

2.12.99 - Microbiologia.

ANÁLISE FITOQUÍMICA E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIBACTERIANO E MODULADOR DO EXTRATO HEXÂNICO DE *Aloe vera* (L.) Burm. f. FRENTE À BACTÉRIAS MULTIRRESISTENTES.

Maysa Isadora de O. Alencar^{1*}, Edinaldo Fagner F. Matias², Maria Karollyna do N. Silva³, Letícia B. E. Alves¹, Alisson Emanuel P. Carvalho¹, Bárbara Ivina L. Silva¹, Luíza Caroline A. B. Teles¹

1. Graduado, Curso de Bacharelado em Biomedicina, Centro Universitário Dr. Leão Sampaio – UNILEÃO; * maysa_isadora@hotmail.com

2. Professor, orientador, UNILEÃO

3. Preceptora do Curso de Bacharelado em Biomedicina, UNILEÃO

Resumo:

O objetivo deste trabalho é realizar a análise fitoquímica e avaliar o potencial antibacteriano e modulador da resistência do extrato hexânico de *Aloe vera* (L.) Burm. f. Para isso, realizou-se prospecção fitoquímica e a quantificação dos compostos por meio de HPLC-DAD. Foram utilizadas nos testes as linhagens padrão e multirresistentes de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Para os testes de atividade antimicrobiana e modulação foi utilizado o método de microdiluição. Na análise química, foram identificados os compostos xantonas, flavononóis, Chalconas, auronas, e flavonononas que apresentam atividade antibacteriana. Foi observado, com significância estatística, nos testes de modulação com Amicacina e Gentamicina o sinergismo entre o extrato hexânico e a Amicacina frente a *E. coli*. Com isso, conclui-se que o extrato hexânico de *Aloe vera* (L.) Burm. f. apresenta-se como uma via alternativa na busca de compostos que potencializam a ação de drogas antimicrobianas.

Palavras-chave: *Aloe vera*; Microdiluição; Modulação.

Introdução:

O Brasil apresenta uma vasta diversidade biológica, tanto em número e variedade de espécies quanto na complexidade de seus biomas.

Dentre os produtos naturais empregados na terapia, tem-se a espécie *Aloe vera* (L.) Burm. f., que é utilizada popularmente no tratamento da acne e contra infecções por fungos. Esta planta tem as ações cicatrizante, anti-inflamatória, antiparasitária e antioxidante reconhecidas na literatura, sendo que elas estão diretamente associadas a composição química dos seus extratos.

Desde a descoberta dos primeiros antimicrobianos vem-se observando o desenvolvimento de mecanismo de resistência a fármacos por parte de espécies microbianas, que passaram a não responder mais a terapia convencional.

Estudos realizados demonstram que os extratos vegetais tem contribuído para a modulação da resistência dos microrganismos aos antimicrobianos, com a vantagem de possuírem amplo espectro de ação e serem menos tóxicos ao organismo humano, quando comparados aos fármacos habituais.

Com isso, o objetivo deste estudo foi realizar a análise fitoquímica e avaliar o potencial antibacteriano e modulador da resistência do extrato hexânico obtido a partir das folhas frescas de *Aloe vera* (L.) Burm. f.

Metodologia:

As folhas de *Aloe vera* (L.) Burm. f. foram coletadas na Chapada do Araripe, município de Caririáçu, Ceará, Brasil. Para obtenção do extrato, as folhas foram trituradas para aumentar a superfície de contato, e acondicionadas em um recipiente contendo o solvente hexânico, permanecendo assim por 72 horas. Depois, realizou-se a concentração do extrato em um evaporador rotativo a vácuo e banho ultrathermal, obtendo-se o extrato bruto.

A prospecção fitoquímica foi realizada por meio da observação da mudança de cor ou

formação de precipitado para detectar a presença de metabólitos secundários utilizando-se metodologia descrita por Matos (1997) e a quantificação dos compostos foi realizada por HPLC-DAD seguindo o método proposto por Laghari et al. (2011), com ligeiras modificações. Estes testes foram realizados na Universidade Regional do Cariri – URCA.

Foram utilizadas linhagens padrão e multirresistentes de *Escherichia coli* (*E. coli*) e *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*). Os microrganismos foram mantidos em ágar de infusão de coração (HIA) até a realização dos testes. Antes dos ensaios, as bactérias foram cultivadas a 37° C em caldo Brain Heart Infusion (BHI).

As soluções utilizadas nos testes foram preparadas com uma concentração de 10 mg/mL de cada produto dissolvido em dimetil sulfoxido (DMSO) e em seguida diluída com água destilada em temperatura ambiente para obter uma concentração de 1024 µg/mL, reduzindo o DMSO a uma concentração inferior a 10%, para evitar a toxicidade.

