

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE *CROTON URUCURANA*

Carolina Ceolin Soldera¹
Gisele Neumann Zanella²
Ana Paula Zanini Frasson³

Resumo

Croton urucurana, conhecido como sangra d'água ou sangue de dragão, possui propriedades anti-hemorrágica, anti-inflamatória, antisséptica, antiviral e cicatrizante. Este trabalho teve como objetivo avaliar a atividade antibacteriana *in vitro* do látex de *Croton urucurana* nas épocas de floração ou não. Foi utilizado o látex *in natura* de sangra d'água na ausência de floração, o qual também foi diluído em acetona, álcool de cereais e água, enquanto na época de floração foi utilizado apenas o látex *in natura*. A atividade das amostras foi avaliada contra as bactérias *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 e *Escherichia coli* ATCC 25922 pelo método de difusão em ágar utilizando discos. Das bactérias testadas, apenas para *Staphylococcus aureus* foi observada a formação de halo de inibição variando de 14-16 mm, conforme a amostra utilizada, sendo esta inibição relacionada às propriedades dos metabólitos secundários. Já na época de floração não houve inibição, o que pode estar relacionado com o deslocamento de ativos para o botão floral. A inatividade dos extratos ante as bactérias Gram negativas pode ser decorrente da complexidade da sua parede celular. Sugerem-se estudos relacionados à detecção e monitoramento da influência dos fatores de estresse na concentração de ativos na planta.

Palavras-chave: Sangra d'água. Euphorbiaceae. Látex. *Staphylococcus aureus*.

Evaluation of Antibacterial Activity of *Croton Urucurana*

Abstract

Croton urucurana, known as dragon's blood, has anti-hemorrhagic, anti-inflammatory, antiseptic, antiviral and cicatrizing properties. This study aimed to evaluate the *in vitro* antibacterial activity of the latex of *Croton urucurana* in periods of absence and presence of flowering. It was used the latex *in natura* of dragon's blood in the absence of flowering which was also diluted in acetone, grain alcohol and water and, during the flowering season, it was used only latex *in natura*. The activity of the samples was evaluated against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 and *Escherichia coli* ATCC 25922 by agar diffusion method using discs. Among the bacteria tested, only for *Staphylococcus aureus* it was observed the formation of an inhibition zone ranging from 14-16 mm depending on the sample used, the inhibition was related to the properties of secondary metabolites. By the time of flowering, there was no inhibition, probably due to the displacement of actives to the flower bud. The inactivity of the extracts against the Gram-negative bacteria may be due to the complexity of their cell wall. Studies related to the detection and monitoring of the influence of stress factors on the concentration of active ingredients in the plant are suggested.

Keywords: Dragon's blood. Euphorbiaceae. Latex. *Staphylococcus aureus*.

¹ Acadêmica do curso de Farmácia da Unic, Unidade Primavera do Leste – Mato Grosso. carolina_soldera@hotmail.com

² Professora mestre do Curso de Farmácia da Unic, Unidade de Primavera do Leste – Mato Grosso. gi_zanella@yahoo.com.br

³ Professora mestre do Curso de Farmácia da Unic, Unidade de Primavera do Leste – Mato Grosso. a.frasson@hotmail.com

Desde tempos passados as plantas vêm sendo utilizadas nas diferentes sociedades com finalidades terapêuticas e este conhecimento acumulado ao longo de anos, tem sido empregado como fonte para a descoberta de fármacos de grande relevância (Maraschin; Verpoorte, 1999).

Um grande avanço científico tem-se verificado nos últimos tempos visando a obter novos compostos com propriedades terapêuticas envolvendo estudos químicos e farmacológicos de plantas medicinais (Cechinel Filho; Yunes, 1998), as quais configuram uma importante fonte para obtenção de medicamentos. Aproximadamente 48% dos medicamentos empregados em tratamentos provêm, direta ou indiretamente, de produtos naturais, especialmente de plantas medicinais (Carvalho et al., 2007). Essa tendência é observada há alguns anos, em virtude da revalorização dos produtos naturais, o que pode ser constatado pela maior busca dos consumidores por produtos de origem vegetal (Gettens; Frasson, 2007).

