

AVALIAÇÃO FITOQUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DO EXTRATO DE *Schinopsis brasiliensis* Engler PARA UTILIZAÇÃO EM POSSÍVEL FORMULAÇÃO TÓPICA FITOTERÁPICA

Iana Luísa Melo De Assunção; Jéssica Cabral de Andrade; Alinne Sousa Barbosa; René
Monteiro Araújo; Ana Cláudia Dantas de Medeiros

Universidade Estadual da Paraíba – UEPB

Laboratório de Desenvolvimento em Ensaios de Medicamentos – LABDEM

Email: iana.assuncao@hotmail.com

Resumo

O interesse pelas plantas tem aumentado nos últimos anos e um dos fatores deste aumento é a procura significativa por novas substâncias que substituam os medicamentos atualmente usados. As pesquisas atuais proporcionaram avanços na utilização de insumos ativos farmacêuticos (IAF) derivados de plantas medicinais. Diversas partes da *Schinopsis brasiliensis* Engler. são utilizadas pela medicina tradicional com função antimicrobiana. As queimaduras são fontes de proliferação de microrganismos e de tratamento bastante complexo. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a eficácia antimicrobiana do extrato da planta em estudo, bem como a avaliação fitoquímica dos extratos macerados e nebulizados da planta, visando sua incorporação em uma formulação farmacêutica tópica. A planta em estudo foi submetida a diferentes métodos de extração, para se determinar qual extrato possuía a melhor atividade frente aos microrganismos testados, bem como sua avaliação fitoquímica através de métodos descritos na literatura. A atividade antimicrobiana do extrato vegetal foi avaliada pelo teste microbiológico de microdiluição para a determinação da concentração inibitória mínima (CIM) utilizando cepas padrões de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterococcus faecalis*. A CIM foi determinada através de análise visual após aplicação de corante resazurina, onde foi possível observar uma boa atividade contra cepas *E. coli* e *P. aeruginosa*. Não apresentando atividade satisfatória para os demais microrganismos testados. Foram quantificados metabólitos secundários como flavonoides, taninos e polifenóis, o que pode corroborar com os resultados encontrados na avaliação microbiológica, uma vez que tais componentes estão diretamente ligados com a atividade farmacológica do extrato vegetal utilizado.

PALAVRAS-CHAVE: Metabólitos Secundários, Resistência Bacteriana, Produtos Naturais.

INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais no Brasil é bastante difundido, uma vez que o país possui uma grande diversidade vegetal que são utilizadas na medicina tradicional. Porém, tais plantas são usadas pela população de modo indiscriminado, e sem um conhecimento mais detalhado do seu potencial terapêutico. O uso dessas plantas normalmente se justifica pelo conhecimento adquirido através dos imigrantes de origem europeia, africana e asiática ou dos povos indígenas. (SANTOS, 2013)

Na primeira metade do século passado, foram descobertas diversas drogas antimicrobianas. Todas elas ampliaram notavelmente o espectro de enfermidades infecciosas que se podiam prevenir ou curar. Apesar da rapidez com que se introduzem novos agentes antimicrobianos, as bactérias têm demonstrado uma grande capacidade para desenvolver resistência a esses fármacos, tornando-os menos eficientes (CHAVES, 2011).

Partindo do conhecimento popular, algumas das propriedades farmacológicas das plantas são conhecidas. As plantas produzem compostos antimicrobianos, quando são atacadas por microrganismos, e esses compostos podem ser usados como

componentes de um fitoterápico. Para isso se faz necessário testes de avaliação da atividade antimicrobiana e posteriormente uma produção de formulações (SANTOS, 2009). Desde a antiguidade, as plantas medicinais são utilizadas na arte de curar. As informações de cura dessas plantas são transmitidas de geração para geração. A partir dessas informações, plantas medicinais vem sendo utilizadas no tratamento de diversas doenças. No Brasil, o uso de plantas medicinais, como alternativa de tratamentos, esta sendo implementada no sistema único de saúde (MARTINS, 2009).

