

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO DE
Mikania smilacina DC
Antimicrobial Activity of *Mikania*
smilacina DC extracts

CELIA H. YAMAMOTO*; VLADI O. CONSIGLIERI*; MARIA VITÓRIA L. BRADA*;
PAULO H. C. CHAVES*; ELIZABETH A. GIANOTTO*; VICENTE OLIVEIRA FER
RO**; e TAKAKO SAITO***.

O extrato mole obtido de folhas e caules de *Mikania smilacina* DC foi submetido ao teste de atividade antimicrobiana pela técnica de diluição seriada frente a *S. aureus* ATCC 6538, *E. coli* ATCC 10536, *C. albicans* ATCC 10321 e *A. niger* ATCC 16404. O extrato foi ativo contra *S. aureus*, sendo a concentração inibitória mínima [bacteriostática] igual a 10 mg/mL. Pela avaliação usando a técnica de difusão em gel, o extrato, mesmo na concentração de 60 mg/mL não apresentou atividade inibitória de crescimento de *S. aureus*. Da mesma forma, o ácido caurenólico presente no extrato não apresentou atividade biológica *in vitro*, indicando ser o efeito avaliado pela técnica anterior devido à presença de outro(s) composto(s) do extrato mole.

1 - INTRODUÇÃO

Diversas espécies do gênero *Mikania* foram objeto de estudo químico (1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, 9, 11, 12, 13) em função do uso medicinal popular. A presença de diterpenos, sejam derivados pimarânicos ou caurenícos, tem sido constatada neste gênero, sendo os mesmos responsáveis pela atividade antimicrobiana dos extratos.

* Alunos de Pós-graduação em Farmaco e Medicamentos FCF/USP

** Professor Assistente da FCF/USP

*** Professor Assistente Doutor FCF/USP

A *Mikania smilacina* DC (12) conhecida vulgarmente como "sete sangrias", também tem sido empregada na forma de chá caseiro pela infusão de suas folhas, sendo-lhe atribuída atividade antihipertensiva, entre outras.

O objetivo do presente estudo foi avaliar a atividade antimicrobiana no extrato mole obtido de partes aéreas desta espécie vegetal.

2 - MATERIAL E MÉTODOS

2.1. MATERIAL

O extrato mole, testado quanto à atividade antimicrobiana, foi preparado com as partes aéreas do vegetal, representadas por folhas e caules. Para isto foi obtido o extrato⁶, o qual foi concentrado em evaporador rotatório, seguido de evaporação do solvente em banho de água fervente, auxiliado pelo jato de ar quente. O extrato mole, com a consistência de mel, correspondeu a 10% (v/v) do extrato fluido.

O ácido caurenólico isolado do extrato e purificado cromatograficamente, foi também submetido ao teste¹².

2.2. MÉTODOS

Determinação da concentração inibitória mínima pelo método de diluição em meio de cultura líquido.

Com técnica asséptica, empregando-se solução fisiológica estéril contendo 0,1% (p/v) de polisorbato 80, foram preparadas soluções do extrato mole, de 10 a 60 mg/mL, com intervalo de 10 mg/mL. De cada uma das concentrações foi transferida a alíquota de 1 mL para série de 3 tubos, para cada microorganismo-teste.

A inoculação do germe foi juntamente com o meio de cultura, sendo caldo caseiro soja para as bactérias e caldo Sabouraud-dextrose para os fungos. Para isto, da suspensão de cultura jovem com carga conhecida foi transferida alíquota suficiente para obter de 10^3 a 10^4 organismos a cada 4 mL do meio de cultura, sendo este volume adicionado a todos os tubos contendo 1 mL de solução-teste, de diferentes concentrações. Desta forma, as concentrações do extrato mole foram de 2 a 12 mg/mL, com intervalo de 2 mg/mL.

Foram utilizados como microorganismos-teste *Staphylococcus aureus* 6538, *Escherichia coli* ATCC 10536, *Candida albicans* ATCC 10321 e *Aspergillus niger* ATCC 16404.

A incubação dos tubos contendo bactérias foi a 35-37°C

durante cerca de 24 horas e a 20-25°C para fungos, durante cerca de 72 horas, ocasião em que se efetuou a observação macroscópica do crescimento. De todos os tubos sem crescimento foi efetuada a sub-cultura para o meio de cultura de mesma natureza, transferindo-se alíquota com auxílio de alça de platina de 4 mm de diâmetro. A confirmação da ação biocida ou biostática foi feita após igual condição de incubação do teste anterior.

Avaliação da atividade antibacteriana por método de difusão em gel.

Todas as soluções-teste, de 10 a 60 mg/mL, utilizada no teste anterior, foram analisadas frente a S. aureus ATCC 6538 (14). A aplicação da solução ao meio de cultura foi pelo sistema de furo no gel, bem como pelo uso de disco de papel de filtro de 13 mm de diâmetro. O ácido caurenólico foi testado pela segunda técnica, tendo sido aplicada a concentração de 100 e 500 ug/disco, através da solução em n-hexano.

Uma réplica de 3 placas de cada série de análise foi submetida à pré-difusão de 12 horas em refrigerador. A incubação foi em estufa a 35-37°C durante 20 a 24 horas.

3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

O extrato mole foi ativo contra S. aureus ATCC 6538, sendo a concentração biostática mínima igual a 10 mg/mL. Entretanto, pela técnica de difusão em gel, a concentração de 60 mg/mL não apresentou halo de inibição de crescimento, mesmo após prolongado período de pré-difusão. Da mesma forma, o ácido caurenólico não apresentou atividade antibacteriana.

