



CENTRO UNIVERSITÁRIO LUTERANO DE PALMAS

COMUNIDADE EVANGÉLICA LUTERANA "SÃO PAULO"
Recredenciado pela Portaria Ministerial nº 3.607 - D.O.U. nº 202 de 20/10/2005

THIAGO DAVID CARVALHO PIRES

ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DAS GARRAFADAS DA SEMENTE, FOLHA E ENTRECASCA DA SUCUPIRA BRANCA (*Pterodon emarginatus*)

**PALMAS-TO
2014**

THIAGO DAVID CARVALHO PIRES

ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DAS GARRAFADAS DA SEMENTE, FOLHA E ENTRECASCA DA SUCUPIRA BRANCA (*Pterodon emarginatus*)

Monografia apresentada como requisito parcial da disciplina TCC em Ciências Farmacêuticas do Curso de Farmácia pelo Centro Universitário Luterano de Palmas, coordenada pela Prof^a. MSc Grace Priscila Pelissari Setti.

Orientador(a): Prof.(a) MSc Juliane Farinelli Panontin

**PALMAS-TO
2014**

THIAGO DAVID CARVALHO PIRES

**ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DOS DAS GARRAFADAS DA SEMENTE, FOLHA E
ENTRE-CASCA DA SUCUPIRA BRANCA (*Pterodon emarginatus*)**

Monografia apresentada como requisito parcial da disciplina TCC em Ciências Farmacêuticas do Curso de Farmácia do Centro Universitário Luterano de Palmas, coordenada pela Profª MSc. Grace Pelissari Setti.

Aprovado em _____ de _____ de 2014

Banca Examinadora

Profª. MSc Juliane Farinelli Panontin
Orientadora – CEULP/ ULBRA

Profª. MSc Grace Priscila Pelissari Setti
Examinadora – CEULP/ULBRA

Profª. MSc Marta Cristina de Menezes Pavlak
Examinadora – CEULP/ULBRA

**PALMAS-TO
2014**

Dedico este trabalho aos meus pais. Por estarem sempre ao meu lado incondicionalmente, em todos os momentos de minha vida e pelo amor e incentivo sempre constantes. Em especial ao meu filho David Emanuel porque tudo o que eu possa realizar nesse mundo, ainda será pequeno quando comparado ao amor que sinto por você. Amo vocês.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus que está sempre ao meu lado, por ter me concedido forças nos momentos de fraqueza, tristeza, tropeços e por me guiar a cada dia, mostrando que o impossível ele pode realizar.

Aos meus pais Alberto Filho e Raimunda de Sá, pelo dom da vida, e que me acompanharam a cada passo que dei, mesmo com as dificuldades não mediram esforços em me ajudar, sempre me incentivando a persistir. Amo vocês!

Aos meus irmãos Bruno Ricardo, Bruna Sóstenes e Joana Darc pela força, carinho e apoio a mim dado mesmo em sua ausência.

Aos funcionários do Laboratório do CEULP- ULBRA, pela colaboração indispensável na realização dos experimentos e inestimável amizade.

Agradeço a todos os professores que contribuíram para a minha formação acadêmica, em especial a minha orientadora Prof^a. MSc Juliane Farinelli Panontin pelas dicas concedidas, contribuindo para o melhoramento do meu trabalho.

A Olinda pelo apoio técnico prestado, colaboração nos experimentos, doação de conhecimento e amizade, sempre interessada e sincera, por isso estou a lhe agradecer pela força que foi muito importante para que este trabalho fosse desenvolvido.

Agradeço a Leidiane Alves minha futura esposa pela paciência, colaboração, força, amiga, que esteve ao meu lado e no decorrer da minha trajetória me deu o melhor presente da minha vida meu filho David Emanuel.

Agradeço aos meus queridos avós Alberto, Alaídes, José Joaquim e Sóstenes, por todo o carinho, pela preocupação e pelos sábios conselhos, que lhes tenho como exemplo de vida, força e determinação.

A Coordenação de Farmácia pela atenção dispensada à mim e a todos os alunos do curso.

Agradeço aos amigos e colegas, Rogério Ribeiro, Abemilton Filho, Daliane Marinho, H'menon Dias, Luan César, Igor Arivony, Joiceleia Juliate, Rogério Alves, Wilzimar Matos,

Mailson, Suzanne, Fabiana, André, Cintia Daiane, pelo incentivo nos momentos difíceis, farras e até mesmo por me “suportar” nos momentos de estresse, pela amizade sincera, com vocês compartilhei momentos desesperadores e felizes, tornando minha vida acadêmica e particular mais divertido.

A todos os amigos, a todos familiares, colegas de faculdade que direta ou indiretamente contribuíram de alguma forma, no pleno desenvolvimento deste trabalho.

“Não confunda derrotas com fracasso nem vitórias com sucesso. Na vida de um campeão sempre haverá algumas derrotas, assim como na vida de um perdedor sempre haverá vitórias. A diferença é que, enquanto os campeões crescem nas derrotas, os perdedores se acomodam nas vitórias.”

Roberto Shinyashiki

RESUMO

PIRES, Thiago David Carvalho. **ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DAS GARRAFADAS DA SEMENTE, FOLHA E ENTRE-CASCA DA SUCUPIRA BRANCA (*Pterodon emarginatus*).** 2014. 32 f. Monografia (Graduação em Farmácia). Centro Universitário Luterano de Palmas, Palmas – TO.

A sucupira-branca (*Pterodon emarginatus*) é uma espécie arbórea, nativa do cerrado brasileiro, sendo destacada pela sua importância na medicina popular com diversas indicações, onde vários estudos demonstram atividade antibacteriana, e com essa importância da *P. emarginatus* como planta medicinal o presente trabalho analisou a atividade antibacteriana das garrafadas da semente, folha e entre-casca da sucupira branca através da técnica de disco-difusão por ser um método prático e de fácil execução e que consiste em retirar alíquotas das amostras das garrafadas impregnando-as em discos e adicionando-as junto com o controle positivo sobre as placas de Petri com meio ágar Mueller Hinton semeadas com as bactérias *Escherichia coli* ATCC® 2592 e *Staphylococcus aureus* ATCC® 25923 após a reativação das cepas e padronização do inoculo e incubando por 24 horas em estufa a 37 °C, posteriormente os diâmetros dos halos foram medidos com ajuda de um paquímetro, e a dimensão do halo formado determinou o índice de sensibilidade. De acordo com os resultados obtidos a garrafada da semente demonstrou ter atividade antibacteriana na inibição do crescimento das bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, já as demais amostras não apresentaram atividade antibacteriana para os microrganismos testados por isso a uma necessidade em aprofundar nos estudos, para indicar de maneira mais precisa os ativos responsáveis pela atividade antibacteriana.

