

## Avaliação da atividade antibacteriana do extrato etanólico e das frações obtidas das folhas de *Solanum* sp. frente à bactéria gram positiva meticilina-resistente *Staphylococcus aureus*

COSTA, G.A.F.<sup>1</sup>, MORAIS, M.G.<sup>1</sup>; OLIVEIRA, G.T.<sup>2</sup>; ALVES, L.F.<sup>2</sup>; FERREIRA, J.M.S.<sup>2</sup>, LIMA, L.A.R. S.<sup>1</sup>

### RESUMO

*Staphylococcus aureus* é uma bactéria Gram positiva que pode provocar infecções como espinhas, pneumonia apresentando grande capacidade de resistência. O presente trabalho teve como objetivo detectar a presença de metabólitos secundários e avaliação da atividade antibacteriana do extrato etanólico e frações obtidas das folhas de *Solanum* sp. frente à *Staphylococcus aureus*. As folhas de *Solanum* sp. foram coletadas, secadas, trituradas e extraídas com etanol. O extrato foi particionado com solventes de polaridades crescentes. O teste de microdiluição em caldo foi desenvolvido para determinar a concentração inibitória mínima do extrato e das frações. Dentre as amostras, as frações hexânica, diclorometano e hidroetanólica apresentaram maior atividade antibacteriana com CIM de 2 mg/ml, com inibição de 87, 84 e 96% do crescimento, respectivamente. Alcalóides, cumarinas, flavonóides e taninos foram detectados na triagem fitoquímica. Os resultados demonstraram que as folhas de *Solanum* sp. possuem substâncias antimicrobianas, que podem ser futuramente utilizadas na síntese de antibióticos.

**Palavras-chave:** concentração, inibitória, mínima, frações, *Staphylococcus aureus*.

<sup>1</sup> Universidade Federal de São João Del-Rei – Laboratório de Fitoquímica e Produtos Naturais – CEP 35.501-296 Cidade Divinópolis – Estado Minas Gerais

<sup>2</sup> Universidade Federal de São João Del Rei – Laboratório de Microbiologia – CEP 35.501-296 Cidade Divinópolis – Estado Minas Gerais  
E-mail: gui83.ferreira@yahoo.com.br.

### INTRODUÇÃO

O contínuo aparecimento de novos mecanismos de resistência bacteriana a antimicrobianos tem gerado uma corrida das indústrias farmacêuticas para a produção e lançamento de um número crescente de novos compostos com ação antimicrobiana<sup>1</sup>. A crescente resistência destas bactérias aos fármacos atuais tem gerado elevadas taxas de mortalidade e são responsáveis por grande parte das infecções nosocomiais. Outro problema encontrado é o uso indiscriminado dos fármacos antimicrobianos<sup>2</sup>. *Staphylococcus aureus* é uma bactéria Gram positiva que apresenta elevada incidência, tanto na comunidade quanto no ambiente hospitalar, sendo que um dos mecanismos de resistência predominante nesta espécie é a produção de beta-lactamases, principalmente penicilinases, nos quais os principais alvos de degradações por estas enzimas são amoxicilina e meticilina. Esta bactéria é responsável por diversas infecções, tais como epiteliais, osteomelite, pneumonia, septicemia, bacteremia, miocardite e síndrome do choque tóxico<sup>2</sup>. As plantas sintetizam uma variedade de substâncias com atividade antimicrobiana, que apresentam uma diversidade de estruturas químicas capazes de reconhecerem e se ligarem a alvos moleculares presentes em bactérias patogênicas<sup>4</sup>. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade bacteriostática do extrato etanólico e frações frente à bactéria Gram positiva meticilina-resistente *Staphylococcus aureus* foi selecionada para este estudo devido a sua importância médica em prevalência nas infecções causadas por bactérias.

### MATERIAL E MÉTODOS

As folhas de *Solanum* sp. foram coletadas, secadas em estufa, trituradas em moinho de facas e extraídas por percolação exaustiva com etanol P.A., obtendo-se o extrato etanólico. Este foi fracionado por partição com solventes de polaridades crescentes, obtendo-se as frações hexânica (HEX), diclorometano (DCM), acetato de etila (AC) e hidroetanólica (HE)<sup>5</sup>. A triagem fitoquímica foi realizada para avaliar a presença das principais

classes de metabólitos secundários, caracterizados por reações químicas que resultam na formação de coloração, precipitado e espuma. A amostra Gram positiva meticilina-resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA) foi isolada a partir de uma amostra de exsudato de lesão e foi cedida pelo Laboratório de Microbiologia do Hospital São João de Deus (HSJD), Divinópolis, Minas Gerais, Brasil, na forma de estrias compostas em placas de Petri. No hospital, através do sistema automatizado de identificação e antibiograma VITEK2 compact, (BioMérieux, França), a cepa foi identificada quanto ao gênero *Staphylococcus* e pertencente a espécie *Staphylococcus aureus* portadora da enzima Extended Spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL). Esta amostra também mostrou o perfil de resistência aos seguintes antibióticos: Benzilpenicilina e Oxaciclina (Penicilinas), Ciprofloxacina, Moxifloxacina e Norfloxacina (Fluoroquinolonas), Eritromicina (Macrolídios) e Clindamicina (Lincosaminas). As amostras foram diluídas em dimetilsulfóxido 20% (DMSO) nas concentrações 2 a 0,25 mg/ml<sup>5</sup>. Foi utilizado o método de microdiluição em caldo em placas de 96 poços, desenvolvido em triplicata, para determinar a concentração inibitória mínima (CIM), capaz de inibir 80% ou mais do crescimento bacteriano. Estreptomicina e penicilina foram utilizadas como controle positivo e DMSO como controle negativo. As placas foram incubadas por 24 horas a 37 °C e a leitura realizada em espectrofotômetro (540 nm).<sup>6</sup>

## RESULTADOS

A triagem fitoquímica sugeriu a presença das seguintes classes de metabólitos secundários. Alcalóides foram detectados em todas as amostras. A presença de Cumarinas foram presentes na fração hidroetanólica. Flavonóides foram presentes nas frações hexânica, acetato de etila e hidroetanólica. Taninos condensados foram detectados nas frações acetato de etila e hidroetanólica. Saponinas e Esteróides/ Triterpenóides não foram detectados em nenhuma das amostras.

