

PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA, ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E INTERFERÊNCIA DA POLPA DE *Hancornia speciosa* SOBRE A ATIVIDADE DE AMINOGLICOSÍDEOS

Maria S.S. Pinto^{1*}, Vanessa M. Feitosa¹, Yara F. Pereria¹, Maria S. Costa², Erlânio O. Sousa³

1. Estudante de Graduação da Faculdade de Tecnologia em Alimentos da FATEC / CENTEC Cariri

2. Estudante de Graduação da Universidade Regional do Cariri - URCA

3. Pesquisador da Faculdade de Tecnologia em Alimentos da FATEC / CENTEC Cariri

Resumo:

A espécie *Hancornia speciosa* (mangaba) tem além do potencial nutricional, sendo usada *in natura*, produção de polpa, suco, sorvete, doce, licor, geleia, xarope e vinagre, um potencial medicinal. Nesse trabalho realizou-se a prospecção fitoquímica e testes antibacterianos do extrato hidroalcolólico da polpa isoladamente ou em associação com antibióticos aminoglicosídeos frente a linhagens padrão e multirresistentes Gram negativas e positivas por teste de microdiluição em caldo. Nos testes fitoquímicos observou-se taninos e flavonoides. Em geral, no teste antibacteriano o extrato não apresentou atividade relevante em termos clínico (CIM \geq 1024 $\mu\text{g/mL}$), exceto para *S. aureus* SA-ATCC 6538 (CIM = 512 $\mu\text{g/mL}$). Efeito sinérgico foi observado na associação do extrato com a amicacina frente a *S. aureus* (SA-10) e antagônico para gentamicina frente a *E. coli* (EC-06). Os dados obtidos são indicativos do potencial do extrato de *H. speciosa* para modular a resistência de antibióticos aminoglicosídeos.

Palavras-chave: Mangaba; metabolitos secundários, antimicrobiano.

Apoio financeiro: Os autores agradecem ao apoio financeiro concedido pela Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico – FUNCAP.

Introdução:

A busca por novos agentes antibacterianos é importante devido ao aumento da resistência progressiva de agentes patogênicos clinicamente importantes a classes conhecidas de antibióticos, entre elas os aminoglicosídeos (SOUSA et al., 2015). Devido esse aumento da resistência bacteriana, muitas plantas têm sido avaliadas não só pela atividade antibacteriana, mas também como um agente modificador da atividade antibiótica, ou seja, aumentando ou

reduzindo a atividade o que pode ser uma alternativa viável para a questão da resistência (COUTINHO et al., 2010; LUCENA et al., 2015). Esta estratégia é chamada “herbal shotgun” ou “synergistic multi-effect targeting” e se refere à utilização de plantas e drogas em uma abordagem usando mono ou multi extratos combinados afetando diversos alvos do microorganismo ao mesmo tempo, com componentes terapêuticos colaborando de forma sinérgica-agonista (LUCENA et al., 2015).

Hancornia speciosa (Apocynaceae) popularmente conhecido como “mangabeira”, é uma das espécies medicinais encontradas no cerrado brasileiro. As raízes dessa espécie têm atividades anti-hipertensivas e de cicatrização de feridas; a casca tem atividades antidiabéticas, anti-obesidade, antimicrobiana e gastroprotetora; o látex tem atividade anti-inflamatória; e as folhas têm atividades anti-hipertensivas, vasodilatadoras, anti-inflamatórias e antidiabéticas (HIRSCHMANN; ARIAS, 1900; FERREIRA et al., 2007; MORAES et al., 2008; ENDRINGER et al., 2010; MARINHO et al., 2011). No entanto, este é o primeiro relato da atividade antibacteriana e moduladora do extrato da polpa.

O objetivo desse trabalho é realizar a prospecção fitoquímica, a atividade antibacteriana e moduladora do extrato hidroalcolólico da polpa de *H. speciosa*.

Metodologia:

Coleta e obtenção de extrato

Frutos de *Hancornia speciosa* foram coletados em uma área da Chapada do Araripe (Sítio Mane Coco), Município de Crato, Ceará, Brasil. O extrato orgânico da polpa foi obtido pelo método de extração exaustiva a frio (MATOS et al., 2009). Os frutos foram despulpados manualmente, homogeneizados em liquidificador e posteriormente liofilizada. A polpa foi submetida a uma solução (6:4) água/etanol durante 72 horas, e ao final do processo, o solvente foi destilado em rotaevaporador sob pressão reduzida e

temperatura controlada ($\pm 50^{\circ}\text{C}$) e banho-maria, obtendo-se um rendimento de 54,80%.

Prospecção fitoquímica

O extrato foi submetido a testes químicos qualitativos conforme a metodologia preconizada por Matos (2009). Os testes foram baseados principalmente na observação visual da mudança colorimétrica e/ou formação de precipitado após a adição de reagentes específicos para cada grupo químico na solução do extrato.

