

Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato etanólico bruto da casca da sucupira branca (*Pterodon emarginatus* Vogel) - Fabaceae

BUSTAMANTE, K.G.L.¹; LIMA, A.D.F.¹; SOARES, M.L.¹; FIUZA, T.S.¹; TRESVENZOL, L.M.F.²; BARA, M.T.F.²; PIMENTA, F.C.³; PAULA, J.R.^{2*}

¹Instituto de Ciências Biológicas ²Faculdade de Farmácia ³Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás, Caixa Postal 131, CEP: 74001-970, Goiânia-Brasil *pjrpaula@gmail.com

RESUMO: *Pterodon emarginatus* Vogel (Fabaceae) é uma árvore do Cerrado conhecida popularmente como “sucupira branca, faveiro, fava de sucupira e sucupira lisa” e utilizada na medicina popular em preparações anti-reumáticas, antiinflamatórias, analgésicas e antiinfeciosas. Esse trabalho teve por objetivo fazer a triagem fitoquímica do pó e avaliar a atividade antimicrobiana do extrato etanólico bruto das cascas da *P. emarginatus* contra bactérias Gram-positivas, Gram-negativas e o fungo *Candida albicans*. O extrato etanólico bruto foi obtido a partir das cascas dessecadas e pulverizadas. A concentração inibitória mínima (CIM) do extrato bruto foi determinada utilizando-se o inoculador de Steers. Os testes fitoquímicos detectaram a presença de flavonóides, heterosídeos saponínicos, resinas e traços de esteróides e triterpenóides. As CIM do extrato etanólico foram de 0,18 mg mL⁻¹ para as bactérias Gram-positivas *Rhodococcus equi* ATCC 25923, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Micrococcus roseus* IPTSP/UFG e para as bactérias Gram-negativas *Serratia marcescens* ATCC 14756 e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027; de 0,37 mg mL⁻¹ para a *Enterobacter cloacae* FT 505 LEMC/EPM/UFG e de 0,74 mg mL⁻¹ para as demais bactérias testadas e para o fungo *C. albicans*. O presente estudo abre perspectivas para o uso da cascas da *P. emarginatus* como antimicrobiano.

Palavras-chave: plantas medicinais, CIM, bactéria

ABSTRACT: Evaluation of antimicrobial activity of crude ethanol extract from the bark of “sucupira branca” (*Pterodon emarginatus* Vogel) - Fabaceae. *Pterodon emarginatus* Vogel (Fabaceae) is a Cerrado tree popularly known as “sucupira branca”, “faveiro”, “fava de sucupira” and “sucupira lisa” and has been used in folk medicine as antirheumatic, anti-inflammatory, analgesic and anti-infective. The aim of this work was to perform the phytochemical screening of the powder and to evaluate the antimicrobial activity of crude ethanol extract from *P. emarginatus* barks against Gram-positive bacteria, Gram-negative bacteria and the fungus *Candida albicans*. The crude ethanol extract was obtained from desiccated and pulverized barks. Its minimum inhibitory concentration (MIC) was determined by using Steers inoculator. The phytochemical tests detected the presence of flavonoids, saponin heterosides, resins and traces of steroids and triterpenoids. Ethanol extract MICs were 0.18 mg mL⁻¹ for the Gram-positive bacteria *Rhodococcus equi* ATCC 25923, *Micrococcus luteus* ATCC 9341 and *Micrococcus roseus* IPTSP/UFG, and for the Gram-negative bacteria *Serratia marcescens* ATCC 14756 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027; 0.37 mg mL⁻¹ for *Enterobacter cloacae* FT 505 LEMC/EPM/UFG; and 0.74 mg mL⁻¹ for the remaining tested bacteria and for the fungus *C. albicans*. This study opens perspectives for the use of *P. emarginatus* barks as an antimicrobial drug.

Key words: medicinal plants, MIC, bacteria

INTRODUÇÃO

Pterodon emarginatus Vogel (Fabaceae) é uma árvore do Cerrado que pode atingir até 15 metros de altura, conhecida popularmente como sucupira branca, faveiro, fava de sucupira e sucupira lisa (Rizzini & Mors, 1995; Lorenzi, 1998; Carvalho et al., 1999; Sabino et al., 1999; Coelho et al., 2001). A *P. emarginatus* está amplamente incorporada à medicina popular brasileira. As populações fazem uso dos frutos em macerações hidroalcoólicas para tratar afecções laringológicas, para uso infantil em compostos “fortificantes ou estimulantes do apetite” (Mascaro et al., 2004), do óleo da semente para tratamento de dores de garganta (Nunan et al., 1982) e no tratamento de infecções ginecológicas (Almeida & Gottlieb, 1975). As túberas radiculares têm sido empregadas no tratamento do diabetes e a casca para reumatismo (Lorenzi & Matos, 2002).