Os testes foram realizados no laboratório de microbiologia do Centro Universitário Dr. Leão Sampaio-UNILEÃO, onde a CIM (Concentração Inibitória Mínima) foi determinada num ensaio de microdiluição (CLSI, 2002; NCCLS, 2000), utilizando um inóculo de 100 µL de cada estirpe, suspensas em BHI até uma concentração final de 10⁵ UFC/mL em placas de microdiluição de 96 poços, utilizando duas diluições sucessivas vezes. Cada poço recebeu 100µL de cada solução dos produtos. A CIM dos antibióticos foi determinada em BHI pelo ensaio de microdiluição utilizando suspensões de 10⁵ UFC/ml e uma gama de concentrações de droga de 2500-2,4 pg / ml (CLSI, 2002; NCCLS, 2000). Os ensaios foram realizados em triplicata.

Para avaliação da modulação de resistência aos antibióticos, utilizou-se uma metodologia semelhante, onde a CIM dos antibióticos foi determinada na presença ou na ausência de crescimento bacteriano sob concentrações sub-inibitórias dos produtos. A gentamicina e a amicacina foram obtidas da Sigma Chemical Corp., St. Louis, MO, EUA. Todas as drogas foram dissolvidas em água esterilizada antes da utilização. Cada ensaio antibacteriano foi realizado em triplicata (CLSI, 2002; NCCLS, 2000; LORENZI; SOUZA, 2003).

Os resultados dos ensaios foram feitos em triplicata e expressos como a média geométrica. A análise estatística foi aplicada à análise de variância de duas vias seguida por pós-testes de Bonferroni usando GraphPad

Prism método software 5.0 descrita por Matias et al. (2013).

Resultados e Discussão:

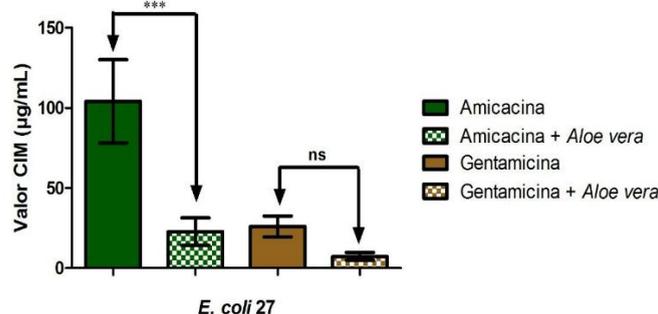
Foram identificados na planta os seguintes compostos químicos: taninos condensados ou catequicos, flavonas, flavonóis, xantonas, flavononóis, chalconas, auronas, catequinas e flavononas.

Dentre os compostos identificados as xantonas, flavononóis, Chalconas, flavononas e auronas contribuem diretamente para a ação antibacteriana atribuída a *Aloe vera*.

Nos testes para avaliar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) foram obtidos resultados ≥ 1024 frente as duas linhagens bacterianas.

Na modulação da resistência de *Escherichia coli* (Gráfico 1), foi observada interação sinérgica entre o extrato hexânico da *Aloe vera* e ambos os aminoglicosídeos testados (amicacina e gentamicina). Sendo que apenas a diminuição da CIM quando associado o extrato com a amicacina, foi estatisticamente significativa.

Gráfico 1 – Atividade moduladora de resistência à aminoglicosídeos (*E. coli*)



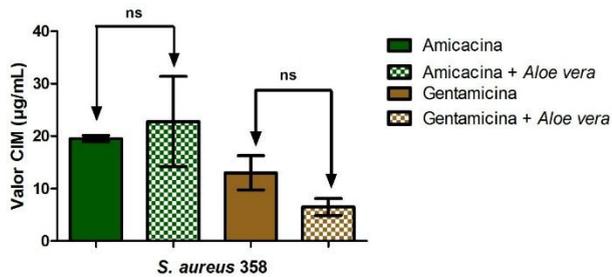
*** valor estatisticamente significativo com $P < 0.001$
 ns valor estatisticamente não significativo com $P > 0.05$

Fonte: Dados da pesquisa

Esses resultados podem ser explicados devido a ação eficaz dos aminoglicosídeos contra bacilos Gram negativos e a presença de substâncias denominadas Modificadores da Atividade Antibiótica, como as flavonas e seus derivados, que podem contribuir para o sinergismo encontrado, devido a sua atuação contra os mecanismos de resistência que inativam antibióticos por ação enzimática ou por sistema de efluxo.

