

## Atividade antibacteriana em alguns extratos de vegetais do semi-árido brasileiro

Novais, T.S.<sup>1,5</sup>, Costa, J.F.O.<sup>1,5</sup>, David, J.P.L.<sup>2,5</sup>, David, J.M.<sup>3,5</sup>, Queiroz, L.P.<sup>4,5</sup>, França, F.<sup>4,5</sup>, Giuliatti, A.M.<sup>4,5</sup>, Soares, M.B.P.<sup>1,5</sup>, Santos, R.R.<sup>1,5\*</sup>

<sup>1</sup>Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz / Fundação Oswaldo Cruz / Salvador, BA, Brasil;

<sup>2</sup>Faculdade de Farmácia;

<sup>3</sup>Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia, Salvador/Bahia/Brasil;

<sup>4</sup>Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, BA, Brasil;

<sup>5</sup>Instituto do Milênio do Semi-Árido.

### Resumo

Espécies nativas ou endêmicas do semi-árido brasileiro foram investigadas com o intuito de se descobrir novas drogas antimicrobianas. Os ensaios foram realizados contra cepas padrões de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* através do método de difusão em disco. Dos 137 extratos de vegetais avaliados, sete apresentaram atividade significativa contra o *Staphylococcus aureus*. Os extratos ativos foram preparados a partir de espécies pertencentes às famílias Leguminosae e Rutaceae e serão futuramente fracionados com o intuito de se chegar às moléculas ativas.

### Abstract

Species native or endemic of the Brazilian semi-arid were investigated with the intention of discovering new antibacterial drugs. The rehearsals were accomplished against standard strains of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* through the diffusion method in disk. Of the 137 extracts of appraised vegetables, seven presented significant activity against the *Staphylococcus aureus*. The active extracts were prepared starting from species belonging to the Leguminosae and Rutaceae families and they will be fractional hereafter with the intention of arriving to the active molecules.

A origem do conhecimento do homem sobre as propriedades medicinais das plantas confunde-se com sua própria história. Há milênios os vegetais têm sido utilizados pelos seres humanos no tratamento de doenças. Porém, apenas recentemente as plantas tornaram-se objeto de estudo científico no que concerne às suas variadas propriedades medicinais, inclusive quanto à atividade antibacteriana.

Nos últimos anos, a resistência de microorganismos patogênicos a múltiplas drogas tem aumentado devido ao uso indiscriminado de antimicrobianos, comumente comercializados e usados no tratamento de doenças infecciosas. Essa situação tem forçado os cientistas à busca de novas drogas. Os vegetais são uma excelente fonte de busca de novas drogas antimicrobianas, tendo em vista que a diversidade molecular dos produtos naturais é muito superior àquela derivada dos processos de síntese química.

No semi-árido brasileiro, região que ocupa 11,5% do território nacional, estima-se haver oito mil espécies vegetais sendo que destas, 318 espécies de 42 famílias botânicas são endêmicas da caatinga<sup>1</sup>. Diante dessa vasta biodiversidade e da necessidade da descoberta de novas moléculas bioativas, é de fundamental importância o estudo farmacológico da flora dessa região, ainda pouco estudada sob esse aspecto.

Para a realização do presente estudo, espécies vegetais endêmicas ou nativas desse bioma foram randomicamente coletadas, identificadas e utilizadas para o preparo de extratos a serem testados quanto à atividade antimicrobiana.

Dentre os 137 extratos de vegetais avaliados, sete demonstraram atividade antibacteriana significativa contra *Staphylococcus aureus*. Nenhum dos extratos testados foi ativo contra *Escherichia coli* (Tabela 1).

