancer drug. **Bioorganic Chemistry**, v. 88, p. 102925, 2019.

MACHLOWSKA, J.; BAJ, J.; SITARZ, M.; MACIEJEWSKI, R.; SITARZ, R. Gastric Cancer: epidemiology, risk factors, classification, genomic characteristics and treatment strategies. **International Journal Of Molecular Sciences**, v. 21, n. 11, p. 4012, 2020.

MARQUES, S. R. R.; AZEVÊDO, T. K. B.; CASTILHO, A. R. F.; BRAGA, R. M.; PIMENTA, A. S. Extraction, quantification, and FTIR characterization of bark tannins of four forest species grown in northeast Brazil. **Revista Árvore**, v. 45, p. e4541, 2021.

MITA, S. R.; HUSNI, P.; PUTRIANA, N. A.; MAHARANI, R.; HENDRAWAN, R. P.; DEWI, D. A. A Recent Update on the Potential Use of Catechins in Cosmeceuticals. **Cosmetics**, v. 11, n. 1, p. 23, 2024.

MORGAN, E.; ARNOLD, M.; CAMARGO, M. C.; GINI, A.; KUNZMANN, A. T.; MATSUDA, T.; MEHEUS, F.; VERHOEVEN, R. H.A.; VIGNAT, J.; LAVERSANNE, M. The current and future incidence and mortality of gastric cancer in 185 countries, 2020–40: a population-based modelling study. **Eclinicalmedicine**, v. 47, p. 101404, 2022.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal Of Immunological Methods**, v. 65, n. 1-2, p. 55-63, 1983.

SARTORI, C. J.; MOTA, G. S.; MIRANDA, I.; MORI, F. A.; PEREIRA, H. Tannin extraction and characterization of polar extracts from the barks of two *Eucalyptus urophylla* hybrids. **Bioresources**, v. 13, n. 3, p. 4820-4831, 2018.

SILVA, E. O.; SOUZA, M. L.; SOUZA, N. A. C.; MELO, D. F.; COSTA, L. A. G.; HOLANDA, B. F. L. A.; NISHIMURA, R. H. V.; ROLIM, L. A.; ROLIM NETO, P. J. Phytopharmacological aspects of *Mimosa tenuiflora* (Willd.) poir.: a systematic review of preclinical data. **Phytochemistry Reviews**, p. 1-21, 2024.

TAPPI, Technical Association of the Pulp and Paper Industry. **T 264 cm-97**. [s.l.] : Preparation of wood for chemical analysis, 1997.

UCELLA-FILHO, J. G. M.; FREIRE, A. S. M.; CARRÉRA, J. C.; LUCAS, F. M. F.; ZUCOLOTTO, S. M.; DIAS JÚNIOR, A. F.; MORI, F. A. Tannin-rich bark extract of plants as a source of antimicrobial bioactive compounds: a bibliometric analysis. **South African Journal Of Botany**, v. 150, p. 1038-1050, 2022.

UCELLA-FILHO, J. G. M.; LORENÇO, M. S.; SILVA, B. R. F.; FERREIRA, V. R. F.; MONTEIRO, J. R. B.; FERREIRA, N. S.; CARDOSO, M. G.; KITAGAWA, R. R.; RESENDE, J. A.; DIAS JUNIOR, A. F.; PICCOLI, R. H.; MORI, F. A. Exploring the potential of tannin-rich tree bark extracts in combating foodborne diseases and gastric cancer. **Food Bioscience**, v. 57, p. 103559, 2024.

GWU, D. I.; CONRADIE, J. Anticancer properties of complexes derived from bidentate ligands. **Journal Of Inorganic Biochemistry**, v. 246, p. 112268, 2023.