

EXTRATOS METANÓLICOS DE *Eugenia uniflora* L. (PITANGA) E *Psidium cattleianum* S. (ARAÇÁ): DETERMINAÇÃO DA AÇÃO ANTIBACTERIANA E EFEITO CITOTÓXICO

MARCELLE OLIVEIRA GARCIA¹; MARCY HELI RODRIGUES²; ELIANA BADIALE FURLONG³; SILVIA DE OLIVEIRA HÜBNER⁴; EDUARDA HALLAL DUVAL⁵; DAIANE DRAWANZ HARTWIG⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – marcelle_garcia@hotmail.com

²Universidade Federal de Rio Grande – marcyheli@hotmail.com

³Universidade Federal de Rio Grande – dqmebf@furg.br

⁴Universidade Federal de Pelotas – sohubner@yahoo.com.br

⁵Universidade Federal de Pelotas – eduardahd@hotmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas – daianehartwig@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

As doenças infecciosas nas instituições de saúde e na comunidade, de países de alta e baixa renda, têm aumentado devido à resistência bacteriana aos antimicrobianos convencionais causada pelo uso excessivo e descontrolado destes medicamentos. A resistência dos micro-organismos patogênicos é um grande problema, pois as cepas multirresistentes são responsáveis por aproximadamente 50% das infecções hospitalares em todo o mundo (WHO, 2018). Alguns micro-organismos como *Klebsiella pneumoniae* e *Acinetobacter baumannii* são responsáveis pelo agravamento dessa situação devido a sua resistência a antimicrobianos anteriormente eficazes, dificultando assim o tratamento.

A busca por novos antimicrobianos para superar a resistência crescente apresentada por estas bactérias tem sido uma das principais prioridades de pesquisa e desenvolvimento em saúde pública. As plantas medicinais estão dentre os produtos naturais de grande interesse científico devido à possibilidade de empregá-las como fitofármacos, bem como, por apresentarem compostos metabólicos em sua estrutura com potencial antimicrobiano (PEREIRA; CARDOSO, 2012). Sendo assim, o objetivo do estudo foi extrair, caracterizar e avaliar o efeito citotóxico e a atividade antibacteriana dos extratos metanólicos de *E. uniflora* L. (EME) e *P. cattleianum* S. (EMP) frente a *A. baumannii* e *K. pneumoniae*.

2. METODOLOGIA

Os frutos de *E. uniflora* L. e *P. cattleianum* S. foram obtidas no pomar do Centro Agropecuário da Palma na BR 116 – Km 537, no município de Capão do Leão – RS, Brasil. Os frutos de ambas plantas foram congelados em ultrafreezer,

lioofilizados e macerados. A extração e a caracterização química dos extratos metanólicos foram descritos por SCAGLIONI et al. (2014). Para a caracterização química dos ácidos fenólicos foram utilizados padrões de referência, tais como: gálico, protocatecoico, clorogênico, hidroxibenzoico, cafeico, siríngico, vanilina, cumárico e ferúlico.

Para as análises microbiológicas foram utilizadas cepas padrão de *A. baumannii* ATCC 19606 e *K. pneumoniae* ATCC 700603. Para o ensaio de determinação da concentração inibitória mínima (CIM) foi utilizado o método de microdiluição em caldo (CLSI, 2017), utilizando microplacas com 96 cavidades. As concentrações dos extratos testados foram de 0,15 a 32,3 mg.m⁻¹ para o EME e de 0,14 a 31,4 mg.mL⁻¹ para o EMP. Os experimentos foram realizados em triplicata e as placas incubadas à 37°C por 24 horas. Após a incubação foram adicionados 20 µl do reagente Cloreto 2, 3, 5–Trifeniltetrazólio a 0,5% em todas as cavidades e a placa foi incubada por 20 minutos, à 37°C. A partir dos resultados da CIM foi realizada a determinação da concentração bactericida mínima (CBM), seguindo orientações do CLSI (2017), para observar se a ação do extrato foi bactericida ou bacteriostática.