Palavras-chave: Sucupira branca, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.

LISTA DE SIGLAS

CIM – Concentração Inibitória Mínima

GS – Garrafada da Semente

GF – Garrafada da Folha

GEC – Garrafada da Entre-casca

BDA – Batata-dextrose-ágar

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Foto da sucupira branca	17
Figura 2 - Foto das garrafadas.....	22
Figura 3 - Esquema indicando a distribuição dos discos na placa de Petri	24
Figura 4 - Discos distribuídos em placa contendo a bactéria <i>Staphylococcus aureus</i>	25
Figura 5 - Discos distribuídos em placa contendo a bactéria <i>Escherichia coli</i>	27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Plantas do cerrado utilizadas na medicina popular	15
Tabela 2 - Estudo científico e etnobotânico da sucupira branca.....	16
Tabela 3 - Resultado de inibição de crescimento, para a bactéria <i>Staphylococcus aureus</i> , obtidos no ensaio de atividade antimicrobiana pelo método de disco-difusão.....	26
Tabela 4 - Resultado de inibição de crescimento, para a bactéria <i>Escherichia coli</i> , obtidos no ensaio de atividade antimicrobiana pelo método de disco-difusão.....	27

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	12
2 OBJETIVOS.....	13
2.1 Objetivo geral.....	13
2.2 Objetivos específicos	13
3 REFERENCIAL TEÓRICO.....	14
3.1 Plantas medicinais do cerrado	14
3.1.1 Sucupira branca.....	17
3.1.1.1 Características gerais	17
3.1.1.2 Atividade antimicrobiana da sucupira branca	18
3.2 Microbiota	20
3.2.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	20
3.2.1 <i>Escherichia coli</i>	20
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	22
4.1 Aquisição das garrafadas.....	22
4.2 Microrganismos.....	22
4.3 Preparação dos meios	22
4.4 Reativação das cepas.....	23
4.5 Padronização do inóculo.....	23
4.6 Preparação dos discos e determinação dos antibióticos controle	23
4.7 Avaliação da atividade antibacteriana	24
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
5.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	25
5.2 <i>Escherichia coli</i>	26
6 CONCLUSÃO	29
REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	30

1 INTRODUÇÃO

As plantas medicinais foram utilizadas no passado, e prevalecem até os dias atuais como meio terapêutico acessível no tratamento de várias doenças da população. A *Pterodon emarginatus*, conhecida popularmente como sucupira-branca, é uma espécie arbórea, nativa do cerrado brasileiro, podendo ser encontrada em vários estados brasileiros, e seu uso destaca-se pela importância medicinal (LORENZI; MATOS, 2002), sendo utilizada a semente, entre-casca e folha, pois possui características desejáveis no tratamento de várias doenças, como as infecções de garganta e ginecológicas (OLIVEIRA; VALE, 2013).

As infecções causadas por bactérias devem ser tratadas com antibióticos, e tendo em vista as indicações populares da sucupira-branca se faz necessário testes para comprovar sua eficiência com atividade antibacteriana, pois o aproveitamento adequado dos princípios ativos de uma planta exige o preparo correto, ou seja, para cada órgão a ser usado, grupo de princípio ativo a ser extraído ou doença a ser tratada, existe forma de preparo e uso mais adequados (MORAES; COSTA; PAULA, 2006).

Assim, o antibiograma ou teste de sensibilidade aos antimicrobianos é uma prova utilizada para alguns grupos de bactérias, como por exemplo, a bactéria *Escherichia coli* que é comum na microbiota do trato intestinal humano e pode causar infecções do trato urinário e a *Staphylococcus aureus* que é frequentemente encontrada no trato respiratório superior, especialmente no nariz e na garganta (TORTORA; FUNKE; CASE, 2000) e principalmente as que adquirem resistência facilmente.

Com as indicações ao uso das sementes, entre-casca e folha da sucupira-branca e a ausência de relatos na literatura especializada quanto a sua atividade antibacteriana, o presente trabalho visa investigar se há atividade antibacteriana das garrafadas das sementes, entre-casca e folha da *Pterodon emarginatus*.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a atividade antibacteriana das garrafadas das sementes, folhas e entre-casca da sucupira branca (*P. emarginatus*).

2.2 Objetivos Específicos

- Apresentar importância etnofarmacológicas da sucupira branca;
- Verificar atividade das garrafadas das sementes, folhas e entre-casca da sucupira branca contra *Escherichia coli* ATCC® 2592;
- Verificar atividade das garrafadas das sementes, folhas e entre-casca da sucupira branca contra *Staphylococcus aureus* ATCC® 25923;

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Plantas medicinais do cerrado

O cerrado é uma savana tropical (vegetações características de locais com estação seca bastante longa, queimadas constantes), no qual é notável a presença de árvores de troncos grossos, contorcidos e arbustos com vegetação rasteira (MAGNOLI; ARAÚJO, 2005), podendo ser caracterizado pelas matas de galerias, campos abertos (Campo Limpo) e copa semi- aberto seco (Cerradão) (MARINHO, 1996).

O cerrado é fonte de diversas espécies medicinais que vêm sendo utilizadas ao longo de várias gerações por apresentar características como ausência ou não de água e nutrientes que favorecem a produção de metabólitos secundários para adaptação e que podem apresentar potencial medicinal e com isso desempenham também um importante papel para população. Uma vez que a utilização destas plantas medicinais pode ser uma alternativa ao tratamento de doenças.

Diversos autores (CARNEIRO, 2009; OLIVEIRA; VALE, 2013; RODRIGUES; CARVALHO, 2001; SOUZA; FERNANDES; PASA, 2010; VERDE; PAULA; CANEIRO, 2003.), relatam o uso de plantas do cerrado na medicina popular conforme exposto na Tabela 1, que encontram-se apresentadas por ordem alfabética com respectivos nomes científicos, nome popular, indicações, parte usada e preparo.

