



ATIVIDADE CITOTÓXICA DA *Mimosa tenuiflora* (WILLD.) POIR. (JUREMA-PRETA) EM CÉLULAS DO EPITÉLIO MAMÁRIO BOVINO (MAC-T)

Juliana de Souza Henrique¹
juliana.henrique@upe.br
Émily Rosane de Melo Almeida¹
emily.rosane@upe.br
Natalie Emanuelle Ribeiro Rodrigues²
natalie.rodrigues@upe.br
Luiza Rayanna Amorim de Lima¹
luiza.amorim@upe.br
Vladimir da Mota Silveira Filho¹
vladimir.filho@upe.br

¹ Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento Socioambiental, Universidade de Pernambuco, Garanhuns, Brasil.

² Universidade de Pernambuco, Garanhuns, Brasil.

INTRODUÇÃO

O estado de Pernambuco é considerado um dos principais produtores de leite, sendo o município de Garanhuns reconhecido como o centro da bacia leiteira da região Agreste (Silva *et al.*, 2019). No entanto, este setor vem enfrentando desafios constantes, como a mastite bovina, uma doença causada pela inflamação da glândula mamária que acomete o gado leiteiro, causando impactos na vida animal e inúmeras perdas econômicas (Morales-Ubaldo *et al.*, 2023). A principal forma de tratamento é a base de antibióticos, mas sua utilização excessiva vem demonstrando pouca eficácia, risco de resíduos no leite, além do desenvolvimento de bactérias resistentes (Pedersen *et al.*, 2021).

Nesse sentido, novas estratégias estão sendo exploradas, dentre elas, se destaca a utilização de extratos vegetais para substituição ou potencialização dos antibióticos usados na clínica, já que contêm fitoquímicos, que vem demonstrando potencial frente a cepas comuns e resistentes (Wang *et al.*, 2023). No bioma da Caatinga existe uma ampla biodiversidade vegetal, o que tem atraído o interesse de pesquisas para investigar as propriedades biológicas dessas plantas para fins medicinais (Reis *et al.*, 2023). Dentre elas, se destaca a jurema-preta (*Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir.), espécie nativa da Caatinga que é comumente utilizada na medicina popular em virtude de suas propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes e antimicrobianas (Son; Ribeiro; Bastos, 2022).

Dessa forma, este estudo tem como objetivo analisar *in vitro* a citotoxicidade do extrato hidroalcóolico bruto da casca da jurema-preta em células do epitélio mamário bovino (MAC-T), a fim de analisar a segurança de seu uso terapêutico no tratamento da mastite bovina.

MATERIAIS E MÉTODOS

Preparo do extrato vegetal

A casca da *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir. (Tombamento N.º RN 6057) foi dessecada em estufa a 40 °C, durante 5 dias. Para obtenção do extrato bruto, o material vegetal foi diluído em etanol na proporção 1:10 e incubado no banho ultrassônico por 15 min. Em seguida, o extrato foi seco em estufa e pulverizado (Sette-de-Souza *et al.*, 2015).

Ensaio de citotoxicidade

A citotoxicidade do extrato foi avaliada pelo MTT (Mosmann, 1983). As células MAC-T (5×10^3 células/poço) foram cultivadas, e tratadas com DMEM (controle negativo) ou com DMEM contendo o extrato nas concentrações 1, 0,5, 0,25, 0,125, 0,0625 e 0,031250 mg/mL em experimentos individuais. O controle positivo foi a gentamicina (200 µg/mL). Após a incubação por 72 h a 37 °C em estufa de CO₂, foi adicionado 20 µL de MTT ([brometo de (3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difenil tetrazólio)] a 5 mg/mL e incubadas por 3h. Após isso, foi adicionado 130 µL de TRITON X-100 e



incubado por 24 h. A densidade óptica em cada poço foi registrada a 490 nm. A avaliação da citotoxicidade foi feita em triplicata e os valores de absorbância foram expressos como percentagem de viabilidade celular: (Abs de células tratadas/Abs de células não tratadas) x 100%.

