



ENEPEX

ENCONTRO DE ENSINO,
PESQUISA E EXTENSÃO

8° ENEPE UFGD • 5° EPEX UEMS

**POTENCIAL ANTIMICROBIANO DO EXTRATO ETANÓLICO DE
FOLHA DE, *Solanum lycocarpum* (Solanales: Solanaceae) E *Indigofera* L.
(Fabales: Papilionoideae)**

Milena Mariano Mendonça¹; Kelly Mari Pires de Oliveira²;

UFGD/FCBA - Caixa Postal 533, 79804-970 Dourados-MS. E-mail: milena.ufgd@gmail.com

¹Acadêmica de Biotecnologia, voluntária do PIVIC. ²Orientadora do projeto de pesquisa

RESUMO

O uso de plantas medicinais é quase tão antigo quanto à civilização humana. Compostos presentes em plantas com propriedades antimicrobianas, têm sido reconhecidos empiricamente durante séculos, mas cientificamente vêm sendo confirmados nas últimas décadas. Devido ao elevado aumento da resistência de micro-organismos patogênicos aos antimicrobianos disponíveis atualmente, surge à preocupação com a busca por novas fontes de substâncias com potencial antimicrobiano, e assim, as plantas no ramo da fitoterapia vêm recebendo merecido destaque. *Solanum lycocarpum* e *Indigofera* L. são plantas popularmente utilizadas como fitoterápicos para tratamento de diversas doenças e sintomas. O objetivo foi avaliar o potencial antimicrobiano do extrato etanólico das folhas de *Solanum lycocarpum* e *Indigofera* L. O potencial antimicrobiano do extrato foi avaliado pelo teste de Concentração Inibitória Mínima (CIM) frente a cepas provenientes da *American Type Culture Collection* (ATCC): *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Candida krusei*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*. Não foi observada atividade antimicrobiana frente às cepas testadas, pois estas não tiveram seu crescimento inibido pela presença do extrato vegetal.

PALAVRAS-CHAVE: Fitoterapia. Concentração Inibitória Mínima. Potencial antimicrobiano.

INTRODUÇÃO

A resistência a drogas de patógenos humanos e animais não é um fenômeno novo e tem se apresentado como um problema complexo provocado por numerosos fatores, entre os quais se destaca o uso indevido de fármacos (Callou *et al.*, 2012; Rossi & Andreazzi, 2005).

Em razão ao grande aumento da resistência de micro-organismos patogênicos as drogas disponíveis no mercado e devido ao uso indiscriminado de antimicrobianos surge à preocupação com a procura por novas alternativas terapêuticas, incentivando a busca por novas fontes de substâncias com atividades antimicrobianas como as plantas utilizadas na medicina tradicional.

O uso de plantas medicinais é quase tão antigo quanto à civilização humana e constitui uma forma de medicina que vem crescendo visivelmente ao longo dos anos (Duarte, 2006). Hoje em dia, os fitoterápicos ocupam um maior espaço no mercado devido à baixa incidência de efeitos colaterais, em virtude do desenvolvimento de novos medicamentos sintéticos estarem se tornando cada vez mais difícil (Ferrari, 2002), e por ser uma das alternativas para os problemas relacionados ao aumento da resistência dos patógenos (Orlando, 2005).

Encontram-se no Brasil cerca de 20% das 250 mil espécies medicinais catalogadas pela *United Nations Educational Scientific and Cultural Organization* (UNESCO), facilitando o aproveitamento do potencial curativo dos vegetais para o tratamento de doenças no país. (Mendes *et al.*, 2011).

Solanum lycocarpum (Solanaceae), popularmente conhecida como “lobeira”, é uma planta nativa do Brasil, muito comum na região do cerrado (Soares-Mota *et al.*, 2010), cresce e se desenvolve em condições ambientais desfavoráveis, e é capaz de suportar climas áridos e períodos de seca prolongados (Junior *et al.*, 2003).

Popularmente tem-se atribuído aos frutos da lobeira propriedades hipoglicemiantes, antiinflamatória, efeitos calmantes, sedativo, antiepilético, antiespasmódico e antiinflamatório (Dall-Agnol & Von-Poser, 2000; Cruz, 1982; Lorenzi, 1991; Vieira Junior *et al.*, 2003). Já as folhas possuem propriedades emolientes e anti-reumáticas, e, das flores e frutos, faz-se tônicos contra asma, gripes e resfriados (Rocha *et al.*, 2006). Entretanto, a principal utilização popular é para o tratamento do

Diabetes Mellitus e da obesidade, reduzindo os níveis de colesterol (Yoshikawa *et al.*, 2007).