Para a avaliação do efeito citotóxico dos extratos foram utilizadas células da linhagem *Madin Darby Bovine Kidney* (MDBK) e seguiu-se o método proposto por PICOLI et al. (2015). As concentrações testadas foram 0,15 a 2,5 mg.mL⁻¹ para EME e 0,14 a 2,4 para EMP. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$), com o auxílio do software SAS System for Windows versão 8.0.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram encontrados diferentes ácidos fenólicos nos extratos testados. No EME foi possível observar três ácidos fenólicos, sendo eles: ácido gálico (2,95 mg.g⁻¹), ácido protocatecóico (2,08 mg.g⁻¹) e ácido cumárico (0,075 mg.g⁻¹). KARWOWSKI (2012) também identificou ácido gálico (1.056,16 mg/kg⁻¹) e ácido p-cumárico (8,44 mg.kg⁻¹) em frutos de *E. uniflora* L.. Em uma pesquisa realizada com suco de frutos de *E. uniflora* L. foi encontrado o ácido gálico (1.063,32 mg em 100 g⁻¹ de suco) como composto majoritário (RUTZ, 2016). Já o EMP em nosso estudo apresentou como composto majoritário ácido cafeico (0,775 mg.g⁻¹), seguido de

ácido clorogênico ($0,625\text{mg.g}^{-1}$) e ácido gálico ($0,2\text{mg.g}^{-1}$). MEDINA et al. (2011) ao avaliarem extratos aquosos e de acetona de *P. cattleianum* S. encontraram epicatequina e ácido gálico, como os principais compostos fenólicos, o mesmo encontrado por TEIXEIRA (2015) ao verificar frutos dessa espécie. Os diferentes compostos fenólicos em plantas podem ser decorrentes da espécie, das características ambientais do cultivo, variedade da cultivar e maturação dos frutos, além da peculiaridade metodológica relacionada ao solvente extrator e ao polifenol usado como padrão para a quantificação dos compostos fenólicos (KARWOWSKI, 2012).

Quanto aos extratos testados, ambos foram mais eficazes contra a cepa padrão de *A. baumannii*, no qual o EME apresentou a menor CIM ($5,3\text{ mg.mL}^{-1}$) quando comparado com o EMP ($11,6\text{ mg.mL}^{-1}$). No teste de CBM, o EME mostrou-se bactericida na concentração de $32,3\text{ mg.mL}^{-1}$, enquanto o EMP inibiu o crescimento bacteriano (bacteriostático). Para *K. pneumoniae* ATCC 700603, as concentrações encontradas na CIM foram maiores, sendo de $31,4\text{ mg.mL}^{-1}$ e $32,3\text{ mg.mL}^{-1}$, para EMP e EME, respectivamente. SILVA et al. (2012) testaram EME frente a isolados de *E. coli* e o extrato mostrou ação na CIM de $2,2\text{ mg.mL}^{-1}$. DESOTI et al. (2011) avaliaram EMP e observaram CIM de $0,25\text{ mg.mL}^{-1}$ frente a *S. aureus* ATCC 6538, apresentando ação bacteriostática, mas quando testado o mesmo EMP para *E. coli* ATCC 8739 e *S. typhi* IAL 1434, não foi encontrada CIM.

Quanto a citotoxicidade para os extratos metanólicos testados, analisamos no EME que as células MDBK obtiveram um maior crescimento nas concentrações de $0,3$ e $0,15\text{ mg.mL}^{-1}$ ($p \leq 0,05$). O EMP também não foi tóxico para as células nas duas menores concentrações ($2,3$ e $0,14\text{ mg.mL}^{-1}$) ($p \leq 0,05$). ALVARENGA et al. (2013) analisaram diversas concentrações ($0,00625$, $0,0125$, $0,025$, $0,05$, $0,1$, $0,2$ e $0,4\text{ mg.mL}^{-1}$) de extrato hidroalcoólico das folhas de *P. cattleianum* S., frente a células de fibroblastos de mamíferos LLC-MK2 e não foi observada citotoxicidade significativa nas concentrações avaliadas após 24h de tratamento.