Tabela 1 - Plantas do cerrado utilizadas na medicina popular

Nome Científico	Nome Popular	Indicações	Parte Usada	Preparo
<i>Baccharis dracunculifolia</i> ^a	Alecrim-de-vassoura	Antifebril	Ramos com folhas	Decocto
<i>Cassia rugosa</i> G. <i>Don</i> ^c	Fedegoso-do-campo	Gripe, rouquidão, vermífuga.	Folha, raiz	Decocto
<i>Copaífera langsdorffii</i> ^d	Copaíba, Pau-dóleo	Antiinflamatório, cicatrizante	Resina do caule	Aplicação local
<i>Echinodorus grandiflorus</i> ^e	Chapeu de couro	Depurativo do sangue, hipercolesterolemia, Transtorno do rim	Folha, toda planta	NC
<i>Hancornia speciosa</i> ^a	Mangaba	Diabetes, obesidade, dermatoses.	NC	Decocto ou infuso
<i>Mauritia flexuosa</i> ^b	Buriti	Cicatrizante	Óleo essencial obtido da polpa dos frutos	NC
<i>Myracondruon urundeuva</i> ^d	Aroeira	Reumatismo, quebrasuras Inflamação dos ovários	Melado da casca	Aplicação local
<i>Senna occidentalis</i> ^d	Fedegoso	Problemas do fígado	Raiz	Macerada
<i>Vellozia flavican</i> ^c	Canela-de-ema	Anti-reumático, dores de coluna, afecções renais	Casca, raiz	Decocto
<i>Xylopiá aromática</i> ^a	Pimenta-de-macaco	Digestivo e anti-inflamatório	Frutos, folhas e casca do caule.	Decocto ou infuso

a: RODRIGUES, 2001; b: OLIVEIRA; VALE, 2013; c: VERDE; PAULA; CANEIRO, 2003; d: SOUZA; FERNANDES; PASA, 2010.; e: CARNEIRO, 2009; NC: Não consta;

Os autores realizaram coleta dos dados através de raizeiros, pesquisa de campo e literatura obtendo informações necessárias para o levantamento dessas plantas com indicação terapêutica (CARNEIRO, 2009; OLIVEIRA; VALE, 2013.; RODRIGUES; CARVALHO, 2001.; SOUZA; FERNANDES; PASA, 2010.; VERDE; PAULA; CANEIRO, 2003.)

Como exemplo pode-se destacar o cajuzinho, que é utilizado para diarreia por meio da infusão das folhas ou casca do caule. Quando suas folhas ou casca do caule são preparadas por decocto é indicada para controle do diabetes. A mangaba é indicada na ajuda no controle do diabetes e obesidade sendo preparada tanto decocto e infuso da casca do caule. O decocto da raiz da planta papo-de-peru é utilizada como antisséptico, sedativo,

antifebril, diurético, e já decocto das folhas é indicada para hipertensão arterial (RODRIGUES, 2001). Para febre, corrimento e gripe utilizam a raiz e folha da *Acosmium dasycarpum* conhecida como cinco- folhas ou genciana. Da cerejeira é usado caule, semente e fruto a fim de tratar reumatismo no sangue, gripe, bronquite, sinusite, pneumonia, prisão de ventre, fígado, vesícula, dor nas costelas, dores no corpo, tosse, ulcera, gastrite, intestino e icterícia (CARNEIRO, 2009).

Outra planta utilizada com fins medicinais é a sucupira branca. Diversos autores realizaram estudos etnobotânicos (OLIVEIRA; VALE, 2013; SOUZA; FERNANDES; PASA, 2010.; SOUZA; FELFILI, 2006; VERDE; PAULA; CANEIRO, 2003.) com a sucupira branca. Esses estudos encontram-se apresentadas por ordem cronológica com respectivos autores, comunidade pesquisada, forma de uso e indicações.

Tabela 2 - Estudo etnobotânico da sucupira branca

Autor/Ano	Comunidade pesquisada	Indicação	Parte usada	Preparo
VERDE; PAULA; CANEIRO, 2003.	Mossâmedes (GO)	Resfriado, infecções de garganta, esquistossomose.	Semente	NC
SOUZA; FELFILI, 2006	Alto Paraíso de Goiás, GO, Brasil.	Inflamações na garganta	NC	NC
SOUZA; FERNANDES; PASA, 2010.	São Gonçalo Beira Rio, CUIABÁ, MT	Inflamação da garganta	semente	Xarope
OLIVEIRA; VALE, 2013.	SUCUPIRA: Planta que Cura	Úlcera, gastrite, ácido úrico, aftas, amidalite, artrite, artrose, asma, blenorragia, dermatoses.	extrato seco da semente.	Chá, gotas

NC- Não consta

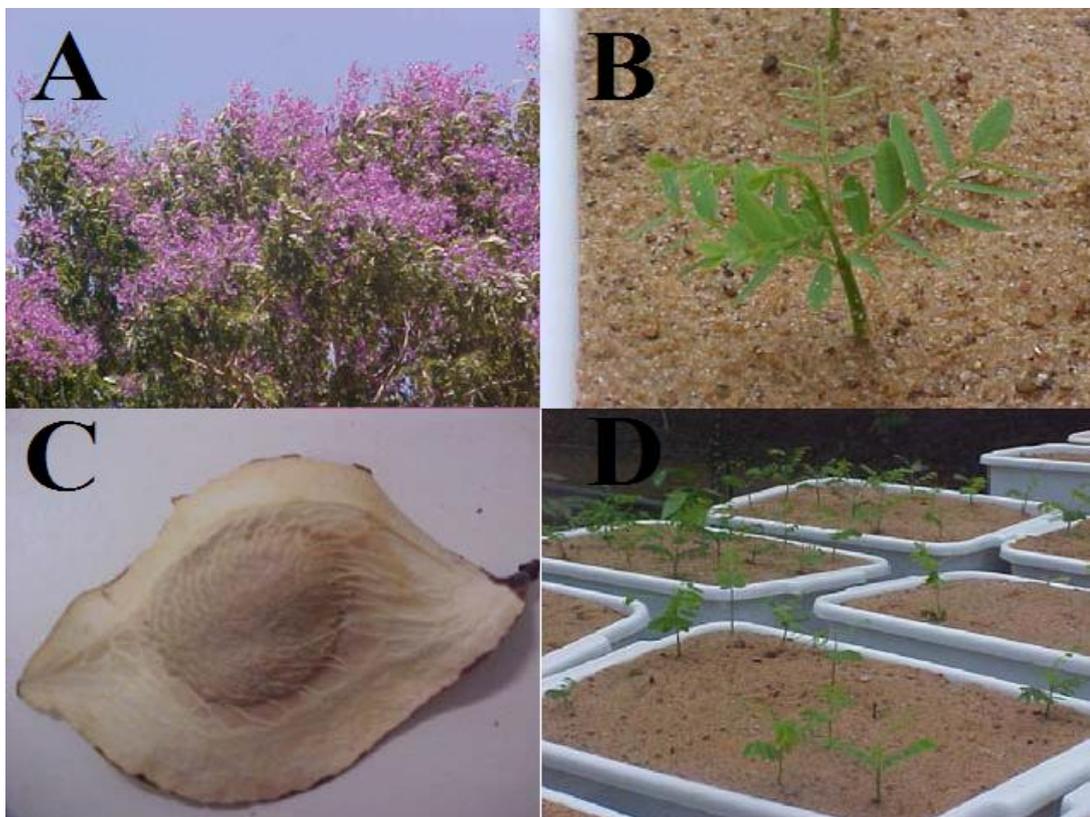
Conforme apresentada na Tabela 2 as sementes da sucupira branca preparadas através de xarope, chá, gotas ou cápsulas são indicadas popularmente para tratamento anti-reumático, anti inflamatório para garganta e em preparações analgésicas, úlcera, gastrite, ácido úrico, aftas, amidalite, artrite, artrose, asma, blenorragia, dermatoses, inflamações na garganta, resfriado, esquistossomose.