Por apresentar uma enorme biodiversidade, o Brasil possui grande potencial na produção de medicamentos a base de plantas (Fitoterápicos). A biodiversidade juntamente com o conhecimento popular, agem sinergicamente no desenvolvimento de novas drogas (MARTINS, 2009).

O estudo dos usos tradicionais de plantas e seus produtos na região Nordeste do Brasil vem aumentando progressivamente nos últimos anos, e permitiu a recolha de um conjunto significativo de conhecimento. Os curandeiros tradicionais de plantas medicinais chamados como "raizeiros" pelos povos da região do Nordeste do

Brasil tem um conhecimento louvável das plantas medicinais que crescem em torno deles. Há uma necessidade urgente de se estudar este precioso conhecimento do uso de plantas e ervas como remédios que são recusadas devido à escassez de espécies, que é causada principalmente pela atividade humana juntamente com o longo período da estação seca. Neste contexto, a conservação e verificação científica de plantas medicinais raras e menos conhecidas assumem maior importância (AGRA, 2007).

Tendo em vista a limitação enfrentada atualmente frente a resistência de bactérias aos agentes antimicrobianos, buscar novas alternativas para os tratamentos de infecções esta sendo a grande “luta” por parte das indústrias farmacêuticas (MARTINS, 2009).

A família Anacardiaceae compreende um grande número de plantas utilizadas na medicina popular. São encontradas no Brasil cerca de 13 gêneros e 68 espécies. Dentre as espécies, as que possuem um maior valor econômico são: *S. brasiliensis* Engl, *S. haenklana*, *S. lorentzii* e *S. balansae* (SANTOS, 2013).

A *Schinopsis brasiliensis* Engler., é um vegetal comum no nordeste brasileiro,

principalmente na região que compreende a caatinga. Atinge uma altura de 12 a 22 metros, apresentando caule aéreo, tronco forte e lenhoso, possui ramos espinhosos, folhas aromáticas, com flores alvas e pequenas e fruto alado. É classificado como uma planta xerófita, heliofita, totalmente decídua durante o período seco e que floresce em épocas variáveis do ano (MACHADO, 2012).

Os raizeiros da cidade de Campina Grande-PB, indicam o uso de braúna para tratar diversas enfermidades: inflamações nos dentes, faringite, laringite, diarreia, disenteria, catarro, gripe, tosse, ação anti-séptica, e para cicatrização de feridas. Tais atividades, se devem ao fato dessa planta apresentar metabolitos secundários como: flavonoides, taninos, antocianinas, saponinas, alcaloides, flavonóis e flavonas (MACHADO, 2012).

Desta forma este trabalho objetiva caracterizar um novo insumo ativo vegetal a partir de *S. brasiliensis* Engler., com a finalidade de ser utilizado em uma possível formulação de uso tópico fitoterápica para tratamento de queimaduras.

METODOLOGIA

1. CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA

Foi realizada a quantificação de polifenóis totais e flavonóides, através de espectrofotometria na região do UV-visível, seguindo os métodos descritos por CHAVES *et al.* (2011). O método determinado por Makkar e Becker (1993) foram usados na quantificação de taninos totais e polifenóis respectivamente. Catequina foi usado na construção da curva de calibração dos taninos e o resultado expresso por mg de equivalentes por g de extrato. Já para os polifenóis, os resultados foram expressos em mg de equivalentes de ácido galico.

2. BIOMONITORAMENTO MICROBIOLOGICO

Para a avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos obtidos, foram utilizadas cepas ATCC de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterococcus faecalis*. O inóculo microbiano foi padronizado, conforme descrito no Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2009). O ensaio microbiológico será realizado pela técnica de microdiluição, conforme descrita no CLSI (2009).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A caracterização da *S. brasiliensis* Engler., foi feita por reações químicas

(83) 3322.3222
contato@conbracis.com.br
www.conbracis.com.br

específicas qualitativas, a partir da droga vegetal seca com reagentes específicos para cada classe, mostrando presença de flavonoides, polifenóis e taninos como esta apresentado na tabela.

