



CIÊNCIA E TECNOLOGIA:
IMPLICAÇÕES NO ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO

FEPEG

F Ó R U M
ENSINO • PESQUISA • EXTENSÃO • GESTÃO

REALIZAÇÃO:



APOIO:



ISSN: 1806-549X

PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DA PLANTA ALTERNANTHERA BRASILIANA L. KUNTZE COLETADA NO MUNICÍPIO DE MONTE AZUL, MINAS GERAIS

Autores: JEISABELLY ADRIANNE LIMA TEIXEIRA, LÉIA GOMES COELHO ALVARENGA, ERNANDES GONÇALVES DIAS, FELIPE QUEIROZ ALVARENGA, CLEICIANE FARIA SOARES, ALINE MARQUES DA COSTA, DJALMA SANTOS SOUZA

Introdução

A utilização de plantas medicinais é uma das mais antigas formas de prática medicinal da humanidade (LINHARES *et al.* 2014). Diante da diversidade de plantas medicinais encontradas no Brasil, fazem-se necessários estudos aprimorados destas, a fim de se possibilitar a diferenciação e utilização das mesmas, como também obter informações sobre seu poder curativo e, para tanto, é necessário o conhecimento dos princípios ativos de cada uma. A concentração dos metabólitos primários e secundários é influenciada pelos fatores ambientais, como a disponibilidade de água, tipo de solo, quantidade de nutrientes disponíveis, temperatura, radiação solar, dentre outros (SILVA, 2015). De acordo Rodrigues (2010) estudos farmacológicos relatam que *A. brasiliana* é empregada em diversas enfermidades, com atividade analgésica, antidiarreica, anti-inflamatória, antiedematogênica, antiproliferativa de linfócitos e atividade inibidora do vírus do herpes simples. Segundo Lopes *et al.* (2015) a maioria das plantas utilizadas pela população não possuem estudo e descrição quanto a sua utilização. Para o desenvolvimento de um novo fármaco faz-se necessário grande investimento bem como tempo para que esse seja desenvolvido. Diante do exposto, este estudo justifica-se mediante a necessidade da prospecção fitoquímica da *A. brasiliana* conhecida popularmente como “Terramicina”, através da identificação dos compostos polifenóis (flavonóides e taninos), alcalóides, cumarinas, antraquinonas, saponinas e glicosídeos cardiotônicos, como também determinar a atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico sobre as bactérias patogênicas *S. aureus*, *E. coli* e *P. aeruginosa*.