O gênero pantropical *Indigofera* popularmente conhecido como “anileira” é constituído por cerca de 700 espécies, distribuídas nos trópicos e subtropicais, sendo na maior parte representadas por plantas herbáceas e subarbustivas (Paulino *et al.*, 2010). Na homeopatia a anileira é indicada para dores articulares e nevralgias, distúrbios circulatórios, afecções das vias respiratórias, inflamações da pele e hemorragia nasal. As folhas têm propriedades antiespasmódicas e sedativas, febrífugas, diuréticas e purgativas (Sigrist, 2013).

Devido ao fato das plantas *Solanum lycocarpum* e *Indigofera* L. serem popularmente utilizadas no tratamento de algumas doenças este estudo visou verificar cientificamente se o extrato etanólico das folhas dessas plantas possuem algum efeito antimicrobiano.

MATERIAL E MÉTODOS

As plantas (*Solanum lycocarpum* e *Indigofera hirsuta*) foram coletadas em campos situados a 22°15'48.3"S, 54°48'45.6"W e 22°08'20.4"S, 55°08'19.0"W, no município de Dourados-MS. Após a coleta o material foi levado para identificação no laboratório de Botânica da Universidade Federal da Grande Dourados.

As plantas foram secas em estufa de ar circulante a 30°C e após secagem o material foi triturado em moinho de facas, o material resultante foi pesado e armazenado em frascos de vidro estéreis contendo 1000 mL de álcool etílico absoluto (Synth) e armazenados a temperatura ambiente por 1 semana com agitações ocasionais. O material foi filtrado e os extratos foram completamente rotoevaporados a 35°C, em rotoevaporador. Após evaporação total os extratos foram liofilizados em liofilizador de bancada e os extratos foram armazenados 4°C.

Foram testadas cepas padrão provenientes da American Type Culture Collection (ATCC, Rockville, MD, USA): *Candida albicans* ATCC 90028, *Candida tropicalis* ATCC 750, *Candida glabrata* ATCC 2001, *Candida krusei* ATCC 6558, *Enterococcus faecalis* ATCC 51299, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213.

Os inóculos bacterianos foram semeados em Ágar TSA e incubados a 37°C por 24h e as leveduras foram semeadas em Ágar Sabouraud dextrose e incubadas a 35°C por 24h. Os inóculos foram ajustados em solução salina 0,85% até atingirem a turbidez

correspondente à escala 0,5 de McFarland. Os inóculos ajustados foram diluídos na porção 1:50 em solução salina e posteriormente diluídos na porção 1:20 em meio de cultura (caldo Muller-Hunton para bactéria e RPMI para leveduras).

A concentração inibitória mínima de cada extrato foi determinada por meio da técnica de microdiluição em caldo, de acordo com as diretrizes do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2002, 2008).

Os extratos vegetais foram suspensos em DMSO (dimetilsulfóxido) para se chegar a concentração inicial de 2048 ug/mL, em seguida diluídos em MHB (caldo Muller-Hunton) para teste com bactérias e RPMI para teste com leveduras, e vertidos nas placas de microdiluição com 96 poços.

Foram alíquotados 100 ul de meio de cultura aos poços das colunas 3 a 12 e 200 ul ao poço da coluna 1. Foram adicionados 100 ul dos extratos aos poços das colunas 2 e 3 e realizou-se diluições seriadas para obtenção de diferentes concentrações até a coluna 11. Desprezou-se 100 ul da coluna 11 e adicionou-se 100 ul da suspensão de micro-organismos a partir da coluna 2 para um volume final de 200 ul em cada poço. A suspensão microbiana foi considerada o controle positivo, enquanto que o meio de cultura foi utilizado como controle negativo.

As placas de microdiluição com bactérias foram incubadas a 35°C por 24h e as placas com leveduras foram incubadas a 37°C por 48h. Cada extrato foi testado em duplicata. Os valores da MIC foram analisados com a mais baixa concentração dos extratos que não apresentar turbidez após a inoculação. A turvação dos poços foi interpretada como crescimento visível de micro-organismos.

Para avaliação da Concentração Bactericida Mínima (MBC) e Concentração Fungicida Mínima (MFC) palitos previamente autoclavados foram mergulhados em cada poço da placa de microdiluição do MIC e com os mesmos foram perfurados os 96 poços em placas de petri contendo ágar Sabouraud dextrose para avaliação fungicida e ágar Muller-Hunton para avaliação bactericida. As placas para avaliação fungicida foram armazenadas a 37°C por 48h e as placas para avaliação bactericida foram armazenadas a 35°C por 24h. A concentração fungicida mínima (MFC) e a concentração bactericida mínima (MBC) foram definidas como a menor concentração de agente capaz de inibir o crescimento microbiano.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A determinação da Concentração Inibitória Mínima (MIC) pelo método de microdiluição em caldo mostrou que o extrato etanólico bruto de *Solanum lycocarpum* e *Indigofera hirsuta* foram inativos frente a todas as cepas de micro-organismos testadas apresentando CIM de 2056 ug/mL.

