



Atividade antimicrobiana dos frutos de *Syagrus oleracea* e *Mauritia vinifera*

C.S. Silveira¹, C.M. Pessanha², M.C.S. Lourenço³, I. Neves Junior³, F.S. Menezes^{2*},
M.A.C. Kaplan¹

¹Núcleo de Pesquisa de Produtos Naturais, Centro de Ciências da Saúde, Bloco H, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Cidade Universitária, 21941-590, Rio de Janeiro, RJ, Brasil,

²Departamento de Produtos Naturais e Alimentos, Centro de Ciências da Saúde, Bloco A, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 21941-590, Rio de Janeiro, RJ, Brasil,

³Setor de Testagem de Drogas do Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas, Fundação Oswaldo Cruz, 21045-900, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

RESUMO: As espécies pertencentes à família Palmae são muito interessantes do ponto de vista químico e farmacológico. Neste trabalho, foram estudados os frutos de duas espécies da família Palmae, *Syagrus oleracea* e *Mauritia vinifera*. Essas palmeiras foram escolhidas por serem espécies brasileiras, abundantes em nosso país, utilizadas popularmente no tratamento de algumas doenças e ainda pouco estudadas. Foram realizados ensaios farmacológicos para avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos dos frutos das duas espécies em estudo. Para o teste de atividade antimicrobiana foram utilizadas cepas de bactérias Gram positivas e Gram negativas. A metodologia empregada foi a de Microdiluição em caldo. Foram testados os extratos etanólicos brutos do epicarpo/mesocarpo de *S. oleracea* e de *M. vinifera*, o extrato hexânico das amêndoas de *S. oleracea*, as partições hexânicas e em acetato de etila do epicarpo/mesocarpo de *S. oleracea*, do epicarpo/mesocarpo e mesocarpo/endocarpo de *M. vinifera*, na concentração de 100 µg/ml. Os extratos lipofílicos de *S. oleracea* apresentaram os melhores resultados para essa espécie. Nos testes realizados com *M. vinifera*, as partições lipofílicas foram as mais inibitórias para a cepa de *S. aureus*.

Unitermos: *Syagrus oleracea*, *Mauritia vinifera*, Palmae, atividade antimicrobiana.

ABSTRACT: “Antimicrobial activity of *Syagrus oleracea* and *Mauritia vinifera* fruits”. Palmae species are very interesting by the chemical and pharmacological points of view. Two species belonging to this family were chosen to initiate the chemical and pharmacological approach of their fruits: *Syagrus oleracea* (Martius) Beccari and *Mauritia vinifera* Martius, known in Brazil as Guariroba and Buriti, respectively. Those palm species can be found in several regions of Brazil, especially at the northeast and southeast of the country. They have been used in folk medicine to treat some diseases, however no toxicological and pharmacological studies have been done so far. For the two studied fruits, the antimicrobial activity tests were carried out by broth microdilution methodology. The objective of this work was to contribute for the pharmacological study of palm species, evaluating the antimicrobial activity of the extracts obtained from the fruits of *S. oleracea* and *M. vinifera*. The assays evaluated ethanol extracts of the epicarp/mesocarp of *S. oleracea* and epicarp/mesocarp of *M. vinifera*; hexane extract of the endosperm of *S. oleracea*; hexane and ethyl acetate fractions of the epicarp/mesocarp of *S. oleracea*, epicarp/mesocarp of *M. vinifera* and mesocarp/endocarp of *M. vinifera*. The lipophilic extracts of *S. oleracea* obtained the best results for the species. For *M. vinifera*, the lipophilic partitions have shown a high inhibitory percentage for *S. aureus*.

Keywords: *Syagrus oleracea*, *Mauritia vinifera*, Palmae, antimicrobial activity.

INTRODUÇÃO

As espécies pertencentes à família Palmae, comumente chamadas de palmeiras, são muito interessantes do ponto de vista químico e farmacológico. As palmeiras estão amplamente distribuídas nas zonas temperadas de todo o mundo, principalmente em regiões onde o índice pluviométrico é alto (Cruz, 1965; Zofemler,

1994). Do ponto de vista químico, as plantas dessa família são geralmente não cianogênicas. Os alcalóides (ocasionalmente pirimidínicos) e proantocianidinas podem estar presentes ou não. Os flavonóides são raros, mas quando presentes são derivados do kaempferol, quercetina, tricina e luteolina. Saponinas e sapogeninas estão ocasionalmente presentes. Éteres metílicos de triterpenos já foram isolados dos frutos de algumas

espécies de palmeiras (Hein de Balsac et al., 1931; Shimokomaki et al., 1975; Harborne et al., 1994; Lubrano et al., 1994; Brotons et al., 1995; Garcia et al., 1995; Lubrano; Robin, 1997; Lewis; Zona, 2000).