No gráfico 2, onde foi avaliada a modulação da resistência de *S. aureus*, verificou-se antagonismo com a amicacina, onde houve um aumento da CIM. Com a gentamicina, foi verificado que houve uma diminuição da CIM mas não foi estatisticamente significativa.

Gráfico 2 - Atividade moduladora de resistência à aminoglicosídeos (*S. aureus*).



*** valor estaticamente significativa com $P < 0.001$
 ns valor estaticamente não significativa com $P > 0.05$

Fonte: Dados da pesquisa.

Conclusões:

O extrato hexânico da *Aloe vera* não apresenta atividade antibacteriana pela técnica de microdiluição com as bactérias, no entanto, nos testes de modulação observou-se sinergismo entre o produto testado e a amicacina frente a bactérias Gram negativas, indicando ser uma via alternativa na busca de compostos que potencializam a ação de drogas antimicrobianas.

Dessa forma, os resultados encontrados podem incentivar novas pesquisas sobre atuação de produtos naturais isolados da *Aloe vera*, com o intuito de contribuir para o desenvolvimento de uma nova antibioticoterapia contra bactérias resistentes.

Referências bibliográficas

ALMEIDA-CINCOTTO et al. Avaliação do potencial citotóxico e do potencial em estimular a biossíntese de colágeno de extrato de folhas de *Morus nigra* L. em cultura celular. **Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences**, v. 37, n. 1, 2016.

BAPTISTA, M. G. F. M. **Mecanismos de resistência aos antibióticos**. 2013.

BERTI et al. Efeitos do suco comercial de *Aloe vera* L. na germinação e antimutagenese em *Aspergillus nidulans* e pelo ensaio cometa em ratos Wistar. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 14, n. 2, 2016.

CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute - **Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi**: Approved Standard: M27-A2: 2002.

COSTA et al. **Prospecção fitoquímica e avaliação da atividade larvicida do extrato etanólico do caule de *croton argyrophyllus kunth* (EUPHORBIACEAE)**. 64ª Reunião Anual da SBPC: 2012.

DOS SANTOS LOPES et al. Medicina Complementar e Alternativa no Contexto da Ayurveda e da Medicina Popular no Brasil. **Biológicas & Saúde**, v. 6, n. 20, 2016.

LAGHARI et al. A Determinação de ácidos fenólicos livres e atividade antioxidante dos extratos obtidos a partir de frutos e folhas de *Chenopodium album*. **Food Chemistry**, v. 126, n.1, 2011.

LORENZI, H; SOUZA, H. **Plantas exóticas no Brasil: madeiras, ornamentais e aromáticas.** 1 ed. Nova Odessa: Editora Plantarum, 2003.

MATIAS et al. **Biological Activities and Chemical Characterization of *Cordia verbenacea* DC. as Tool to Validate the Ethnobiological Usage.** Evidence-based Complementary and Alternative Medicine. v.1, n. 6, 2013.

MATOS, F.J.A. **Introdução à Fitoquímica Experimental.** 2^a ed. - Fortaleza: UFC.1997.

NCCLS. National Committee For Clinical Laboratory Standards. **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically:** approved standard: document M7-A3: NCCLS; 2000.

OLIVEIRA et al. Mecanismos de resistência bacteriana a antibióticos na infecção urinária. **Revista UNINGÁ Review.** v. 20, n. 3, 2014.

PIMENTEL et al. Biodiversidade brasileira como fonte da inovação farmacêutica: uma nova esperança?. Rio de Janeiro: **Revista do BNDES.** v. 1, n. 43, 2015.

ROCHA et al. An antifungal gamma-pyrone and xanthenes with monoamine oxidase inhibitory activity from *Hypericum brasiliense*. **Phytochemistry.** v.36, 1994.

SANTOS-LIMA et al. Plantas medicinais com ação antiparasitária: conhecimento tradicional na etnia Kantaruré, aldeia Baixa das Pedras, Bahia, Brasil. **Revista brasileira de plantas medicinais.** Botucatu, v. 18, n. 1, supl. 1, 2016.

SILVEIRA et al. Síntese e avaliação da citotoxicidade e atividade anti-inflamatória de auronas frente à linhagem RAW 264.7. In: 36^a **Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química.** Águas de Lindoia, 2013.

SOUSA et al. Atividade antibacteriana e interferência de *Lantana camara* L. e *Lantana montevidensis* (Spreng.) Briq. na resistência de aminoglicosídeos. **Revista Brasileira de Biociências,** v. 9, n. 1, 2011.

ZUANAZZI, J. A. S. Flavonóides. In: SIMÕES, C. M. O.; et al. (orgs.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** 3 ed. Florianópolis: Editora da UFSC, Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2001.