3.1.1 Sucupira Branca

3.1.1.1 Características gerais

P. emarginatus conhecida popularmente como sucupira branca é uma espécie da família Fabaceae do gênero *Pterodon* (OLIVEIRA, 2013). A *Pterodon emarginatus*, pode chegar até 15 m de altura, sua madeira possui aspecto amarelo-pardacenta (MORAES, 2008). Seu tronco é cilíndrico de até 60 cm de diâmetro coberto por casca lisa branco-amarelada, nativa do cerrado do Brasil Central (Tocantins, Mato Grosso, Goiás, Minas Gerais, São Paulo e Mato Grosso do Sul). Possui folhas pinadas, flores rosadas e seus frutos são vagens arredondadas que impossibilitam abertura para liberação da semente, e contendo uma única semente protegida por uma cápsula fibro- lenhosa e envolvida numa estrutura esponjosa contendo uma substância oleosa (LORENZI; MATOS, 2002) conforme apresentado na Figura 1.

Figura 1 – Foto A- Flores, B- Folhas, C- Semente e D- Mudas da sucupira branca



Fonte: MATOS et al., 2007.

Bustamante e colaboradores realizaram o teste fitoquímico evidenciando a presença de flavonoides, heterosídeos saponínicos, resinas e traços de esteróides e triterpenóides.

Alguns estudos científicos apontam atividade antimicrobiana da sucupira branca, em diferentes órgãos como semente, folha e entre-casca, para tentar justificar o uso popular (BUSTAMANTE *et al.*, 2010.; SANTOS *et al.*, 2010.; SILVA *et al.*, 2005).

3.1.1.2 Atividade antimicrobiana da sucupira branca

Na utilização de plantas medicinais do cerrado no tratamento de várias doenças e com poucos estudos científicos que mostrem real eficácia, é necessário aprofundamento buscando analisar e isolar cada bioativo existente de cada planta estudada, porque a necessidade de descoberta de novos ativos com atividade antimicrobiana vem cada dia aumentando.

Com o surgimento da resistência aos antibióticos, várias pesquisas estão sendo desenvolvidas no descobrimento de novos agentes antimicrobianos provenientes de extratos de plantas como da sucupira branca, que pode ser realizado por vários métodos como o de difusão em ágar, método de macrodiluição e microdiluição para analisar atividade antibacteriana e antifúngica de diferentes microrganismos (OSTROSKY *et al.*, 2008).

Silva e colaboradores (2005) moeram as sementes e utilizando como solvente acetato de etila retiraram o óleo das sementes, depois eliminando o solvente em rota-evaporador, obtendo assim o óleo bruto. Na avaliação do efeito do óleo de sucupira sobre o desenvolvimento fúngico misturou o óleo ao meio de cultura Batata-dextrose-ágar (BDA) e após a homogeneização e vertido em placas de Petri. Depois de esfriar discos de BDA contendo fungos *Alternaria brassicae*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani* e *Ceratocystis fimbriata* foram transferidos para o centro das placas e incubadas por seis dias, onde inibiu o desenvolvimento micelal de todos os fungos. Na avaliação do efeito do óleo de sucupira sobre bactérias foi preparado os discos de papel filtro umedecidos com o óleo nas concentrações: 1%, 10% e 100%, após a multiplicação das colônias bacterianas em meio de cultura líquido de batata-dextrose (BD), 0,5 mL de suspensão das bactérias *Clavibacter michiganensis*, *Pseudomonas syringae* e *Xanthomonas campestris* foram semeados uniformemente sobre o meio de cultura BDA sólido e incubados, depois foi feita a medição dos halos determinado o diâmetro, notando que teve inibição no desenvolvimento das mesmas.

Santos^a e colaboradores (2010) estudaram a propriedade antibacteriana das sementes da sucupira-branca. Neste estudo o extrato vegetal foi obtido através da extração hidroalcoólica (fruto triturado + álcool 70%) seguido de arraste a vapor (100 gramas do fruto triturado e submetido a arraste de vapor, depois de destilado colocado em erlemayer). O

teste bactericida, depois do crescimento das cepas de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* em caldo nutriente, foi semeado 100µl em placa em meio ágar, depois sobre as placas adicionou discos impregnados com 10µl do extrato e como controle usou álcool 70% e água esterilizada depois, após a incubação foi medido o halo de inibição, que o extrato alcoólico comparado estatisticamente com o álcool teve inibição as culturas de *Staphylococcus aureus*.

Santos^b e colaboradores (2010) analisaram a atividade antimicrobiana do óleo essencial das folhas de *P. emarginatus*. As folhas foram coletadas, pulverizadas e maceradas, utilizando como líquido extrator etanol 96 ° GL PA que permaneceram por três dias sob agitação ocasional, obtendo o extrato etanólico bruto. Na avaliação da atividade antifúngica foi feito o método de microdiluição em caldo em triplicata nas concentrações de 1 a 512µg/mL. Na determinação da CIM do óleo para bactérias foi realizada o método da diluição em ágar e em triplicata contendo o óleo em concentrações que variam de 50 até 0,78mg/mL. As bactérias Gram positivas *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Micrococcus roseus*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus atropheus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus stearothermophilus* e Gram-negativas *Enterobacter cloaceae*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Serratia marcescens* foram reativadas e após o crescimento microbiano foi feito o inóculo de cada bactéria e transferindo 100 µL de cada suspensão nas placas de Petri contendo as diluições do óleo em ágar Mueller Hinton e encubadas. No teste em microdiluição para indicar a atividade antifúngica foi negativa. As concentrações analisadas não inibiram os microrganismos mas apresentando moderada atividade antibacteriana para as bactérias Gram-positivas e ausente para as bactérias Gram-negativas.