Duas espécies pertencentes à família Palmae foram escolhidas para iniciar o estudo químico e farmacológico de seus frutos: *Syagrus oleracea* (Martius) Beccari and *Mauritia vinifera* Martius, conhecidas no Brasil, respectivamente, como Guariroba e Buriti. Essas palmeiras foram escolhidas por serem espécies brasileiras, abundantes em nosso país, utilizadas popularmente no tratamento de algumas doenças por terem ação tônica, carminativa, estomáquica, vermífuga, cicatrizante e por serem ainda pouco estudadas. Podem ser encontradas em diversas regiões do Brasil, especialmente no nordeste e sudeste do país (Lorenzi, 2000; Silva, 2001). O objetivo deste trabalho foi contribuir para o estudo farmacológico de espécies de palmeiras, avaliando a atividade antimicrobiana dos extratos obtidos dos frutos de *S. oleracea* e *M. vinifera*.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta do material e preparação dos extratos

Frutos de *Syagrus oleracea* foram coletados no Município de Barra Mansa, interior do Rio de Janeiro, em maio de 2002 e um exemplar foi depositado no Herbário da Universidade de Barra Mansa identificada pelo número UBM 5963. Já os frutos de *Mauritia vinifera* foram coletados em novembro de 2002, no município de Teresina, Piauí, tendo sido um exemplar depositado no Herbário Graziella Barroso da UFPI, registrada com o número TEPB 18930.

Os frutos de *S. oleracea* foram separados em amêndoas e epicarpo/mesocarpo (460g). Os frutos de *M. vinifera* foram separados em epicarpo/mesocarpo (251g) e mesocarpo/endocarpo (113g) devido à impossibilidade de se separar totalmente o mesocarpo do epicarpo e do endocarpo dos frutos. Todas as partes dos frutos secos foram moídas separadamente e submetidas a processo de extração por maceração estática com etanol. Apenas as amêndoas de *S. oleracea* foram submetidas à extração com hexano. Os extratos obtidos foram evaporados sob pressão reduzida até obtenção dos extratos secos. Os extratos etanólicos secos foram parcionados em solventes de polaridade crescente: hexano, clorofórmio e acetato de etila. As partições foram evaporadas separadamente sob pressão reduzida até obtenção de extratos secos, os quais foram utilizados nos ensaios.

Identificação da composição de ácidos graxos

A identificação da composição de ácidos graxos dos extratos foi realizada por cromatografia com fase gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM). As análises ocorreram em cromatógrafo com fase gasosa

Hewlett Packard 5890 SII acoplada a um espectrômetro de massas modelo 5973 e equipado com um injetor de alimentação automática modelo 5683, ambos da Agilent Technologies. A espectroscopia de massas foi realizada em 70 eV, usando PFK como padrão. Todos os dados empregados obtiveram um índice de confiança $\geq 90\%$ em HP Chemstation Data Acquisition Software. O gás carreador foi hélio ($1,0\text{ml min}^{-1}$), a temperatura do detector foi 280 °C, temperatura do injetor foi 270 °C, split 1:20, volume de injeção de 1,0ml, programa de temperatura foi 70 °C a 290 °C (4 °C /min) e o tempo de corrida foi de 65 min.

Avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos

Para o teste de atividade antimicrobiana foram utilizadas cepas de bactérias Gram positivas (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Enterococcus faecalis* ATCC 29212) e Gram negativas (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 e *Escherichia coli* ATCC 25922). A metodologia empregada foi a de Microdiluição em caldo. Foram testados os extratos etanólicos brutos do epicarpo/mesocarpo dos frutos de *S. oleracea* e de *M. vinifera*, o extrato hexânico das amêndoas de *S. oleracea*, as partições hexânicas e em acetato de etila do epicarpo/mesocarpo dos frutos de *S. oleracea*, do epicarpo/mesocarpo e mesocarpo/endocarpo dos frutos de *M. vinifera*, na concentração de 100 $\mu\text{g/ml}$.