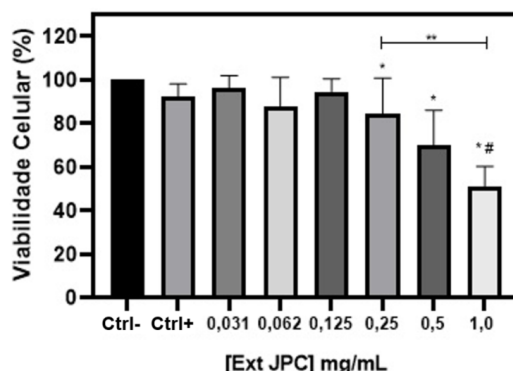
Análise estatística

Foram realizados três experimentos independentes, em triplicata. Os resultados foram expressos como média $\pm$ desvio padrão da média. O teste Shapiro-Wilk foi utilizado para testar a suposição de normalidade das variáveis contínuas. Os grupos foram comparados e a variabilidade do conjunto foi analisada com o teste de Kruskal-Wallis (dados não paramétricos) e Teste T de Student (dados paramétricos). Os resultados foram significantes quando $p < 0,05$. Todos os dados foram analisados pelo GraphPad Prism versão 8.0.2 (GraphPad Software Inc., San Diego CA, EUA).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O resultado indica que o extrato hidroalcoólico da casca da jurema-preta (JPC) até a concentração de 0,5 mg/mL não teve diferença significativa em relação ao controle positivo (gentamicina), antibiótico padrão no tratamento da mastite (Figura 1). Além disso, a JPC apresenta concentração de morte ou inibição de 50% das células (EC50) de 0,31 mg/mL.

Figura 1 - Gráfico do efeito do extrato da JPC sobre a viabilidade celular da linhagem MAC-T.



Legenda: Ensaio de citotoxicidade do extrato JPC frente às células do epitélio mamário bovino por 72h. Ctrl-: controle negativo. Ctrl+: controle positivo (gentamicina). *As diferenças foram significantes considerando $p < 0,05$ comparando as células tratadas com o controle negativo. #As diferenças foram significantes considerando $p < 0,05$ comparando as células tratadas com o controle positivo. **As diferenças foram significantes considerando $p < 0,05$ comparando as células tratadas com as concentrações do extrato de JPC.

Até o momento, na literatura não foram encontrados outros estudos de extratos da jurema-preta com a linhagem celular MAC-T. Mas, de forma semelhante a esta pesquisa, Magalhães *et al.* (2018) não encontraram altas taxas de citotoxicidade com o extrato etanólico da jurema-preta em células VERO (células de rins de macacos) até na maior concentração testada de 512,6 μ g/mL.

Além disso, Silva *et al.* (2020) analisaram a citotoxicidade do extrato etanólico bruto da casca de *M. tenuiflora* contra quatro linhagens de células cancerígenas humanas: HCT-116 (adenocarcinoma colorretal), PC-3 (próstata), HL-60 (leucemia mieloide aguda) e SF-295 (glioblastoma) e não encontraram citotoxicidade até a concentração de 50 μ g/mL. Paralelamente, Rodríguez-Garza *et al.* (2023) relataram que o extrato metanólico de *M. tenuiflora* frente a células de linfoma murino L5178Y-R apresenta efeitos na inibição das células de linfoma com EC50 de 47,10 μ g/mL e não alteraram significativamente a viabilidade celular das PBMC (Célula mononuclear do sangue periférico), com EC50 > 1000 μ g/mL, indicando baixa toxicidade para células normais pelos padrões estabelecidos.

Em consonância, Leite *et al.* (2015) testaram o extrato etanólico da casca do caule de *M. tenuiflora* e o extrato não apresentou atividade hemolítica até 1000 μ g/mL, de forma similar ao resultado de Rodríguez-Garza *et al.* (2023) com o extrato metanólico. Já Silva *et al.* (2013) por meio do teste de micronúcleo *in vivo* em camundongos avaliaram a genotoxicidade e identificou que até a maior



concentração de 200 mg/kg do extrato etanólico da casca de *M. tenuiflora* não houve aumento significativo na frequência de micronúcleos, não sendo considerado mutagênico.

