



SEI-SICITE 2021

Pesquisa e Extensão para um mundo em transformação

## Potencial antibacteriano de plantas da família Asteraceae

### *Antibacterial potential of plants of the Asteraceae family*

Elizabeth Figueiredo Pires\*

Tatiana Shioji Tiومان†

#### RESUMO

O objetivo deste trabalho foi determinar a atividade antibacteriana de extrato e frações de espécies vegetais da família Asteraceae, por meio da determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e bactericida mínima (CBM) contra bactérias gram-positivas e gram-negativas. Em parceria com o Departamento de Química da Universidade Estadual de Maringá, foram obtidos extratos brutos e frações das plantas *Pterocaulon alopecuroides*, *Stevia leptophylla*, *Vernonanthura cuneifolia*, *Vernonanthura discolor* e *Austroeupeatorium inulaefolium*, que foram testados para quatro diferentes bactérias: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* e *Salmonella enteritidis*. Os extratos brutos e frações foram dissolvidos e testados em triplicata utilizando a metodologia de determinação da CIM por microdiluição e CBM por subcultivo em ágar Mueller Hinton. Observaram-se menores CIM para a fração acetato de etila e fração hidroalcoólica de *P. alopecuroides* contra *S. aureus* na concentração de 0,04 mg/mL e para a fração hidroalcoólica de *V. cuneifolia* na concentração de 0,04 mg/mL contra a *S. enteritidis*. Nos testes para determinação da CBM, a menor concentração encontrada foi de 1,25 mg/mL para o extrato bruto de *P. alopecuroides* contra *S. aureus*. No geral, os extratos brutos e frações obtidos a partir de plantas da família Asteraceae demonstraram melhor potencial antibacteriano contra as bactérias gram-positivas.

**Palavras-chave:** Concentração inibitória mínima. Concentração bactericida mínima. Extração por solvente. Produtos naturais.

#### ABSTRACT

The objective of this work was to determine the antibacterial activity of extracts and fractions of plant species from the Asteraceae family, by determining the minimal inhibitory concentration (MIC) and minimal bactericidal concentration (MBC) against gram-positive and gram-negative bacteria. In partnership with the Department of Chemistry of the State University of Maringá, crude extracts and fractions of *Pterocaulon alopecuroides*, *Stevia leptophylla*, *Vernonanthura cuneifolia*, *Vernonanthura discolor* and *Austroeupeatorium inulaefolium* plants were obtained, which were tested for four different bacteria: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* and *Salmonella enteritidis*. Crude extracts and fractions were dissolved and tested in triplicate using the methodology for determining MIC by microdilution and MBC by subculture on Mueller Hinton agar. Lower MICs were observed for the ethyl acetate fraction and the hydroalcoholic fraction of *P. alopecuroides* against *S. aureus* at a concentration of 0.04 mg/mL and the hydroalcoholic fraction of *V. cuneifolia* at a concentration of 0.04 mg/mL against *S. enteritidis*. In tests to determine MBC, the lowest concentration found was 1.25 mg/mL for the crude extract of *P. alopecuroides* against *S. aureus*. In general, crude extracts and fractions obtained from plants of the Asteraceae family showed better antibacterial potential against gram-positive bacteria.

**Keywords:** Minimum inhibitory concentration. Minimal bactericidal concentration. Solvent extraction. Natural products.

\* Tecnologia em Processos Químicos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Toledo, Paraná, Brasil; [elizabethpireselizabethpires@hotmail.com](mailto:elizabethpireselizabethpires@hotmail.com)

† Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Toledo (Toledo); [tatianatiومان@utfpr.edu.br](mailto:tatianatiومان@utfpr.edu.br)