Aproximadamente 20% de toda a biodiversidade mundial está no Brasil (Younes; Varella; Suffredini, 2007), onde se encontra o gênero *Croton*, o qual apresenta espécies de grande potencial farma-

cológico (Silva, 2006). Com cerca de 700 a 800 espécies distribuídas entre as Américas e na Ásia, constitui um dos maiores membros da família Euphorbiaceae (Palmeira Júnior et al., 2006, Oliveira et al., 2008).

Croton urucurana, conhecida popularmente como sangra d'água, sangue de dragão ou capixingui, é etnofarmacologicamente usada como anti-hemorrágica, anti-inflamatória, antisséptica, antiviral e cicatrizante. Apresenta-se como uma árvore nativa de terrenos úmidos e pantanosos, podendo atingir de 6 a 8 metros de altura. Possui a copa aberta com folhas em formato de coração (Figura 1) que, quando estão para cair, adquirem uma coloração vermelho-amarelada. Apresenta tronco com tonalidades claras podendo atingir 20 cm de diâmetro (Lorenzi; Matos, 2008), sendo encontrada no Brasil nos Estados da Bahia, Rio Grande do Sul, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul (Zuchinalli et al., 2008).

A razão para alguns dos seus nomes populares deve-se à liberação de seiva quando seu tronco é cortado ou ferido que, em contato com o ar, torna-se resinosa e adquire cor vermelha (Figura 2) como sangue (Lorenzi; Matos, 2008).

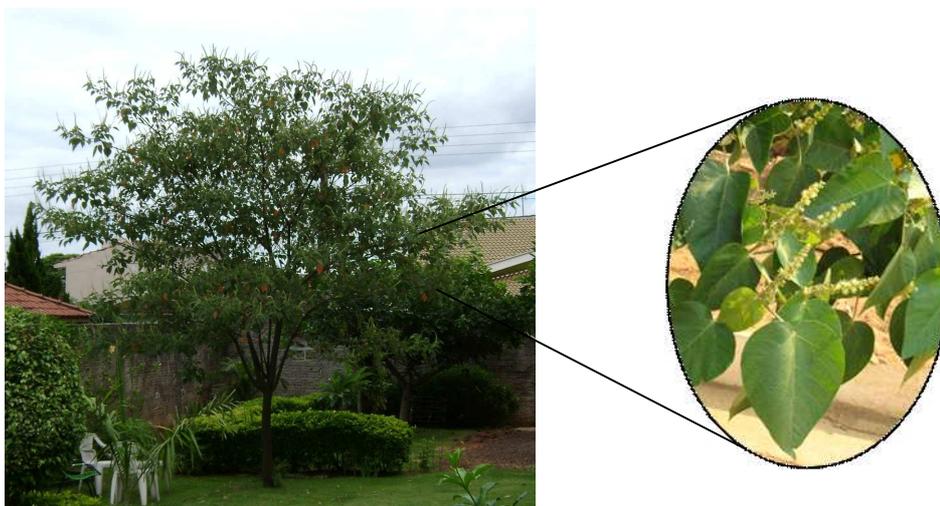


Figura 1: *Croton urucurana*

Fonte: Dados coletados pelos autores.



Figura 2: Látex de *Croton urucurana*

Fonte: Dados coletados pelos autores.

Segundo Gurgel (2005) e Mattos (2001), flavonoides, saponinas, lignanas, taninos e alcaloides, dentre os quais foi identificada a taspina, foram verificados em estudos fitoquímicos do látex de *Croton urucurana*. Por meio de testes realizados *in vitro* com extratos ricos em taninos ou com taninos puros foi possível comprovar diversas atividades biológicas para essas substâncias, entre as quais a atividade bactericida.

Diante da escassez de informações sobre a variação na produção de compostos ativos e a busca por um número maior de plantas com potencial antibacteriano faz-se o uso de ferramentas como o ensaio microbiológico, que além de avaliar a atividade antibacteriana, ainda permite detectar a variação na produção dos princípios ativos em duas fases estabelecidas do vegetal.