Microdiluição em caldo

Várias colônias de cada cepa foram transferidas para tubos com 5 ml de caldo Mueller-Hinton até atingirem concentrações de aproximadamente 5 a 6 log CFU/ml. Essas pré-culturas foram incubadas por 24 horas a 37 °C, em atmosfera microaerofílica constituída de 5% de O_2 , 10% de CO_2 e 85% de N_2 . Para a preparação do inóculo foram transferidos 150 μl de cada pré-cultura para 10ml de caldo Mueller-Hinton, resultando em uma suspensão com 6 a 7 log CFU/ml. Cada poço das placas "Sensititre microtiter", para teste de suscetibilidade, foi preenchido com 100 μl da suspensão e soluções dos extratos a serem testados, na concentração de 100 $\mu\text{g/ml}$. As placas foram seladas com filme anaeróbico e microaerofílico, e incubadas a 37 °C sob condições microaerofílicas. Os resultados dos testes foram avaliados após 24 horas. Foi utilizado como controle interno 10 $\mu\text{g/ml}$ de gentamicina. O controle de crescimento foi 7H9 e cepa padrão (Luber et al., 2003).

RESULTADOS

Nos testes realizados, os extratos lipofílicos de *S. oleracea* (partição em hexano do epicarpo/mesocarpo dos frutos e extrato hexânico das amêndoas) obtiveram os melhores percentuais de inibição para as cepas Gram negativas de *P. aeruginosa* e *E. coli*. A partição em hexano

Tabela 1. Percentuais de inibição de crescimento microbiano do extrato etanólico do epicarpo/mesocarpo dos frutos de *S. oleracea* (SOEE), de suas partições em hexano (SOPH) e acetato de etila (SOPA) e do extrato hexânico das amêndoas de *S. oleracea* (SOEH).

| Microrganismos | % de inibição | | | | |
|----------------------|---------------|------|------|------|------|
| | Controle | SOEE | SOPA | SOPH | SOEH |
| <i>P. aeruginosa</i> | 0% | 32% | 52% | 65% | 60% |
| <i>S. aureus</i> | 0% | 70% | 47% | 74% | 52% |
| <i>E. faecalis</i> | 0% | 0% | 24% | 0% | 22% |
| <i>E. coli</i> | 0% | 29% | 38% | 59% | 55% |

Tabela 2. Percentuais de inibição do crescimento microbiano do extrato etanólico do epicarpo/mesocarpo dos frutos (EMVEE), de suas partições em hexano (EMVPH) e acetato de etila (EMVPA) e das partições hexânica (MMVPH) e em acetato de etila (MMVPA) do extrato etanólico do mesocarpo/endocarpo dos frutos de *M. vinifera*.

| Microrganismos | % de inibição | | | | | |
|----------------------|---------------|-------|-------|--------|-------|-------|
| | Controle | EMVEE | EMVPA | EMV PH | MMVPA | MMVPH |
| <i>P. aeruginosa</i> | 0% | 66% | 50% | 32% | 70% | 66% |
| <i>S. aureus</i> | 0% | 42% | 53% | 71% | 60% | 75% |
| <i>E. faecalis</i> | 0% | 26% | 23% | 7% | 17% | 8% |
| <i>E. coli</i> | 0% | 63% | 84% | 50% | 23% | 37% |

também obteve o maior percentual de inibição para *S. aureus*. Nenhuma das amostras testadas de *S. oleracea* foi capaz de inibir significativamente a cepa de *E. faecalis* (Tabela 1).

As partições em hexano e em acetato de etila do mesocarpo/endocarpo de *M. vinifera* foram altamente inibitórias para *P. aeruginosa* e *S. aureus*, mas não foram capazes de inibir significativamente a cepa de *E. coli*. O extrato etanólico bruto do epicarpo/mesocarpo de *M. vinifera* inibiu significativamente apenas as cepas Gram negativas, o que pode ser devido principalmente aos constituintes da partição em acetato de etila do epicarpo/mesocarpo. As partições lipofílicas do epicarpo/mesocarpo e do mesocarpo/endocarpo de *M. vinifera* foram as mais inibitórias para a cepa de *S. aureus*. Nenhuma das amostras testadas foi capaz de inibir significativamente a cepa de *E. faecalis* (Tabela 2).