Material e métodos

A coleta do material vegetal ocorreu no período diurno no mês de Julho de 2012 no perímetro urbano da cidade de Monte Azul-MG. A coleta das folhas ocorreu de forma aleatória, coletaram-se partes do ápice e da parte mediana da planta. A obtenção do extrato bruto seco e da confecção da exsiccata foi realizada de acordo com Roteiro para Execução das Aulas Práticas de Farmacognosia da Universidade Estadual de Londrina (UEL). A exsiccata foi identificada por um professor pesquisador da Universidade Estadual de Montes Claros e depositada no Herbário Montes Claros com o número de tomo 4001. O material vegetal foi encaminhado para o laboratório de Farmacognosia da Faculdade de Saúde Ibituruna para preparação do extrato bruto e realização de testes analíticos. Os testes realizados foram para identificação de Antraquinonas, Flavonóides, Taninos, Saponinas, Glicosídeos Cardiotônicos, Cumarinas e Alcalóides. Para obtenção do extrato, foi utilizadas folhas seca e trituradas. Ao pó (28 gramas) foi acrescentado 140 ml de álcool 70% iniciando o processo de maceração exaustiva. O procedimento foi realizado 3 vezes com intervalo de 4 dias entre cada um, ao final de cada etapa, os extratos obtidos foram acondicionados em um único frasco âmbar. Após a etapa de maceração exaustiva, o extrato foi levado a secagem em estufa 50°C por 3 dias, para obtenção do extrato hidroalcoólico seco. O cálculo de rendimento do extrato foi feito baseando-se na quantidade de pó seco da planta e a quantidade final obtida de extrato bruto seco, sendo observado o rendimento de 17,19%. Para realizar o teste de sensibilidade microbiana, preparam-se soluções nas concentrações 100, 250 e 500 mg/ml, onde o extrato bruto foi solubilizado em solução de salina estéril (NaCl a 0,85%). Foram utilizados como microrganismos testes as bactérias *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*. As suspensões das cepas testes em solução salina (NaCl a 0,85%) foram adquiridas no arquivo de bactérias do Laboratório de Microbiologia da Faculdade Pitágoras, as quais foram padronizadas de acordo com o tubo 0,5 da escala MC Farland correspondente a concentração de (1,5 x 10⁻⁸ UFC/ml). Foram utilizados como padrão 6 antibióticos para comparação dos halos de inibição frente aos possíveis halos de inibição do extrato sobre os microrganismos. Os antibióticos utilizados foram amoxicilina 10 µg (AMO), azitromicina 15 µg (AZI), tetraciclina 30 µg (TET), ciprofloxacina 5 µg (CIP), penicilina 10 un (PEN) e norfloxacina 10 µg (NOR). As concentrações contidas nos discos de antibióticos são concentrações padrões determinados pelo CLSI (2003). Esses foram selecionados a partir da disponibilidade destes no laboratório de Microbiologia e sua utilização para infecção do geniturinário, que são disponibilizados na Unidade Básica de Saúde. Com o Ágar Mueller-Hinton inoculados com as suspensões bacterianas, foram feitos poços com ponteira, possuindo diâmetro de 5 mm², e adicionado 50 µl das diferentes diluições do extrato, 100 mg/ml, 250 mg/ml e 500 mg/ml. A seguir foram depositados sobre a superfície de cada ágar inoculado, quatro diferentes tipos de antibióticos. Incubaram-se as placas em estufa bacteriológica a 35 ± 2°C por 18 horas e procedeu-se à leitura por meio de observações dos halos de inibição na zona de contato do extrato com o microrganismo, bem como dos discos de antibióticos com os microrganismos. Posteriormente foi feita a interpretação dos resultados. Os testes foram realizados em duplicata.

Resultados e discussão

A partir das análises qualitativas para identificação das classes de metabólitos secundários presentes nas folhas da planta *A. brasiliana* L. Kuntze pode-se identificar a presença de polifenóis (flavonóide e tanino) e cumarina, bem como ausência de glicosídeos antraquinônicos, saponina, glicosídeos cardiotônicos e alcalóides. A identificação dos compostos flavonóides foi observada diante de reações colorimétricas onde foram visualizadas colorações que variaram de amarelo a marrom, bem como a fluorescência na região de contato visto sob luz U.V (366nm).

Como observado em Carrera (2010), estudos fitoquímicos da *A. brasiliana*, demonstram a presença de flavonóides e taninos, justificando assim a ação analgésica a ela atribuída. Contudo, outros estudos não identificaram a presença de antraquinonas, saponina, glicosídeos cardiotônicos e alcalóides, confirmando os resultados obtidos neste estudo. Tal fato pode ser atribuído a diferenças dos fatores externos à planta, podendo levá-la ou não à produção de tais compostos. Segundo Rodrigues *et al.*, (2010) estudos feitos com *A. brasiliana* a cerca da identificação de metabólitos secundários foram observados a presença de flavonóides, saponinas, triterpenos e taninos, o que confirmaria a presença de flavonóide e taninos encontradas no presente estudo, contudo a presença de saponinas não foi observado nesta planta, isso pode ter ocorrido mediante os fatores externos nos quais a planta estava submetida, como clima seco, pouca disponibilidade de água, dentre outros. Com a mudança de estações do ano, as concentrações dos constituintes variam, podendo prevalecer um determinado metabólito secundário em uma estação e em outra a prevalência de outros compostos.



CIÊNCIA E TECNOLOGIA:
IMPLICAÇÕES NO ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO

FEPEG

F Ó R U M
ENSINO • PESQUISA • EXTENSÃO • GESTÃO

REALIZAÇÃO:



APOIO:



ISSN: 1806-549X

A presença de taninos foi possível ser observado pela formação de precipitado e coloração. De acordo Paulino *et al.*, (2012) os taninos são componentes polifenólicos distribuídos em plantas, são utilizadas na medicina tradicional por via interna como anti-diarreica, anti-hipertensiva, anti-hemorrágica, antimicrobiana, antiestomacais, antiinflamatória, por via externa são utilizadas para impermeabilizar as camadas mais expostas da pele e mucosas, protegendo assim as camadas subjacentes, no tratamento de feridas e queimaduras.

