

AVALIAÇÃO QUÍMICO-BIOLÓGICA DO EXTRATO DAS FOLHAS DE *Sedum dendroideum* (Crassulaceae)

CHEMICAL-BIOLOGICAL EVALUATION OF LEAVES EXTRACT FROM *Sedum dendroideum* (CRASSULACEAE)

¹BERNARDO, N. L.; ²LUDWIG, K. M.; ^{2;3}MOMESSO, L. S.

¹Discente do Curso de Farmácia, Universidade Paulista – Unip – *Campus Assis-SP*

²Professor do Curso de Ciências Biológicas, Universidade Paulista – Unip – *Campus Assis-SP*

³Professor de Curso de Farmácia, Faculdades Integradas de Ourinhos – FIO/FEMM

RESUMO

O presente trabalho tem como objetivo avaliar o potencial da atividade antimicrobiana do extrato da planta *Sedum dendroideum* (Crassulaceae), que foi ensaiado contra inóculos padronizadas de cepas das bactérias *Staphylococcus aureus*. O controle negativo foi água e os controles positivos foram os antibióticos oxacilina, gentamicina e clorafenicol. Os resultados não demonstraram a formação de halos de inibição contra as bactérias *Staphylococcus aureus* em concentrações de 2,5% 5% e 10% respectivamente. Isto indica que não há potencial da atividade antibacteriana no extrato ou este potencial é muito baixo ou ocorre somente em concentrações superiores as testadas.

Palavras-chave: *Sedum dendroideum*. Cromatografia. Atividade Antimicrobiana.

ABSTRACT

The present work aims to evaluate the potential of the antimicrobial activity of the extract of the plant *Sedum dendroideum* (Crassulaceae), which was tested against standardized inoculates of strains of bacteria *Staphylococcus aureus*. The negative control was water and the positive controls were the oxacillin, gentamicin and chloramphenicol antibiotics; The results did not demonstrate the formation of inhibition halos against *Staphylococcus aureus* bacteria in concentrations of 2.5% 5% and 10%, respectively. This indicates that there is no potential for antibacterial activity in the extract or this potential is too low or occurs only at concentrations higher than those tested.

Keywords: *Sedum dendroideum*. Chromatography. Antimicrobial Activity.

INTRODUÇÃO

Ao longo dos tempos, o conhecimento tradicional sobre as plantas medicinais foi repassado de geração a geração, sendo que no presente, apesar da medicina moderna ter evoluído consideravelmente, para muitas pessoas, sobretudo, em países subdesenvolvidos, o uso de plantas é a principal forma de tratamento das doenças. (FIRMO et al., 2011)

O homem desde a antiguidade sempre esteve ligado e dependente do universo vegetal e por meio de vivências e experiências aprendeu a retirar dele muito mais do que seu próprio sustento, utilizando-o também para finalidades medicinais, empíricas e simbólicas. (CARRASCO, 2014)

No Brasil, sob influência das interações culturais entre índios, negros e portugueses, essa relação homem-natureza permitiu a disseminação da sabedoria

herdada em relação ao uso e cultivo de diversas espécies vegetais. (CARRASCO, 2014)

Conhecer o modo como estas espécies são utilizadas pode ser de grande valia para o homem, já que muitas comunidades, por manterem um contato duradouro e recíproco com os vegetais, desenvolveram um sistema de manejo próprio. É por meio dessa relação homem-plantas que a etnobotânica permite a descoberta de espécies que podem ser aproveitadas para a fabricação de medicamentos, alimentos, artesanato, dentre outros. (CARRASCO, 2014)

O gênero *Sedum* compreende cerca de 350-500 espécies, sendo o maior da família Crassulaceae. É encontrado primariamente em zonas temperadas e frias do hemisfério norte. Um grande número de suas espécies é usado farmacologicamente. Muitas das drogas derivam das partes aéreas dessas plantas cujas folhas frescas e seu sumo serve para aplicações tópicas e uso interno. (NEWMANN; CRAGG; SNADER, 2003; MULINACCI et al., 1995)

Sedum dendroideum Moc. Et Sesséex DC (Crassulaceae) pertencente à ordem Saxifragales, é uma espécie perene, suculenta, sublenhosa e xerófita, originária da África do Sul, de clima tropical seco. (DUARTE; ZANETTI, 2002)

