

obtido foi evaporado sob vácuo e liofilizado.

**Teste de susceptibilidade antimicrobiana:** As concentrações inibitória mínima (CIMs) dos extratos foram determinadas pela técnica da microdiluição em caldo Müeller-Hinton para bactérias (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442, *Bacillus subtilis* ATCC 6623, e *Staphylococcus aureus* ATCC 25923) e em RPMI-1640 para fungos (*Candida albicans*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis*)<sup>3,4</sup>. A CIM foi definida como a menor concentração do composto, que produziu uma redução de 80% do crescimento visível quando comparado com o controle.

**Bioautografia:** Os extratos de plantas foram aplicados em placas (Kieselgel GF<sub>254</sub>, 20x20 cm; 0,2 mm espessura), corridas em duplicata utilizando CHCl<sub>3</sub>/MeOH/H<sub>2</sub>O (65:35:5) como solvente. No cromatograma de referência, bandas foram visualizadas com luz UV (254 e 366 nm), e com reagente revelador vanilina/ácido sulfúrico. Para a bioautografia, o outro cromatograma foi colocado em uma placa e coberta com ágar Müeller Hinton contendo um inóculo de *S. aureus* de 106 UFC/ml. O bioautograma foi revelado com uma solução aquosa de 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (TTC). Zonas de inibição indicaram a presença de composto ativo.

#### Agradecimentos

Marinete Martinez Vicentim, pelo auxílio técnico nos experimentos.

#### Referências

- <sup>1</sup> Nakamura, C.V.; Ueda-Nakamura, T.; Bando, E.; Melo, A.F.N.; Cortez, D.A.G.; Dias Filho, B.P. Antibacterial activity of *Ocimum gratissimum* L. essential oil. Mem Inst Oswaldo Cruz, v. 94, p. 675-678, 1999.
- <sup>2</sup> Alves, T.M.A.; Silva, A.F.; Brandão, M.; Grandi, T.S.M.; Smânia, E.F.; Smânia, Jr.A.; Zani, C.L. Biological screening of Brazilian medicinal plants. Mem Inst Oswaldo Cruz, v. 95, p. 367-373, 2000.
- <sup>3</sup> NCCLS - National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for Determining Bactericidal Activity of Antimicrobial Agents, Wayne, Pa., 1999.
- <sup>4</sup> NCCLS - National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically, Wayne, Pa., 2000.
- <sup>5</sup> Duffy CF, Power RF. Antioxidant and antimicrobial properties of some Chinese plants extracts. Int J of Antimicro Agents, v. 17, p. 527-529, 2001.

#### \*Autor para correspondência:

Prof. Dr. Celso Vataru Nakamura  
Departamento de Análises Clínicas  
Universidade Estadual de Maringá  
Av. Colombo, 5790 - CEP 87020-900 - Maringá (PR)  
Tel.: (44) 261-4429  
Fax: (44) 261-4490  
E-mail: cvnakamura@uem.br

## Avaliação da atividade IMAO e antibacteriana de extratos de *Mikania glomerata* Sprengel

Do Amaral, R.R.; Arcenio Neto, F.; Carvalho, E.S.; Teixeira, L.A.; De Araújo, G.L.; Sharapin, N.; Testa, B.; Gnerre, C.; Rocha, L.\*

Laboratório de Tecnologia de Produtos Naturais - Faculdade de Farmácia  
Universidade Federal Fluminense

#### Resumo

Neste trabalho avaliou-se a atividade antibacteriana e IMAO de extratos de diferentes polaridades de *Mikania glomerata*. A atividade antibacteriana foi medida frente à cepa multiresistente de *Staphylococcus aureus* PI57, através das técnicas de bioautografia e antibiograma. A atividade IMAO foi medida utilizando uma suspensão de mitocôndrias. *Mikania glomerata* mostrou conter no extrato hexânico substâncias antimicrobianas. Os extratos hexânico e CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> foram ativos frente à MAO-B, sem apresentarem atividade de inibição da MAO-A, enquanto o extrato metanólico apresentou atividade de inibição da MAO-A e MAO-B, sem seletividade.

#### Abstract

Antibacterial and IMAO inhibition activities of different polarities extracts of *Mikania glomerata* were evaluated. The antibacterial activity was assayed against a multiresistant strain of *Staphylococcus aureus* PI57. The IMAO activity was measured with a suspension of mitochondrion. In the hexanic extract of *Mikania glomerata* substances with antibacterial activity were detected. Hexanic and CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> extracts showed MAO-B inhibition activity while MAO-A inhibition activity was not detected. The methanolic extract showed non-selective inhibition activity of MAO-A and MAO-B.