## 1 INTRODUÇÃO

Asteraceae é uma das maiores famílias de plantas e compreende cerca de 1.600 gêneros e 23.000 espécies. No Brasil, a família é representada por, aproximadamente, 180 gêneros e 1.900 espécies, distribuídas em diferentes formações vegetacionais. É considerada a família de maior importância entre as fanerógamas, representando dez por cento do total da flora de angiospermas, encontradas e disseminadas por todos os continentes, porém com representação mais ampla nas regiões temperadas e semiáridas dos trópicos e subtropicais. Diversos estudos sobre padrões biogeográficos de distribuição da flora relatam que esta família está entre as dez mais frequentes na cobertura arbustivo-herbácea do Brasil extra-amazônico. Devido ao grande número de espécies e adaptações a diferentes ambientes, também desempenham um papel proeminente na estrutura, composição e funcionamento de comunidades e ecossistemas facilitando o estabelecimento de outras espécies ao promover a maturação dos solos (ROQUE, BAUTISTA 2008).

Plantas são fontes importantes de substâncias biologicamente ativas, sendo que a maioria dos fármacos em uso clínico, ou são de origem natural ou foram desenvolvidas por síntese química planejada a partir de produtos naturais (BARREIRO, BOLZANI 2009). E o homem vem a utilizar os recursos da natureza para proporcionar o seu bem-estar e aumentar sua qualidade de vida desde a antiguidade.

Popularmente, estes materiais vegetais têm sido chamados de “plantas bioativas”. Esta expressão foi criada para denominar todas as plantas que têm algum tipo de ação sobre outros seres vivos, e que este efeito pode apresentar-se tanto pela sua presença em um ambiente, quanto pelo uso direto de substâncias delas extraídas (BERNADI, 2016). Embora existam, nos dias atuais inúmeras estratégias e metodologias disponíveis para que se possa sintetizar e descobrir novos fármacos, a química de produtos naturais representa uma dessas alternativas de sucesso, historicamente privilegiada.

As vegetações contêm inúmeros constituintes, e seus extratos, quando testados, podem apresentar efeitos sinérgicos entre os diferentes princípios ativos devido à presença de compostos de classes ou estruturas diferentes contribuindo para a mesma atividade (MACIEL et al., 2002). A família Asteraceae é conhecida pelas propriedades terapêuticas, cosméticas e aromáticas. Já é relatado na literatura o uso medicinal dessa família como anti-helmíntico, anti-inflamatório, adstringente, colestérico, anti-hemorragico, antimicrobiano, diurético, analgésico e antiespasmódico (FABRI et al., 2011).

Assim, o objetivo deste trabalho foi determinar a concentração inibitória e bactericida mínima de extratos e frações de plantas da família Asteraceae contra bactérias gram-positivas e gram-negativas.

## 2 MÉTODO

Os extratos brutos e frações das plantas *Pterocaulon alopecuroides*, *Stevia leptophylla*, *Vernonanthura cuneifolia*, *Vernonanthura discolor* e *Austro eupatorium inulaefolium* foram fornecidos pelo Departamento de Química - Grupo de Síntese e Produtos Naturais (GSPN) da Universidade Estadual de Maringá,

As plantas foram coletadas na região de Campos Gerais no município de Ponta Grossa, Paraná. Foram identificadas e as exsicatas encontram-se depositadas no herbário da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Para o preparo dos extratos brutos, foi utilizado o método de maceração exaustiva, adicionando etanol ao material vegetal (partes aéreas – folhas e caules) seco e moído. Após 24 h, a solução foi filtrada e o solvente orgânico foi evaporado com auxílio de um evaporador rotativo. O solvente (etanol) recuperado foi novamente adicionado no frasco de extração. Este processo foi repetido de 4 a 5 vezes, para se obter a máxima extração



dos constituintes químicos da planta. Para o processo de fracionamento, uma parte de cada extrato bruto, foi dissolvida em uma mistura de MeOH/H<sub>2</sub>O 1:1 (v/v), e em seguida, foram submetidos à partição com solventes orgânicos em gradiente crescente de polaridade (*n*-hexano, diclorometano ou clorofórmio, acetato de etila e butanol (o butanol não se aplica a todas as plantas). Após a remoção dos solventes em um evaporador rotativo foram obtidas as frações hexânica, diclorometano ou clorofórmio, acetato de etila, butanol e fração remanescente hidrometanólica referente a cada espécie. No Quadro 1 é possível verificar todas as plantas com seus extratos brutos, frações e abreviações utilizadas.