DISCUSSÃO

Observou-se que, para o epicarpo/mesocarpo de *S. oleracea*, de uma maneira geral, a atividade antimicrobiana aumenta com a diminuição da polaridade

dos extratos, ocorrendo uma exceção apenas no teste realizado com *S. aureus*, onde o extrato etanólico obteve percentual de inibição microbiana superior à partição em acetato de etila (Figura 1). Estes resultados sugerem que as substâncias presentes nos extratos hexânicos provavelmente são as principais responsáveis pela atividade antimicrobiana de *S. oleracea*.

Também foi observado um aumento da atividade antimicrobiana com a diminuição da polaridade dos extratos para as amostras do epicarpo/mesocarpo e mesocarpo/endocarpo de *M. vinifera* (assim como ocorreu com os extratos de *S. oleracea*), mas apenas nos testes realizados com *S. aureus* e *E. coli*, embora esse comportamento não tenha sido observado somente para a partição hexânica do epicarpo/mesocarpo de *M. vinifera* com a cepa de *E. coli*. Entretanto, nos testes realizados com *P. aeruginosa* e *E. faecalis*, os extratos apresentaram comportamento inverso, tendo as amostras de *M. vinifera* com maior polaridade obtido os maiores percentuais de inibição microbiana (Figura 2).

Muitas das plantas com atividade antimicrobiana que já foram estudadas por diversos pesquisadores são ativas apenas contra cepas Gram positivas (Vlietinck

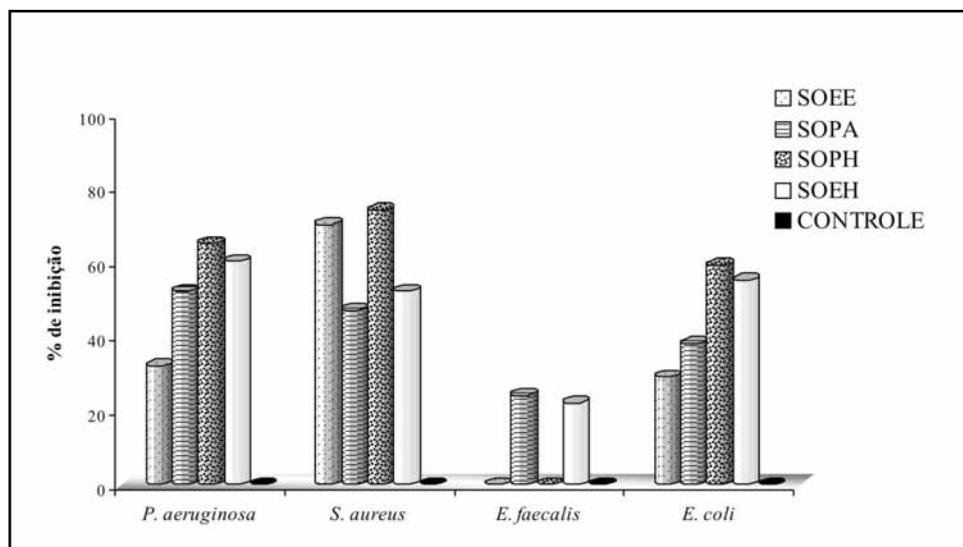


Figura 1. Percentuais de inibição do crescimento microbiano do extrato etanólico do epicarpo/mesocarpo dos frutos (SOEE) e de suas partições em hexano (SOPH) e acetato de etila (SOPA) e do extrato hexânico das amêndoas de *S. oleracea* (SOEH).