Bustamante e colaboradores (2010) avaliaram a atividade antimicrobiana contra bactérias Gram-positivas, Gram-negativas e contra o fungo *C. albicans*. Os microrganismos testados foram repicados e incubados, após foi feito o preparo do inóculo e padronizado com a escala de McFarland, foi realizada a Concentração Inibitória Mínima (CIM) pelo método de diluição em ágar, onde o extrato bruto das cascas da *P. emarginatus* foi solubilizado em 2 mL de etanol 95% e submetido a diluições seriadas por mais 4 tubos na proporção 2:1 logo após adicionado em 19 mL de ágar Müeller – Hinton, então os inóculos foram transferidos para as placas em diferentes concentrações do extrato bruto e incubados. O resultado para a CIM foi de 0,18 mg/mL contra bactérias Gram-positivas *Rhodococcus equi* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Micrococcus roseus*, e para as Gram-negativas *Serratia marcescens* ATCC 14756, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 de 0,37 mg/mL e *Enterobacter cloacae* FT 505 de 0,74 mg/mL e contra o fungo *C. albicans* mostrando que extrato etanólico bruto da casca da *P. emarginatus* inibiu o crescimento de todas as bactérias e do fungo *C. albicans*.

3.2 Microbiota

Os seres humanos convivem com diversas espécies de microrganismos em seu meio ambiente, obedecendo um equilíbrio entre ambas as partes (TORTORA, FUKE, CASE, 2005).

As bactérias são microrganismos unicelulares (constituídos por uma célula), procariontes (que são células mais simples, pois não tem núcleo nem compartimentos membranosos no citoplasma) que podem ser encontrados na forma isolada ou em colônias. Algumas bactérias, como *Escherichia coli*, e *Staphylococcus aureus* estão presentes na flora normal, podendo ocasionar infecções quando o indivíduo encontra-se debilitado (MURRAY et al., 2000).

3.2.1 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus são cocos Gram-positivos com parede celular espessa e não possui uma membrana externa que se agrupam que parecem cachos de uva, que pode crescer aerobicamente ou anaerobicamente, faz parte da microbiota normal da pele e mucosas e encontrado na natureza, e esse gênero *Staphylococcus* ainda é constituído por cerca de 27 espécies. O *Staphylococcus aureus* é a espécie que geralmente acomete infecções tanto comunitária como hospitalar em humanos, localizando-se na pele ou em regiões mais profundas, um exemplo da infecção na pele é a furunculose, carbúnculo, etc, que em localidades diferentes recebem distintas designações (MURRAY et al., 2000).

O furúnculo é a infecção envolvida no tecido celular subcutâneo das glândulas sebáceas obstruídas e quando apresenta vários sítios de drenagem e geralmente localizado na nuca ou nas costas recebe o nome de carbúnculo. O *Staphylococcus aureus* é suscetível a varias drogas ativas contra bactérias Gram-positivas como as penicilinas, cefalosporinas, porém também tem alta probabilidade de desenvolver resistência varias delas (TRABULSI, 2002).

3.2.2 *Escherichia coli*

Escherichia é um gênero constituída de várias espécies entre elas: *Escherichia blattae*, *Escherichia fergusonii*, *Escherichia hermannii*, *Escherichia vulnerii* e a *Escherichia coli*. A *Escherichia coli* é uma bactéria bacilar que pode crescer aerobicamente ou anaerobicamente, Gram-negativa com parede celular complexa composta por membrana

externa que recobre uma camada delgada de peptidoglicano. A *Escherichia coli* está presente no intestino humano, fazendo parte da microbiota normal.

Essa bactéria é uma das maiores causadoras das mais diversas infecções, como por exemplo, as Infecções do Trato Urinário (ITU) por pré-existir nas fezes tem uma facilidade física para infectar a genitália feminina e colonizar a uretra provocando essa patologia (TRABULSI, 2002).

A forma de tratamento de infecções por *Escherichia spp* é a utilização de antimicrobianos eficazes contra bactérias Gram-negativas como as Cefalosporinas (SILVA, 2010).

4 MATERIAL E METODOS

4.1 Aquisição das garrafadas

As garrafadas da semente (GS), da folha (GF) e entre-casca (GEC) foram adquiridos no Mercado Municipal na cidade de Ponte Alta Tocantins no período de fevereiro a março de 2014.

Figura 2- Foto das garrafadas



Legenda – 1- GF- Garrafada da folha; 2- Garrafada da entre casca; 3- Garrafada da semente.

4.2 Microrganismos

Para avaliação da atividade antibacteriana dos GS, GF e GEC da sucupira branca (*Pterodon emarginatus*) foram utilizadas as cepas: *Escherichia coli* ATCC® 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC® 25923; gentilmente cedidas pelo laboratório CEULP- ULBRA.

4.3 Preparação dos meios

Os meios de cultura utilizados para crescimento de *Escherichia coli* (MacConkey), *Staphylococcus aureus* (Mannitol Salgado) (BRASIL, 2010), e para avaliação antibacteriana

(Muller Hinton), além dos caldos de enriquecimento, foram preparados de acordo com instruções do fornecedor. Depois de agitado na chapa aquecedora com o agitador magnético todas as soluções foram esterilizadas em autoclave Vertical (MOD AV50) à 121 °C por 15 minutos e após resfriamento foram transferidos 20 ml dos meios (Mannitol e MacConkey) para placas de Petri pequenas, e do meio Mueller Hinton um volume de 25 ml para placas de Petri grandes para o antibiograma.

Toda vidraria e material utilizado foi esterilizado (utilizando a autoclave Vertical MOD AV50), e o procedimento realizado na Capela de Fluxo Laminar Vertical (LB80).

4.4 Reativação das cepas

Esse procedimento experimental requer um trabalho de pré-enriquecimento o que garante a recuperação dos microrganismos que estão congelados, utilizando o Caldo Caseína-soja como diluente de enriquecimento. Usando a diluição 1:10 foi homogeneizado e em temperatura ambiente aguardando 2 horas que é o tempo necessário para sua reativação, porém não tem finalidade de estimular sua multiplicação (BRASIL, 2010).

Depois da reativação, os microrganismos foram semeados e encubados a 37° C e após 24 horas verificou-se o crescimento ou formação de colônias.

4.5 Padronização do inóculo

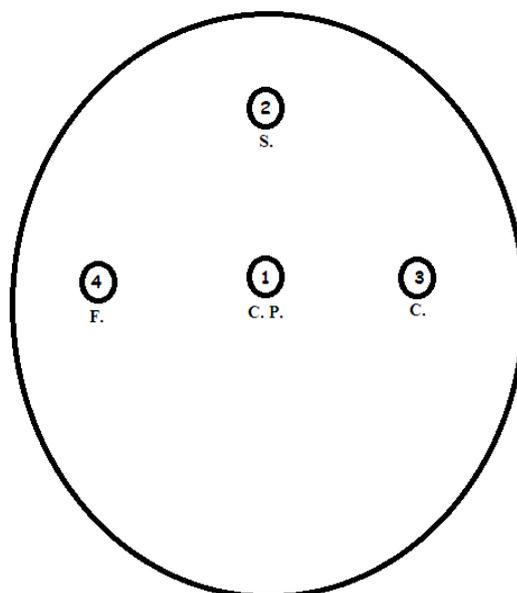
Após o crescimento das bactérias, foi feita a padronização retirando-se traços das colônias com alça descartável e adicionada ao tubo contendo 5mL de solução salina até atingir a turvação equivalente a da escala 0,5 MacFarland.