Quadro 1- Relação de extratos brutos e frações de plantas da família Asteraceae.

Planta	Código	Amostra
<i>Pterocaulaon alopecuroides</i>	PA-EB	Extrato Bruto
	PA-FHX	Fração hexânica
	PA-FDC	Fração diclorometano
	PA-FAC	Fração acetato de etila
	PA-FHM	Fração hidrometanólica
<i>Stevia leptophylla</i>	SL-FHX	Fração hexânica
	SL-FCHCL3	Fração clorofórmica
	SL-FAC	Fração acetato de etila
	SL-FBuOH	Fração butanólica
	SL-FHM	Fração hidrometanólica
<i>Vernonanthura cuneifolia</i>	VC-EB	Extrato Bruto
	VC-FHX	Fração hexânica
	VC-FDC	Fração diclorometano
	VC-FAC	Fração acetato de etila
	VC-FHM	Fração hidrometanólica
<i>Vernonanthura discolor</i>	VDI-EB	Extrato Bruto
	VDI-FHX	Fração hexânica
	VD-FDC	Fração diclorometano
	VDI-FAC	Fração acetato de etila
	VDI-FHM	Fração hidrometanólica
<i>Austroeupatorium inulaefolium</i>	AI-EB	Extrato Bruto
	AI-FHX	Fração hexânica
	AI-FDC	Fração diclorometano
	AI-FAC	Fração acetato de etila
	AI-FHM	Fração hidrometanólica

Fonte: Autoria Própria (2021).

Para a determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) - maior diluição do extrato que inibe o crescimento dos microrganismos – foram utilizadas as bactérias gram-positivas *Staphylococcus aureus* (ATCC25923) e *Bacillus cereus* (INCQ5-00003) e as gram-negativas *Escherichia coli* (ATCC25922) e *Salmonella enteritidis* (ATCC13076). As bactérias foram padronizadas em salina com escala 0,5 Mc Farland e em seguida, diluídas 1: 20. As soluções dos extratos ou frações foram preparadas na concentração de 10 mg/mL, utilizando 10% de dimetilsulfóxido (DMSO) e completando com caldo Mueller Hinton (MH).



Nas microplacas de 96 poços, foram adicionados 100 µL de caldo MH em cada poço e na primeira linha foram colocados 100 µL das soluções dos extratos ou frações. Em seguida foram realizadas as diluições seriadas (1:2). Por último foi adicionado 10 µL da suspensão bacteriana em cada poço. Os últimos poços de cada coluna foram utilizados como controle do crescimento microbiano. O conteúdo das microplacas foi homogeneizado e as mesmas foram incubadas em estufa a 35 °C por 24 h.

Após este período, o conteúdo dos poços sem crescimento visível foram subcultivados em ágar MH e incubados em estufa 35 °C por 24 h para a determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM - menor concentração que não apresenta crescimento após semeadura). Após este procedimento, na microplaca foram adicionados 10 µL por poço de uma solução de cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio (CTT) a 0,5% em água e, incubado por 3 horas em estufa a 35 °C. O CTT é utilizado para a detecção do crescimento microbiano, pois quando há desenvolvimento de coloração rosa, indica atividade microbiana. Isso ocorre, porque o sistema de elétrons dos microrganismos reduz o cloreto de tetrazólio em formazan, o qual tem cor rosa, indicando que as bactérias viáveis são capazes de metabolizar e reduzir esse corante. Este procedimento é feito para confirmar os valores da Concentração Inibitória Mínima.

Os controles foram realizados da mesma forma, com o DMSO na mesma quantidade usada nas diluições dos extratos (10 %) e como controle positivo foi utilizada uma solução de Ampicilina na concentração de 0,001 mg/mL para todas as bactérias. Todos os testes foram realizados em triplicata.

