



DETERMINAÇÃO DO PERFIL FITOQUÍMICO DE EXTRATO COM ATIVIDADE ANTI-HELMÍNTICA DA ESPÉCIE MEDICINAL *XIMENIA AMERICANA* L. (OLACACEAE)

Sergio Murilo Duarte, Franciellen Morais-Costa, Kaike Magno de Macêdo, Luís Henrique Assunção

Introdução

A espécie *Ximenia americana* L. (Olacaceae) é comumente chamada de “ameixa do cerrado”, é caracterizada como arbusto de 3 a 4 metros de altura ou árvore pequena espinhosa. No norte de Minas Gerais, no período seco, *Ximenia americana* apresenta-se em parte verde, o que caracteriza uma espécie resistente à seca e passível de concentração de estudos [1].

A utilização de espécies vegetais com fins medicinais, é utilizada pelo homem há muitos anos. As sementes de *X. americana* são consideradas purgativas e muito saborosas [2]. Os taninos podem exercer ação anti-helmíntica direta, ao interferir no ciclo natural dos helmintos, ou indireto, ao proteger a proteína ingerida da degradação ruminal (com incremento da disponibilidade protéica no trato gastrointestinal inferior), o que dificulta a determinação do seu real efeito antiparasitário [3].

Para garantir a eficiência da utilização das plantas com estes fins são utilizados vários métodos, que visam analisar a composição química destas. Os métodos cromatográficos são atualmente um dos mais utilizados para a identificação e análise de misturas e substâncias isoladas, sendo a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) um dos métodos mais aplicados. Diante disso, objetivou-se determinar o perfil fitoquímico e o teor de tanino condensado dos extratos aquoso e etanólico (EAE) das folhas de *X. americana* diante sua eficácia anti-helmíntica.

Material e métodos

A. Material vegetal e preparo dos extratos aquoso e etanólico

Folhas de *Ximenia americana* foram coletadas e lavadas em água corrente. Posteriormente foram desidratadas em estufa com circulação forçada de ar a 40 °C e pesadas até atingir o peso constante. As folhas foram trituradas em liquidificador industrial, armazenadas em sacos de papel escuro e em temperatura ambiente [4].

Para o preparo do extrato aquoso, as folhas desidratadas e trituradas foram pesadas (10 g) e colocadas em um béquer e neste foi acrescido água estéril (50 mL). Esse material foi incubado em banho-maria a 40 °C, por 60 minutos. Para o extrato etanólico, as folhas desidratadas e trituradas (100 g), foram acondicionadas em recipientes de vidro âmbar acrescentando etanol PA (1.000 mL). O frasco fechado foi conservado em local escuro e em temperatura ambiente durante 10 dias [4].

Separadamente os extratos, foram filtrados, em funil com algodão e gaze e foram levados à estufa de circulação forçada de ar a 40°C até atingir peso constante. Quando secos foram raspados, acondicionados em local, livre da incidência de luz e conservado em temperatura a 4 °C [4].

B. Separação dos compostos químicos dos extratos aquoso e etanólico

A separação dos compostos químicos dos EAE das folhas de *X. americana* foi realizada por HPLC em equipamento Merck-Hitachi (Alemanha) composto de bomba L-6200A, injetor automático AS-2000A, detector UV-VIS L-4250 e integrador D-2500. Utilizou-se uma coluna de ODS (250 x 4,0 mm d.i., 5 mm, Merck, Alemanha) fluxo de 1,0 mL/min, temperatura de 40 °C, procedendo-se a eluição com gradiente linear de H₂O (A) e CH₃CN (B): 0 min 90 % A, 10 % B; 60 min 10 % A, 90 % B, seguido de 5 min de eluição isocrática. A detecção foi realizada no UV a 220 nm. Foram utilizados solvente grau HPLC (Merck, Alemanha) e a remoção do ar foi realizada por sonificação.

Para as análises da separação dos compostos químicos, as amostras foram dissolvidas em metanol grau HPLC, para concentrações de 10 mg/mL e 5 mg/mL, respectivamente, para extratos e frações, sendo as soluções centrifugadas a 10.000 rppm, durante 10 min, previamente à injeção. Alíquotas destas soluções (5 mL) foram injetadas de modo automático [5].