A presença de derivados diterpênicos em diversas espécies do gênero Mikania, também confirmada na espécie em estudo, motivou a avaliação da atividade antimicrobiana no extrato mole. Ao lado deste fato, a publicação de dados conflitantes entre alguns estudos no tocante à atividade biológica do ácido caurenólico, corroborou para a necessidade de comprovação dos resultados.

Pelos dados encontrados no teste de diluição seriada, o extrato apresenta composição cuja atividade inibitória de crescimento é baixa, uma vez que se mostrou bacteriostático na concentração de 10 mg/mL, apenas frente a S. aureus. Pela prova de difusão em gel, nem mesmo a concentração de 60 mg/mL, ainda com tempo de pré-difusão bastante longo, foi capaz de acusar inibição de crescimento. Evidentemente que resultados idênticos não podem ser obtidos pelos ensaios em que os princípios envolvidos

são completamente diferentes. A baixa sensibilidade do teste com difusão em gel pode, muitas vezes, ser devida à característica físico-química da substância, com coeficiente de difusão muito pequeno. Ficou comprovado, no entanto, que o ácido caurenólico não apresenta poder inibitório de crescimento^{5,7}, como havia sido constatado por Mathur e colaboradores⁹. O extrato deve conter outro(s) inibitório(s) de crescimento do Gram-positivo empregado no ensaio.

SUMMARY

Semi-liquid extracts obtained from leaves and stems of Mikania smilacina DC has been tested for their antimicrobial activity utilizing the serial dilution technique against S. aureus ATCC 6538, E. coli ATCC 10536, C. albicans ATCC 20321 e A. niger ATCC 16404. The results revealed that the extract showed activity against S. aureus and the minimal inhibitory concentration (MIC) being 10 mg/mL. Utilizing the gel diffusion technique the extract even on 60 mg/mL concentration showed no growth inhibitory activity against S. aureus.

On the same way kaurenolic acid obtained from the extract of the plant showed no biological activity in vitro, so that the effect assayed by that technique must be due to another compound present on the extract.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - BOHLMANN, F. et al. Diterpenes from Mikania species. Phytochemistry, 20(8): 1899, 1981.
- 2 - CATTORINI, D.P.E. Guacos. Fitoterapia, 32:7-13, Milano, 1961.
- 3 - CATTORINI, D.P.E. Guacos. Fitoterapia, 33:10-24, Milano, 1962.
- 4 - CRUZ, F. G. & ROQUE, N.F. Outros diterpenos de Mikania triangularis. Cien. Cult. (São Paulo), 40(suppl):564, 1988.
- 5 - DAVINO, S.C. Estudo IN VITRO da atividade antifúngica e antibacteriana de extratos de plantas brasileiras da Família Compositae (Asteraceae) e de alguns de seus constituintes. São Paulo, 1989. Dissertação de Mestrado, Instituto de Ciências Biomédicas da USP.
- 6 - FARMACOPEIA DOS ESTADOS UNIDOS DO BRASIL. 2ª ed., 1959. p.446-53.

- 7 - GIESBRECHT, A.M.; DAVINO, S.C.; BARBOSA, R.C.C.; PAULA, C.R.
In vitro study of the antibiotic activity of diterpenes.
Braz.J.Med.Biol.Res., São Paulo, 20:807-10, 1987.
- 8 - LWANDE, W.; MACFOY, C.; OKEY, M.; DELLE MONACHE, F.; MARINI
BETTOLLO, G.B. Kaurenoic acids from Aspilia piuriseti. Fi-
toterapia 55(2):126-8, Milano, 1985.
- 9 - MATHUR, S.B.; TELLO, G.P.; FERMIN, C.M.; ARELLANO, V.M.. Ter-
penoids of Mikania monagasensis and their biological acti-
vities. Rev.Latinoamer.Quim., México, 6:201-5, 1975.
- 10 - MURADIAN, J.; MOTIDOME, M.; FERREIRA, P.C.. Flavonoids and
(-) Kauren-19-oic acid from Mikania hirsutissima DC. Rev.
Latinoamer.Quim. México, 8:88-9, 1977.
- 11 - OLIVEIRA, F.; HARDEN, A.A.; AKISUE, M.K.. Isolamento e iden-
tificação de componentes químicos de Mikania glomerata.
Sprengel e Mikania laevigata Schultz Bip ex Baker. Rev.
Farm. Bioquím.Univ.S.Paulo, 20:169-83, 1984.
- 12 - OLIVEIRA, F.; OGA, S.; AKISUE, M.K.. Parâmetros físicos e
químicos e efeito anti-edema dos extratos fluidos de guaco
(Mikania glomerata Sprengel) e de guaco do mato (Mikania
laevigata Schultz Bip. ex Baker). An.Farm.Quím., São Pau-
lo, 25:50-4, 1985.
- 13 - OLIVEIRA, F. & FERRO, V.O.. Caracterização farmacognóstica da
droga e do extrato fluido do guaco-das-sete-sangrias, MI-
kania smilacina DC. Rev.Farm.Bioquím.Univ.S.Paulo, 21: 1-
13, 1985.
14. PHARMACOPEIA OF THE UNITED STATES OF AMERICA. 21 Th. ed.(Rev.)
p. 1151-64, Easton.