

Atividade antibacteriana e fracionamento direcionado do extrato orgânico obtido de *Tovomita* sp.

Nepomuceno, D.C.^{1*}, Younes, R.N.¹, Varella, A.D.¹, Suffredini, I.B.¹

¹Universidade Paulista - UNIP

Resumo

O extrato orgânico obtido do caule de *Tovomita* sp. apresentou atividade antibacteriana significativa contra *Staphylococcus aureus* (CIM = 460 µg/mL e CBM = 490 µg/mL), *Enterococcus faecalis* (CIM = 500 µg/mL e CBM = 540 µg/mL) e *Pseudomonas aeruginosa* (CIM = 300 µg/mL e CBM = 400 µg/mL). As frações obtidas do extrato orgânico apresentaram atividade antimicrobiana contra *E. faecalis* (CIM F1 = 570 µg/mL e CBM F1 = 840 µg/mL; CIM F2 = 480 µg/mL e CBM F2 = 720 µg/mL, respectivamente) e contra *P. aeruginosa* (CIM F1 = 310 µg/mL e CBM F1 = 570 µg/mL; CIM F2 = 310 µg/mL e CBM F2 = 460 µg/mL, respectivamente).

Abstract

The organic extract obtained of the stem of *Tovomita* sp. did it present significant antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* (CIM = 460 µg/mL and CBM = 490 µg/mL), *Enterococcus faecalis* (CIM = 500 µg/mL and CBM = 540 µg/mL) and *Pseudomonas aeruginosa* (CIM = 300 µg/mL and CBM = 400 µg/mL). The obtained fractions of the organic extract present antibacterial activity against *E. faecalis* (CIM F1 = 570 µg/mL and CBM F1 = 840 µg/mL; CIM F2 = 480 µg/mL and CBM F2 = 720 µg/mL, respectively) and against *P. aeruginosa* (CIM F1 = 310 µg/mL and CBM F1 = 570 µg/mL; CIM F2 = 310 µg/mL and CBM F2 = 460 µg/mL, respectively).

O conhecimento sobre determinadas espécies vegetais com propriedades antimicrobianas tem sido revisto e ampliado, devido aos crescentes problemas associados ao uso de diversos antibióticos, como o limitado espectro de ação e os efeitos colaterais. Quanto ao potencial antibiótico, destacam-se os resultados obtidos com óleos essenciais, alcalóides, cumarinas, triterpenos, citral, mirceno, timol, xantanol, ácido caurêmico, entre outros que, em baixas concentrações, exercem inibição sobre o crescimento de bactérias gram-

positivas, gram-negativas, *Mycobacterium*, leveduras e fungos filamentosos¹.

Em triagem realizada com mais de 700 extratos vegetais, foi identificado o extrato orgânico (EO) de *Tovomita* sp., que apresentou atividade antibacteriana contra *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) e contra *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853).

O gênero *Tovomita* tem 60 espécies conhecidas na América do Sul² e é conhecido por conter xantonas, benzofenonas, triterpenos e esteróides. Chás preparados a partir das flores de outras espécies de *Tovomita* como a *T. brasiliensis* e a *T. laurina* apresentaram uma ação benéfica no controle da diarreia³.

Devido aos resultados obtidos na avaliação da atividade antibacteriana, EO de *Tovomita* sp. foi selecionado para um estudo que possibilitará obter conhecimentos em relação à sua composição química e seu potencial antibacteriano.

Na avaliação da atividade antibacteriana de EO os resultados obtidos de CIM e CBM para *E. faecalis* foram de 500 e 540 mg/m, respectivamente. Contra *S. aureus* foram observadas doses de 460 mg/m para CIM e 490 mg/m para CBM e contra *P. aeruginosa*, doses de 300 mg/m para CIM e 400 mg/mL para CBM. EO apresentou, portanto, atividade mais efetiva contra *P. aeruginosa*.

As frações F1 e F2 foram submetidas ao ensaio antibacteriano. A fração F1 apresentou CIM de 570 mg/mL e CBM de 840 mg/mL contra *E. faecalis* e contra *P. aeruginosa* as doses de CIM e CBM foram de 310 e 570 mg/mL, respectivamente. Para a fração F2, as doses de CIM e CBM contra *E. faecalis* foram de 480 e 720 mg/mL e contra *P. aeruginosa* de 310 e de 460 mg/mL, respectivamente. CIM e CBM de F1 e F2 estão sendo determinados, e se encontram na faixa de 550 a 950 e 250 a 500 mg/mL, respectivamente. EO e as frações F1 e F2 têm se mostrado mais eficazes contra a bactéria Gram negativa.

