

ANÁLISE DO POTENCIAL ANTIBACTERIANO E TEORES DE TANINOS DE EXTRATOS FOLIARES DE PIPTADENIA GONOACANTHA (PAU-DE-JACARÉ)

André Vinícius Acipreste Ribeiro¹, Lucas Resende Gonçalves Silva²,
Camilo Amaro de Carvalho³

Resumo: *Este trabalho remeteu à avaliação do potencial antibacteriano das frações de extratos das folhas de Piptadenia gonoacantha. A partir da coleta das folhas, foram preparados extratos hidroacetônicos para extração dos taninos. Pelos resultados, por meio do processo de extração, verificou-se que as folhas de P. gonoacantha apresentam taninos em sua constituição com atividade antibacteriana frente a bactérias patogênicas da espécie Staphylococcus aureus pelo método de difusão em meio sólido com perfuração em ágar, evidenciando uma inibição significativa. Pela Cromatografia de Camada Delgada (CCD) realizada com as frações que apresentaram halos de inibição, foi evidenciado que possivelmente ocorreu a extração de apenas um tipo de tanino, sendo reportada sua semelhança ao padrão de ácido gálico. Entretanto, para confirmação em relação à identificação desse tanino, devem-se realizar outros processos, como a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).*

Palavras-chave: CCD, CLAE, hidroacetônicos, Staphylococcus aureus.

Introdução

Piptadenia gonoacantha (Fabaceae) é uma espécie arbórea frequente na Mata Atlântica das Regiões Sul e Sudeste do Brasil. Essa espécie é facilmente identificada por suas asas lenhosas longitudinais, repletas de acúleos presentes no tronco, quando novo, e nos galhos (CARVALHO et al. 2010).

Considerando que não há estudos sobre o potencial antibacteriano de taninos encontrados nas folhas da espécie P. gonoacantha e que as pesquisas

¹Graduando do Curso de Engenharia Química – FACISA/UNIVIÇOSA. E-mail: avacipreste@gmail.com.

²Graduando do Curso de Enfermagem – FACISA/UNIVIÇOSA. E-mail: lucasrgs18@gmail.com.

³Professor do Departamento de Medicina e Enfermagem da Universidade Federal de Viçosa (UFV). E-mail: camiloamaro@yahoo.com.br.

sobre atividade antibacteriana de plantas é um grande desafio, este trabalho teve como objetivo avaliar os aspectos antibacterianos de frações isoladas do extrato da espécie *P.gonoacantha* frente a *S. aureus*.

Material e Métodos

Material Botânico

Foram coletadas plantas da espécie *Piptadenia gonocantha*, conhecida popularmente como Pau-de-jacaré, dentro dos limites da FACISA/UNIVIÇOSA, no município de Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

Preparo do Extrato

As folhas de *P. gonocantha* foram secas em estufa de ar circulante, a 40°C, e trituradas em moinho de facas. O extrato foi preparado em acetona-água (7:3), sendo filtrado a vácuo após 4h sob maceração dinâmica, seguido de concentração em rotaevaporador. A solução resultante foi liofilizada, obtendo 9,3g do extrato liofilizado.

Preparo da Cromatografia Líquida Clássica (CLC)

Para a cromatografia, a fase estacionária foi preparada com sílica utilizando acetona:água (7:3) como eluente. O extrato para a eluição foi preparado a 0,5g.mL⁻¹ da solução liofilizada. As frações foram coletadas de 1 mL em 1 mL em seus respectivos solventes acetona-água (6:4;5:5; 4:6; 3:7; 2:8; e 1:9), H₂O, H₂O/OH⁻. Ao final desse processo, foram obtidas 135 frações de 1 mL cada. Essas frações foram concentradas em estufa, a 40 °C, até secagem total dos solventes utilizados. Posteriormente, foram ressuspensas em álcool de cereais para análise da atividade antibacteriana.

Preparo do Meio de Cultura e das Bactérias

Realizou-se a análise da atividade antibacteriana da espécie *P. gonoacantha* pela adaptação do método de difusão em meio sólido com perfuração em

ágar. A bactéria utilizada *S. aureus* (ATCC29213) foi obtida no Laboratório de Imunobiologia Molecular e Glicobiologia da UFV. No ensaio, foi empregado o meio de cultura Mueller-Hinton (MH), preparado segundo as especificações do fabricante. As culturas foram preparadas com suspensões bacterianas em solução salina NaCl 0,9 % (Escala de McFarland 0,5 - 1,5.10⁸ células.mL⁻¹) (NCCLS, 2003). Os poços foram confeccionados, utilizando-se uma bomba a vácuo. Em cada placa, foram perfurados 16 poços para receber os extratos e os controles positivo (Eritromicina a 10 mg.mL⁻¹, Pharmanostra®) e negativo (álcool de cereais). Em cada poço, aplicaram-se 10µL dos extratos e controles, correspondentes a cada um dos testes. Após a incubação por 24 h a 40 °C, os diâmetros dos halos de inibição foram mensurados. Todo o experimento foi realizado em duplicata.

Preparo da Cromatografia Delgada (CCD)

As frações que apresentaram halos de inibição foram eluídas com CHCl₃-HeOH (10:40) em placas cromatográficas de alumínio (Sílica Gel G60) e comparadas com a eluição da solução-padrão de ácido gálico. Desse modo, foram analisadas 16 frações, sendo o fator de retenção calculado por meio de régua milimétrica e tabulação. Toda a análise cromatográfica foi realizada em duplicata de amostras.