4. CONCLUSÕES

Os extratos metanólicos avaliados neste estudo apresentaram ácidos fenólicos (ácido gálico, ácido protocatecóico e ácido cumárico) em sua composição química. Em relação a ação antibacteriana ambos os extratos demonstraram efeito sobre as cepas padrão de *A. baumannii* e *K. pneumoniae*. Em relação ao efeito

citotóxico em células de linhagem MDBK, estas apresentaram uma maior viabilidade celular nas menores concentrações de extrato testadas.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVARENGA, F. Q.; MOTA, B. C. F.; LEITE, M. N.; FONSECA, J. M. S.; OLIVEIRA, D. A.; ROVO, V. De A.; e SILVA, M. L. A.; ESPERANDIM, V.; BORGES, A.; LAURENTIZ, R. S. In vivo analgesic activity, toxicity and phytochemical screening of the hydroalcoholic extract from the leaves of *Psidium cattleianum* Sabine. **Journal of Ethnopharmacology**, v.150, p. 280–284, 2013.

CLSI, Performance Standards al Susceptibility Testing; Approved Standar – 27th Edition. CLSI document M100. **Clinical and Laboratory Standards Institute**, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania 19087, USA, 2017.

DESOTI, V.C.; MALDANER, C.L.; CARLETTO, M. S.; HEINZ, A. A.; COELHO, M. S.; PIATI, D.; TIUMAN, T. S. Triagem fitoquímica e avaliação das atividades antimicrobiana e citotóxica de plantas medicinais nativas da região oeste do estado do Paraná. **Arquivos de Ciência da Saúde de UNIPAR**, v. 15, p.3-13, 2011.

MEDINA, A. L.; HASS, L. I. R.; CHAVES, F. C.; SALVADOR, M.; ZAMBIAZI, R. C.; SILVA, W. P. da; NORA, L.; ROMBALDI, C. V. Araçá (*Psidium cattleianum* Sabine) fruit extracts with antioxidant and antimicrobial activities and antiproliferative effect on human cancer cells. **Food Chemistry**, v.128, p.916–922, 2011.

KARWOWSKI, M.S.M. (2012) **Estudo da estabilidade, comportamento reológico e dos compostos fenólicos de frutas da Mata Atlântica**. [Dissertação]. [Curitiba (PR)]: Universidade Federal do Paraná.

PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes Vegetable secondary metabolites and antioxidants benefits. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 3, n. 4, p.146-152, 2012.

PICOLI, T.; BARBOSA, J. S.; VARGAS, G. D'Á.; HÜBNER, S. de O.; FISCHER, G. Toxicidade e eficiência do dimetilsulfóxido (DMSO) no congelamento de células Madin-Darby Bovine Kidney (MDBK). **Science and Animal Health**, v.3, n.2, p.159-168, 2015.

RUTZ, JK. (2016) **Microencapsulação de carotenoide: caracterização, estabilidade e aplicação em sistemas alimentícios**. [Tese de Doutorado]. [Pelotas (RS)]: Universidade Federal de Pelotas.

SCAGLIONI, P. T.; de SOUZA, T. D.; SCHIMIDT, C. G.; FURLONG, E. B. Availability of free and bound phenolic compounds in rice after hydrothermal treatment. **Journal of Cereal Science**, 60:3, 2014.

SILVA, N. C. C.; BARBOSA, L.; SEITO, L. N.; FERNANDES, Junior A. Antimicrobial activity and phytochemical analysis of crude extracts and essential oils from medicinal plants. **Natural Product Research**, 26:16, 2012.

TEIXEIRA, A. M. (2015) **Estudo fitoquímica de genótipos de araçá (*Psidium cattleianum*) em seis safras (2008 a 2013)**. [Tese de Doutorado]. [Pelotas (RS)]: Universidade Federal de Pelotas.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **High levels of antibiotic resistance found worldwide, new data shows**. **News Release**, Bangkok: WHO; 2018. Disponível em: <<http://www.who.int/news-room/detail/29-01-2018-high-levels-of-antibiotic-resistance-found-worldwide-new-data-shows>>. Acesso em: 09 set 2019.