Tabela 1: Quantificação dos metabólitos secundários.

| METABÓLITOS SECUNDÁRIOS (mg/G) | EXTRATOS | |
|--------------------------------|-----------------------|-------------------------|
| | Braúna Fúlia Macerado | Braúna Fúlia Nebulizado |
| Flavonóides | 70,03205018 | -- |
| Polifenóis | 216,786727 | 386,7457671 |
| Taninos | 13,15853659 | 4,904878049 |

Existe uma crescente convicção de que alguns flavonoides são particularmente benéficos, atuando como antioxidantes e dando proteção contra doenças cardiovasculares e certas formas de câncer, apresentando ainda atividade antimicrobiana. Os taninos apresentam ação antidiarreica podendo ser utilizado no caso de disenteria; atividade antisséptica, explicada pela ação em precipitar as proteínas das células superficiais das mucosas e dos tecidos, formando um revestimento protetor. E ainda atividade antimicrobiana (MORAIS, 2011)

É de conhecimento científico o potencial antioxidante dos compostos fenólicos, atuando como redutores de oxigênio singlete, nas reações de oxidação lipídica e na quelatção de metais. Apresentam uma ampla gama de propriedades farmacológicas, como antialérgicas, antiarteriogênicas, antiinflamatórias, antimicrobianas,

antitrombóticas e também efeitos cardioprotetores e vasodilatadores (ROCKENBACH, 2008)

A microdiluição utiliza microplacas com 96 poços, com volume de meio de cultura entre 0,1 e 0,2 mL. A técnica de diluição em microplacas serve para verificar a atividade antimicrobiana em extratos vegetais. A técnica de microdiluição é empregada na pesquisa de novos compostos com atividade antimicrobiana contra bactérias e fungos. Os valores de CIM foram determinados pela leitura visual após revelação com resazurina, é um indicador de óxido-redução que tem sido utilizado para avaliar a viabilidade de células microbianas.¹⁹ A resazurina (7-hidroxi-3H-fenoxazina-3-ona-10-óxido) de cor azul é oxidada na presença de células viáveis a resofurina, substância de coloração vermelha.

De acordo com os resultados expostos na tabela, o extrato etanólico de braúna mostrou-se eficiente frente aos microrganismos *P. aeruginosa* e *E. coli*. O extrato conseguiu inibir o crescimento bacteriano até uma concentração muito baixa, caracterizando sua eficiência.

Quando se comparam estudos de atividade antimicrobiana de extratos de

plantas medicinais, é notória a dificuldade de comparação entre os resultados, pois as variáveis vão dos aspectos climáticos que exercem influência na composição química, como o estágio de desenvolvimento do vegetal quando da sua coleta, parte da planta estudada, forma de preparar o material para estudo e, principalmente, os protocolos seguidos nos experimentos (ELISSA, 2008).

A partir do conhecimento prévio da atividade antimicrobiana de alguns extratos vegetais, novas moléculas podem ser sintetizadas com finalidades terapêuticas. Diversas espécies vegetais têm sido utilizadas, pelas características antimicrobianas, através de compostos sintetizados pelo metabolismo secundário. Essa atividade é medida pela menor concentração do extrato capaz de inibir o crescimento do microrganismo que está sendo testado. Esse valor é conhecido como Concentração Inibitória Mínima (CIM).

O teste de microdiluição é bastante conveniente por ser um método barato, pois se usa um volume pequeno das substâncias, divididas em 96 poços de formatos variados.

A CIM foi determinada visualmente, após a utilização do corante resazurina. Esse corante avalia a

viabilidade de células microbianas e se baseia no princípio da oxido-redução.

Tabela 2 - CIM

| MICROORGANISMOS | RESULTADO NA MICROPLACA |
|-------------------------------|------------------------------|
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | Eficaz até F1 (0,0125 mg/mL) |
| <i>Enterococcus faecalis</i> | Não eficaz |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | Não eficaz |
| <i>Escherichia coli</i> | Eficaz até E (0,0625 mg/mL) |

A Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi relativamente alta, porém foi a menor concentração capaz de inibir o crescimento do microrganismo. A menor dose verificada foi de 0,0625 mg/mL, porém sabe-se que a concentração de um extrato vegetal com atividade antibiótica deve ser menos 0,1 mg/mL, para que o extrato seja bem utilizado na terapêutica.

