



PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA DO EXTRATO VEGETAL DE *Piper mollicomum* KUNTH (PIPERACEAE) E SEU POTENCIAL ANTIMICROBIANO

DOI: 10.19177/rgsa.v8e32019550-565

Karen Priscila Cartimare Almeida¹

Ana Cristina Viana Barros²

Tatyanna Mariúcha de Araújo Pantoja³

Felipe Sant' Anna Cavalcante⁴, Renato Abreu Lima⁵

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo avaliar o potencial do extrato etanólico de *Piper mollicomum* sobre *Staphylococcus aureus* e MRSA. Folhas, inflorescências e talos foram coletados, pesados e colocados em estufa elétrica para trituração e posterior imersão em 1mg.mL⁻¹ de etanol. O material adquirido da filtragem foi destilado e o extrato bruto passou por teste de identificação dos metabólitos secundários, sendo feitos os testes de alcaloides, glicosídeos cardiotônicos, cumarinas, flavonoides, taninos, saponinas, triterpenos e derivados antracênicos livres. Para verificar o potencial antimicrobiano, utilizou-se à técnica de difusão em ágar em poços nas concentrações de 125, 250, 500 e 1000 µg/mL. As bactérias *S. aureus* e MRSA foram cultivadas em meio Luria-Bertani (LB) durante 24 horas com a absorbância de turvação. Para o controle negativo, utilizou-se somente o meio DMSO e no controle positivo foi realizado com Cloranfenicol[®]. O delineamento foi inteiramente casualizado, com três repetições por tratamento dos extratos. A avaliação consistiu em verificar os halos de inibição de crescimento bactericida, a cada 24 horas, durante 48 horas. Verificou-se que os extratos etanólicos dos talos, folhas e inflorescência possuem alcaloides, glicosídeos cardiotônicos, cumarinas, flavonoides, taninos condensados e triterpenos em todas as partes da planta. Além disso, verificou-se que os extratos de *P. mollicomum* tiveram efeito inibitório das bactérias testadas

Palavras-chave: Microbiologia. Produtos naturais. Eficiência.

¹Graduação em Ciências: Biologia e Química, Instituto de Natureza e Cultura, Universidade Federal do Amazonas (INC/UFAM). E-mail: karen_priscilabc@hotmail.com

²Graduação em Ciências: Biologia e Química, Instituto de Natureza e Cultura, Universidade Federal do Amazonas (INC/UFAM). E-mail: anacrisbarros@hotmail.com

³Docente do Curso de Ciências: Biologia e Química, Instituto de Natureza e Cultura, Universidade Federal do Amazonas (INC/UFAM). E-mail: mariucha@hotmail.com

⁴Graduação em Ciências Biológicas (Bacharelado e Licenciatura) pelo Centro Universitário São Lucas (UniSL) em Porto Velho-RO (2018). Especialista em Metodologia do Ensino Superior pelo UniSL (2019). Mestrando do Programa de Pós-graduação em Ciências Ambientais do Instituto de Educação, Agricultura e Ambiente (IEAA) da Universidade Federal do Amazonas - UFAM. E-mail: felipesantana.cavalcante@gmail.com

⁵Graduação em Ciências Biológicas (Licenciatura e Bacharelado) pelo Centro Universitário São Lucas (2009); Especialista em Gestão Ambiental pela mesma instituição (2011); Mestre em Desenvolvimento Regional e Meio Ambiente pela Universidade Federal de Rondônia - UNIR (2011) e Doutor em Biodiversidade e Biotecnologia pela Universidade Federal do Amazonas - UFAM (2016). Docente na UFAM. E-mail: renatoabreu07@hotmail.com

PHYTOCHEMICAL PROSPECTION OF THE VEGETABLE EXTRACT OF *Piper mollicomum* KUNTH (PIPERACEAE) AND ITS ANTIMICROBIAL POTENTIAL

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the potential of ethanolic extract of *Piper mollicomum* on *Staphylococcus aureus* and MRSA. Leaves, inflorescences and stems were collected, weighed and placed in an electric oven for shredding and subsequent immersion in 1 mg.mL⁻¹ of ethanol. The material obtained from the filtration was distilled and the crude extract was tested for identification of secondary metabolites. Alkaloids, cardiotonic glycosides, coumarins, flavonoids, tannins, saponins, triterpenes and free anthracene derivatives were tested. To verify the antimicrobial potential, the agar diffusion technique was used in wells at concentrations of 125, 250, 500 and 1000 µg / mL. *S. aureus* and MRSA bacteria were cultured in Luria-Bertani (LB) medium for 24 hours with turbidity absorbance. For negative control, only DMSO medium was used and positive control was performed with Cloranfenicol®. The design was completely randomized, with three replications per treatment of the extracts. The evaluation consisted of checking the bactericidal growth inhibition halos every 24 hours for 48 hours. The ethanolic extracts of the stems, leaves and inflorescences were found to contain alkaloids, cardiotonic glycosides, coumarins, flavonoids, condensed tannins and triterpenes in all parts of the plant. In addition, *P. mollicomum* extracts were found to have an inhibitory effect on the bacteria tested.