Alguns estudos sobre a *P. emarginatus* foram relatados na literatura, como de Mors et al. (1966) que detectaram ação profilática do óleo dos frutos da *Pterodon pubescens* (Benth.) Benth. no combate à infecção por cercárias de *Schistosoma mansoni*. Pesquisas em ratos revelaram atividade antiinflamatória do óleo das sementes (Nunan et al., 1982) e do extrato hexânico bruto dos frutos da *P. emarginatus* (Carvalho et al., 1999). Dutra et al. (2008) verificaram atividade antinoceptiva central e periférica do óleo essencial e das frações hexânica e butanólica das sementes da *P. emarginatus* em camundongos. Pucci et al. (2007) observaram ausência de toxicidade aguda do extrato etanólico das cascas de *P. emarginatus* em camundongos. Não foram encontrados na literatura pesquisada dados sobre a atividade antimicrobiana das cascas da *P. emarginatus* nem sobre a prospecção fitoquímica das cascas dessa espécie.

O presente estudo teve por objetivo realizar a triagem fitoquímica e avaliar a atividade antimicrobiana da *P. emarginatus* contra bactérias Gram-positivas esporuladas e não esporuladas, bactérias Gram-negativas e contra o fungo *Candida albicans*.

MATERIAL E MÉTODO

Material vegetal

O material botânico constituído por cascas da *Pterodon emarginatus* Vogel (Fabaceae), conhecida popularmente como sucupira branca, faveiro, fava de sucupira e sucupira lisa, foi coletado no município de Bela Vista, Goiás, Brasil (17°02'1,1" Sul e 48°49'0,3" Oeste a 847 m de altitude), em setembro de 2003. Foi identificado pelo Prof. Dr. José Realino de Paula, da Universidade Federal de Goiás e a exsiccata depositada no Herbário desta instituição sob registro UFG - 27.155.

As cascas de *P. emarginatus* foram dessecadas em estufa com circulação de ar e posteriormente trituradas em moinho de facas.

Triagem fitoquímica

O pó das cascas de *P. emarginatus* foi submetido à triagem fitoquímica, sendo realizadas pesquisas qualitativas segundo metodologias adaptadas de Costa (2001).

Para os triterpenóides e esteróides foram realizadas as reações de Kedde, Liberman-Burchard, Keller-Killiane e do núcleo esteroidal. Para flavonóides utilizaram-se as reações de Shinoda, oxalo-bórica, com cloreto de alumínio, com hidróxido de sódio a 20%, com cloreto férrico a 4,5% e com ácido sulfúrico concentrado. Para os taninos empregou-se a reação com gelatina, com sulfato de quinina, com brucina a 1%, com acetato de cobre, com sais de ferro e com hidróxido de sódio. Para as cumarinas utilizou-se a reação com hidróxido de sódio 1N e para as saponinas o índice de espuma. Para as resinas utilizou-se o método de turvação do extrato etanólico com adição de água e para as antraquinonas a reação de Borntraeger. Para os alcalóides empregou-se a reação com os reagentes de Bertrand, Bouchardat; Dragendorff; Mayer; Hager e com ácido tânico 1%

Quantificação de flavonóides

A quantificação de flavonóides totais foi realizada em triplicata de acordo com a metodologia descrita na Farmacopéia Brasileira IV (2001).

Obtenção do extrato etanólico bruto

O material previamente pulverizado foi submetido ao processo de maceração a frio, por três dias, com agitação ocasional utilizando como líquido extrator o etanol 95% PA na proporção de 1:4. O extrato obtido foi concentrado em evaporador rotativo a temperatura de 40°C (Ferri, 1996).