**Tabela 1.** Resultados da atividade antibacteriana dos extratos testados.

Espécie	Família	Parte do Vegetal	Extrato	Halo produzido contra <i>S. aureus</i> (mm)	Halo produzido contra <i>E. coli</i> (mm)
<i>Esenbeckia grandiflora</i> Mart.	Rutaceae	folhas	Acetato de Etila	08	0
<i>Esenbeckia grandiflora</i> Mart.	Rutaceae	folhas	Clorofórmico	10	0
<i>Galipea simplicifolia</i> (Nees & Mart.) Engl.	Rutaceae	folhas	Clorofórmico	16	0
<i>Hymenaea stigonocarpa</i> Mart. ex Hayne	Leguminosae Caesalpinioideae	folhas	Clorofórmico	08	0
<i>Caesalpinia pyramidalis</i> Tul.	Leguminosae Caesalpinioideae	folhas	Acetato de Etila	10	0
<i>Caesalpinia pyramidalis</i> Tul.	Leguminosae Caesalpinioideae	caule	Acetato de Etila	10	0
<i>Acacia riparia</i> Kunth	Leguminosae Mimosoideae	folhas	Acetato de Etila	11	0

Obs.: Os halos produzidos pela droga controle (gentamicina) tiveram diâmetro de 32 mm para *S. aureus* e de 22 mm para *E. coli*.

De acordo com a literatura, a família Rutaceae é reconhecida como biossintetizadora de metabólitos secundários biologicamente ativos, com ênfase para drogas inibidoras do crescimento de parasitas<sup>1,2,3,4</sup> e com atividade anti-*Mycobacterium tuberculosis*<sup>5</sup>. No presente estudo, observou-se atividade antimicrobiana (contra *S. aureus*) dos extratos clorofórmico e acetato de etila das folhas da *Esenbeckia grandiflora*, bem como uma atividade bastante significativa do extrato clorofórmico das folhas da *Galipea aff. simplicifolia*, também contra o *S. aureus*. Dessa forma, os resultados obtidos confirmam uma tendência para a síntese por algumas espécies da família Rutaceae de moléculas antimicrobianas.

A família Leguminosae subfamília Caesalpinioideae possui espécies que também sintetizam moléculas bioativas. Para o gênero *Caesalpinia*, há uma comprovada atividade antibacteriana<sup>7,8</sup> e antifúngica<sup>8</sup> de algumas espécies. Pode-se, com este trabalho, comprovar a tendência para a biossíntese de metabólitos ativos por *Caesalpinia pyramidalis* com os resultados obtidos com o extrato acetato de etila, tanto de folhas quanto do caule da espécie. Em referência ao gênero *Hymenaea*, também pertencente a esta subfamília, apesar de serem escassos os relatos na literatura a respeito da atividade farmacológica de extratos ou substâncias puras sintetizadas por espécies deste gênero, comprova-se com este estudo uma atividade relevante

para o extrato clorofórmico das folhas da *Hymenaea stigonocarpa*.

Quanto ao gênero *Acacia*, da família Leguminosae Mimosoideae, há relatos na literatura de atividade antibacteriana de extratos de espécies deste gênero tanto contra bactérias do trato respiratório quanto do trato gastrointestinal<sup>9,10</sup>. De acordo com os resultados encontrados com o extrato acetato de etila das folhas da espécie *Acacia riparia*, comprova-se a tendência para a presença de drogas antimicrobianas em extratos de espécies do gênero.

Neste estudo foram testados extratos preparados a partir de 44 espécies, das quais 5 apresentaram atividade antibacteriana. Os extratos ativos serão fracionados e purificados com o objetivo de se chegar a substâncias puras com atividade antimicrobiana. Embora a droga controle (gentamicina) tenha apresentado um significativo halo de inibição, os resultados apresentados são também considerados significativos uma vez que a gentamicina trata-se de uma substância pura e que os extratos são compostos por diversas substâncias químicas. Dessa maneira, sugere-se que as moléculas ativas encontram-se em baixa concentração, não apresentando resultados próximos ou superiores aos da droga controle utilizada.

De acordo com os resultados encontrados, pode-se com este trabalho corroborar os relatos da literatura que apontam a tendência para a biossíntese de

metabólitos ativos das espécies das famílias Leguminosae e Rutaceae.