O objetivo do presente trabalho foi analisar a atividade antibacteriana *in vitro* do látex de *Croton urucurana* contra *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*, além de fazer um comparativo entre a atividade antibacteriana do látex nos períodos de ausência e presença de floração.

Material e Métodos

Material botânico

O material utilizado foi o látex de *Croton urucurana* coletado no bairro Primavera III, no município de Primavera do Leste, Mato Grosso, Brasil. Foi obtida uma amostra em maio de 2009 no período de ausência de floração e uma em agosto de 2010, no período de floração, sendo realizados cortes na diagonal com o auxílio de uma faca e o látex foi coletado em recipiente apropriado.

Preparo das amostras

Para a realização do primeiro experimento foi empregado o látex puro e este diluído a 50% em acetona, em álcool de cereais e também em água destilada. No segundo experimento foi utilizado apenas o látex puro.

Micro-organismos utilizados

Foram utilizados *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 e *Escherichia coli* ATCC 25922.

Preparo das placas e ensaio por difusão em ágar empregando discos

De acordo com NCCLS (2003) modificado, as placas de Petri foram preparadas com ágar Müller Hinton com pH entre 7,2 e 7,4. Sobre sua superfície foi inoculada uma suspensão bacteriana preparada em salina 0,9% estéril, sendo a concentração da suspensão bacteriana ajustada de acordo com a escala 0,5 de MacFarland.

Após semear a superfície da placa de Petri, discos de papel de filtro estéreis com diâmetro de 6 mm foram colocados na superfície do ágar, os quais foram impregnados com 10 μ L das diferentes diluições e com o látex puro (Figura 3). Após 5 minutos as placas foram incubadas a 37°C por 24h para posterior medida do diâmetro da zona de inibição ao redor dos discos.