Keywords: Microbiology. Natural products. Efficiency.

1 INTRODUÇÃO

A biodiversidade do Brasil é extremamente vasta, mas apenas uma pequena fração das suas potencialidades é utilizada para pesquisa e desenvolvimento de medicamentos. As plantas medicinais e seus metabólitos secundários podem representar a oportunidade de elaboração de tratamentos eficazes e de baixo custo (SOUSA et al., 2017).

As plantas representam uma importante fonte de medicamento devido à grande diversidade de moléculas com potencial medicinal, portanto, para o conhecimento da atividade farmacológica das plantas é importante determinar os compostos químicos presentes nos vegetais (LÔBO et al., 2010; SANTOS et al., 2011). No Brasil, a

população faz o uso de fitoterápicos, porém há poucas evidências científicas sobre a eficácia dos mesmos (ZIECHET et al., 2013).

Diniz et al. (2013) afirmam que nos últimos anos tem surgido uma grande preocupação em se conhecer a composição das ervas medicinais da região amazônica, visto que muitas delas são indicadas para as mais diversas enfermidades que acometem o homem.

A família Piperaceae contém 12 gêneros e 1.400 espécies, sendo 700 pertencentes ao gênero *Piper* distribuídas em todas as regiões tropicais, com 170 espécies no Brasil (SOUZA; LORENZI, 2008). Diversos constituintes fixos como alcaloides, flavonoides, arilpropanoides e lignanas são encontrados em espécies do gênero *Piper*. O uso medicinal de espécies de *Piper* inclui tratamento de doenças venéreas, distúrbios intestinais, males gênicos-urinários, epilepsia e para prevenir concepção.

A resistência antimicrobiana é considerada um problema de saúde global, que compromete a efetividade dos antibióticos inviabilizando o tratamento de infecções comuns. A resistência ocorre quando microrganismos sofrem mutação genética ao serem expostos a drogas antimicrobianas, esses microrganismos são referidos como “superbactérias” (FRACAROLI; OLIVEIRA; MARZIELE, 2017).

A grande maioria dos antibacterianos comercializados tem tido como alvo a parede da célula bacteriana ou biossíntese de macromoléculas. As bactérias, no entanto, desenvolvem mecanismos de defesa, por mutação ou aquisição de novos genes de outras bactérias. Essas defesas têm incluído aquisição de enzimas, alteração da permeabilidade da parede celular, proteínas de efluxo, alteração das moléculas alvo, a fim de protegê-las contra ataques de agentes antibacterianos (ALMEIDA, 2013).

Segundo Gelatti et al. (2009) *Staphylococcus aureus* é uma bactéria gram-positiva, presente em diversas partes do corpo humano como fossas nasais, garganta, intestinos e pele podendo causar infecções quando há rompimento de barreira cutânea. Essa bactéria é resistente a meticilina e 1 de cada 3 pessoas tem esse tipo de bactéria nos tecidos da pele ou no nariz, esta bactéria não possui riscos sendo entre muitas vezes levada por um longo tempo no ser humano sem danificar a saúde do ser humano.

S. aureus constitui um agente de grande preocupação dentro da abordagem da resistência aos antibióticos desde a década de 1960, emergindo imediatamente

após a introdução da penicilina (BASSETTI, 2009). Por este motivo se faz de grande importância estudos que possam achar um meio para combatê-lo.

As infecções por *S. aureus* resistentes à meticilina (MRSA) foram consideradas um problema predominantemente hospitalar até a década de 1980, quando foram registrados os primeiros casos por cepas de origem comunitária ou CAMRSA (*Community-Acquired*). Desde então, cepas de MRSA exibindo características genéticas e fenotípicas diferentes das apresentadas pelas cepas hospitalares, HAMRSA (*Healthcare-Acquired*), passaram a ser identificadas na comunidade causando infecções em pessoas saudáveis, não expostas aos habituais fatores de risco, resultando na mudança da epidemiologia destes microrganismos (BASSETTI, 2009).

Neste contexto, com o intuito de fornecer subsídios sobre a família Piperaceae para a Flora do Estado do Amazonas, inexistente até o momento, bem como para os trabalhos realizados com fitoquímica, o presente trabalho teve como objetivo realizar uma prospecção fitoquímica das estruturas vegetais de *P. mollicomum*, avaliando assim seu potencial antimicrobiano sobre bactérias Gram-positivas.