Materiais e métodos

Caule de *Tovomita* sp foi coletado em julho de 1999, na região de Anavilhanas, Manaus, AM (licença IBAMA nº 053/99 e 038/99), a exsicata foi depositada no Herbário UNIP sob número AAO 3409. O extrato orgânico (EO) do caule de *Tovomita* sp. foi obtido pelo método de maceração com solvente orgânico (MeOH:CH₂Cl₂; 1:1) durante 24h, com posterior evaporação do solvente em rotaevaporador⁴. EO foi fracionado com CH₂Cl₂ (F1), MeOH (F2), e MeOH : CH₂Cl₂ 1:1 (F3) subsequentemente. Para a obtenção de cada fração foram utilizados 150 mL de solvente/

mistura divididos em três porções de 50 mL. Cada porção de solvente adicionada ao extrato foi submetida à agitação em agitador magnético por 30 min e depois filtrada através de papel de filtro. O solvente foi evaporado e as frações liofilizadas.

EO, F1 e F2 foram avaliados em relação à atividade antibacteriana através do método de microdiluição em caldo⁵, que consiste em suspender em meio Müeller Hinton caldo cepas de *S. aureus*, *E. faecalis*, e *P. aeruginosa* na concentração de $1,5 \times 10^8$ UFC/mL e diluídos a 3×10^2 UFC/mL. Desta concentração, 190 ml foram colocados em poços de uma microplaca de 96 poços, e 10 ml do extrato/fração (2 mg/mL, diluição final de 100 µg/mL) foram acrescentados aos poços testes correspondentes. Poços relativos a controle de crescimento bacteriano e controle de contaminação foram estabelecidos. As microplacas foram levadas à estufa a 35°C, por 18 a 20 h e avaliou-se o grau de inibição do extrato visualmente: (-) = inibição de crescimento; (+) = leve turvação do meio e (++) = turvação do meio e formação de colônias. A concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração bactericida mínima (CBM) foram obtidas utilizando a mesma técnica, após a realização de subculturas em meio Müeller-Hinton ágar.

A fração F1 foi submetida a uma cromatografia em coluna com Sephadex LH-20 usando como fase móvel uma mistura de N-C₆H₁₄: CH₂Cl₂ (1:4), CH₂Cl₂: acetona (3:2), CH₂Cl₂: acetona (1:4), CH₂Cl₂: MeOH (1:1) e por último MeOH, respectivamente. Foram obtidas 74 frações, reunidas em seis novas frações que foram analisadas quanto à semelhança do seu perfil cromatográfico (placas de sílica GF₂₅₄ como fase estacionária, CH₂Cl₃, MeOH e NH₄OH (80:19:1) como fase móvel e vanilina/H₂SO₄ e Dragendorff como reagentes).

Agradecimentos

Os autores agradecem à FAPESP (99/05904-6), aos técnicos Luiz Fernandes Coelho, Sergio Alexandre Frana, ao professor Wilson Malavasi e ao botânico Alexandre A. de Oliveira pela identificação da espécie ao nível de gênero.

Referências

- ¹Lima, E.O. Plantas e suas propriedades antimicrobianas. Uma breve análise histórica. In: Yunes, RA., Calixto, JB. *Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna*. 1ed. Chapecó: Argos; 2001. p.482-501.
- ²Gentry, A.H. *A field guide to the families and genera of woody plants of Northwest South America*. 2.ed.

- Chicago: University of Chicago Press; 1996. p.449.
- ³Seo, E.K., Wall, M.E., Wani, M.C., Navarro, H., Mukherjee, R., Farnsworth, N.R., Kinghorn, AD. Cytotoxic constituents from the roots of *Tovomita brevistaminea*. *Phytochemistry*, v.52, p.669-674, 1999.
- ⁴Younes, R.N., Varella, D.; Suffredini, I.B. Extração e rastreamento de novas drogas em plantas brasileiras. *Acta Oncológica Brasileira*, v.20, p.15-19, 2000
- ⁵Fakeye, T.O., Itiola, O.A., Odelola, H.A. Evaluation of the antimicrobial property of the stem bark of *Picralima nitida* (Apocynaceae). *Phytother. Res.*, v.14, p.368-70, 2000.

* Autor para correspondência

Daniela C. Nepomuceno
Universidade Paulista - UNIP
Av. Paulista 900, 1º andar, São Paulo, SP
fone: (11) 3170-3776 - fax: (11) 3170-3978
Email: danielacn@yahoo.com.br