Observou-se uma atividade contra os microrganismos *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*, patógenos que são isolados frequentemente e infecções microbianas. Não apresentando atividade satisfatória para os demais microrganismos testados.

CONCLUSÃO

O extrato de *S. brasiliensis* apresentou características que lhe confere o poder antimicrobiano, podendo ser utilizado em uma formulação para ser usada em queimaduras da pele. Sua atividade antimicrobiana se deve a

presença de metabolitos secundários (taninos, flavonoides, polifenóis). Quando submetido a testes para determinação da CIM, mostrou-se eficiente contra patógenos que acomentem, frequentemente, infecções humanas.

REFERÊNCIAS

- AGRA, M.F.; FREITAS, P.F.; BARBOSA, F.J.M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, p. 114-140, 2007b.
- CHAVES, T.P.; DANTAS I. C.; FELISMINO D.C.; VIEIRA K. V. M.; CLEMENTINO E.L.C.; COSTA L.S.; Atividades antimicrobiana das folhas de *Schinopsis brasiliensis* Engler. **Biofar** Volume 05– Número 02 – 2011.
- CLSI, Clinical and Laboratory Standards Institute: Normas de Desempenho para Testes de Sensibilidade Antimicrobiana: **15º Suplemento Informativo** v.25, n.1, 2009.
- COWAN, M. M. Plants Products as Antimicrobial Agents. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 12, n. 4, p. 564-582, 1999.

ELISSA, A. OSTROSKY, M. K.; MIZUMOTO, M. E. L.; LIMA, T. M.; KANEKO S.O.; NISHIKAWA, B.R.F. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. 18(2): 301-307, Abr./Jun. 2008.

FONSÊCA, S. G. C.. **Farmacotécnica de Fitoterápicos**. 1ª ed. Fortaleza/Ceará: Universidade Federal do Ceará, 2005.

MACHADO, S. E. F. **Avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos fracionados de casca e folha da Schinopsis brasiliensis Engler. através de análise comparativa entre os métodos de difusão em disco e de cavidade em placa**. 2012.

MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. Vanillin-HCl method for condensed tannins: Effect of organic solvents used for extraction of tannins. **Journal of Chemical Ecology**, n. 4, v. 19, 1993.

MARTINS, Rosana Mendonça; CORTEZ, Lúcia Elaine Ranieri; FELIPE, Daniele Fernanda. Desenvolvimento de formulações de uso tópico empregando o óleo essencial extraído do cravo-da-

índia. **Saúde e Pesquisa**, v. 1, n. 3, p. 259-263, 2009.

MORAIS, J. T. M.. **Determinação dos valores de referencia com intervalos quantitativos para ensaios físico-químicos e perfil químico por CLAE-DAD para controle de qualidade da cavalinha (Equisetum giganteum L.)**. 2011.

ROCKENBACH, I.I.; SILVA, G.L.; RODRIGUES, E.; KUSKOSKI, E.M.; FETT, R. Influência do solvente no conteúdo total de polifenóis, antocianinas e atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva (*Vitis vinifera*) variedades Tannat e Ancelota. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**: 238-244, dez. 2008.

SANTOS, E. B. et al. Estudo Etnobotânico de Plantas Medicinais para Problemas Bucais no Município de João Pessoa, Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 1B, p. 321- 324, 2009.

SANTOS, R.L. **Desenvolvimento de um dentrificio a partir de extrato nebulizador de Schinopsis basiliense Engler**. 2013

SILVA, N.C.C.; FERNANDES J. A. Biological properties of medicinal plants: a review of their antimicrobial activity. **J.**

Venom. Anim. Toxins incl. Trop.

Dis vol.16 no.3 Botucatu 2010.

ROCKENBACH, I.I.; SILVA, G.L.;

RODRIGUES, E.; KUSKOSKI, E.M.;

FETT, R. Influência do solvente no conteúdo total de polifenóis, antocianinas e

atividade antioxidante de extratos de

bagaço de uva (*Vitis vinifera*) variedades

Tannat e Ancelota. **Ciência e Tecnologia**

de Alimentos: 238-244, dez. 2008.