

AVALIAÇÃO QUÍMICA E BIOLÓGICA DE ESPÉCIES NATIVAS DO CERRADO/GO FRENTE A BACTÉRIAS, UTILIZANDO-SE BIOAUTOGRAFIA COMO MÉTODO DE DETECÇÃO.

CORRÊA, Gracielly Rodrigues¹; ALVES DE OLIVEIRA, Cecília Maria².

Palavras-chave: Fitoquímica, Bioautografia, CIM.

1. INTRODUÇÃO

O uso de espécies vegetais, com fins de tratamento e cura de doenças e sintomas, é amplamente utilizada por grande parte da população mundial como fonte de recurso terapêutico eficaz. As plantas medicinais são uma fonte importante de produtos naturais biologicamente ativos, muitos dos quais se constituem em modelos para a síntese de um grande número de fármacos. Dados recentes mostram que grande parte da população mundial consome medicamentos de origem natural, especialmente nas plantas medicinais, a única fonte de recurso terapêutico. Na nossa região, o Cerrado, plantas medicinais com alguma propriedade terapêutica, são utilizadas indiscriminadamente por grande parte da população, sem conhecimento ou preocupação com possíveis efeitos tóxicos. Tendo em vista esses aspectos, um melhor aproveitamento das riquezas do Cerrado poderia ser conseguido através do estudo fitoquímico, paralelo à investigação do potencial biológico de suas espécies. Objetiva-se a avaliação Química e Biológica de Espécies Nativas do Cerrado/GO frente a bactérias *Escherichia coli* (ATCC 8739), *Staphylococcus áureos* (ATCC 29737), *Micrococcus luteus* (ATCC 9341) e *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), utilizando-se Bioautografia, como método de detecção, e CIM como método de quantificação de atividade.

2. METODOLOGIA

2.1 – Bioautografia.

Os testes são realizados utilizando-se placas de CCD. As placas são eluídas com mistura de solventes selecionada previamente de acordo com a melhor separação observada. O ágar então é inoculado com o microorganismo e vertido sobre a placa de CCD que se encontra dentro de uma placa de Petri devidamente esterilizada, após a solidificação do ágar a placa é levada à estufa para cultura bacteriológica por 24 horas. Após o período de incubação a placa é revelada com corante adequado através do qual se confirma se há ou não halos de inibição.

2.2 – Concentração Inibitória Mínima (CIM)

O método de quantificação CIM utiliza placas de 96 poços, onde na determinação da concentração inibitória mínima são utilizados os extratos que apresentaram avaliação positiva na Bioautografia. Autoclavou-se o meio e as ponteiras, preparou as amostras, o cloranfenicol e diluiu-se as bactérias. Com a micropipeta adicionou-se 50µl de meio em todos os poços. Nos poços A1, A2, A3, A4, A7, A8, A9 e A10 acrescentou-se mais 25 µl e na coluna 12 colocou-se mais 50 µl de meio de cultura. A coluna 12 serviu-se de controle de esterilidade. Reservou-se duas colunas para o controle padrão positivo (antibiótico cloranfenicol), que são a 5 e a 11. No poço 5A e 11A acrescentou-se 50µl de cloranfenicol. Reservou-se a coluna 6 para controle de crescimento do microorganismo, onde as letras A, B, C e D contém um tipo de bactéria e as letras E, F, G e H contém o outro tipo. As amostras são distribuídas nos poços em quantidades de 25 µl (linha A) e 50 µl (linha B). Então, após colocar o meio de cultura, o cloranfenicol e as amostras, fez-se uma diluição começando da linha B em direção à linha H, com exceção da coluna 5 e 11, cuja diluição começou-se da linha A. Fez-se uma mistura do meio e da amostra, e depois retira-se 50µl e transferiu-se para o próximo poço abaixo.