Avaliação da atividade antimicrobiana: microrganismos

Para a avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos etanólicos brutos das cascas de *P. emarginatus*, foram utilizados microrganismos padrão e de isolados clínicos cedidos pelo Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP)/UFG. Os microrganismos utilizados foram *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *S. aureus* ATCC 29737, *S. aureus* FFRP - USP, *S. aureus* FFRP - USP, *Rhodococcus equi* ATCC 25923, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Micrococcus roseus* IPTSP/UFG, *Clostridium sporogenes* ATCC 11437, *Bacillus cereus* ATCC 14579, *Bacillus subtilis* 007, *B. subtilis* ATCC 6633, *Bacillus stearothermophilus* ATCC1262, *Escherichia coli* ATCC 8739, *E. coli* ATCC 11229, *E. coli* ATCC 25922, *Agrobacterium tumefaciens* ATCC 333970/C58,

Salmonella choleraesuis ATCC 10708, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Salmonella* sp. IPTSP/UFG, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, *Enterobacter cloacae* FT 502 LEMC/EPM/UFP, *E. cloacae* FT 505 LEMC/EPM/UFP, *Serratia marcescens* ATCC 14756, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 e *Candida albicans* ATCC 10231.

Os microrganismos foram repicados em ágar Müeller Hinton e incubados a 37°C por 24 horas antes do experimento. Para o preparo do inóculo, as culturas de cada microrganismo foram transferidas para tubos de ensaio contendo 2 mL de salina estéril até obtenção de turbidez equivalente a metade da escala 1,0 de MacFarland.

Determinação da Concentração Inibitória Mínima

A determinação da concentração inibitória mínima (CIM) foi realizada pelo método da diluição em ágar conforme recomendação do NCCLS (2003).

Para a preparação das placas, o extrato etanólico bruto das cascas de *P. emarginatus* foi solubilizado em 2 mL de etanol a 95% PA e submetido a diluições seriadas 1:2 por mais quatro tubos, de modo que se obteve, após a adição de 19 mL de ágar Müeller - Hinton a 50°C, placas com concentração variando de 1,48 mg mL⁻¹ a 0,18 mg mL⁻¹. Placas contendo etanol a 95% e água destilada, preparadas nas mesmas condições, foram utilizadas como controles. Fez-se o teste de esterilidade incubando todas as placas em uma estufa à 37°C por 24 horas.

Os inóculos microbianos foram transferidos para o inoculador de Steers (Steers et al., 1959) e aplicados nas placas de ágar Müeller Hinton contendo as diferentes concentrações do extrato bruto. As placas foram incubadas a 37°C por 24 horas. Foi considerada CIM a menor concentração dos extratos que inibiu o desenvolvimento microbiano. Os ensaios foram realizados em quadruplicatas.

RESULTADO

Os testes fitoquímicos realizados evidenciaram a presença de flavonóides, heterosídeos saponínicos, resinas e traços de esteróides e triterpenóides. A porcentagem de flavonóides totais nas cascas foi de 0,0236%.

O extrato etanólico bruto da casca da *P. emarginatus* inibiu o crescimento de todas as bactérias e do fungo *C. albicans*. A CIM foi de 0,18 mg mL⁻¹ para as bactérias Gram-positivas *R. equi* ATCC 25923, *M. luteus* ATCC 9341, *M. roseus* IPTSP/UFG e para as bactérias Gram-negativas *S. marcescens* ATCC 14756 e *P. aeruginosa* ATCC 9027; de 0,37 mg mL⁻¹ para a *E. cloacae* FT 505 LEMC/EPM/UFG e de 0,74 mg mL⁻¹ para as demais bactérias testadas e para o fungo *C. albicans* (Tabela 1).

DISCUSSÃO

Através do presente estudo, verificou-se que o extrato etanólico bruto das cascas da *P. emarginatus* apresentou atividade antimicrobiana contra bactérias Gram-positivas esporuladas e não esporuladas, Gram-negativas e o fungo *C. albicans*. Não foram encontrados relatos na literatura sobre a atividade antimicrobiana das cascas dessa espécie, mas existem alguns estudos sobre as sementes e frutos. Gonçalves et al. (2005) descreveram atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico do fruto criptossâmara da *P. emarginatus* contra *Proteus mirabilis*, Silva et al. (2005) verificaram que o óleo do extrato bruto da semente dessa espécie inibiu o desenvolvimento micelial de *Alternaria brassicae*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani* e *Ceratocystis frimbriata*, bem como de colônias bacterianas de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* e *Pseudomonas syringae*. Neves et al. (2007) observaram atividade antifúngica do extrato semi-sintético hexanólico da *P. emarginatus* contra os fungos dermatófitos *T. rubrum*, *T. mentagrophytes* e *M. canis*.