Para Holetz *et al.*, (2002), extratos vegetais que apresentam atividade antimicrobiana em concentrações acima de 500 ug/mL possuem fraca atividade, e extratos vegetais que apresentam atividade antimicrobiana em concentrações acima de 1000 ug/mL não possuem atividade, assim como demonstrado no quadro 1, sendo considerados inativos e estes não são passíveis de aproveitamento farmacêutico no tratamento de infecções microbianas. (Mendes, *et al.*, 2011).

Quadro 1- Critérios segundo Holetz et al., 2002, para aceitação da atividade antimicrobiana de extratos brutos de plantas.

CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA DO EXTRATO BRUTO	RESULTADO
Abaixo de 100 µg/mL	Boa atividade antimicrobiana
Entre 100 e 500 µg/mL	Moderada atividade antimicrobiana
Entre 500 e 1000 µg/mL	Fraca atividade antimicrobiana
Acima de 1000 µg/mL	Inativo

Nos testes de Concentração Fungicida Mínima e Concentração Bactericida Mínima os resultados não foram diferentes. Os extratos vegetais testados não possuem atividade de inibição do crescimento microbiano, ficando comprovado que estas plantas não possuem potencial para serem utilizadas no tratamento de infecções bacterianas e/ou fúngicas.

CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos nesta pesquisa, pode-se concluir que o extrato etanólico bruto das folhas de *Solanum lycocarpum* e *Indigofera* L. não apresentam potencial antimicrobiano efetivo, sendo estas, inviáveis para o tratamento de infecções bacterianas e/ou fungicas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Dall-Agnol, R.; Von-Poser, G.L. The use of complex polysaccharides in the management of metabolic diseases: the case of *Solanum lycocarpum* fruits. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 71, n. 1/2, p. 337-41, 2000.

Duarte, M. C. T. Atividade Antimicrobiana de plantas medicinais e aromáticas utilizadas no Brasil. Construindo a história dos produtos naturais. Multi Ciência, v.7, 2006.

Ferrari, B. T. Fitoterápicos: uma tendência natural. Revista Brasileira de Medicina, v. 59, n. 9, p. 6374-644, 2002.

Junior, E. N. O.; Santos, C. D.; Abreu, C. M. P.; Corrêa, A. D.; Santos, J. Z. L. Análise nutricional da fruta-de-lobo (*Solanum lycocarpum* St. Hil.) durante o amadurecimento. Ciênc. Agrotec. v. 24, n.4, p. 846-851, 2003

Orlando, S. C. Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico bruto da casca do *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Barbatimão). Dissertação (Mestrado em Promoção de Saúde) - Universidade de Franca, Franca-SP, 2005. Disponível em <http://www.unifran.br/mestrado/promocaoSaude/dissertacoes/2005/SANDRA_CHRISTINA_ORLANDO.pdf> Acesso em: 14 mai. 2014.

Paulino, J. V.; Pessine, E.; Teixeira, S. P. Estudos morfoanatômicos da semente e da plântula de espécies de Anileiras (*Indigofera* L., Leguminosae). Acta Bot. Bras. v. 24, n. 1, 2010.

Rocha, C.; Tejerina-Garro, F.L.; Pietrafesa, J.P. Cerrado, sociedade e ambiente: desenvolvimento sustentável em Goiás. Goiânia: Editora da Universidade Católica de Goiás, v.1, p. 287, 2006.

Rossi, F.; Andreazzi, D. B. Resistência bacteriana: interpretando o antibiograma. Editora Atheneu, 2005.

Soares-Mota, M. R.; Schwarz, A.; Bernardi, M. M.; Maiorka, P.C.; Spinosa, H. S. Toxicological evaluation of 10% *Solanum lycocarpum* St. Hill fruit consumption in the diet of grow in grats: Hematological, biochemical and histopathological effects. Experimental and Toxicologic Pathology. v. 62, p. 549-553, 2010.

Yoshikawa, M.; Nakamura, S.; Ozaki, K.; Kumahara, A.; Morikawa, T.; Matsuda, H. Structures of Steroidal Alkaloid Oligoglycosides, Robeneosides A and B, and Antidiabetogenic Constituents from the Brazilian Medicinal Plant *Solanum lycocarpum*. J. Nat. Prod, v. 70, p. 210 – 214, 2007.

Sigrist, S. R. Plantas medicinais. Universidade Federal de São Paulo, 2013. Disponível em: <http://ci-67.ciagri.usp.br/pm/ver_1pl.asp?f_cod=9>. Acesso em: 16 mai. 2014.