A espécie *Mikania glomerata* Sprengel, pertencente à família Asteraceae, é conhecida popularmente como guaco. O guaco é empregado na medicina popular, que lhe atribui inúmeras atividades, como anti-inflamatório e anti-alérgico<sup>1</sup>. Suas tinturas são indicadas em doenças do trato respiratório como asma e bronquite, também como adjuvante no combate à tosse, devido as suas propriedades broncodilatadoras<sup>1</sup>. Estudos anteriores foram feitos sobre os efeitos farmacológicos do extrato hidroalcolólico de folhas de *Mikania glomerata*, onde se observou atividade anti-inflamatória em testes feitos *in vitro* e efeito inibitório da musculatura intestinal e uterina *in vivo*. É atribuída a cumarina, um dos seus principais constituintes químicos, a atividade broncodilatadora, através do relaxamento da musculatura lisa, sendo responsável por 50 - 60 % da atividade

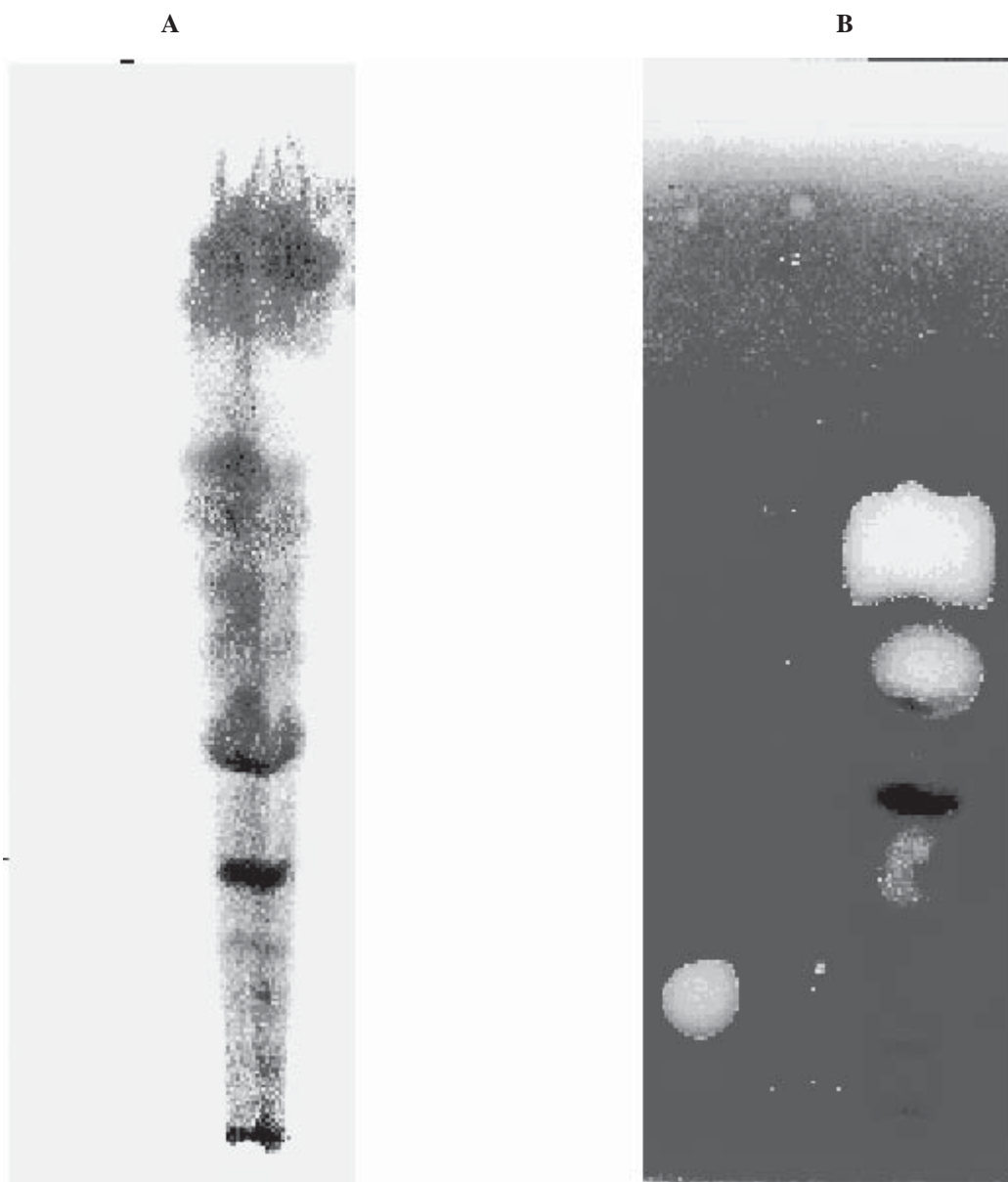
em relação à atividade total do extrato bruto<sup>2</sup>. Entre outros componentes, foram isolados desta espécie diversos derivados do ácido caurenóico, o ácido o-hidroxicinâmico, além das substâncias estigmasterol, friedelina,  $\beta$ -sitosterol, lupeol e a cumarina, seu marcador químico<sup>3</sup>. A sua grande utilização levou à sua inclusão na primeira edição da farmacopéia brasileira em 1929<sup>4</sup>. No presente trabalho, buscou-se avaliar atividades IMAO e antibacteriana de extratos de diferentes polaridades obtidos de *Mikania glomerata*.