### 3 RESULTADOS

A família Asteraceae possui várias espécies utilizadas na medicina popular, tornando importante verificar o potencial terapêutico de algumas dessas espécies. Segundo Rios & Recio (2005), extratos vegetais com CIM inferiores a 0,100 mg/mL são bastante promissores. No presente estudo, nos testes para determinação da CIM, as melhores atividades antimicrobianas encontradas foram para PA-FAC e PA-FHM contra *S. aureus* e VC-FHM contra *S. enteritidis*, na concentração de 0,04 mg/mL. Na concentração de 0,62 mg/mL, as frações VC-FDC, SL-FAC e PA-FDC apresentaram atividade inibitória contra o *B. cereus*, o que também é uma baixa concentração (Tabela 1).

Para os testes de determinação da CBM a menor concentração foi de 1,25 mg/mL para PA-EB contra o *S. aureus* (Tabela 1).

Observou-se para os demais extratos e frações que a atividade antimicrobiana foi maior contra as bactérias gram-positivas, sugerindo que a susceptibilidade esteja relacionada às características da parede celular destes microrganismos. As gram-positivas possuem a parede celular composta de polissacarídeos acídicos (ácido teicóico) e peptidoglicano com abundância de poros, que promove a adesão de algumas moléculas estranhas que acabam entrando na célula (KONG et al., 2010).

Ainda foi observado que o controle de DMSO não apresentou atividade na inibição dos microrganismos na concentração utilizada para dissolver os extratos e a ampicilina foi eficiente como droga antimicrobiana.

O interesse pela descoberta de extratos vegetais com diferentes atividades biológicas, tem crescido muito nos últimos anos. Neste contexto, plantas que apresentam atividade antimicrobiana são de grande interesse devido ao fato de muitos microrganismos apresentarem resistência, não somente aos antibióticos já pré-estabelecidos, como também aos de última geração, causando sérios problemas de saúde pública (PRATES & BLOCH-JÚNIOR, 2001).



Tabela 1- Resultados dos testes Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) de extratos e frações de plantas da família Asteraceae, realizados em triplicata.

Extratos	<i>S. aureus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. enteritidis</i>
	Média CIM/CBM (mg/mL)			
VC-EB	1,25/5,0	5,0/>5,0	>5,0/>5,0	>5,0/>5,0
VC-FHX	>5,0/>5,0	>5,0/>5,0	>5,0/>5,0	>5,0/>5,0
VC-FDC	0,62/5,0	0,62/>5,0	>5,0/>5,0	>5,0/>5,0
VC-FAC	1,25/>5,0	2,5/>5,0	>5,0/>5,0	>5,0/>5,0
VC-FHM	2,5/>5,0	>5,0/>5,0	>5,0/>5,0	0,04/>5,0
VDI-EB	>5,0/>5,0	>5,0/>5,0	>5,0/>5,0	>5,0/>5,0
VDI-FHX	>5,0/>5,0	>5,0/>5,0	>5,0/>5,0	>5,0/>5,0
VD-FDC	>5,0/>5,0	5,0/>5,0	>5,0/>5,0	>5,0/>5,0
VDI-FAC	>5,0/>5,0	>5,0/>5,0	>5,0/>5,0	>5,0/>5,0
VDI-FHM	>5,0/>5,0	5,0/>5,0	>5,0/>5,0	>5,0/>5,0
SL-FHX	>5,0/>5,0	5,0/>5,0	>5,0/>5,0	>5,0/>5,0
SL.FCHCL3	>5,0/>5,0	2,5/>5,0	>5,0/>5,0	>5,0/>5,0
SL-FAC	0,62/2,5	0,62/>5,0	>5,0/>5,0	>5,0/>5,0
SL-FBuOH	>5,0/>5,0	5,0/>5,0	>5,0/>5,0	>5,0/>5,0
SL-FHM	>5,0/>5,0	>5,0/>5,0	>5,0/>5,0	>5,0/>5,0
AI-EB	0,62/>5,0	2,5/>5,0	>5,0/>5,0	>5,0/>5,0
AI-FHX	5,0/>5,0	2,5/>5,0	>5,0/>5,0	>5,0/>5,0
AI-FDC	1,25/5,0	5,0/>5,0	5,0/>5,0	>5,0/>5,0
AI-FAC	5,0/>5,0	2,5/>5,0	>5,0/>5,0	>5,0/>5,0
AI-FHM	>5,0/>5,0	>5,0/>5,0	>5,0/>5,0	>5,0/>5,0
PA-EB	0,62/1,25	1,25/>5,0	>5,0/>5,0	>5,0/>5,0
PA-FHX	>5,0/>5,0	1,25/2,5	>5,0/>5,0	>5,0/>5,0
PA-FDC	>5,0/>5,0	0,62/>5,0	>5,0/>5,0	>5,0/>5,0
PA-FAC	0,04/5,0	1,25/>5,0	>5,0/>5,0	>5,0/>5,0
PA-FHM	0,04/2,5	>5,0/>5,0	5,0/>5,0	5,0/>5,0
Ampicilina	0,001/0,001	0,062/0,125	0,004/0,004	0,001/0,002