4.6 Preparação dos discos e determinação dos antibióticos controle

Depois do preparo do inóculo, foi impregnado 10µL (SANTOS, *et al.*, 2010) de cada uma das amostra (GS, GF e GEC) da sucupira branca nos discos de papel filtro cortados e autoclavados no diâmetro de aproximadamente 5mm.

Como controle positivo de sensibilidade bacteriana, foi utilizado o antibiótico Amicacina para a bactéria *Staphylococcus aureus* ATCC® 25923; Coranfencol para bactéria *Escherichia coli* ATCC® 25922; (BRASIL, 2010). Todos fornecidos pelo laboratório do CEULP/UIbra e colocados no centro das placas, conforme Figura 1.

Figura 3- Esquema indicando a distribuição dos discos na placa de Petri.



Discos: 1- Controle Positivo; 2- Garrafada da semente; 3- Garrafada da entre-casca; 4- Garrafada da folha

4.7 Avaliação da atividade antibacteriana

Após a padronização do inóculo foi distribuído sobre as placas de cada bactéria, com swab descartável foi distribuído sobre as placas com o Ágar Muller Hinton e deixado de repouso por aproximadamente 3 minutos para secar. Após o repouso os discos de papel filtro de até 5mm de diâmetro impregnados com as amostras e os antibióticos controle positivo foram posicionados sobre as placas inoculadas com o auxílio de uma pinça previamente esterilizada incubadas a 37°C por 24 horas (ALVES, 2008).

A avaliação do potencial antibacteriano, após o período de incubação das placas, foi conferido através da medição da área inibida das amostras e controle positivo, analisando a formação de uma zona clara sem crescimento bacteriano ao redor dos discos, comparando com o controle positivo. Os diâmetros dos halos foram averiguados com o auxílio de um paquímetro e sua dimensão é o índice da sensibilidade da bactéria (SANTOS, 2010).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através dos resultados dos halos de inibição formados, é possível determinar a eficácia das GS, GF e GEC para cada microrganismo, estabelecendo preferência contra cada bactéria específica determinando qual a amostra é necessário utilizar.

5.1 *Staphylococcus aureus*

Nos testes realizados *in vitro* foi evidenciado que o GS da sucupira branca apresentou a melhor atividade comparado com o GEC e GF (Tabela 3), porém o GS, se comparado com o controle positivo para interpretação padrão de halos de inibição da Farmacopeia Brasileira IV edição (1988), é considerado resistente por não possuir halo satisfatório contra o *Staphylococcus aureus*, em que obteve um pequeno halo médio de 4,5 mm com baixa capacidade inibitória (Figura 3), formando uma pequena área límpida ao redor dos discos impregnados.

Resultado similar, mas com uma média inferior ao encontrado, foi o de Santos e colaboradores (2010), no qual foi verificado um halo de inibição de 0,715 mm em média, para amostra de sementes preparada em extrato hidroalcoólico em álcool 70%.

Figura 4- Discos distribuídos em placa contendo a bactéria *Staphylococcus aureus*.



Legenda - 1- Controle Positivo: Coranfenicol; 2- Garrafada da Semente; 3- Garrafada da entre-casca; 4- Garrafada da Folha.

Tabela 3 - Resultado de inibição de crescimento para a bactéria *Staphylococcus aureus*, obtidos no ensaio de atividade antibacteriana pelo método de disco-difusão.

Amostras	Diâmetro médio (mm)	Resultado da leitura dos halos	Referência do controle Positivo Farmacopeia IV (mm)
Amicacina	21,5	Sensível	Resistente < 14 Intermediário 15 – 16 Sensível > 17
GS	4,5	Resistente	
GEC	-	Resistente	
GF	-	Resistente	

Legenda – GS- Garrafada da semente; GEC- Garrafada da entre casca; GF- Garrafada da folha

Apesar da não efetividade da GF, onde não há formação de halo e não houve paralisação do crescimento bacteriano aqui testado, Santos e colaboradores (2010) realizaram através do método da diluição em ágar determinando a CIM em diferentes concentrações. Os autores encontraram CIM de 50 mg/mL para *S. aureus* classificando como atividade antibacteriana moderada para o extrato etanólico.

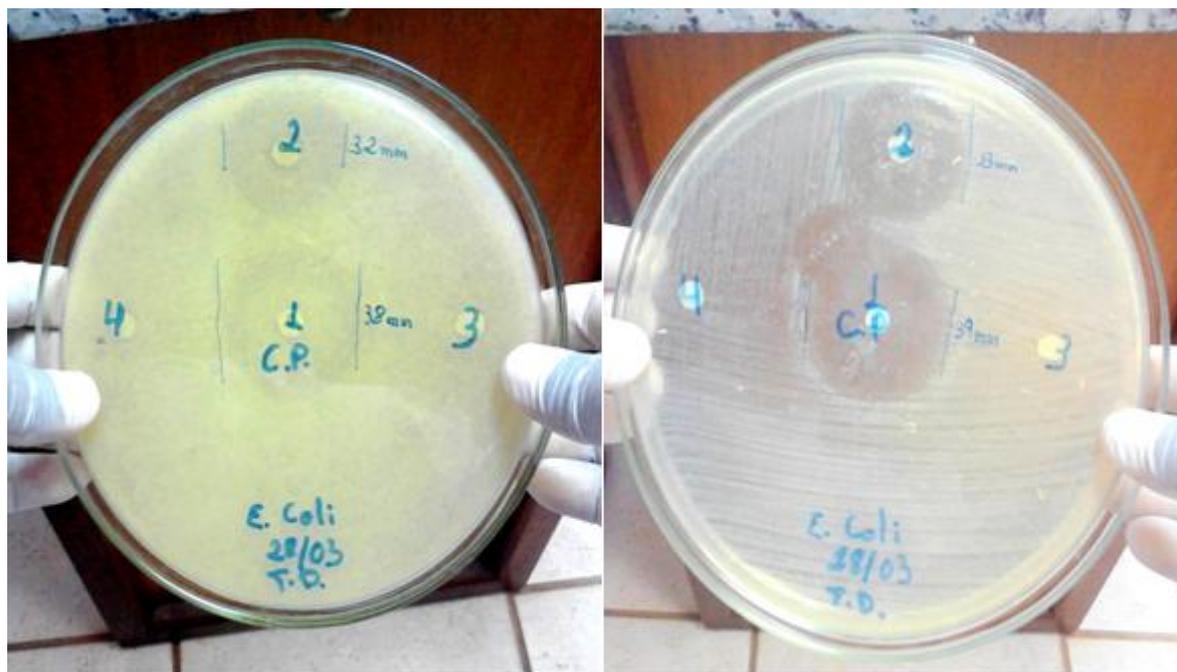
Os testes realizados demonstram que o GEC não foi capazes de impedir o crescimento bacteriano, fato verificado nos testes de sensibilidade contra o *S. aureus*. Contudo Bustamante e colaboradores (2010) realizaram a CIM com resultado de 0,74 mg/mL para o extrato etanólico e para mesma bactéria aqui testada.