A avaliação da atividade antibacteriana do extrato hexânico por antibiograma mostrou um halo de inibição de 12 mm, o que nos mostra que o extrato hexânico bruto se mostrou ativo frente à bactéria *Staphylococcus aureus* PI57. Os demais extratos não apresentaram halos de inibição (tabela 1).

**Tabela 1.** Atividade antibacteriana de extratos de *Mikania glomerata* Sprengel, frente à cepa *Staphylococcus aureus* PI 57.

Extrato	Concentração ( $\mu$ l)	Halo de inibição (mm)
Hexano	100	12
Diclorometano	100	-
Metanol	100	-

O extrato ativo foi reanalisado por bioautografia com o objetivo de detectarmos as zonas de inibição no cromatograma. O bioautograma revelou a presença de substâncias ativas frente à cepa bacteriana entre  $R_f$  0,43 e  $R_f$  0,56 (figura 1).



**Figura 1** Bioautografia do extrato hexânico de *Mikania glomerata* frente à *Staphylococcus aureus* PI 57. Placa cromatográfica Sílica G-200 UV<sub>254</sub>; eluente hexano:acetato de etila (8:2). A=Revelação com vanilina sulfúrica; B=Revelação com sal de tetrazóleo; 1=Vancomicina, 2=*Mikania glomerata*.

A atividade de inibição das enzimas MAO-A e MAO-B pelos extratos de *Mikania glomerata* mostrou os resultados apresentados na tabela 2. O extrato hexânico não apresentou atividade frente a MAO-A e apresentou 10% de atividade frente a MAO-B. O extrato de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> foi inativo frente a MAO-A e apresentou 27% de atividade frente a MAO-B. O extrato metanólico foi o que obteve maior atividade, apresentando 42 % de inibição frente a MAO-A e 53% frente a MAO-B.

**Tabela 2.** Atividade IMAO de extratos de *Mikania glomerata* Sprengel.

Extrato	Concentração (mg/ml)	% inibição da MAO-A	% inibição da MAO-B
Hexano	1,0x10 <sup>2</sup>	0	10 ± 1,0
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	1,5x10 <sup>2</sup>	0	27 ± 2,7
MeOH	1,0x10 <sup>1</sup>	42 ± 1,5	53 ± 1,5

Pode-se concluir que a *Mikania glomerata* apresentou substâncias ativas frente ao crescimento da cepa multiresistente de *Staphylococcus aureus* PI57, verificado pelo antibiograma e bioautograma. Observou-se também que a espécie apresenta atividade IMAO. Os extratos hexânico e CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> foram ativos frente a MAO-B, sem apresentarem atividade de inibição da MAO-A, enquanto o extrato metanólico apresentou atividade de inibição da MAO-A e MAO-B, sem seletividade.

### Materiais e Métodos

A espécie botânica *Mikania glomerata* foi colhida em São José do Vale do Rio Preto, RJ e fornecida na forma fresca pela botânica Doutora Yara Brito. As folhas foram trituradas e extraídas com solventes de polaridade crescente, hexano, diclorometano e metanol.