Fonte: Autoria Própria (2021).

#### 4 CONCLUSÃO

Neste trabalho foi determinada a atividade antimicrobiana de extratos brutos e frações de plantas da família Asteraceae. Para a maioria dos extratos brutos e frações, as bactérias gram-positivas se mostraram mais suscetíveis aos compostos presentes. Os melhores resultados do teste de determinação da CIM encontrados foram para PA-FAC e PA-FHM contra *S. aureus* e VC-FHM contra *S. enteritidis*. Na determinação da CBM,



PA-EB apresentou a atividade que se destacou contra *S. aureus*. Assim, plantas da família Asteraceae devem ser melhor exploradas, pela significativa ação antimicrobiana que podem apresentar.

## AGRADECIMENTOS

À Fundação Araucária pela bolsa de Iniciação Científica concedida e à Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Toledo pelo apoio às pesquisas científicas. Ao Departamento de Química da Universidade Estadual de Maringá pelo fornecimento dos extratos e frações das plantas para o desenvolvimento deste trabalho.

## REFERÊNCIAS

- BARREIRO, E.; BOLZANI, V. **Biodiversidade: fonte potencial para a descoberta de fármacos**. Química Nova, v.32, n.3, p. 679-678, 2009.
- BERNADI, L. M. **Caracterização da disponibilidade de mudas e partes secas de plantas medicinais, aromáticas, condimentares nas feiras livres do município de Chapecó-SC**. Trabalho de conclusão de curso, Universidade Federal da Fronteira Sul, Chapecó, 2016.
- FABRI, R.L.; NOGUEIRA, M.S.; DUTRA, L.B.; BOUZADA, M.L.M.; **Potencial antioxidante e antimicrobiano de espécies da família Asteraceae**. Revista Brasileira de Plantas Medicinais, v.13, n.2, p.183-189, 2011.
- FINKEL, T.; HOLBROOK, N.J. **Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing**. Nature, v.480, p.239-247, 2000.
- KONG, M.; CHEN, V.G.; XING, K.; PARK, H.Y. **Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: a state of the art review**. International Journal of Food microbiology, v.144, p. 51-63, 2010.
- LUNA, J. **Estudo de plantas bioativas**. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2006.
- MACIEL, M.; PINTO, A.; VEIGA, V.; GRYNBERG, N.; ECHEVARRIA A. **Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares**. Química Nova, v.25, n.3, p. 429-438, 2002.
- PRATES, M.V.; BLOCH-JÚNIOR, C. **Peptídeos antimicrobianos**. Biotecnology, v.23, p.30-36, 2001.
- RIOS, J.L.; RECIO, M. **Medicinal plants and antimicrobial plants**. Journal of Ethnopharmacology, v.100, p.80-4, 2005.
- ROMERO, C.D.; CHOPIN, S, F.; BUCK, G.; MARTINEZ, E.; GARCIA, M.; BIXBY, L, **Antibacterial properties of common herbal remedies of the southwest**. Journal of Ethnopharmacology, v.99, n.2, p.253-257, 2005.
- ROQUE, N.; BAUTISTA, H. **Asteraceae caracterização e morfologia floral**. Salvador: EDUFBA, 2008.