Porém mesmo com esse resultado não se deve descartar o potencial farmacológico, pois fatores como a concentração das garrafadas utilizados podem influenciar no resultado, e mediante outros estudos aqui citados, é possível dar continuidade à exploração para obtenção de compostos bioativos da sucupira- branca testando em outros solventes.

5.2 *Escherichia coli*

O Coranfenicol (controle positivo) apresentou um halo de inibição com média de 38,5mm para *E. coli* (Figura 3), sendo que o diâmetro mínimo para o microrganismo ser considerado sensível ao antibiótico é de 18mm. Com valores entre 13 e 17mm indicaria uma cultura de *E. coli* com sensibilidade intermediária, e menor que 12mm a bactéria seria resistente ao extrato, e para as amostras analisadas foram estabelecidos o mesmo critério.

Figura 5- Discos distribuídos em placa contendo a bactéria *Escherichia coli*.



Legenda - 1- Controle Positivo: Coranfenicol; 2- Garrafada da Semente; 3- Garrafada da entre-casca; 4- Garrafada da Folha.

O GS da sucupira branca apresentou melhor atividade frente ao microrganismo *E. coli*, uma vez que houve a formação de um halo de inibição com média de 32,5 mm de diâmetro. Os que GF e GEC não apresentaram atividade antibacteriana contra as cepas testadas (Tabela 4).

Tabela 4 - Resultado de inibição de crescimento para a bactéria *Escherichia coli*, obtidos no ensaio de atividade antibacteriana pelo método de disco-difusão

Amostras	Diâmetro médio (mm)	Resultado da leitura dos halos	Referência do controle Positivo Farmacopeia IV (mm)
Coranfenicol	38,5	Sensível	Resistente < 12
GS	32,5	Sensível	Intermediário 13 – 17
GEC	-	Resistente	Sensível > 18
GF	-	Resistente	

Legenda – GS- Garrafada da semente; GEC- Garrafada da entre casca; GF- Garrafada da folha

Se comparar a média de diâmetro do GS com o controle positivo Clorafenicol, que na Farmacopéia Brasileira IV edição (1988), que coloca para interpretação padrão dos halos de inibição determinando que é sensível, pois seu halo límpido ao redor dos discos é maior que 18mm, com capacidade satisfatória de inibição do crescimento da bactéria *E. coli* onde esse resultado sugere boa atividade dessa amostra contra este microrganismo causador de diversas infecções.

Estudo semelhante foram verificado no trabalho de Santos e colaboradores (2010), através do método de disco-difusão, mas com uma média inferior ao encontrado, no qual foi

verificado um halo de inibição de 0,533 mm em média, para amostra de sementes preparada em extrato hidroalcoólico em álcool 70%. Essa diferença nos resultados pode ter relação com o cultivo em diferentes ambientes da planta, que pode levar a aumento ou diminuição da produção dos metabólitos secundários.

Na análise do GF da sucupira branca não houve halo de inibição, sendo a bactéria considerada resistente à amostra. Resultado semelhante foi realizado por Santos e colaboradores (2010) que utilizaram o óleo essencial das folhas para avaliação da atividade antimicrobiana através do método da diluição em ágar, contra vários microrganismos entre eles a *E. coli* apresentando uma alta CIM maior 50mg/mL sendo considerada ausente atividade antibacteriana.

No experimento utilizando o extrato GEC da sucupira branca contra a bactéria *E. coli* não houve a formação de halo de inibição, sendo assim, não tendo ação contra o crescimento desse microrganismo. Um mesmo extrato etanólico foi testado no trabalho de Bustamante e colaboradores (2010), que determinou através do CIM, atividade antimicrobiana frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, que obtiveram especificadamente para *E. coli* CIM de 0,74mg/mL.

Vários fatores podem interferir na diferença entre os resultados encontrados com a garrafada, destacando o meio extrativo que não se tem informação de como foi realizada a coleta, líquido extrator, tempo de armazenamento para que os metabólitos secundários possam ser totalmente extraídos; a sazonalidade com informações da época de coleta, umidade, temperatura, nutrientes do solo, que são pontos que influenciam no aumento ou diminuição da produção desses metabólitos; e a aquisição das amostras que nesse trabalho foi analisada com a garrafada que apresentou resultados positivos e nos resultados e análises dos autores que realizaram a produção de suas amostras em laboratório o que pode ter influenciado nessa diferença de resultados já que esses estudos não possui conhecimento e nem busca assemelhar-se na forma de produção popular, que de certa forma o meio extrativo, sazonalidade podem está aumentando a disponibilidade dos metabólitos secundários e na sua composição química que é os responsáveis por sua atividade antibacteriana.

6 CONCLUSÃO

A amostra da garrafada da semente demonstrou ter atividade antibacteriana frente as bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* em todos os testes, sendo que para a bactéria *E. coli* mostrou ser mais eficiente, ressaltando a aplicação de extratos etanólicos como formas de combate a essas bactérias.

Tanto a amostra da garrafada da folha quanto o da entre-casca não apresentaram atividade antibacteriana para ambos os microrganismos testados. Contudo estes resultados são importantes para um melhor conhecimento da atividade dessa planta, e que para os estudos posteriores possam avaliar atividade antibacteriana com outros solventes e outros microrganismos.

REFERENCIA BIBLIOGRAFICA

ALVES, E. G.; VINHOLIS, A. H. C.; CASEMIRO, L. A.; FURTADO, N. A. J. C.; SILVA, M. L. A.; CUNHA, W. R.; MARTINS, C. H. G. Estudo comparativo de técnicas de screening para avaliação da atividade antibacteriana de extratos brutos de espécies vegetais e de substâncias puras. **Revista Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 5, p.1224-1229. 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-40422008000500052&script=sci_arttext>. Acesso em: 11 maio 2014.