No Brasil, está amplamente adaptada, crescendo subespontaneamente e é denominada popularmente de bálsamo. Na medicina tradicional, utilizam-se as folhas frescas topicamente para tratamento de inflamações cutâneas e contusões, e internamente para distúrbios gástricos, em razão das atividades emoliente e cicatrizante. (CARRASCO, 2014)

Compostos de distintos grupos químicos têm sido evidenciados em espécies de *Sedum*, tais como polissacarídeos com ação anti-inflamatória, taninos, triterpenos com atividade hepatoprotetora, alcaloides piperidínicos e pirrolidínicos. Com propriedade terapêutica como cicatrizante, emoliente, digestivo. É indicado para contusões, torções, machucados, feridas gangrenosas, úlceras, epilepsia, frieiras, diabetes, bronquite crônica, queimaduras, afecções do aparelho respiratório e urinário, inflamações gastrointestinais, da pele e nas cefaleias. (CARRASCO, 2014)

Com o passar dos séculos, o homem evoluiu e começou a criar medicamentos e tratamentos próprios, como uma forma mais eficaz de cura. Mas uma medicina não anula a outra, não se deve apostar apenas na medicação natural sem a orientação de um médico de confiança, e não se deve confiar apenas na medicação farmacêutica e abrir mão de bons remédios naturais. Um pode

perfeitamente complementar o outro. No caso do Bálsamo, por exemplo, seu chá propicia ao organismo diversos benefícios que podem trabalhar em conjunto com diversas medicações. (SCHIAVON, 2015)

Avaliando suas atividades contra as dores e contra as inflamações, o suco cru de suas folhas foi testado em dois estudos diferentes, reduzindo em mais de 60% processos inflamatórios e em mais de 40 % a dor inflamatória, validando esses seus usos populares. Como antidiabético, o suco das folhas de balsamo foi testado e demonstrou a capacidade em reduzir até 50% o nível glicêmico no prazo de 2 horas, isso variando de acordo com peso, tamanho, índice glicêmico ou condições o organismo em questão. (SCHIAVON, 2015)

Com base nisso, os objetivos do presente trabalho consistem em analisar o perfil químico cromatográfico e a atividade antibacteriana do extrato das folhas de *S. dendroideum*.

METODOLOGIA

Obtenção do extrato vegetal

Foram coletadas folhas frescas de *S. dendroideum*, essas sendo lavadas em água destilada e reduzidas a pedaços pequenos. Após, foi feita a imersão do material vegetal em etanol 70%, deixando-as em maceração por 10 dias. Em seguida, o material foi filtrado em algodão e o extrato obtido foi evaporado em temperatura ambiente até volume constante.

Análise cromatográfica via cromatografia em camada delgada (CCD)

O extrato bruto obtido foi submetido à análise cromatográfica via Cromatografia em Camada Delgada, utilizando-se cromatoplasmas de sílica gel GF₂₅₄ como fase estacionária e uma mistura de metanol (1:1) como fase móvel. Após eluição, o cromatograma foi revelado sob luz ultravioleta em λ de 254 nm. (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2015)

Avaliação da atividade antimicrobiana pelo método de difusão em agar

A atividade antimicrobiana foi verificada, in vitro, pelo método da inibição da multiplicação microbiana por difusão em agar, conforme metodologia adaptada de 80s extratos foram diluídos em DMSO e avaliados frente à *S. aureus* nas concentrações 5%, 2,5% e 10%. As cepas testadas foram padronizadas pela

turvação equivalente ao tubo 0,5 da escala de McFarland em solução fisiológica, correspondente a uma concentração de aproximadamente 108 UFC/mL. A inoculação dos microrganismos foi realizada na placa contendo o Ágar Müller-Hinton. As placas inoculadas foram incubadas a 36 °C, por 24 horas. O presente teste foi realizado em triplicata, utilizando-se como controles positivos antibióticos padrões para bactéria Gram positivo, como controle negativo foi utilizado 1 µl de água impregnado em discos de papel-filtro devidamente esterilizados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Obtenção do extrato

As folhas de *S. dendroideum* foram lavadas em água destilada e cortadas em pequenos pedaços com o auxílio de um bisturi cirúrgico. Em seguida, os fragmentos foram imersos em etanol 70% e deixados em maceração durante 10 dias, após os dias referidos em que o extrato ficou em maceração já se obteve um líquido expeço em uma tonalidade esverdeada com tonalidade em marrom, após a filtração ainda foi deixado por mais 7 dias para que houvesse a evaporação do etanol e fosse obtido o extrato puro conforme ilustrado na Figura 1.