Trabalhos acerca da identificação de cumarinas na *A. brasiliana* são escassos, uma vez que sua confirmação se dá através da avaliação da atividade antimicrobiana sobre determinadas cepas, pois cumarinas são amplamente distribuídas nos vegetais e encontradas em fungos e bactérias (SIMÕES *et al.*, 2004), contudo há necessidade que trabalhos sejam realizados a fim de caracterizar a presença de cumarinas através de testes qualitativos, para que possa ser feito um paralelo com os demais metabólitos secundários observados.

O extrato bruto das folhas da *A. brasiliana* foi avaliado de acordo com a atividade antimicrobiana frente à ação das bactérias *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*. As cepas testadas demonstraram resistência a ação das diferentes concentrações do extrato (100, 250 e 500 mg/ml) da planta em estudo, não havendo formação de halo de inibição, porém diante dos discos impregnados de antibióticos foi observada a formação de halos demonstrando sensibilidade dos microrganismos a tais antibióticos.

Em nenhuma das concentrações testadas (100, 250 e 500 mg/ml) do extrato bruto houve atividade antimicrobiana, houve formação de halos de inibição, como pode ser observado na figura 1. O controle negativo do meio de cultura e do diluente (salina estéril) apresentaram resultados satisfatórios, uma vez que, não houve crescimento de microrganismos. Os resultados obtidos com os testes referentes à atividade antimicrobiana da *A. brasiliana* demonstram ausência de tal atividade sobre as cepas de microrganismos testadas. Este resultado mostra-se de acordo com os resultados obtidos por Kuwamoto *et al.*, (2010) uma vez que, estudos realizados por eles utilizando a mesma espécie coletada em Lavras-MG também apresentou ausência de inibição de crescimento dos microrganismos, utilizando como meio para crescimento o Ágar Müller-Hilton.

Contudo, a ausência da atividade antimicrobiana desta planta sobre as bactérias testadas difere dos estudos realizados por May Jandrey e Onofre (2009) e Caetano *et al.* (2002) utilizando essa mesma espécie, pois segundo os estudos feitos por estes autores, *A. brasiliana* possui ação antimicrobiana relevante sobre bactérias patogênicas *S. aureus*, *E. coli* e *P. aeruginosa*. É importante ressaltar que essas diferenças de resultados podem estar ligadas à técnica utilizada na montagem do antibiograma, sendo que, estes autores utilizaram discos de papel impregnados com extrato, podendo assim ser alcançada uma concentração maior nestes discos, já que na preparação dos discos o solvente é evaporado permanecendo somente o extrato concentrado, enquanto que o presente estudo utilizou uma técnica adaptada do *Método Kirby-Bauer*, na qual o extrato foi depositado no meio de cultura por meio de pequenos poços (5 mm²) feito no próprio meio.

Para Gobbo-Neto; Lopes (2007) a ausência de atividade antimicrobiana na planta em estudo pode estar associada aos fatores ambientais extrínsecos à planta, que influenciam significativamente na formação dos compostos de um vegetal, pois a disponibilidade de água, temperaturas elevadas, nutrientes fornecidos a planta permite que uma mesma planta em condições ambientais se diferencie em sua composição, podendo levar ao uso empírico de uma planta em uma região devido a uma determinada propriedade e em outro lugar essa planta não ter a mesma indicação. Portanto, é de extrema relevância que se realize levantamentos acerca do local de onde a planta será coletada para posteriores estudos, uma vez que, características ambientais inerentes a planta podem influenciar de forma significativa na presença ou ausência e até mesmo nas quantidades dos compostos químicos nela presentes.