Quanto a atividade antimicrobiana, as frações hexânica, diclorometano

e hidroetanólica apresentaram concentração inibitória mínima de 2 mg/ml, com inibição de 87, 84 e 96% do crescimento da meticilina-resistente *S.aureus*, respectivamente. Já o extrato etanólico e a fração acetato de etila apresentaram concentração CIM maior que 2 mg/ml. O controle positivo apresentou CIM de 0,031 mg/ml, inibindo em 80% o crescimento, e o controle negativo não inibiu o crescimento bacteriano (Tabela 1).

Tabela 1: Determinação da atividade antibacteriana do extrato etanólico e frações frente à gram positiva meticilina-resistente *S.aureus* (MRSA):

Determinação da CIM e CBM do extrato etanólico e frações frente à Gram positiva meticilina-resistente <i>S.aureus</i> (MRSA).		
Amostra	CIM (mg/mL)	Inibição%
EE	>2	-
HEX	2	87
DCM	2	84
AC	>2	-
HE	2	96
Controle Positivo	0,031	80
Controle Negativo	-	-

EE: extrato etanólico, HEX: fração hexânica, DCM: fração diclorometano, AC: fração acetato de etila, HE: fração hidroetanólica. CIM: Concentração inibitória mínima. CBM: Concentração Bactericida mínima.

## DISCUSSÃO

Os resultados demonstraram atividade bacteriostática das folhas de *Solanum* sp. frente à bactéria meticilina-resistente *S. aureus*. Esta atividade pode ser atribuída aos metabólitos secundários detectados nas folhas como cumarinas, flavonóides, alcalóides e taninos.<sup>7</sup> As frações hexânica, diclorometano e hidroetanólica demonstraram maior potencial antimicrobiano, onde as substâncias responsáveis pela atividade não foram inibidas por Extended Spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL) produzidas pela espécie gram positiva em estudo. Pelos resultados obtidos, o método de partição por solventes, demonstrou ser eficiente no fracionamento das substâncias

químicas a partir do extrato etanólico, porque as substâncias com propriedades antibacterianas ficaram em maior concentração nas frações hexano, diclorometano e hidroetanólica, devido as interações químicas das mesmas com os solventes utilizados.<sup>4</sup> Este método combinado a ensaios biológicos possibilitou a obtenção rápida de resultados mais significativos, devido a maior concentração e separação destes compostos<sup>8</sup>.

## CONCLUSÕES

O extrato etanólico e frações forneceram informações promissoras com relação às folhas de *Solanum* sp., caracterizando-se como objetos importantes para o desenvolvimento de novas pesquisas, com esta espécie vegetal frente à diferentes cepas Gram positivas. Futuramente, as substâncias antibacterianas das amostras poderão ser isoladas, elucidadas e utilizadas como protótipos na síntese de novos antibióticos, bem como agentes potencializadores da ação antibacteriana de princípios ativos, contribuindo significativamente para a redução da resistência bacteriana aos antimicrobianos, bem como na redução dos casos e mortalidade causadas por infecções bacterianas.

## REFERÊNCIAS

- (1) JOANA, S.; PEDRO, P.; ELSA, G.; FILOMENA, M. Is vancomycin MIC creep a world wide phenomenon Assessment of *S. aureus* vancomycin MIC in a tertiary university hospital. **BMC Research Notes**. v.6, n.65.2013.
- (2) SANTOS, A.L.; SANTOS, D.O.; FREITAS, C.C.; FERREIRA, B.L.A.; AFONSO, I.F.; RODRIGUES, C.R.; CASTRO, H.C. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. **Jornal Brasileiro de Patologia Médica**. v. 43.n.6,2007.
- (3) NIKAIDO, H. Multidrug Resistance in Bacteria. Department of Molecular and Cell Biology. **Annual Research Biochemistry**, v.78, p.119-146, 2009.
- (4) GUIMARÃES, D.O.; MOMESSO, L.S.; PUPO, M.T. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Revista Química Nova**, v.33, p.667-679, 2010
- (5) SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Rio Grande do Sul: UFRGS, 2004.
- (6) Clinical and Laboratory Standards Institute. *Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; sixth edition*. **CSLI document M7-A6**. Clinical and Laboratory Standards Institute. Wayne, Pennsylvania, USA, 2003.
- (7) LÔBO, K.M.S. Avaliação da atividade antibacteriana e prospecção fitoquímica de *Solanum paniculatum* Lam. e *Operculina hamiltonii* (G. Don) D. F. Austin & Staples, do semi-árido paraibano. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.12, p.227-233, 2010.
- (8) HOSTETTMAN, K.; QUEIROZ, E.F.; VIEIRA, P.C. **Princípios ativos de plantas superiores**. São Carlos: EdUFSCar, p.59-100, 2003.