Atividade antibacteriana e moduladora

A concentração inibitória mínima (CIM) foi determinada em triplicata pelo método de microdiluição em *Brain Heart Infusion* (BHI) 10 %, usando uma suspensão de 10^5 UFC/mL em placas de microdiluição com 96 poços, com diluições em série 1/1, utilizando um inóculo de 100 μL e uma quantidade de 100 μL do produto, que foi diluída de maneira seriada variando em 512 – 8 $\mu\text{g/mL}$ (JAVADPOUR et al., 1996). As CIMs foram registradas como as menores concentrações para a inibição do crescimento. Nas análises foram utilizadas duas linhagens de bactérias padrão cedidas pela Fundação Oswaldo Cruz - FIOCRUZ, sendo uma Gram-positiva: *Staphylococcus aureus* SA-ATCC 653810 e uma Gram-negativas: *Escherichia coli* EC-ATCC 2592. Utilizou-se também *E. coli* EC-06 e *S. aureus* SA-10 isoladas de material clínico, resistentes à neomicina, gentamicina, amicacina e canamicina (origem das linhagens e perfil de resistência completo em Feitosa et al. (2016).

Para avaliação do extrato na modificação de resistência das linhagens multirresistentes, as CIMs da gentamicina e amicacina foram determinadas na presença e na ausência do mesmo, sendo que o mesmo em concentração subinibitória (CIM 1/8). As concentrações dos antibióticos usados variaram de 5000 $\mu\text{g/mL}$ – 2,4 $\mu\text{g/mL}$. As placas foram incubadas por 24 horas a 37°C . A leitura dos resultados para bactérias foi feita com resazurina sódica (Sigma), um indicador colorimétrico de oxidorredução (SALVAT et al., 2001). Esse corante foi diluído em água destilada e realizada a leitura, onde 20 μL da solução indicadora foram adicionadas em cada cavidade e as placas foram mantidas por uma hora em temperatura ambiente. Os resultados para determinação da CIM bacteriana foram considerados positivos para os poços que permaneceram com a coloração azul e negativos, para os que obtiveram coloração vermelha (MANN; COX; MARKHAM, 2000).

Resultados e Discussão:

Nos testes fitoquímicos qualitativos os resultados demonstraram a presença de algumas classes de metabólitos secundários no extrato, tais como, taninos condensados, flavonóides (leucoantocianidinas, flavonas, flavonóis, flavononas, flavononois xantonas, chalconas, auronas) (Tabela 1).

Tabela 01: Prospecção fitoquímica do extrato hidroalcolólico da polpa de *Hancornia speciosa*.

Classe de metabolitos	Extrato
Taninos Pirogálicos	-
Taninos Condensados	+
Antocioninas e Antocianiolinas	-
Flavonas, Flavonois e Xantonas	+
Chalconas e Auronas	+
Flavononois	+
Leucoantocinidinas	+
Catequinas	+
Flavononas	+
Alcalóides	-

(+) = Presente (-) = Ausente

No teste antibacteriano verificou-se que atividade mais relevante do extrato foi frente a *S. aureus* SA-ATCC 6538 (CIM = 512 $\mu\text{g/mL}$). Para as demais linhagens o extrato não apresentou atividade relevante em termos clínico (CIM ≥ 1024 $\mu\text{g/mL}$), conforme mostrado na tabela 2.

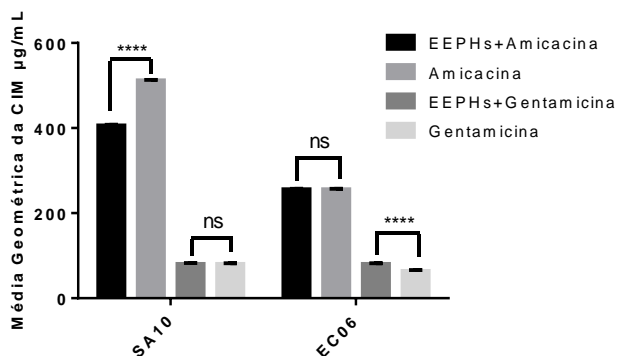
Tabela 2: Valores da Concentração Inibitória Mínima – CIM para do extrato hidroalcolólico da polpa de *Hancornia speciosa*.

Linhagens bacterianas	Extrato
<i>Staphylococcus aureus</i> SA-ATCC 6538	512
<i>Escherichia coli</i> EC-ATCC 10536	> 1024
<i>Staphylococcus aureus</i> SA-10	> 1024
<i>Escherichia coli</i> EC-06	> 1024

Os resultados expressos na figura 1 mostram uma alteração na atividade de antibióticos aminoglicosídeos em associação com o extrato em concentração subinibitória, sendo caracterizado pela alteração nas CIMs.

Efeito potencializador ou sinérgico sobre atividade antibiótica foi observado na redução significativa da CIM da amicacina frente a *S. aureus* (SA-10) (Figura 1). Uma interferência antagônica de forma significativa na atividade da gentamicina foi observada frente a *E. coli* (EC-06).