Quanto à constituição química, Carvalho et al. (1999) relataram que foram isolados e identificados no extrato etanólico dos frutos da *P. emarginatus* os seguintes diterpenos vouacapânicos: 6 α -hidroxi-7 β -acetoxivouacapan-17-metil- β -oato e 6 α -hidroxi-7 β -acetoxivouacapan-14 (17)-eno e o ácido 6 α ,7 β -dihidroxivouacapan-17 β -oico. Os isoflavonóides 6,7-dimetoxi-3',4'-metilenodioxi-, 4'-hidroxi-3',6,7-trimetoxi-, 3,4,6,7-tetrametoxi-, 7-hidroxi-6-metoxi-3, 4-metilenodioxi-, 2',6,7-trimetoxi-3',4'-metilenodioxi-, 2',3',4',7,7-pentametoxi- e 2',4',5,6,7-entametoxiisoflavona. Os triterpenóides lupeol e betulina e o ácido 4-metoxibenzóico foram isolados dos extratos acetônicos do alburno e do cerne da *Pterodon polygalaeflorus* (Marques et al., 1998). Não foram encontrados relatos sobre os constituintes das cascas da *P. emarginatus*. Nesse trabalho, a triagem fitoquímica do pó das cascas da *P. emarginatus* detectou a presença de flavonóides, heterosídeos saponínicos, resinas e traços de esteróides e triterpenóides. De acordo com Simões et al. (2004), as saponinas apresentam atividade antimicrobiana, antiinflamatória e aumentam a permeabilidade das membranas. Alguns flavonóides são responsáveis por atividades antiinflamatórias e antimicrobianas. Segundo Cowan (1999), os terpenos são ativos contra bactérias, vírus, fungos e protozoários. Terpenos são citados por apresentarem atividade antimicrobiana contra várias bactérias, tais como: *Helicobacter pylori*, *Bacillus subtilis*, *S. aureus*, *V. cholerae*, *Pseudomonas aeruginosa* e menor atividade contra *Candida albicans*, dependendo do terpeno. Assim estes compostos podem estar envolvidos, isoladamente ou em associação, na atividade antimicrobiana do extrato

TABELA 1. Concentração inibitória mínima do extrato etanólico bruto da casca da *Pterodon emarginatus* Vogel (Fabaceae) frente a diferentes microrganismos.

Microrganismos	Casca de <i>P. emarginatus</i>
	CIM (mg mL⁻¹)
Bactérias Gram-positivas	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	0,74
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29737	0,74
<i>Staphylococcus aureus</i> FFRP - USP	0,74
<i>Staphylococcus aureus</i> FFRP - USP	0,74
<i>Rhodococcus equi</i> ATCC 25923	0,18
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	0,18
<i>Micrococcus roseus</i> IPTSP/UFG	0,18
Bactérias Gram-positivas esporuladas	
<i>Clostridium sporogenes</i> ATCC 11437	0,74
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579	0,74
<i>Bacillus subtilis</i> 007	0,74
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	0,74
<i>Bacillus stearothermophilus</i> ATCC1262	0,74
Bactérias Gram-negativas	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	0,74
<i>Escherichia coli</i> ATCC 11229	0,74
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	0,74
<i>Agrobacterium tumefaciens</i> ATCC 333970/C58	0,74
<i>Salmonella choleraesuis</i> ATCC 10708	0,74
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	0,74
<i>Salmonella</i> sp. IPTSP/UFG	0,74
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	0,74
<i>Enterobacter cloacae</i> FT 502 LEMC/EPM/UFP	0,74
<i>Enterobacter cloacae</i> FT 505 LEMC/EPM/UFP	0,37
<i>Serratia marcescens</i> ATCC 14756	0,18
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	0,18
Fungo	
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	0,74

ATCC: American Type Culture Collection; **FFRP - USP:** Isolado clínico da Faculdade de Farmácia de Ribeirão Preto/Universidade de São Paulo; **IPTSP/UFG:** Isolado clínico do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública/Universidade Federal de Goiás; **LEMC-EPM/UFP:** Isolado clínico do Laboratório Especial de Microbiologia Clínica/Escola paulista de Medicina.

etanólico da casca da *P. emarginatus*.