Quando chegou-se ao poço na linha H, como este é o último, retirou-se os 50µl e descartou-se. Diluiu-se todas as amostras contidas nos poços da mesma forma, obtendo-se um volume final em todos os poços de 100µl.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 – Bioautografia

Espécie	Parte da Planta	Extrato	Bactérias			
			<i>S. aureus</i>	<i>M. luteus</i>	<i>E. coli</i>	<i>B. subtilis</i>
<i>Apinagia divaricata</i>	Folhas	Hexano	+		-	
	Folhas	Clorofórmio	+		-	
	Folhas	Etanol	+		-	
	Folhas	Acetato de etila	+		-	
<i>Crênia sp.</i>	Folhas	Hexano	+		-	
	Folhas	Clorofórmio	+		-	
	Folhas	Etanol	+		-	
<i>Tristicha trifaria</i>	Folhas	Hexano	-		-	
	Folhas	Clorofórmio	+		-	
	Folhas	Metanol	-		-	
<i>Diodia sp</i>	Folhas	Etanol	+		-	
<i>Diodia virginiana</i>	Folhas	Etanol	+		-	
<i>Richardia brasiliensis</i>	Folhas	Etanol	+		-	
<i>Palicourea rigida</i>	Folhas	Acetato de etila	+	+	+	+
	Folhas	Clorofórmio básico	+	+	+	+
	Folhas	Clorofórmio ácido	+	+	+	
	Folhas	Clorofórmio neutro	+	+	+	+
	Folhas	Etanol	+	+	+	
	Raíz	Etanol	+		+	
<i>Coussarea platyphylla</i>	Folhas	Etanol	+		-	

3.2 – CIM

Espécie	Parte da Planta	Extratos	Bactérias			
			<i>S. aureus</i>	<i>M. luteus</i>	<i>E. coli</i>	<i>B. subtilis</i>
<i>Apinagia divaricata</i>	Folha	Hexano	1000/1000		-	
	Folha	Clorofórmio	1000/1000		-	
	Folha	Etanol	1000/1000		-	
	Folha	Acetato de etila	1000/1000		-	

<i>Crênia sp.</i>	Folha	Hexano	1000/1000		-	
	Folha	Clorofórmio	Ac. 1000		-	
	Folha	Etanol	-		-	
<i>Tristicha trifaria</i>	Folha	Hexano	-		-	
	Folha	Clorofórmio	1000/1000		-	
	Folha	Metanol	-		-	
<i>Diodia sp</i>	Folha	Etanol	500/500		-	
<i>Diodia virginiana</i>	Folha	Etanol			-	
<i>Richardia brasiliensis</i>	Folha	Etanol	500/500		-	
<i>Palicourea rigida</i>	Folha	Acetato de etila	1000/1000		500/500	500/500
	Folha	Clorofórmio básico	500/500	1000/1000	1000/1000	1000/1000
	Folha	Clorofórmio ácido	1000/1000	1000/500	1000/1000	
	Folha	Clorofórmio neutro	1000/1000	500/500	1000/1000	1000/1000
	Folha	Etanol		1000/500	1000/1000	
	Raíz	Etanol	1000/1000		1000/1000	
<i>Coussarea platyphylla</i>	Folhas	Etanol	Ac. 1000		-	

4. CONCLUSÃO

A Bioautografia e quantificação da bioatividade dos extratos das plantas estudadas, certamente auxiliarão na descoberta de novas substâncias bioativas presentes nessas espécies. Portanto, os extratos que apresentaram concentrações inibitórias mínimas de 500 ppm serão fracionados em cromatografia de coluna por outros alunos. Os testes que não mostraram reprodutibilidade serão realizados novamente para a confirmação da concentração inibitória mínima. Os mesmos extratos serão testados com outros tipos de bactérias (*Escherichia coli* - ATCC 29214, *Kocuria rhizophyla* – ATCC 9341 e *Pseudomonas aeruginosa* - ATCC 27853), adquiridas pelo Instituto Nacional de Controle de qualidade em Saúde – INCQS.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

PLETSCH, M. **Compostos Naturais Biologicamente ativos**. Biotecnologia, v. 4, p. 1, 1999. Disponível em: <<http://www.biotecnologia.com.br/bio/home.html>> Acesso em 20/11/04 às 15:30.

COLE, M. D.; Key antifungal, antibacterial and anti-insect assays a critical review. **Biochem. Syst. Ecol.**, v. 22, n. 8, p. 837-856, 1994.

KATO. Lucília, **Fitoquímica e Avaliação Biológica de Espécies da Família Podostemaceae**, p. 5 e 6, 2003/2004.

¹ Bolsista de iniciação científica. Instituto de Química – Produtos Naturais, graciellyrc@yahoo.com.br

² Orientador/Instituto de Química/UFG, cecilia@quimica.ufg.br