No estudo da atividade antimicrobiana, foi utilizada uma cepa multirresistente de *Staphylococcus aureus* (PI57). Esta bactéria pertence ao clone epidêmico brasileiro (CEB), sendo resistente a todos os antibióticos utilizados na prática médica com exceção da vancomicina<sup>11</sup>. Para todos os testes de atividade antibacteriana utilizamos o meio de cultura Muller-Hinton ágar (Oxoid). A suspensão bacteriana foi obtida a partir de uma cultura em caldo (18 h/ 37 °C), diluída em solução salina até uma turvação correspondente a escala 0,5 de Mac Farland, o que levou a uma concentração final de bactérias de 10<sup>8</sup> UFC/ml. O "screening" preliminar para a verificação da susceptibilidade bacteriana aos extratos foi realizado utilizando-se discos impregnados com 100 µl dos extratos brutos de hexano, diclorometano e metanol, inoculados em placas de Petri contendo meio de cultura já semeado com a bactéria, de maneira confluyente. Um disco contendo 5 µg de vancomicina (Cecon) foi adicionado a placa como padrão<sup>5</sup>.

Na preparação do bioautograma, 100 µg de extrato hexânico foram diluídos em 0,5 ml de uma mistura hexano:acetato de etila (8:2), sendo que 0,02 ml deste extrato foi aplicado em uma placa de vidro de cromatografia de camada fina e eluído

com hexano:acetato de etila (8:2). Paralelamente, foi preparada uma segunda placa cromatográfica nas mesmas condições descritas acima, para posterior revelação com reagente colorimétrico (sulfato cérico). Aproximadamente 40 ml do meio de cultura adicionado da suspensão bacteriana (10<sup>8</sup> células/ml), foram vertidos sobre uma das placas cromatográficas, que após enrijecido, foi colocado em estufa à 37 °C por 24 h. Depois desse período, a solução do revelador biológico, cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio (TTC:2,5 mg/ml), foi borrifada sobre o bioautograma, que foi novamente incubado por mais 4 h nas mesmas condições<sup>5</sup>.

A atividade IMAO<sup>6,7</sup> foi medida utilizando uma suspensão de mitocôndrias, que foram isoladas de cérebros de ratos em pH 7,4<sup>8</sup> na concentração de 0,1 mg/ml. A suspensão foi pré-incubada a 37 °C por 5 min com clorgilina (250 nM) e (-) -deprenila (250 nM), para testar a atividade frente a MAO-B e MAO-A respectivamente<sup>9</sup>. Foram dissolvidos em DMSO os extratos feitos com hexano, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e MeOH na concentração de 5% (v/v), o substrato utilizado foi Kinuramina, que não é seletivo e foi adicionado na concentração (90 µM para MAO-A e 60 µM para MAO-B). A Kinuramina desamina a MAO transformando-a em 4-hidroxiquinolina. A formação deste produto é monitorada espectrofotometricamente em comprimento de onda 314 nm, e desta forma foi medida a inibição seletiva frente a MAO-A e a MAO-B<sup>10</sup>.

### Referências

- 1 Teske, M.; Trentini, A.M. Compêndio de Fitoterapia, 3. ed., Curitiba, Herbarium, p. 160-161, 1995.
- 2 Leite, M.G.R.; da Silva, M.A.M.; Lino, C.S.; Viana, G.S.B., Matos; F.J.A. Atividade broncodilatadora em *Mikania glomerata*, *Justicia pectoris* e *Torresca cearensis*. XII, Simpósio de Plantas Mediciniais do Brasil, Anais, Curitiba, 1992.
- 3 Veneziane, R.C.S. Estudo Fitoquímico de *Mikania glomerata* Sprengel. Ribeirão Preto, Dissertação de mestrado. Universidade de São Paulo, Departamento de Química-FFCLRP, 1997.
- 4 Albino, R. Pharmacopeia dos Estados Unidos do Brasil, 1. ed., Companhia Editora Nacional, 1929.
- 5 De Araújo, G.L.; Posse, J.C.; Da Silva, F.G.; Kelecon, A.; Teixeira, L.A.; Sharapin, N.; Rocha, L. Planejamento racional para a investigação da atividade antimicrobiana em plantas superiores- Bioautografia. 22<sup>a</sup> Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Anais, Poços de Caldas, 1999.
- 6 Rocha, L.M. Investigation Phytochimique de *Hypericum brasiliense*. Lausanne, Dissertação de Doutorado, L'Université de Lausanne, Faculté de Sciences. [Oliveira, D.C.R. Constituents of *Mikania glomerata* Sprengel, Biochemical Systematics and Ecology, v. 27, n. 1999, p. 99-102, 1995].
- 7 Clark, J.B.; Nicklas, W.J. The Metabolism of rat brain mitochondria. J. Biol.Chem., 1970; 245: 4724-4731, 1970.
- 8 Walther B.; Ghersi-Egea, J.F.; Minn A.; Siest G. Brain mitochondrial cytochrome P-450 scc: spectral and catalytical properties. Arc.Biochem.biophys, v. 254, p. 592-596, 1987.
- 9 Thull U.; Kneubuhler S.; Testa, B.; Borges, M.F.M; Pinto,