## Materiais e Métodos

Após a coleta, os vegetais foram secos a uma temperatura de 40 °C. Exsiccatas foram confeccionadas e depositadas no Herbário do Departamento de Biologia da Universidade Estadual de Feira de Santana (HUEFS). Os extratos hidroalcoólicos foram preparados a partir da maceração em MeOH:H<sub>2</sub>O (6:4) do material seco. Estes foram particionados entre CHCl<sub>3</sub> e AcOEt, sucessivamente. Os extratos CHCl<sub>3</sub> e AcOEt obtidos foram concentrados, secos e posteriormente submetidos aos ensaios de avaliação da atividade biológica. Para a dissolução dos extratos secos, utilizou-se DMSO (Sigma, St. Louis, MO), ajustando-se a uma concentração final de 10 mg/ml. A esterilização das amostras foi feita em irradiador emissor de radiação gama.

A técnica do antibiograma utilizada está padronizada e estabelecida na IV Edição da Farmacopéia Brasileira<sup>12</sup>. O método utilizado foi o de Kirby-Bauer, conhecido como método de difusão em disco. As bactérias utilizadas foram *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.

As placas de Petri estéreis, contendo meio Ágar Mueller-Hinton são impregnadas com as bactérias em suspensão em salina, com a ajuda de um *swab* (DME), contendo a suspensão bacteriana. Discos de papel (Sensibio Disk) secos e estéreis, com diâmetro de 6,35 mm foram então depositados nas placas e posteriormente impregnados com 13 µl do extrato a ser testado. A quantidade final de extrato aplicada em cada disco foi de 130 µg. Para o controle do experimento utilizou-se o antibiótico Gentamicina (Hipolabor) a uma quantidade final de 10 µg/disco.

As placas foram incubadas em estufa a 37°C durante um período de 16 a 18 horas, antes da leitura dos halos de inibição do crescimento das bactérias. Os resultados foram expressos através das medidas dos halos de inibição (em milímetros) produzidos.

## Bibliografia

<sup>1</sup>Giulietti A.M., Harley R.M., de Queiroz L.P., Barbosa M.R., de Bocage Neta A.L., Figueiredo M.A. Espécies endêmicas da caatinga. In: Sampaio E.V.S.B., Giulietti A.M., Virgínio J., Gamarra-Rojas C.F.L. (eds). *Vegetação e flora da caatinga*. Recife: Associação Plantas do Nordeste / Centro Nordestino de Informação sobre Plantas, 2002. p.103-115.

<sup>2</sup>Carvalho L.H., Brandão M.G., Santos-Filho D., Lopes J.L., Krettli A.U. Antimalarial activity of crude extracts from Brazilian plants studied *in vivo* in *P. berguei*-infected mice and *in vitro* against *P. falciparum* in culture. *Braz J Med Biol Res.*, v.24, n.11, p.1113-1123, 1991.

<sup>3</sup>Carvalho L.H., Krettli A.U. Antimalarial chemotherapy with natural products and chemically defined molecules. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, v.86, n.supl.2, p.181-4, 1991.

<sup>4</sup>Fournet A., Ferreira M.E., Rojas de Arias A., Torres de Ortiz S., Fuentes S., Nakayama H. *In vivo* efficacy of oral and intralesional administration of 2-substituted quinolines in experimental treatment of new world cutaneous leishmaniasis caused by *L. amazonensis*. *Antimicrob Agents Chemother*, v.40, n.11, p. 2447-2451, 1996.

<sup>5</sup>Jacquemond-Collet I., Benoit-Vical F., Valentin A., Stanislas E., Mallie M., Fouraste I. Antiplasmodial and cytotoxic activity of galipine and other tetrahydroquinolines from *Galipea officinalis*. *Planta Med.*, v.68, n.1, p. 68-9, 2002.

<sup>6</sup>Houghton P.J., Woldemariam T.Z., Watanabe Y., Yates M. Activity against *Micobacterium tuberculosis* of alkaloid constituents of Angostura bark, *G. officinalis*. *Planta Med.*, v.65, n.3, p.250-254, 1999.

<sup>7</sup>Saeed M.A., Sabir A.W. Antibacterial activity of *Caesalpinia bonducella* seeds. *Fitoterapia*, v.72, n.7, p.807-809, 2002.