Conclusões

Através da análise fitoquímica qualitativa foi possível identificar classes de metabólitos secundários presentes nas folhas da planta *A. brasiliana*, como flavonóide, tanino e cumarina. Em função das classes químicas encontradas, os extratos da planta são possuidores de substâncias com possível atividade anti-inflamatória, cicatrizante, antitumoral, dentre outros; podendo contribuir para a produção de fármacos mais eficazes e a preços mais acessíveis. A avaliação da atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico desta planta mostrou-se ineficaz contra os microrganismos testados, uma vez, que não foi observado halo de inibição no teste em difusão em Ágar. Estudos mais aprofundados acerca da prospecção fitoquímica e atividade antimicrobiana da planta *A. brasiliana* devem ser realizados, a fim de garantir os dados obtidos neste estudo, pois o reconhecimento e compreensão da atividade farmacológica atribuída a esta planta permitirá o uso correto pela população e possível desenvolvimento de fármaco.

Agradecimentos

Laboratório de Farmacognosia da Faculdade de Saúde Ibituruna (FASI), arquivo de bactérias do laboratório de microbiologia da Faculdade Pitágoras (FIPMOC) e faculdade Verde Norte (FAVENORTE).

Referências bibliográficas

- CAETANO, N. *et al.* Determinação de atividade antimicrobiana de extratos de plantas de uso popular como anti-inflamatório. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v. 12, supl., p. 132-135, 2002.
- CARRERA, C. R. Estudo bibliográfico sobre o potencial farmacológico de *Alternanthera brasiliana* (L.) Kuntze. **Trabalho de Conclusão de Curso** (graduação em Bacharel em Farmácia) - Universidade Feevale. Novo Hamburgo, 2010.
- GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Quím. Nova.** v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.
- KUWAMOTO, F. R. *et al.* Avaliação da atividade antimicrobiana da planta *Alternanthera brasiliana* coletada em Lavras – MG. In: **Seminário de Iniciação Científica** - UNIFENAS, Alfenas, 2010.
- LINHARES, J. F. P. *et al.* Etnobotânica das principais plantas medicinais comercializadas em feiras e mercados de São Luís, Estado do Maranhão, Brasil. **Rev. Pan-Amaz. Saude** [online]. 2014, v. 5, n. 3 [citado 2018-10-18], pp.39-46. Disponível em: <http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2176-62232014000300005&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 10 dez. 2014.



CIÊNCIA E TECNOLOGIA:
IMPLICAÇÕES NO ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO

FEPEG

F Ó R U M
ENSINO • PESQUISA • EXTENSÃO • GESTÃO

REALIZAÇÃO:



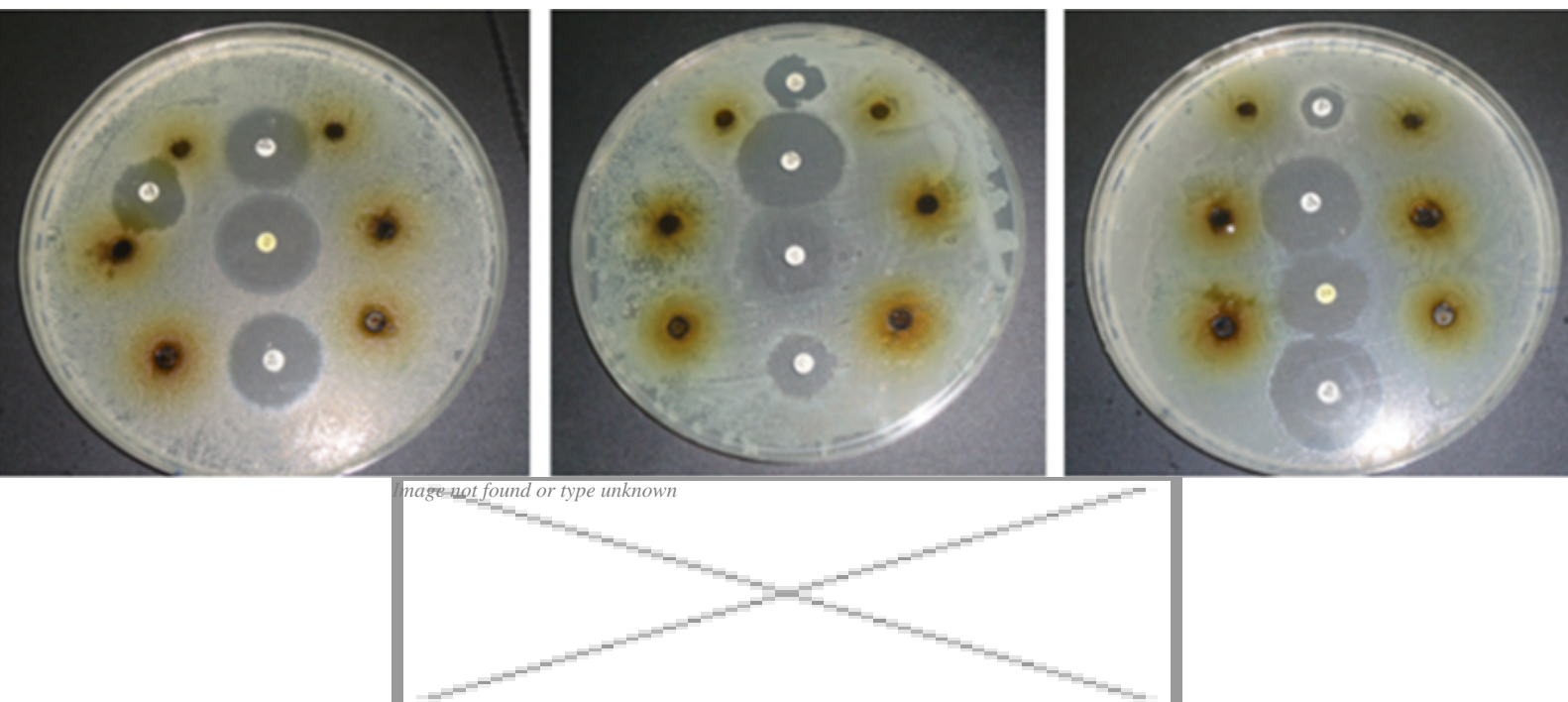
APOIO:



ISSN: 1806-549X

- LOPES, M. A. *et al.* Estudo das plantas medicinais, utilizadas pelos pacientes atendidos no programa “Estratégia saúde da família” em Maringá/PR/Brasil. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v. 17, n. 4, supl. I, p.702-706, 2015. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbpm/v17n4s1/1516-0572-rbpm-17-4-s1-0702.pdf>. Acesso em: 18 dez. 2015.
- MAY JANDREY, H. C. M.; ONOFRE, S. O. Atividade antimicrobiana de extratos etanólico de *Alternanthera brasiliana* (L.) O. Kuntz. (Amaranthaceae) sobre bactérias patogênicas. **Revista de Biologia e Saúde da Unisep**. v. 3, n. 1, p. 51-57, 2009.
- PAULINO, V. T.; BUENO, M. S.; ABDALLA, A. L. Composição química e compostos fenólicos em *Arachis pintoi* 'belmonte'. *Arch. zootec.* [online]. 2012, v. 61, n. 236, p.611-614. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.4321/S0004-05922012000400013>. Acesso em: 20 set. 2013.
- RODRIGUES, I. C. S. **Micropropagação, tolerância à salinidade e análise de betacianina em plantas de *Alternanthera brasiliana* (L.) Kuntze, cultivadas *in vitro***. Trabalho de Conclusão de Curso (graduação em Ciências Biológicas) – Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2010.
- SILVA, I. V. *et al.* Planta Medicinal: Por Dentro de *Alternanthera Brasiliana* (L.) O. Kuntze (Amaranthaceae) Cultivada em Quintais (Alta Floresta-MT). **Cadernos de Agroecologia**, [S.l.], v. 9, n. 4, feb. 2015. Disponível em: <http://revistas.aba-agroecologia.org.br/index.php/cad/article/view/16651>. Acesso em: 02 jun. 2016.
- SIMÕES, C. M. O. (Org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. Ed. Porto Alegre: Florianópolis, 2004.

Figura 1: Imagens dos antibiogramas: A- *E. coli*, B- *S. aureus* e C- *P. aeruginosa*.



Fonte: Arquivo próprio. 2012.