M.M.M. Substituted xanthenes as selective and reversible monoamine oxidase A (MAO-A) inhibitors. Pharm.Res, v. 10, p. 1187 - 1190, 1993.

<sup>10</sup> Lowry, O.H.; Rosebrough, N.J.; Farr, L.A.; Randall, R.J. Protein measurement with the folin phenol reagent. J.Biol.Chem., v. 193, p. 265-275, 1951.

<sup>11</sup> Soares, M.J.S.; Teixeira, L.A.; Nunes, M.R.C.M.; Carvalho, M.C.S.; Carvalho, B.T.F.; Figueiredo, A.M.S. Analysis of different molecular methods for typing methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates delonging to the Brazilian epidemic clone, J. Med. Microbiol., v. 50, p. 732-742, 2001.

**\*Autor para correspondência:**

Prof. Dr Leandro Machado Rocha  
Laboratório de Tecnologia de Produtos Naturais  
Faculdade de Farmácia  
Universidade Federal Fluminense  
Rua Mário Viana, 523 - Santa Rosa  
CEP 24.241-002 - Niterói (RJ)  
E-mail: farm@cruiser.com.br  
Telefax: (21)2610-7969

## Avaliação da qualidade de drogas vegetais comercializadas em São Luís/Maranhão

Amaral, F.M.M.<sup>1\*</sup>; Coutinho, D.F.<sup>1</sup>; Ribeiro, M.N.S.<sup>1</sup>; Oliveira, M.A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Farmacognosia, Departamento de Farmácia, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Maranhão

<sup>2</sup> Graduanda em Farmácia, Centro Universitário do Maranhão

### Resumo

Análise da qualidade de plantas comercializadas para fins terapêuticos em mercados públicos de São Luís/MA. Realizou-se pesquisa de elementos estranhos, avaliação das características macroscópicas, determinação do teor de umidade e pesquisa de contaminantes microbiológicos, comprovando-se a má qualidade do material vegetal disponibilizado à população maranhense, expondo ao risco real de aquisição e utilização de produto impróprio para consumo.

### Abstract

Qualitative analysis of plants commercialized for medical purposes in public markets in São Luís/MA. It's made a research on strange materials, evaluation of macroscopic characteristics, determination of humidity level and research on microbiological contamination, this way proving the bad quality of vegetable material available for the population in Maranhão state.

No Estado do Maranhão (Brasil), o emprego de plantas como recurso terapêutico é uma prática que vem passando de geração a geração, sendo constatado que a maioria da população maranhense, ao adquirir tais produtos, recorre ao comércio varejista realizado em mercados e feiras livres, onde são precárias as condições higiênico-sanitárias<sup>1</sup>. Considerando que a eficácia e segurança terapêutica de espécies vegetais dependem da qualidade, sofrendo influência de diversos fatores extrínsecos e intrínsecos, exigindo a obediência às condições ideais de cultura, colheita, secagem, estabilização, manufatura, conservação e armazenamento, esse estudo foi desenvolvido com objetivo de avaliar a qualidade de espécies vegetais comercializadas para fins terapêuticos em mercados de São Luís. No período de fevereiro a maio de 2001, foram adquiridas, por compra, em bancas de venda em mercados públicos de São Luís, amostras de 12 (doze) drogas vegetais comercializadas para uso medicinal, as quais foram submetidas às análises macroscópica, de pureza e microbiológica.

A análise das características macroscópicas permitiu constatar que 68% das amostras comerciais em estudo apresentavam intensa variação de cor e 73% variação de peso e tamanho. Amostras de pau-d'arco-roxo da tomada de ensaio proveniente da banca de venda do Mercado da Liberdade apresentaram variação de até 6 a 22 cm de comprimento por 3 a