2 METODOLOGIA



2.1 Coleta da planta e sua identificação

P. mollicomum foi coletada na trilha do Instituto Natureza e Cultura da Universidade Federal do Amazonas (INC/UFAM) no município de Benjamin Constant-AM com as seguintes coordenadas geográficas: 4° 23.259' S e 70° 2.000'. Posteriormente, foi herborizada no Laboratório de Botânica do INC/UFAM, seguindo o procedimento de prensagem entre jornais, papelão e corrugado, em prensa de madeira, sendo que cada espécime foi identificada com número de coleta, data, local e nome do coletor.

Após esse processo, o material vegetal foi colocado em estufa elétrica para desidratação, por um período aproximado de 48 h em uma temperatura de 50 °C. Depois de desidratado, o material vegetal foi descrito e identificado com auxílio de lupa, bibliografia especializada, de comparação com exsiccatas de material já identificado.

2.2 Preparação do extrato vegetal

1 kg de folhas, inflorescências e talos de *P. mollicomum* foram coletados e no Laboratório de Química Orgânica do INC/UFAM, o material vegetal passou por uma limpeza e pesagem em balança analítica do mesmo. Em seguida, foi colocado para secar em estufa a 50 °C por um período de 48 h. A partir do material vegetal devidamente seco e triturado, sendo adicionado 1 L de etanol 96% por sete dias, em três repetições. Posteriormente, os extratos vegetais obtidos das folhas, inflorescências e talos foram filtrados e submetidos ao processo de destilação simples, obtendo-se assim o extrato bruto da planta.

Em seguida, foram realizados testes fitoquímicos com os diferentes extratos vegetais baseados em precipitação e coloração em solução e reativos específicos para cada teste conforme metodologia proposta por Matos (2009):

2.2.1 Alcaloides

Para realizar o ensaio foi necessária a utilização de 2,0 mL do extrato vegetal, sendo adicionados 2,0 mL de ácido clorídrico (10%), onde se aqueceu essa mistura por 10 minutos a 50 °C. Após o resfriamento, o extrato foi dividido em três tubos de ensaios juntamente com oito gotas dos seguintes reativos de reconhecimento:

- **Tubo 1 - Reativo de Mayer:** observando formação de precipitado branco ou leve turvação branca.
- **Tubo 2 - Reativo de Dragendorff:** observando formação de precipitado de coloração laranja a vermelho.
- **Tubo 3 - Reativo de Wagner:** observando formação de precipitado de coloração alaranjado.
-

2.2.2 Glicosídeos cardiotônicos

2,0 mL de extrato vegetal foram adicionados a 3,0 mL de solução de acetato de chumbo a 10% e 2,0 mL de água destilada. Na qual aqueceu a mistura em banho-maria por 10 minutos em uma temperatura de 50° C. Em seguida, o extrato foi filtrado e agitado com 10,0 mL de clorofórmio, separando a fase clorofórmica em quatro tubos de ensaio. Após a evaporação do clorofórmio, se observou a formação de resíduos nos tubos, os quais serão acrescidos dos seguintes reagentes:

- **Tubo 1:** Reação de Salkowski para a determinação de núcleo esteroidal. Coloração indo do amarelo para o roxo é um resultado positivo.
- **Tubo 2:** 1,0 mL de Reativo de Kedde. Coloração rosa ou azul-violeta ao visível indica cardenólidos, os bufadienólidos não reagem. A cor se atenua em poucos minutos.
- **Tubo 3:** Reação de Keller-Kiliani (ácido acético glacial, numa gota de cloreto férrico III a 5% em metanol e ácido sulfúrico concentrado). Colorações intensas é resultado positivo.
- **Tubo 4:** Reação de Liebermann-Burchard (1,0 mL da amostra/algumas gotas de ácido acético + 3,0 mL anidrido acético/ácido sulfúrico (50:1, v/v). Resultado positivo: coloração verde, azul esverdeado, roxo a azul.
- **Tubo 5:** Reação de Baljet (1,0 mL da amostra/oito gotas de ácido acético + 3,0 mL de clorofórmio). Resultado positivo: coloração laranja, roxo ou vermelho.
- **Tubo 6:** Reação de Raymond (Filtrado o extrato, adicionou-se duas gotas de solução de cloreto férrico a 10% + duas gotas de acetato de chumbo a 10%). Resultado positivo: coloração indo do amarelo ao roxo.