C. Determinação do teor de proantocianidina (tanino condensado)

O teor total de proantocianidinas foi quantificado nos EAE Das folhas de *X. americana* e nas frações das mesmas, após solvólise catalizada por ácido com *n*-BuOH/HCl 37 % (95:5) [6]. Após a reação com *n*-BuOH/HCl 37 % (95:5), procedeu-se à leitura da absorvância em espectrofotômetro da solução a 540 nm, sendo os valores expressos como cloreto de cianidina. Os resultados corresponderam à média de três determinações, seguidos dos desvios-padrão.

Resultados e Discussão

Diante os valores do espectro de UV pode-se verificar a presença de taninos. A intensidade máxima de absorvância do extrato aquoso foi observada na região entre 255-348,3 nm e do extrato etanólico entre 255,6-353,1 nm nos seus respectivos tempos de retenção. Os valores do espectro de UV observados, indicam a presença de taninos e flavonoides no extrato aquoso (Fig. 1) e etanólico (Fig. 2) para *X. americana*. O teor de proantocianidina (taninos condensados) em 10 mg de massa seca, dos EAE foram respectivamente 0,3 % \pm 0,01; 0,4 % \pm 0,02.

Testes fitoquímicos indicaram a presença de taninos e flavonoides para espécies do cerrado com efeito anti-helmíntico em *Anacardium humile* e *Caryocar brasiliense* [7,8]. Estudo desenvolvido por Costa [9] comprovou atividade anti-helmíntica do extrato etanólico das folhas de *X. americana* no teste da inibição da eclodibilidade de *H. contortus* de ovinos nas concentrações entre 0,075-1,2 mg/mL, com eficácia de 57,41-100 %. O efeito da atividade anti-helmíntica do extrato aquoso das folhas de *X. americana* através do método de coprocultura, foi comprovado quando administrado na concentração 1,42-22,70 mg/g, com eficácia de 65,63-100 % [9].

Piptadenia viridiflora, *X. americana*, *Casearia sylvestris* e *Schinopsis brasiliensis* são consideradas anti-helmínticas para ovinos em pastejo no Cerrado, pois Moraes-Costa, *et al.* [4] afirmam a presença de taninos e flavonoides nessas espécies vegetais e concluíram que nem todas as espécies do Cerrado, que contem maior concentração de tanino, são as que promovem maior eficácia *in vitro* no controle de *H. contortus*.

Considerações finais

Através da análise dos EAE das folhas de *X. americana* por HPLC, determinação do teor de tanino condensado foi possível observar a existência de flavonoides e taninos. *Ximena americana* e outras espécies vegetais do cerrado que contem taninos são consideradas anti-helmínticas para ovinos. É necessário isolar os diversos compostos metabólicos dessas espécies e testá-los separadamente, pois pode ocorrer sinergismo entre eles.

Agradecimentos

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico Desenvolvimento (CNPq). Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG). Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Programa de Educação Tutorial (PET-MEC/Sesu), Pró-Reitoria de Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (PRPq-UFMG) e Laboratório de Bromatologia do ICA/UFMG.

Referências

- [1] MORAIS-COSTA, *et al.* Influência da estrutura da vegetação na seleção da dieta por ovinos em área de cerrado. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 28, n. 2, p.188-196. 2015.
- [2] CORRÊA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro. Ministério da Agricultura, Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, 1984. 747p.
- [3] KETZIS, J.K., *et al.* Evaluation of efficacy expectations for novel and non-chemical helminth control strategies in ruminants. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam v.139, p. 321-335, 2006.
- [4] MORAIS-COSTA, F., *et al.* Plants of the Cerrado naturally selected by grazing sheep may have potential for inhibiting development of *Haemonchus contortus* larva. **Trop Anim Health Prod**. DOI 10.1007/s11250-015-0866-8. 2015.
- [5] VALADARES, Y. M., *et al.* Atividade vasodilatadora *in vitro* de espécies de *Ouratea* (Ochnaceae) e de frações de *Ouratea Semiserrata* (Mart.) Engl. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 39, n. 1, jan./mar., 2003.
- [6] HIERMANN, A., KARTNIG, T.H., AZZAM, S. Ein Beitrag zur quantitativen Bestimmung der Procyanidine in Crataegus. **Sci. Pharm**, Wien, v. 54, p.331-337, 1986.
- [7] NERY, P. S., *et al.* Effect of *Anacardium humile* on the larval development of gastrointestinal nematodes of sheep. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v.171, p. 361-364. 2010.
- [8] NOGUEIRA, F. A., *et al.* *In vitro* and *in vivo* efficacy of aqueous extract of *Caryocar brasiliense* Camb. to control gastrointestinal nematodes in sheep **Parasitol Research**, p. 111, p. 325-330, 2012.