<sup>8</sup>Woldemichael G.M., Singh M.P., Maiese W.M., Timmermann B.N. Constituents of antibacterial extracts of *Caesalpinia paraguayensis* Burk. *Z Naturforsch.*, v.58, n.1-2, p.70-75, 2003.

<sup>9</sup>Simin K., Khaliq-Uz-Zaman S.M., Ahmad V.U. Antimicrobial activity of seeds extracts and bondenolide from *Caesalpinia bonduc* (L.) Roxb. *Phytother Res.*, v.15, n.5, p. 437-440. 2002.

<sup>10</sup>Palombo E.A., Semple S.J. Antibacterial activity of Australian plant extracts against methicilin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and vancomycin-resistant enterococci (VRE). *J Basic Microbiol.*, v.46, n.6, p. 2002: 46 (6): 444-448, 2002.

<sup>11</sup>Clark D.T., Gazi M.I., Cox S.W., Eley B.M., Tinsley G.F. The effects of *Acacia arabica* gum on the *in vitro* growth and protease activities of periodontopathic bacteria. *J Clin Periodontol.*, v.20, n.4, p. 238-243, 1993.

<sup>12</sup>*Farmacopéia Brasileira*. 4.ed. São Paulo: Atheneu, 1988.

**\* Autor para correspondência:**

Ricardo Ribeiro dos Santos  
Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz  
Fundação Oswaldo Cruz.  
Rua Waldemar Falcão, 121 - Brotas  
Salvador - BA - Brasil  
CEP: 40295-001  
Tel: (71) 356-4320 Ramal 260  
Fax: (71) 356-4320 Ramal 292  
E-mail: rrsantos@cpqgm.fiocruz.br

**Atividade antioxidante de substâncias presentes em *Dioclea violacea* e *Erythroxylum nummularia***

Barreiros, A.L.B.S<sup>1</sup>; Barreiros, M.L.<sup>1</sup>; David, J.M.<sup>1</sup>; David, J.P.<sup>2</sup>;  
Queiroz, L.P. de<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Química;

<sup>2</sup>Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, 40170-280, Salvador, BA, Brasil;

<sup>3</sup>Departamento de Ciências Biológicas - Universidade Estadual de Feira de Santana, 44031-460, Feira de Santana, BA, Brasil

**Abstract**

This work describes the evaluation of the antioxidant activity in the system b-carotene / linoleic acid and radical scavenging effects of the substances 2',4'-dihydroxychalcone, 2',3,4,4'-tetrahydroxychalcone (butein), 4-methoxy-2',3,4'-trihydroxychalcone, 7-hydroxyflavanone, 3',4',7-trihydroxyflavanone (butin), 7,4'-dihydroxyflavanone (liquiritigenin), 6-methoxy-7-hydroxydihydroflavonol and lasiodiplodin isolated of the extract CHCl<sub>3</sub> of the stem of *Dioclea violacea* and 3',4',5,7-tetrahydroxyflavanol (quercetin), 4',7-dimethoxy-3',5-dihydroxyflavanol and epicatechin isolated of the *Erythroxylum nummularia* leaves. These compounds were evaluated and compared with the antioxidant standards n-propyl gallate, BHT and  $\alpha$ -tocopherol.

As substâncias antioxidantes estão envolvidas na prevenção do desenvolvimento de várias patologias relacionadas ao *stress oxidativo*, dentre elas o câncer, doenças cardiovasculares, além de seu papel em retardar o envelhecimento das células<sup>1</sup>. Os flavonóides em geral se destacam por sua atividade antioxidante, e é conhecida a relação desta atividade em função da estrutura<sup>2,3</sup>.

O estado da Bahia registra a ocorrência de várias espécies das famílias Leguminosae e Erythroxilaceae, sendo muitas delas endêmicas. Até o presente momento apenas duas espécies do gênero *Dioclea* foram estudadas sob o ponto de vista químico e farmacológico: as raízes de *D. grandiflora*<sup>4</sup>, e o caule de *D.*