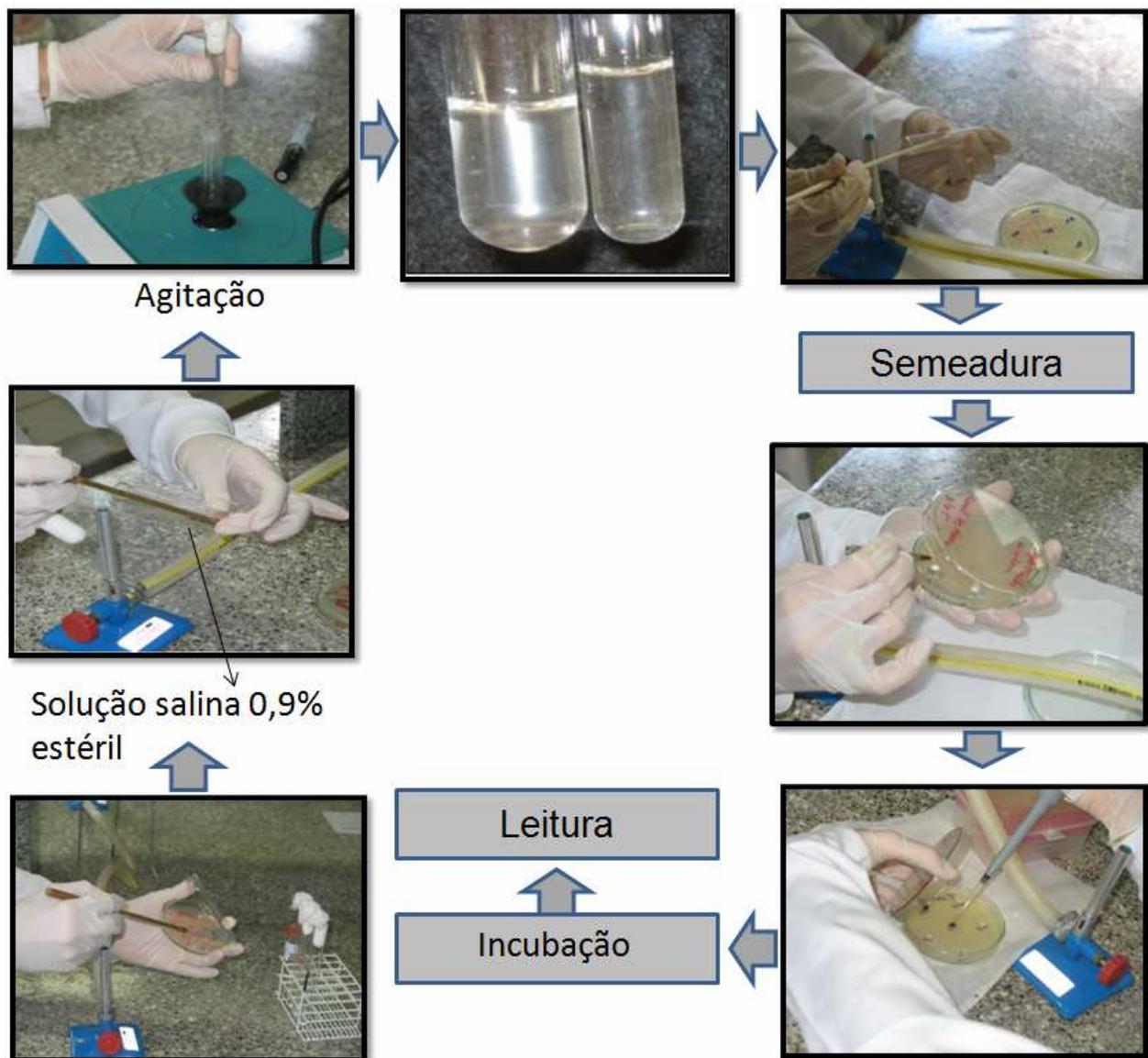


Figura 3: Preparo das placas e ensaio de difusão em ágar usando discos

Fonte: Dados coletados pelos autores.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No primeiro experimento foi observada a formação de halo de inibição apenas para a bactéria Gram positiva, sendo as preparações e o látex puro inativos contra as bactérias Gram negativas testadas (Figura 4). Essas diferenças na sensibilidade das bactérias em relação às preparações feitas com o

látex devem-se provavelmente às diferenças estruturais entre elas, principalmente em termos de complexidade da parede celular.

Segundo Oliveira et al. (2008), em testes realizados por difusão em ágar usando discos, o látex apresentou maior espectro de ação e potência que os extratos da entrecasca e folhas, estando essa atividade antibacteriana relacionada à presença de compostos polares presentes no látex.