Figura 1. Preparo do material vegetal para extração.



Análise cromatográfica

O cromatograma do extrato obtido via CCD está ilustrado na Figura 2.

Figura 2. Cromatograma em CCD do extrato das folhas de *S. dendroideum*.



De acordo com a Figura 2, foi possível observar a presença de cinco sinais que podem ser referentes a cinco substâncias ou a misturas de substâncias com perfil químico semelhante.

Isso mostra a diversidade química na produção de substâncias pela espécie vegetal. Porém, sugere-se a presença de flavonoides, de acordo com Stevens et al. (1996).

O sumo de *S. dendroideum* possui flavonoides de alta polaridade e apolares, mas dependendo da massa vegetal disponível ou do enfoque dado durante o processo de fracionamento, é praticamente impossível isolar de uma dada espécie todas as substâncias de interesse presentes, neste caso os flavonoides. (MELO, 2006)

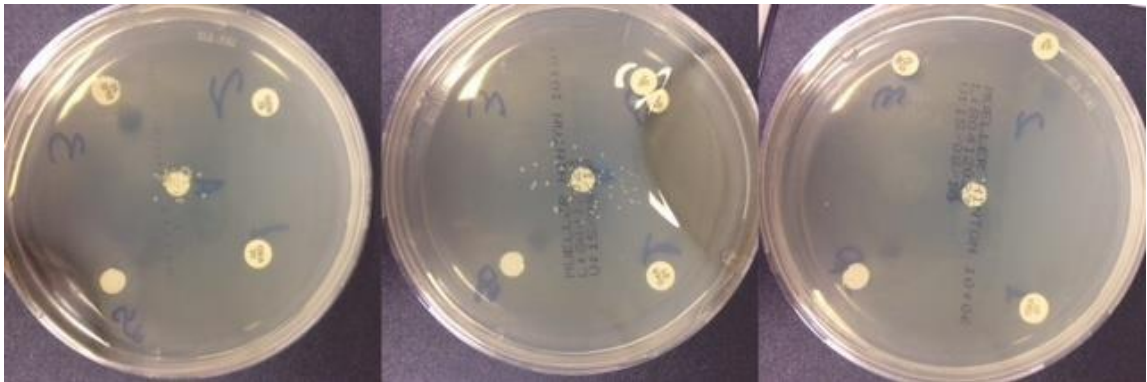
Comparando os flavonoides isolados de *S. dendroideum* com as outras espécies deste gênero, a espécie *S. telephium* se destaca por apresentar um perfil químico muito parecido. Dos dez flavonoides isolados de *S. dendroideum*, oito podem ser encontrados nesta espécie: kaempferitrina, kaempferol 3-O-glicosídeo-7-O-ramnosídeo, kaempferol 3-O-neo-hesperidosídeo-7-O-ramnosídeo, kaempferol 7-

O-ramnosídeo, kaempferol 3-O-ramnosídeo, kaempferol, quercetina 3-O-glicosídeo-7-O-ramnosídeo e quercetina 3-O-ramnosídeo-7-O-ramnosídeo. (MELO, 2006)

Avaliação da atividade antimicrobiana

A avaliação da atividade antimicrobiana do extrato de *S. dendroideum* frente a *S. aureus* está ilustrada na Figura 3.

Figura 3. Avaliação da atividade antimicrobiana pelo método de difusão em agar.



A metodologia empregada para determinação da atividade antimicrobiana foi o teste de difusão em discos, descrito por Bauer et al. (1966), com adaptações.

Com o auxílio de uma pipeta volumétrica foi utilizado 1,8 mL das culturas microbianas estudadas, que foram inoculadas 0,2 mL em cada uma das 9 placas contendo ágar Mueller-Hinton, que com o auxílio da alça de Drigalski foramespalhadas de modo a obter um inóculo homogêneo das bactérias em toda superfície do meio de cultura sólido.