2.2.3 Cumarinas

Em um tubo de ensaio adicionou-se 2 mL do extrato vegetal, tampado com papel de filtro esterilizado impregnado em solução 10% de NaOH e em seguida, levado a fervura em banho de água a 100 °C por 10 minutos retirando posteriormente o papel-filtro e examinando sob luz ultravioleta. A fluorescência amarela ou verde indica a presença de cumarinas.

2.2.4 Flavonoides

Esta pesquisa baseia-se na modificação da estrutura do flavonoide em presença de ácido. Em um tubo de ensaio com 2,0 mL do extrato vegetal, foi adicionado duas gotas de acetato de chumbo a 10%. A presença de um precipitado corado indica positividade da reação.

2.2.5 Taninos

2,0 mL do extrato vegetal foram adicionados com 10 mL de água destilada em um tubo de ensaio. Em seguida, foi feita a filtração sendo adicionadas duas gotas de

solução de cloreto férrico a 10%. Coloração azul indica possível presença de taninos hidrolisáveis e a coloração verde de taninos condensados.

2.2.6 Saponinas

Neste ensaio, 2,0 mL do extrato vegetal foram adicionados a 5,0 mL de água destilada e levados posteriormente a banho-maria por 20 minutos em uma temperatura de 50 °C. Após resfriamento, foi deixado em repouso por 10 minutos. Classificou-se a presença de saponinas pela formação de espumas.

2.2.7 Triterpenos

Neste ensaio, com 2,0 mL do extrato vegetal foram adicionados a 5,0 mL de clorofórmio. Após filtração, o extrato foi dividido em duas porções. Em cada um dos tubos foram realizadas as reações de Liebermann-Burchard e Salkowski. Os triterpenos desenvolvem coloração estável e os esteroides desenvolvem coloração mutável com o tempo.

2.3 Ensaio biológicos

Para realização deste, utilizou-se à técnica de difusão em ágar em poços nas concentrações de 125, 250, 500 e 1000 µg/mL. A *S. aureus* e MRSA foram cultivadas em meio Luria-Bertani (LB) durante 24 h com a absorvância de turvação. Para o controle negativo, utilizou-se somente o meio Dimetilsulfóxido (DMSO) e no controle positivo foi realizado com Cloranfenicol®.

O delineamento foi inteiramente casualizado, com três repetições por tratamento dos extratos. A avaliação consistiu em verificar os halos de inibição de crescimento bactericida, a cada 24 h, durante 48 h.

Após o tempo de incubação, verificou-se o crescimento sobre o ágar e se o mesmo apresentava zona de inibição ou não de forma confluyente e uniforme. As leituras dos halos foram medidas em milímetros usando uma régua milimétrica. Os diâmetros dos halos de inibição total foram medidas, incluindo o diâmetro do orifício. O halo de inibição foi considerado a área sem crescimento detectável ao contador de colônias digital Modelo CP 600 Plus.

Foi considerado como produto inibitório das bactérias qualquer halo de inibição ao redor dos orifícios. O perfil de sensibilidade dos microrganismos ao produto testado foi classificado de acordo com a seguinte escala: resistente (ausência de halo de

inibição); pouco sensível (halos de até 10 mm de diâmetro); moderadamente sensível (halos entre 10 e 20 mm); muito sensível (halos entre 20 e 30 mm) e severamente sensível (halos acima de 30 mm) conforme o Instituto Leônidas e Maria Deane (ILMD).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Prospecção fitoquímica

De acordo com a identificação das classes de metabólitos secundários no extrato etanólico das folhas de *P. mollicomum* verificou-se que estes apresentam e possuem grande interesse na medicina tradicional (Tabela 1).

Os estudos dos metabólitos secundários de plantas se desenvolveram aceleradamente nos últimos anos. Estes compostos são conhecidos por desempenharem um papel importante na adaptação das plantas aos seus ambientes e também representam uma fonte importante de substâncias farmacologicamente ativas (FUMAGALI et al., 2008).



Tabela 1. Resultados da identificação de metabólitos secundários do extrato etanólico das folhas de *P. mollicomum*

Metabólitos secundários	Extrato etanólico	Coloração/Precipitação
Alcaloides		
Reagente de Mayer	Positivo	Laranja
Reagente de Wagner	Positivo	Creme
Reagente de Dragendorff	Positivo	Laranja
Glicosídeos cardiotônicos		
Reagente de Salkowski	Positivo	Vermelho
Reagente de Kedde	Negativo	Amarelo
Reagente de Keller-Killiani	Positivo	Verde escuro
Reagente de Liebermann	Negativo	Amarelo
Burchard		
Reagente de Baljet	Positivo	Laranja
Reagente de Raymond	Positivo	Laranja
Cumarinas	Positivo	Fluorescência verde