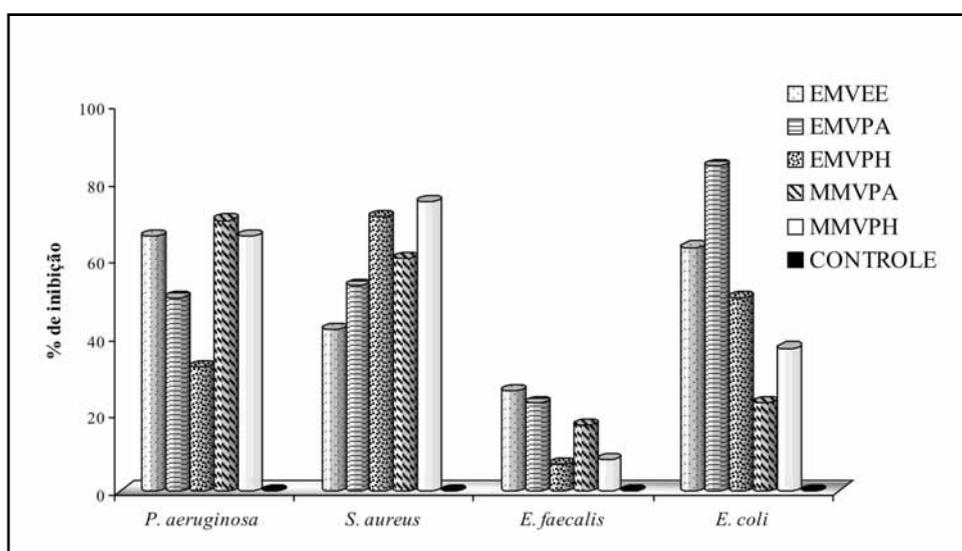


Figura 2. Percentuais de inibição do crescimento microbiano do extrato etanólico do epicarpo/mesocarpo dos frutos (EMVEE) e de suas partições em hexano (EMVPH) e acetato de etila (EMVPA) e das partições hexânica (MMVPH) e em acetato de etila (MMVPA) do extrato etanólico do mesocarpo/endocarpo dos frutos de *M. vinifera*.

et al., 1995; Rabe; Van Staden, 1997; Lin et al., 1999; Kelmanson et al., 2000). A membrana externa das bactérias Gram negativas poderia agir como uma barreira contra as substâncias ativas presentes nos extratos (Urzua et al., 1998). No entanto, os extratos avaliados neste estudo mostraram-se ativos contra cepas Gram positivas e Gram negativas.

Os ácidos graxos presentes, principalmente, nos extratos lipofílicos podem ser os responsáveis pela atividade antimicrobiana encontrada nas plantas desse estudo (Hashem; Saleh, 1999; Nazif, 2002). Foram identificados oito ácidos graxos diferentes nos extratos de *S. oleracea* e *M. vinifera*, como pode ser visto na Tabela

3.

Pesquisas indicam que ácidos graxos insaturados de cadeia longa, como o ácido oléico, e ácidos graxos saturados de cadeia média, como o ácido láurico, são responsáveis pela atividade antimicrobiana do leite humano e bovino, inativando tanto bactérias Gram positivas quanto Gram negativas (Isaacs et al., 1990; Isaacs et al., 1995). A presença de ácidos graxos saturados e insaturados nos extratos de *S. oleracea* e de *M. vinifera* sugere que esses podem estar contribuindo para a atividade antimicrobiana observada contra as cepas Gram positivas e, especialmente, contra as cepas Gram negativas.

Tabela 3. Ácidos graxos identificados no epicarpo/mesocarpo e mesocarpo/endocarpo dos frutos de *M. vinifera* e no epicarpo/mesocarpo dos frutos e no endosperma (amêndoas) de *S. oleracea*.

| Ácidos graxos | epic/mesoc. | mesoc/endoc | endosperma | ep ic./mesoc. |
|--------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | <i>M. vinifera</i> | <i>M. vinifera</i> | <i>S. oleracea</i> | <i>S. oleracea</i> |
| 10:0 Cáprico | | | X | |
| 12:0 Láurico | | | X | X |
| 14:0 Mirístico | | | X | X |
| 16:0 Palmítico | X | X | X | X |
| 16:1 (9cis) Palmitolêico | | | | X |
| 18:0 Esteárico | X | | X | |
| 18:1 (9cis) Olêico | X | X | X | |
| 18:2 (9,12cis) Linolêico | X | | X | |

AGRADECIMENTOS

A CAPES, FUJB, FAPERJ, CNPq e PRONEX, pelo aporte financeiro.