Em seguida, nove discos de papel filtro de 6 mm de diâmetro devidamente confeccionados e esterilizados em autoclave, com o auxílio de uma micropipeta receberam uma alíquota do extrato de balsamo nas concentrações de 10, 5, 2,5 e mg/ml respectivamente que foram aplicados com pinça estéril sobre a placa de Petri. O controle negativo foi preparado usando somente água destilada estéril e o controle positivo foi um disco em cada placa de três antibióticos comerciais Oxacilina, Gentamicina e Clorafenicol.

Em seguida, foram incubadas a 36 °C por 24 horas em estufa bacteriológica. Todos os ensaios foram realizados em cabine de segurança bacteriológica com material esterilizado de forma asséptica, em triplicata e com uma única repetição.

O microrganismo *S. aureus* adquirem relevância na área da saúde por estarem associados com o desenvolvimento de diversas infecções. (DEACHATHAI et al., 2005)

Dentre as atividades relatadas para os flavonoides presentes na espécie vegetal *Sedum dendroideum* encontra-se uma fraca atividade captadora de radicais livres e a atividade antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* e MRSA (Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*). (DEACHATHAI et al., 2005)

CONCLUSÃO

Os resultados da avaliação antimicrobiana do extrato de *S. dendroideum* não foram satisfatórios, pois não foi possível analisar a ação antimicrobiana frente a *S. aureus* por meio do método utilizado.

Neste contexto, conclui-se que o extrato investigado não possui potencial antimicrobiano nas concentrações testadas, tornando-se necessárias novas avaliações para identificar seu potencial biológico.

REFERÊNCIAS

- BAUER A.W.; KIRBY, W.M.M.; SHERRIS, J.C.; TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **Amer. Int. Clin. Pathol.**, Hagerstown. v. 45, n. 4, p. 493-496, 1966.
- CARRASCO, V. **Eficácia do extrato da folha do bálsamo *sedum dendroideum* na prevenção e no tratamento da úlcera gástrica induzida em animais.** Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde). Dourados, 2014. Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2014.
- COLLINS, C.H.; BRAGA, G.L.; BONATO, P.S. **Fundamentos de Cromatografia.** Campinas: Unicamp, 2015.
- DEACHATHAI, S.; MAHABUSARAKAM, W.; PHONGPAICHIT, S.; TAYLOR, W.C. Phenolic compounds from the fruit of *Garciniadulcis*. **Phytochemistry**, v. 66, n. 19, p. 2368-2375, 2005.
- DUARTE, R.M.; ZANETI, C.C. Morfoanatomia de folhas de bálsamo: *Sedum dendroideum* Moc. Et Sesséex DC, Crassulaceae. **Revista Lecta**, Bragança Paulista, v. 20, n. 2, p. 153-160, 2002.
- FIRMO, W.C.A.; MENEZES, V.J.M.; PASSOS, C.E.C.; DIAS, C.N.; ALVES, L.P.L.; DIAS, I.C.L.; SANTOS-NETO, M.; OLEA, R.S.G. Contexto histórico, uso popular e concepção científica sobre plantas medicinais. **Cad. Pesq.**, v. 18, n. especial, p. 90-95 2011.

MELO, O.G; **Isolamento biomonitorado de flavonoides de *Sedum dendroideum*: comprovação de seu uso popular em processos inflamatórios**. Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2006.

MULINACCI, N.; VINCIERI, F.F.; BALDI, A.; BAMBAGIOTTI-ALBERTI, M.; SENDL, A.; WAGNER, H. Flavonol glycosides from *Sedum telephium* subspecies *maximum* leaves. **Phytochemistry**, v. 38, n. 2, p. 531-533, 1995.

NEWMANN, D.J.; CRAGG, G.M.; SNADER, K.M. Natural products as sources of a new drugs over the period 1981-2002. **Journal of Natural Products**, v. 66, n. 7, p.1022-1037, 2003.

SCHIAVON, A.B.D. **Resgate etnobotânico de plantas medicinais e validação da sua atividade antibacteriana**. Tese (Doutorado). Pelotas, 2015. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2015.

STEVENS, J.F.; HART, H.; ELEMA, E.T.; BOLCK, A. Flavonoid variation in Eurasian *Sedum* and *Sempervivum*. **Phytochemistry**, v. 41, n. 2, p.503-512, 1996.