Flavonoides	Positivo	Vermelho
Taninos condensados	Positivo	Verde
Saponinas	Positivo	Formação de espuma
Triterpenos		
Reagente de Liebermann- Burchard	Positivo	Marrom
Reagente de Salkowski	Negativo	Vermelho

Como se pode ser observado na Tabela 1 os resultados da identificação de metabólitos secundários do extrato etanólico das folhas de *P. mollicomum* foram à maioria positiva, sendo que os testes fitoquímicos com o extrato etanólico foram baseados satisfatórios. Apenas obtiveram resultado negativo os reagentes de Kedde e reagente Liebermann para glicosídeos cardiotônicos e de Salkowski para triterpenos.

Resultados semelhantes, a identificação das classes de metabólitos secundários no extrato etanólico das inflorescências de *P. mollicomum* mostrou que estes também apresentam e possuem grande interesse na medicina tradicional (Tabela 2).

Tabela 2. Resultados da identificação de metabólitos secundários do extrato etanólico das inflorescências de *P. mollicomum*

Metabólitos secundários	Extrato etanólico	Coloração/Precipitação
Alcaloides		
Reagente de Mayer	Positivo	Laranja
Reagente de Wagner	Positivo	Roxo
Reagente de Dragendorff	Positivo	Laranja
Glicosídeos cardiotônicos		
Reagente de Salkowski	Positivo	Vermelho
Reagente de Kedde	Negativo	Laranja
Reagente de Keller-Killiani	Positivo	Verde escuro
Reagente de Liebermann Burchard	Negativo	Amarelo
Reagente de Baljet	Positivo	Laranja
Reagente de Raymond	Positivo	Laranja
Cumarinas	Positivo	Fluorescência verde

Flavonoides	Positivo	Vermelho
Taninos condensados	Positivo	Verde
Saponinas	Positivo	Formação de espuma
Triterpenos		
Reagente de Liebermann-Buchard	Positivo	Marrom
Reagente de Salkowski	Positivo	Laranja

Na Tabela 2 visualizam-se os resultados da identificação de metabólitos secundários do extrato etanólico das inflorescências de *P. mollicomum*, notando-se que os resultados negativos foram para os reagentes de Kedde Liebermann-Buchard para glicosídeos cardiotônicos.

Porém, na identificação de metabólitos secundários dos talos de *P. mollicomum*, observaram-se resultados negativos para os reagentes Kedde; Keller-Killiani; Liebermann-Burchard e Raymond de glicosídeos cardiotônicos. Além disso, resultados negativos foram para a classe de metabólitos secundários conhecidos como saponinas (Tabela 3).



Tabela 3. Resultados da identificação de metabólitos secundários do extrato etanólico dos talos de *P. mollicomum*

Metabólitos secundários	Extrato etanólico	Coloração/Precipitação
Alcaloides		
Reagente de Mayer	Positivo	Laranja
Reagente de Wagner	Positivo	Roxo
Reagente de Dragendorff	Positivo	Laranja
Glicosídeos cardiotônicos		
Reagente de Salkowski	Positivo	Verde
Reagente de Kedde	Negativo	Laranja
Reagente de Keller-Killiani	Negativo	Amarelo
Reagente de Liebermann Burchard	Negativo	Amarelo
Reagente de Baljet	Positivo	Laranja
Reagente de Raymond	Negativo	Vermelho
Cumarinas	Positivo	Fluorescência verde

Flavonoides	Positivo	Laranja
Taninos condensados	Positivo	Verde
Saponinas	Negativo	Sem formação de espuma
Triterpenos		
Reagente de Liebermann-Buchard	Positivo	Marrom
Reagente de Salkowski	Positivo	Vermelho

A identificação de metabólitos secundários em espécies vegetais pode ser uma fonte de informação de grande interesse terapêutico, com grande potencial para aplicação em estudos que envolvem a saúde humana, como a Farmácia, Bioquímica e Biotecnologia (AIRES; LIMA, 2018).

Diante disso, é necessário realizar prospecções fitoquímicas a fim de identificar metabólitos secundários de interesse médico. Afinal, as plantas possuem um grande potencial biossintético, porém, o percentual deste potencial utilizado atualmente é apenas uma fração do que as plantas podem nos oferecer, uma vez que a biossíntese de metabólitos secundários é restrita a alguns tipos de células e tecidos especializados (SOUZA; RESCAROLLI; NUNEZ, 2018).