Ademais, Feijo *et al.* (2022) e Soares *et al.* (2021), ao testar o extrato pirolenhoso da *M. tenuiflora* conseguiram identificar concentrações que reduzem o crescimento bacteriano e melhora a cicatrização de feridas em gatas submetidas a ovariosalpingohisterectomia e em células do tecido tegumentar de tetos de cabras, respectivamente, sem causar citotoxicidade nas concentrações testadas.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O resultado encontrado demonstra que o extrato de JPC se mostrou semelhante ao controle positivo e que a EC₅₀ é de 0,31mg/mL, assim, atividades biológicas encontradas abaixo dessa concentração podem ser promissoras. No entanto, pesquisas adicionais e outras análises de citotoxicidade são necessárias para validar o uso da jurema-preta no tratamento para a mastite bovina.

PALAVRAS-CHAVE: Mastite bovina. Extrato vegetal. Citotoxicidade.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à FACEPE, UPE, PPGSDS e à CAPES.

Referências

- FEIJO, F. M. C. *et al.* Efficiency of pyroligneous extract from jurema preta (*Mimosa tenuiflora* [Willd.] Poir.) as an antiseptic in cats (*Felis catus*) subjected to ovariosalpingohysterectomy. **Animals**, v. 12, n. 18, p. 2325, 2022.
- LEITE, S. C. M *et al.* Antibacterial and hemolytic activities of *Mimosa tenuiflora* (Willd) Poir.(Mimosoidea). **Afr J Microbiol Res**, v. 9, n. 42, p. 2166-2171, 2015.
- MAGALHAES, F. E. A. *et al.* Orofacial antinociceptive effect of *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir. **Biomed Pharmacother**, v. 97, p. 1575-1585, 2018.
- MORALES-UBALDO, A. L. *et al.* Bovine mastitis, a worldwide impact disease: prevalence, antimicrobial resistance, and viable alternative approaches. **Vet Anim Sci**, v. 21, p. 100306, 2023.
- MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **J Immunol Methods**, v. 65, n. 1-2, p. 55-63, 1983.
- PEDERSEN, R. R. *et al.* Biofilm research in bovine mastitis. **Front Vet Sci**, v. 8, p. 656810, 2021.
- REIS, H. S. *et al.* Plantas medicinais da caatinga: uma revisão integrativa dos saberes etnobotânicos no semiárido nordestino. **Arq Ciênc Saúde UNIPAR**, v. 27, n. 2, p. 874-900, 2023.
- RODRÍGUEZ-GARZA, N. E. *et al.* In vitro biological activity and lymphoma cell growth inhibition by selected mexican medicinal plants. **Life**, v. 13, n. 4, p. 958, 2023.
- SETTE-DE-SOUZA, P. H. *et al.* **Potencial de extratos da *Schinopsis brasiliensis* Engl. para desenvolvimento de produtos odontológicos.** 2015. 132f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Programa de Pós-graduação em Odontologia, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande.
- SILVA, S. A. N. M. *et al.* Phytochemical and biological prospection of Mimosa genus plants extracts from Brazilian northeast. **Phytochem lett**, v. 39, p. 173-181, 2020.
- SILVA, S. S. *et al.* Viabilidade econômica em sistemas de produção de leite da Agricultura familiar em Pernambuco. **Custos Agronegócio Online**, v. 15, n. 3, p. 460–483, 2019.
- SILVA, V. A. *et al.* Assessment of mutagenic, antimutagenic and genotoxicity effects of Mimosa tenuiflora. **Rev Bra Farmacogn**, v. 23, n. 2, p. 329-334, 2013.
- SOARES, W. N. C. *et al.* Pyroligneous acid from *Mimosa tenuiflora* and *Eucalyptus urograndis* as an antimicrobial in dairy goats. **J Appl Microbiol**, v. 131, n. 2, p. 604-614, 2021.
- SON, N. T.; RIBEIRO, V. P.; BASTOS, J. K. Flavonoids from green propolis of the Northeastern Brazilian Caatinga *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir.: A chemotaxonomic aspect. **Biochem Syst Ecol**, v. 104, p. 104473, 2022.
- WANG, L. *et al.* Antimicrobial Activity and Mechanisms of Walnut Green Husk Extract. **Molecules**, v. 28, n. 24, p. 7981, 2023.