- [9] COSTA, F. M. **Espécies de plantas do cerrado selecionadas por ovinos em pastejo com potencial na inibição do desenvolvimento de *Haemonchus contortus*.** 2015. 138p. (Curso de Pós-Graduação em Parasitologia) – ICB/UFMG, Belo Horizonte. 2015.

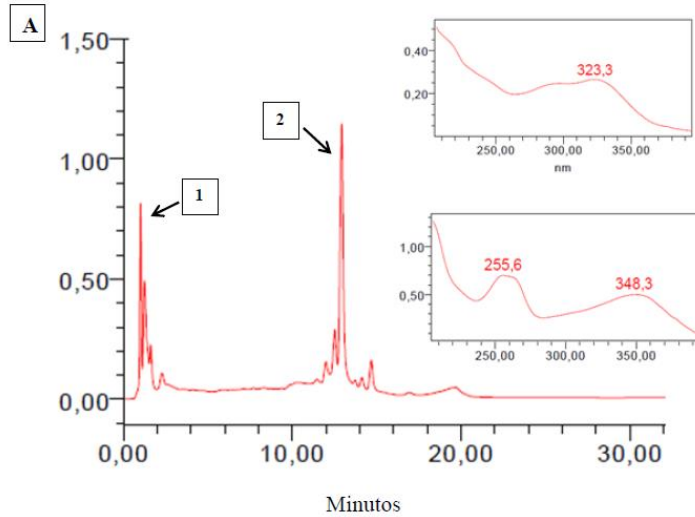


Figura 1. Perfil cromatográfico, obtidos por HPLC, características do espectro de UV de taninos (pico 1) e flavonoides (pico 2) e seus respectivos tempo de retenção (TR), no extrato aquoso das folhas de: A: *Ximena americana* (TR = 1,280 e 11,467).

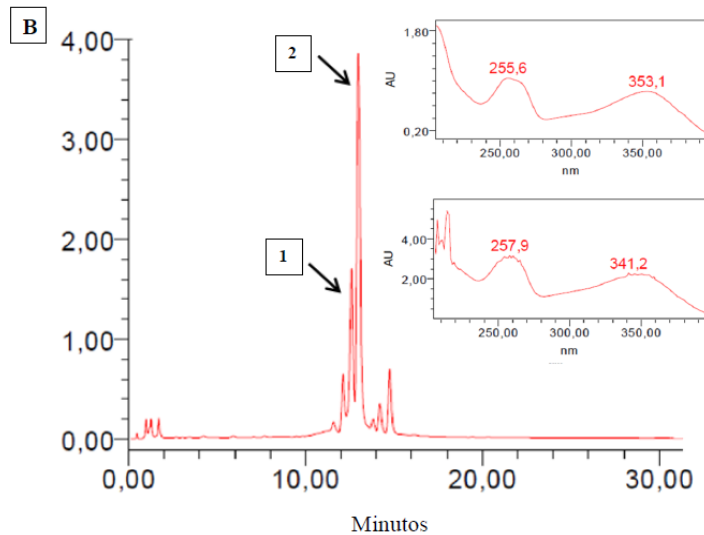


Figura 2. Perfil cromatográfico, obtidos por HPLC, características do espectro de UV de taninos (pico 1) e flavonoides (pico 2) e seus respectivos tempo de retenção (TR), no extrato etanólico das folhas de *Ximena americana* (TR = 12,59 e 12,98).