3.2 Ensaios biológicos

A avaliação da contaminação dos extratos etanólicos de *P. mollicomum* realizada previamente aos testes antimicrobianos indicou que estes estavam livres de contaminação por bactérias ou fungos, não ocorrendo desenvolvimento de outras colônias nos meios ágar e LB após a incubação. Estes resultados revelaram que os extratos utilizados apresentaram boas condições microbiológicas no presente trabalho.

Com base nos resultados obtidos, verificaram-se que os extratos testados apresentaram potencial inibitório de crescimento para *S. aureus* (Tabela 4) e MRSA (Tabela 5) observando-se halos de inibição de crescimento nas concentrações testadas.

Tabela 4. Atividade antimicrobiana dos extratos de *P. mollicomum* sobre *S. aureus*

Amostras	Concentração (µg/mL)			
	1000	500	250	125
Folhas	12	12	12	14
Inflorescências	12	12	12	12
Talos	18	18	12	18
C. POSITIVO	30	30	30	30
C. NEGATIVO	0	0	0	0

Nota: Resultados da média do crescimento (mm); inibição de crescimento em mm; Controle positivo: Cloranfenicol; Controle negativo: DMSO

Como pode se ver na tabela acima o resultado foi positivo para todas as partes usadas da planta *P. mollicomum*, notando-se que no final de 48 horas, a média de inibição do extrato vegetal das folhas foi de 12,5 mm (moderamente sensível), inflorescência de 12 mm (moderamente sensível) e dos talos foi de 16,5 mm (moderamente sensível).

Na tabela 5 pode-se verificar a atividade antimicrobiana dos extratos de *P. mollicomum* sobre MRSA (*Staphylococcus aureus*) que é resistente à metilina, notando-se que no final de 48 horas, a média de inibição do extrato vegetal das folhas foi de 13,75 mm (moderamente sensível), inflorescência de 12,25 mm (moderamente sensível) e dos talos foi de 12 mm (moderamente sensível).

Tabela 5. Atividade antimicrobiana dos extratos de *P. mollicomum* sobre MRSA

Amostras	Concentração (µg/mL)			
	1000	500	250	125
Folhas	14	12	12	17
Inflorescências	12	12	12	13
Talos	12	12	12	12
C. POSITIVO	30	30	30	30
C. NEGATIVO	0	0	0	0

Nota: Resultados da média do crescimento (mm); inibição de crescimento em mm; Controle positivo: Cloranfenicol; Controle negativo: DMSO

Lima et al. (2018) ao realizar a prospecção fitoquímica do extrato vegetal de *P. tuberculatum* Jacq. (Piperaceae) e seu potencial antimicrobiano sobre *S. aureus* e

MRSA, nas mesmas condições deste estudo, verificou que as folhas, inflorescências e talos apresentaram metabólitos secundários (alcaloides e triterpenos) que inibiram o crescimento dessas bactérias quando comparado com os controles positivos e negativos.

Resultados semelhantes foram encontrados por Annan; Adu; Gbedema (2009) ao utilizar substâncias naturais, isolada do extrato metanólico das raízes de *Paullinia pinnata* L. sobre *S. aureus* e MRSA utilizando o MIC nas concentrações de 128 e 256 µg/mL, onde verificaram atividade antibacteriana na concentração de 256 µg/mL em comparação com o controle positivo usando a tetraciclina que foi de 128 µg/mL, porém os autores sugerem ensaios biológicos visando à toxicidade de diferentes antibióticos com diferentes concentrações.

Lima et al. (2016) ao avaliar o potencial biológico dos extratos vegetais e das substâncias isoladas das cascas de *Maytenus guianensis* sobre bactérias Gram-positivas e Gram-negativas utilizando a técnica de difusão em ágar nas concentrações de 1000, 500, 250 e de 125 µg/mL, verificaram a eficácia das substâncias de *M. guianensis* sobre quatro das cinco bactérias ATCC testadas utilizando a técnica de difusão em ágar na concentração de 125 µg/mL sendo inéditos os testes antimicrobianos.

Ribeiro; Soares (2000) afirmam que diversos fatores influenciam nos resultados da técnica de difusão em ágar em poços, tais como: a presença de enzimas bacterianas, a composição do meio, a difusão da substância no meio, a densidade do inóculo, o período de incubação, a temperatura e a estabilidade da substância em uso.

Ainda não se sabe qual o mecanismo de ação dessas substâncias sobre as bactérias analisadas, no entanto, sabe-se que substâncias com atividade antimicrobiana podem estar atuando de modo na inibição da síntese proteica, as sínteses da parede celular, degradação da parede celular, biossíntese de ácido fólico, dentre outros (ALMEIDA, 2013).