Através deste trabalho verificou-se a presença de flavonóides, heterosídeos saponínicos, resinas e traços de esteróides e triterpenóides no pó das cascas da *P. emarginatus* e concluiu-se que seu extrato etanólico bruto apresentou atividade

antimicrobiana contra bactérias Gram-positivas, Gram-negativas e contra o fungo *C. albicans*. Embora o uso popular das sementes e frutos da *P. emarginatus* seja mais freqüente, o presente estudo abre perspectivas para o uso da cascas da *P. emarginatus* como antimicrobiano.

REFERÊNCIA

- ALMEIDA, M.E.L.; GOTTILIEB, O.R. The chemistry of Brazilian Leguminosae: further isoflavones from *Pterodon apparicioni*. **Phytochemistry**, v.14, n.12, p.2716-20, 1975.
- CARVALHO, J.C.T. et al. Anti-inflammatory activity of the crude extract from the fruits of *Pterodon emarginatus* Vog. **Journal of Ethnopharmacology**, v.64, p.127-33, 1999.
- COELHO, M.G.P. et al. Subacute toxicity evaluation of a hydroalcoholic extract of *Pterodon pubescens* seeds in mice with collagen-induced arthritis. **Journal of Ethnopharmacology**, v.77, p.159-64, 2001.
- COSTA, A.F. **Farmacognosia**. 3.ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2001. 1032p.
- COWAN, M.M. Plant products as antimicrobial agents. **Clinical Microbiology Reviews**, v.12, p.564-82, 1999.
- DUTRA, R.C. et al. Antinociceptive activity of the essential oil and fractions of *Pterodon emarginatus* Vogel seeds. **Latin American Journal of Pharmacy**, v.27, n.6, p.865-70, 2008.
- FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 4.ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2001. 1320p.
- FERRI, P.H. Química de produtos naturais: métodos gerais. In: DISTASI, L.C. (Ed.) **Plantas medicinais arte e ciência: um guia de estudo interdisciplinar**. São Paulo: Editora da Universidade Estadual Paulista, 1996. p.129-56
- GONÇALVES, A.L.; ALVES FILHO, A.; MENEZES, H. Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.72, n.3, p.353-8, 2005.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil**. 2.ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda, 1998. 352p.
- LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 544p.
- MARQUES, D.D. et al. Isoflavonoids and triterpenoids isolated from *Pterodon polygalaeflorus*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.9, n.3, p.295-301, 1998.
- MASCARO, U.C.P.; TEIXEIRA, D.F.; GILBERT, B. Avaliação da sustentabilidade da coleta de frutos de “sucupira branca” (*Pterodon emarginatus* Vog.) após queda espontânea. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.7, n.1, p.23-5, 2004.
- MORS, W.B.; PELLEGRINO, J.; SANTOS FILHO, M.F. Ação profilática do óleo dos frutos de sucupira-branca (*Pterodon Pubescens* Benth.) contra a infecção pelo *Schistosoma mansoni*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.38, p.325-30, 1966.
- NCCLS. **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically**. 6.ed. Wayne, 2003. p.1-47.
- NEVES, F.A. et al. Teste de suscetibilidade de dermatófitos ao extrato semi-sintético hexanóico de *Pterodon emarginatus* Vogel. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v.4, n.2, p.44-6, 2007.
- NUNAN, E.A. et al. Furane diterpenes with anti- and pro-inflammatory activity. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.15, n.6, p.450-1, 1982.
- PUCCI, L.L. Avaliação da toxicidade oral aguda do extrato etanólico bruto da casca do caule de *Pterodon emarginatus* Vogel (Fabaceae). **Revista Eletrônica de Farmácia**, v.4, n.2, p.75-7, 2007.
- RIZZINI, C.T.; MORS, W.B. **Botânica econômica brasileira**. São Paulo: Âmbito Cultural Edições Ltda, 1995. 248p.
- SABINO, K.C.C. et al. *In vitro* and *in vivo* toxicological study of the *Pterodon pubescens* seed oil. **Toxicology Letters**, v.108, p.27-35, 1999.
- SILVA, I.D. et al. Efeito do extrato de sucupira (*Pterodon emarginatus* Vog.) sobre o desenvolvimento de fungos e bactérias fitopatogênicos. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.35, n.2, p.109-15, 2005.
- SIMÕES, C.M.O. et al. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 5.ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul/ Universidade Federal de Santa Catarina, 2004. 1102p.
- STEERS, E.; FOLTZ, E.L.; GRAVES, V.S. An inocula replicating apparatus for continue testing of bacterial susceptibility to antibiotics. **Antibiotics & Chemotherapy**, v.9, p.307-11, 1959.