Figura 1: Atividade pontencializadora de antibiótico pelo extrato etanólico da polpa de *Hancornia speciosa* (EEPHS) contra linhagens de *Staphylococcus aureus* (SA-10) e *Escherichia coli* (EC-06).



****valor estatisticamente significativo com $p < 0,0001$; ns – não estatisticamente significativo com $p > 0,05$.

Conclusões:

Os resultados obtidos indicam que o extrato hidroalcoólico poderá servir como uma fonte alternativa de produtos naturais, que possuem atividade antibacteriana e capacidade de atuar sobre a atividade de antibióticos aminoglicosídeos.

Referências bibliográficas

COUTINHO, H.D.M.; COSTA, J.G.M.; FALCÃO-SILVA, V.S.; SIQUEIRA-JR, J.P.; LIMA, E.O. *In vitro* additive effect of *Hyptis martiusii* in the resistance to aminoglycosides of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. **Pharmaceutical Biology**, v. 48, n. 9, p. 1002-1006, 2010.

ENDRINGER; D.C.; VALADARES, M.; CAMPANA, P.R.V.; CAMPOS, J.J.; GUIMARÃES, K.G.; PEZZUTO, J.M.; BRAGA, F.C. Evaluation of Brazilian Plants on Cancer Chemoprevention Targets *In Vitro*. **Phytotherapy Research**, v. 24, n. 6, p. 928-933, 2010.

FEITOSA, V.M.; MACHADO, J.F.; PEREIRA, F.F.G.; COSTA, M.S.; NOBRE, C.B.; SOUSA, E.O. Atividade antibacteriana e interferência do óleo fixo da semente de *Hancornia speciosa* na atividade de antibióticos aminoglicosídeos. In: Cybelle de Oliveira Dantas; Carlos Roberto Marinho da Silva Filho; João Felipe Santiago Neto; Jackson Andson de Medeiros. (Org.). *Desafios da Agroindústria no Brasil*. 1ed. Campina Grande: Instituto Bioeducação, v. 1, p. 114-118, 2016.

FERREIRA, H.C.; SERRA, C.P.; ENDRINGER, D.C.; LEMOS, V.S.; BRAGA, F.C.; CORTES, S.F. Endothelium-dependent vasodilatation induced by *Hancornia speciosa* in rat superior

mesenteric artery. **Phytomedicine**, v. 14: n. 7-8, p. 473-478, 2007.

HIRSCHMANN, G.S.; ARIAS, A.R. A survey of medicinal plants of Minas Gerais. Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 29, n. 2, p. 159-172, 1990.

JAVADPOUR, M.M.; JUBAN, M.M.; LO, W.C.; BISHOP, S.M.; ALBERTY, J.B.; COWELL, S.M.; BECKER, C.L.; MCLAUGHLIN, M.L. De novo antimicrobial peptides with low mammalian cell toxicity. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 39, n. 16, p. 3107-3113, 1996.

LUCENA, B.F.F.; TINTINO, S.R.; FIGUEREDO, F.G.; OLIVEIRA, C.D.M.; AGUIAR, J.S.; CARDOSO, E.N.; AQUINO, P.E.A.; ANDRADE, J.C.; COUTINHO, H.D.M.; MATIAS, E.F.F. Avaliação da atividade antibacteriana e moduladora de aminoglicosídeos do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. **Acta biológica Colombiana**, v. 20, n. 1, p. 39-45, 2015.

MANN, C.M.; COX, S.D.; MARKHAM, J.L. The outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa* NCTC6749 contributes to its tolerance to the essential oil *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). **Letters in Applied Microbiology**, v. 30, n. 4, p. 294-297, 2000.

MARINHO, D.G.; ALVIANO, D.S.; MATHEUS, M.E.; ALVIANO, C.S.; FERNANDES, P.D. The latex obtained from *Hancornia speciosa* Gomes possesses anti-inflammatory activity. **Journal of Ethnopharmacol.** v. 135, n. 2, p.530-537, 2011.

MATOS, F.J.A. **Introdução à fitoquímica experimental**. 3. ed. Fortaleza: Editora UFC, 2009.

MORAES, T.M.; RODRIGUES, C.M.; KUSHIMA, H.; BAUAB, T.M.; VILLEGAS, W.; PELLIZZON, C.H.; BRITO, A.R.; HIRUMA-LIMA, C.A. *Hancornia speciosa*: Indications of gastroprotective, healing and anti-Helicobacter pylori actions. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 120, n. 2, p. 161-168, 2008.

SALVAT, A.A.; ANTONNACCI, L.; FORTUNATO, R.H.; SUAREZ, E.Y. Screening of some plants from northern Argentina for their antimicrobial activity. **Letters in Applied Microbiology**, v. 32, n. 5, p. 293-297, 2001.

SOUSA, E.O.; RODRIGUES, F.F.G.; CAMPOS, A.R. COSTA, J.G.M. Phytochemical analysis and modulation in aminoglycosides antibiotics activity by *Lantana camara* L. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 37, n. 2, p. 213-218, 2015.