Apesar destes resultados promissores, convém ressaltar que, como as plantas medicinais são bastante utilizadas pela população, há necessidade de mais estudos (*in vivo*) que visem elucidar os efeitos prejudiciais que podem ocorrer com a interação dos antibióticos e plantas medicinais. As pesquisas realizadas para avaliação do uso seguro de plantas medicinais e fitoterápicos no Brasil ainda são incipientes, assim como o controle da comercialização pelos órgãos oficiais em feiras livres, mercados públicos ou lojas de produtos naturais (CANTON; ONOFRE, 2010).

Extratos de diversas espécies de *Piper* possuem aplicações médicas e propriedades inseticidas, bactericidas e fungicidas (CONSTANTI et al., 2001; PESSINI et al., 2003; SANTOS et al., 2011). Várias amidas importantes foram isoladas da família Piperaceae, incluindo pirrolidina, hidropiridona e piperidina; estas amidas geram interesses quanto ao seu potencial inseticida (PARMAR, 1997).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conclui-se que os extratos etanólicos dos talos, folhas e inflorescência possuem alcaloides, glicosídeos cardiotônicos, cumarinas, flavonoides, taninos condensados e triterpenos em todas as partes da planta. Além disso, verificou-se que os extratos tiveram efeito inibitório das bactérias testadas. Portanto, *P. mollicomum* apresenta metabólitos secundários de grande importância e seu uso como antimicrobiano é essencial. Porém, se faz necessário o isolamento de metabólitos secundários dessa planta para que se possa realizar estudos *in vivo*.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Departamento de Apoio à Pesquisa da Universidade Federal do Amazonas (UFAM) pela concessão de bolsa de Iniciação Científica (PIB-B/0077/2016) a primeira e segunda autora; e ao Centro de Pesquisa em Medicina Tropical (CEPEM) pela realização dos testes biológicos.

REFERÊNCIAS

- AIRES, I.C.; LIMA, R.A. Potencial fungicida do extrato etanólico dos talos de *Piper aduncum* L. (Piperaceae) sobre *Candida albicans in vitro*. **Revista Eletrônica de Biologia**, v.7, n.3, p.270-280, 2014.
- ALMEIDA, A.M.S. **Características biológicas e antigênicas de *Escherichia coli* com ênfase aos genes de virulência**. 2013. 30f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal), Faculdade de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia.
- ANNAN K.; ADU, F.; GBEDEMA, S.Y. Friedelin: a bacterial resistance modulator from *Paullinia pinnata* L. **Journal of Science and Technology**, v.29, n.1, p.152-159, 2009.

APG II. The Angiosperm Phylogeny Group. An update of the angiosperm phylogeny group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. **Biological Journal of the Linnean Society**, v.141, p.399-436, 2003.

BASSETTI M.; NICCO, E.; MIKULSKA, M. Why is community-associated MRSA spreading across the world and how will it change clinical practice? **International Journal of Antimicrobial Agents**, v.34, n.1, p.15-19, 2009.

CANTON, M.; ONOFRE, S.B. Interferência de extratos da *Baccharis dracunculifolia* DC., Asteraceae, sobre a atividade de antibióticos usados na clínica. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.20, n.3, p.348-354, 2010.

CONSTANTII, M.B.; SARTORELLI, P.; LIMBERGER, R.; HENRIQUES, A.T.; STEPPE, M.; FERREIRA, M.J.; OHARA, M.T.; EMERENCIANO, V.P.; KATO, M.J. Essential oils from *Piper cernuum* and *Piper regnellii*: antimicrobial activities and analysis by GC/MS and ¹³C-NMR. **Biochem Systemy Ecology**, v.29, n.2, p.287-304, 2001.

DINIZ, V.W.B.; DANTAS-FILHO, H.A.; MULLER, R.C.S.; FERNANDES, K.G. Classificação multivariada de ervas medicinais da região amazônica e suas infusões de acordo com sua composição mineral. **Química Nova**, v.36, n.2, p.257-261, 2013.

DUARTE, M.C.T.; LEME, E.E.; DELARMELINA, C.; SOARES, A.A.; FIGUEIRA, G.M.; SARTORATTO, A. **Journal of Ethnopharmacology**, v.111, p.197-201, 2007.

ESTRELA, J.L.V.; FAZOLIN, M.; CATANI, V.; ALÉCIO, M.R.; LIMA, M.S. Toxicidade de óleos essenciais de *Piper aduncum* e *Piper hispidinervum* em *Sitophilus zeamais*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, p.217-222, 2006.

FRACAROLLI, I.F.L.; OLIVEIRA, S.A.; MARZIALE, M.H.P. Colonização bacteriana e resistência antimicrobiana em trabalhadores de saúde: revisão integrative. **Acta Paulista de Enfermagem**, v.30, n.6, p.651-657, 2017.