REFERÊNCIAS

- Brotons JÁ, Oleaserrano MF, Villalobos M, Pedraza V, Olea N 1995. Xenoestrogens released from lacquer coatings in food cans. *Environ Health Persp* 103: 608-612.
- Cruz GL 1965. *Livro verde das plantas medicinais e industriais do Brasil*. 1ª ed. 1º volume. Minas Gerais.
- Garcia S, Heinzen H, Hubbuch C, Martínez R, De Vriest X, Moyna P 1995. Triterpene methyl ethers from *Palmae* epicuticular waxes. *Phytochemistry* 39: 1381-1382.
- Harborne JB, Saito N, Detoni CH 1994. Anthocyanins of *Cephaelis*, *Cynomorium*, *Euterpe*, *Lavatera* and *Pinanga*. *Biochem Syst Ecol* 22: 835-836.
- Hashem FA, Saleh MM 1999. Antimicrobial components of some Cruciferae plants (*Diplotaxis harra* Foresk and *Erucaria microcarpa* Bioss). *Phytother Res* 13: 329-332.
- Hein de Balsac F, Hein de Balsac H, Maheu J 1931. Oil-bearing palms of Guiana. *Bull Agence Gén Colonies* 24: 260-274.
- Isaacs CE, Kashyap S, Heird WC, Thormar H 1990. Antiviral and antibacterial lipids in human milk and infant formula feeds. *Arch Dis Child* 65: 861-864.
- Isaacs CE, Litov RE, Thormar H 1995. Antimicrobial activity of lipids added to human milk, infant formula, and bovine milk. *J Nutr Biochem* 6: 362-366.
- Kelmanson JE, Jäger AK, Van Staden J 2000. Zulu medicinal plants with antibacterial activity. *J Ethnopharmacol* 69: 241-246.
- Lewis CE, Zona S 2000. A survey of cyanogenesis in palms (Arecaceae). *Biochem Syst Ecol* 28: 219-228.
- Lin J, Opoku AR, Geheeb-Keller M, Hutchings AD, Terblanche SE, Jager AK, Van Staden J 1999. Preliminary screening of some traditional zulu medicinal plants for anti-inflammatory and anti-microbial activities. *J Ethnopharmacol* 68: 267-274.
- Lorenzi H 2000. *Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil*. 3ª ed. volume 1. São Paulo: Instituto Plantarum.
- Luber P, Bartelt E, Genschow E, Wagner J, Hahn H 2003. Comparison of broth microdilution, E test, and agar dilution methods for antibiotic susceptibility testing of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. *J Clin Microbiol* 41: 1062-1068.
- Lubrano C, Robin JR, Khaiat A 1994. Fatty-acid, sterol and tocopherol composition of oil from the fruit mesocarp of six palms species in French-Guiana. *Oleagineux* 49: 59-65.
- Lubrano C, Robin JR 1997. Major compounds study in fruit pulp oils of six Guiana Palms species. *Acta Bot Gallica* 144: 495-499.
- Nazif NM 2002. Phytoconstituents of *Zizyphus spina-christi* L. fruits and their antimicrobial activity. *Food Chem* 76: 77-81.
- Rabe T, Van Staden J 1997. Antibacterial activity of South African plants used for medicinal purposes. *J Ethnopharmacol* 56: 81-87.
- Shimokomaki M, Abdala C, Franca JF, Draetta IS, Figueiredo IB, Angelucci E 1975. Comparative studies between hearts of sweet palm (*Euterpe edulis* and *E. oleracea*) and the bitter species (*Syagrus oleracea*). I. Chemical composition. Peptides and free amino acids. *Colet Inst Tecnol Aliment* 6: 69-80.
- Silva S 2001. *Frutas no Brasil*. 4ª ed. São Paulo: Empresa das

Artes.

Urzua A, Caroli M, Vasquez L, Mendonza L, Wilkens M, Tojo E 1998. Antimicrobial study of the resinous exudate and of diterpenoids isolated from *Eupatorium salvia* (Asteraceae). *J Ethnopharmacol* 62: 251–254.

Vlietinck AJ, Van Hoof L, Totté J, Lasure A, Vanden Berghe D, Rwangabo PC, Mvukiyumwami J 1995. Screening of a hundred Rwandese medicinal plants for antimicrobial and antiviral properties. *J Ethnopharmacol* 46: 31–47.

Zofemler WB 1994. *Guide to flowering plant families*. London: The University of North Carolina Press.