Resultados e Discussão

A avaliação do potencial antibacteriano das frações coletadas revelou apenas oito com inibição do crescimento bacteriano de forma significativa, sendo as frações de sete a 14 as mais promissoras (Tabela 1). A formação de halos de inibição por essas frações permitem relacionar a atividade antibacteriana com compostos presentes na espécie. Por meio dos experimentos cromatográficos (CLC e CCD), pode-se inferir que esses compostos são pertencentes à classe de taninos, corroborando com outras pesquisas científicas realizadas por Carvalho (2012) e Carvalho et al., (2010).

As demais frações apresentaram inibição muito pequena (<6mm) ou não evidenciaram halos de inibição. Para realizar este trabalho, seguiu-se o critério sugerido por Holetz et al. (2002), considerando como resultado final de cada

extrato a média das três medidas dos halos de inibição e como sensível halo igual ou acima de 8 mm de diâmetro, conforme critérios de Parekh e Chanda (2007).

Tabela 1. Eficiência relativa de frações dos extratos de *P. gonoacantha* frente a *S. aureus* e relação cromatográfica em camada delgada de frações dos extratos de *P. gonoacantha* com atividade antibacteriana

Frações	1ª Placa			2ª Placa			Rf*** (Ácido Gálico)
	Halos (mm)*	Eficiência (%)**	Rf***	Halos (mm)*	Eficiência (%)**	Rf***	
7	9,20	60,0	0,4583	7,00	46,7	0,4583	0,5872
8	12,30	80,0	0,4722	9,50	60,0	0,4611	0,5872
9	10,00	70,0	0,4638	10,00	66,7	0,4638	0,5872
10	10,50	66,7	0,4666	12,30	80,0	0,4722	0,5872
11	7,80	46,7	0,4638	8,50	53,3	0,4444	0,5872
12	8,45	53,3	0,4472	9,00	60,0	0,4472	0,5872
13	6,80	43,3	0,6666	7,00	46,7	0,6722	0,5872
14	6,20	40,0	0,6944	6,00	40,0	0,6916	0,5872
C+****	15,00	100	-	15,00	100	-	-
C-*****	0	0	-	0	0	-	-

*Diâmetros médios (duplicata) em mm; ** Eficiência relativa ao controle positivo; *** Fator de Retenção; **** Controle positivo com Eritromicina a 10µg. µL-1; e ***** Controle negativo com álcool de cereais.

Na condução do experimento, a eritromicina foi utilizada como antibacteriano de referência (controle positivo), de modo a confirmar seu potencial antibacteriano frente a *S. aureus* (Carvalho, 2012). O teste antibacteriano com o álcool de cereais foi feito para comprovar a ausência da atividade antibacteriana desse composto, sendo fundamental a utilização dele para facilitar a ressuspensão das amostras contidas nas frações. Por meio da CCD, o Rf obtido foi satisfatório em relação ao padrão de ácido gálico, ou seja, o resultado da CCD demonstrou apenas a provável presença de um único tipo de tanino, como evidenciado na Tabela 1. Entretanto, para a confirmação dos

dados, novos experimentos estão sendo realizados em CLAE.

Os dados sugeriram que a espécie *P. gonoacantha* possui promissora atividade biológica frente a *S. aureus*. A grande ocorrência desse vegetal no Brasil e sua característica de rápido crescimento, somado ao fato de poucos estudos serem publicados avaliando tais ações, torna de extrema relevância os resultados deste trabalho, que pode ser usado como estratégia para o desenvolvimento farmacêutico de novas drogas, com propriedades antibacterianas.

Conclusões

Por meio dos testes realizados, pode-se inferir a possível presença de taninos nas frações dos extratos das folhas de planta *P. gonoacantha* e da acetona-água (7:3) como bom solvente extrator para esses compostos. Pela CCD feita com as frações que apresentaram halos de inibição, foi evidenciado que possivelmente ocorreu a extração de apenas um tipo de tanino, sendo reportada sua semelhança ao padrão de ácido gálico. Entretanto, para confirmação em relação à identificação desse tanino, devem-se realizar outros processos como CLAE.

Referências Bibliográficas

CARVALHO, A. G.; CARDOZO, M.A.R.; CATUNDA JUNIOR, F.E.A.; CARVALHO, A.G. Chemical constituents of *Piptadenia gonoacantha* (Mart.) J.F. Macbr (pau jacaré). Anais da Academia Brasileira de Ciências. Rio de Janeiro. v.82, n.3, pp. 561-567, 2010.

CARVALHO, C.A. **Caracterização botânica, fitoquímica e avaliação da atividade biológica de extratos de *Piptadenia gonoacantha* (FABACEAE)**. [Tese (doutorado)]. Viçosa: UFV; 2012. 58 p.

PAREKH J, CHANDA SV. In vitro antimicrobial activity and phytochemical analysis of some Indian medicinal plants. **Turkish Journal of Biology** 2007; 31:53 – 8.

Como citar esse trabalho:

RIBEIRO, A. V. A.; SILVA, L. R. G.; CARVALHO, C. A. Análise do potencial antibacteriano e teores de taninos de extratos foliares de *Piptadenia gonoacantha* (Pau-de-Jacaré). In: VI SIMPÓSIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE, 6, 2014, Viçosa. Anais... Viçosa: FACISA, Outubro, 2014.