GELATTI L.C.; SUKIENNIK, T.; BECKER, A.P.; INOUE, F.M.; CARMO, M.S.; CASTRUCCI, F.M.S.; PIGNATARI, A.C.C.; RIBEIRO, L.C.; BONAMIGO, R.R.; AZEVEDO, P.A. Sepsis por *Staphylococcus aureus* resistente à metilicilina adquirida na comunidade no sul do Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.42, n.4, p.458-460, 2009.

FUMAGALI, E.; GONÇALVES, R.A.C.; MACHADO, M.F.P.S.; VIDOTI, G.J.; OLIVEIRA, A.J.B. Produção de metabólitos secundários em cultura de células e tecidos de plantas: o exemplo dos gêneros *Tabernaemontana* e *Aspidosperma*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, n.4, p.627-641, 2008.

LAGO, J.H.G.; YOUNG, M.C.M.; REIGADA, J.B.; SOARES, M.G.; ROESLER, B.P.; KATO, M.J. Antifungal derivatives from *Piper mollicomum* and *P. Lhotzkyanum* (Piperaceae). **Química Nova**, v.30, n.5, p.1222-1224, 2007.

LIMA, R.A.; BAY-HURTADO, F.; MENEGUETTI, D.U.O.; FACUNDO, J.B.; MILITÃO, J.S.L.T.; MATOS, N.J.; FACUNDO, V.A. Microbiological evaluation of isolated

compounds from the bark of *Maytenus guianensis* Klotzsch ex Reissek (Celastraceae). **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v.20, n.1, p.592-603, 2016.

LIMA, R.A.; BARROS, A.C.V.; ALMEIDA, K.P.C.; PANTOJA, T.M.A. Prospecção fitoquímica do extrato vegetal de *Piper tuberculatum* Jacq. (Piperaceae) e seu potencial antimicrobiano. **Ciência & Desenvolvimento**, v.11, n.2, p.316-334, 2018.

MACHADO, S.M.F.; MILITÃO, J.S.L.T.; FACUNDO, V.A.; RIBEIRO, A.; MORAIS, S.M.; MACHADO, M.I.L. The leaf oils of two Brazilian species: *Piper arboreum* Aublet var. *latifolium* (C.Dc) Yunker and *Piper hispidum* Sw. **Journal of Essential Oil Research**, v.6, p.643-644, 1999.

MATOS, F.J. **Introdução à fitoquímica experimental**. 3.ed. Fortaleza: Edições UFC, 2009. 141p.

MORAIS, R.R. **Ecofisiologia de espécies arbóreas crescidas sob condições de plantios na Amazônia Central**. 2003. 158 f. Tese de doutorado (Conclusão da tese de doutorado na área de Botânica). Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), Manaus-AM. 2003.

PARMAR, V.S.; JAIN, S.C.; BISHT, K.S.; JAIN, R.; TANEJA, P.; JHA, A.; TYAGI, O.D.; PRASAD, A.K.; WENGEL, J.; OLESEN, C.E; BOLL, P.M. Phytochemistry of the genus *Piper*. **Phytochemistry**, v.46, n.4, p.597-673, 1997.

PESSINI, G.L.; HOLETZ, F.B.; SANCHES, N.R.; CORTEZ, D.A.G.; DIAS-FILHO, B.P.; NAKAMURA, C.V. Avaliação da atividade antibacteriana e antifúngica de extratos de plantas utilizados na medicina popular. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, n. 1, p. 21-24, 2003.

RIBEIRO, M.C.; SOARES, M.M.S.R. **Microbiologia prática**: roteiro e manual. São Paulo: Atheneu, 2000.

RISSATO, S.; ALMEIDA, M.V.; SILVA, L.C. Estudo do Óleo Essencial de *Eugenia uniflora* como Subsídio para Aplicação como Fitofármaco. **Salusvita**, v.23, n.2, p.209- 222, 2004.

SOUSA, I.J.O.; ARAÚJO, S.; NEGREIROS, P.S.; FRANÇA, A.R.S.; ROSA, G.S.; NEGREIROS, F.S.; GONÇALVES, R.L.G. A diversidade da flora brasileira no desenvolvimento de recursos de saúde. **Revista UNINGÁ Review**, v.31, n.1, p.35-39, 2017.

SOUZA, V.C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática**: guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado no APG II. São Paulo: Instituto Plantarum, 2008. 703p.

SOUZA, J.C.; RESCAROLLI, C.L.S.; NUNEZ, C.V. Produção de metabólitos secundários por meio da cultura de tecidos vegetais. **Revista Fitos**, v.12, n.3, p.269-280, 2018.