Brasil. Farmacopeia Brasileira, volume 2 / Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 5. Ed. Brasília: Anvisa, 2010. 546p.

Brasil. Farmacopeia Brasileira, Parte 1. Comissão Permanente de Revisão da Farmacopeia Brasileira. 4. Ed. São Paulo. Atheneu Editora, 1988. 392p.

BUSTAMANTE, K.G.L.; LIMA, A.D.F.; SOARES, M.L.; FIUZA, T.S.; TRESVENZOL, L.M.F., BARA, M.T.F.; PIMENTA, F.C.; PAULA, J.R. Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato etanólico bruto da casca da sucupira branca (*Pterodon emarginatus* Vogel) - Fabaceae. **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**, v. 12, n. 3, p.341-345, 2010. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbpm/v12n3/12.pdf>>. Acesso em: 08 mar. 2014.

CARNEIRO, Marcos Rodrigo Beltrão. **A flora medicinal no centro oeste do brasil: um estudo de caso com abordagem etnobotânica em campo limpo de goiás**. 2009. 243 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Sociedade, Tecnologia e Meio Ambiente, Centro Universitário de Anápolis, Anápolis. Disponível em: <http://unievangelica.edu.br/gc/imagens/file/mestrados/artigos/CARNEIRO,M_R_B_,2009.pdf>. Acesso em: 21 abr. 2014.

MARINHO, Jader Filho. THE BRAZILIAN CERRADO BAT FAUNA AND ITS CONSERVATION. **Chiroptera Neotropical**, 3 f. Departamento de Zoologia, Universidade de Brasília, Brasília, 1996. Disponível em: <<http://chiroptera.unb.br/index.php/cn/article/view/175>>. Acesso em: 08 mar. 2014.

MATOS, P. S.; NASCIMENTO, R. S. M.; ARAÚJO, G. P.; CERQUEIRA, R. C.; REIS, A. T. C. C. Superação de Dormência Tegumentar em Sementes de *Pterodon emarginatus* Vog. (sucupira-branca) – Leguminosae (Papilionoideae). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, n. 2, p.720-722, 2007.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2 ed. Nova Odessa. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda, 2002.

MAGNOLI, D.; ARAÚJO, R. **Geografia: A construção do Brasil**. São Paulo: Moderna, 2005. 108 p.

MURRAY, PATRICK R., ROSENTHAL, KEN S., KOBAYSHI, S., PFALLER, MICHAEL A.. **Microbiologia médica**. 3ª ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A., 2000. 604p.

MORAES, Sebastião P. N. **Árvores nativas do cerrado com potencial madeireiro**. Embrapa. p. 1-3. 2008. Disponível em:
<www.cpac.embrapa.br/download/1438/t> Acesso em: 08 mar. 2014.

OLIVEIRA, J. B.; VALLE, N. C. **Sucupira: Planta que Cura**. 2013. 13 f. TCC (Graduação) - Curso de Ciências Biológicas, Faculdade União de Goyazes, Trindade, 2013. Disponível em:
<<http://fug.edu.br/2010/pdf/tcc/SUCUPIRA%20Planta%20que%20Cura.pdf>>. Acesso em: 08 mar. 2014.

OSTROSKY, E. A.; MIZUMOTO, M. K.; LIMA, M. E. L.; KANEKO, T. M.; NISHIKAWA, S. O.; FREITAS, B. R.. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CIM) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 2, n. 18, p.301-307, 2008. Disponível em:
<<http://www.scielo.br/pdf/rbfar/v18n2/26.pdf>>. Acesso em: 30 maio 2014.

RODRIGUES, V. E. G.; CARVALHO, D. A. **Levantamento etnobotânico de plantas medicinais no domínio do cerrado na região do Alto Rio Grande – Minas Gerais**. 23 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras (UFLA), 2001. Disponível em:
<<http://www.institutovocorocas.com.br/biblioteca/16/46.pdf>>. Acesso em: 25 mar. 2014.

^aSANTOS, U.; RAMOS, C. O.; SANCHES, N. M.; SOUSA, F. F.; Propriedade antibacteriana dos frutos de sucupira-branca. **Revista Eletrônica de Biologia (REB)**. ISSN 1983-7682, v. 3, n. 4, p. 77-88, 2010. Disponível em:
<<http://revistas.pucsp.br/index.php/reb/article/viewArticle/1704>>. Acesso em: 25 mar. 2014.

^bSANTOS, A. P.; ZATTA, D. T.; MORAES, W. F.; BARA M. T. F.; FERRI, P. H.; SILVA, M. R. R.; PAULA, J. R.; Composição química, atividade antimicrobiana do óleo essencial e ocorrência de esteróides nas folhas de *Pterodon emarginatus* Vogel, Fabaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 6, n. 20, p.891-896, dez. 2010. Disponível em:
<<http://www.scielo.br/pdf/rbfar/v20n6/aop5610.pdf>> . Acesso em: 25 mar. 2014.

SILVA, I. D., TAKATSUKA, F. S.; ROCHA, M. R.; CUNHA, M. G. **Efeito do extrato de sucupira (*Pterodon emarginatus* vog.) sobre o desenvolvimento de fungos e bactérias fitopatogênicos**. 2005. 7 f. Dissertação (Mestrado) - Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Goiás.
<<http://www.revistas.ufg.br/index.php/pat/article/viewArticle/2258>>. Acesso em: 30 mar. 2014.

SILVA, Penildon. **Farmacologia**. 8. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010. 1325 p. Disponível em:

SOUZA, C. D.; FELFILI, J. M. **Uso de plantas medicinais na região de Alto Paraíso de Goiás, GO, Brasil**. v. 1, n. 20, p. 135-142, 2006. Disponível em:
<<http://www.scielo.br/pdf/abb/v20n1/13.pdf>>. Acesso em: 21 abr. 2014.

SOUZA, M. D.; FERNANDES, R. R.; PASA, M. C. Estudo etnobotânico de plantas medicinais na comunidade São Gonçalo Beira Rio, Cuiabá, MT. **Revista Biodiversidade**, Cuiabá, v. 9, n. 1, p.91-100, 2010. Disponível em: <<http://200.129.241.78/ojs/index.php/biodiversidade/article/view/104/95>>. Acesso em: 21 abr. 2014.

TRABULSI, Luiz Rachid. **Microbiologia**. 3. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2002. 586 p.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2000. p.1-760.

VERDE, G.M. Vila; PAULA, J.R.; CANEIRO, D.M.. Levantamento etnobotânico das plantas medicinais do cerrado utilizadas pela população de Mossâmedes (GO). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, p.64-66, 2003. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbfar/v13s1/a24v13s1.pdf>>. Acesso em: 21 abr. 2014.