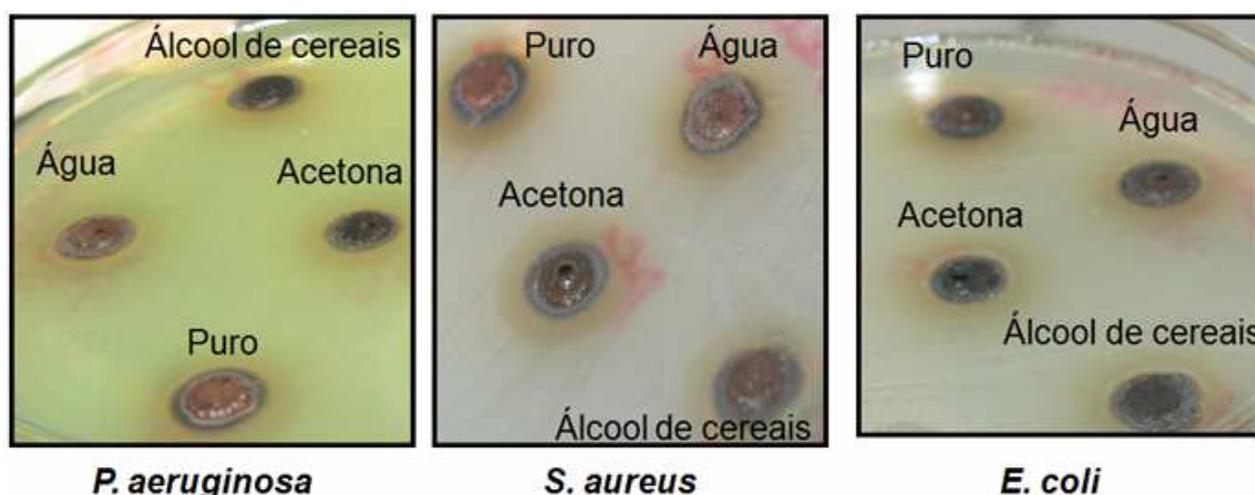


Figura 4: Halo de inibição do crescimento bacteriano por diferentes preparações do látex de *Croton urucurana* na época não florida

Fonte: Dados coletados pelos autores.

A diluição do látex com água promoveu a formação de halo de inibição apenas para *S. aureus*, com diâmetro de 16 mm, enquanto para o látex puro observou-se halo com diâmetro de 15 mm para esta mesma bactéria. Já para as bactérias Gram negativas não houve formação de halo de inibição (Tabela 1), acrescentando-se que já havia sido constatada em pesquisas de Oliveira et al. (2008) a presença de atividade do látex *in natura* do *Croton urucurana* contra *S. aureus* e a inatividade contra *E. coli*.

A pequena diferença nos diâmetros dos halos pode ter ocorrido devido ao fato de os taninos, um dos fitoconstituintes com atividade antimicrobiana

presente na planta, serem compostos polares e terem sido extraídos de forma mais eficaz em contato com a água (Monteiro et al., 2005).

A sensibilidade do *Staphylococcus aureus* aos taninos, já observada por Monteiro et al. (2005), pode ser justificada pelas hipóteses de Loguercio et al. (2005) e Santos e Mello (2007), ocorrendo pela inibição de enzimas bacterianas e/ou pela complexação com outras moléculas como proteínas e polissacarídeos; pela ação dos taninos sobre as membranas celulares dos micro-organismos, modificando seu metabolismo, ou por atuar através da complexação com íons metálicos, diminuindo disponibilidade de íons essenciais para o metabolismo microbiano.

Tabela 1: Diâmetro dos halos de inibição do crescimento bacteriano obtido com diferentes preparações do látex de *Croton urucurana*

	Primeiro Experimento			Segundo experimento	
	Látex com água destilada	Látex com álcool de cereais	Látex com acetona	Látex puro	Látex Puro
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	16mm	14mm	14mm	15mm	-
<i>Escherichia Coli</i>	-	-	-	-	-

Fonte: Dados coletados pelos autores.

As diluições com álcool de cereais e com acetona também tiveram ação apenas sobre *S. aureus*, porém formando um halo levemente inferior (14 mm), sem formação de halo de inibição para as demais bactérias. De acordo com Santos e Mello (2007), é possível observar uma redução na atividade antibacteriana de extratos ricos em taninos quando empregada acetona no processo extrativo, pelo fato de a acetona bloquear a associação tanino-proteína, complexação considerada uma das bases para suas propriedades contra as bactérias.

O grande número de grupos hidroxila que os taninos e outros compostos fenólicos possuem, podem formar várias ligações de hidrogênio e iônicas com todo tipo de proteínas. As proteínas dos microorganismos mudam a sua conformação quando o complexo tanino-proteína é formado e, portanto, perdem sua atividade e função, ocasionando assim a ação antimicrobiana do complexo (López, 2010).

No segundo experimento, quando o látex foi obtido de uma árvore florida, não houve inibição do crescimento bacteriano (Figura 5).

Durante o desenvolvimento de botões florais são consumidas partes dos fitoconstituintes nos processos metabólicos vegetais (Panizza, 2005). Assim sendo, esta época do desenvolvimento da árvore pode ter influenciado a concentração de ativos no látex. Outros fatores também podem influenciar na atividade antimicrobiana de extratos vegetais, como

a fase de desenvolvimento do vegetal, o clima, a altitude, o tipo de solo, a radiação solar e o estresse, entre outros (Cechinel Filho; Yunes, 1998; López, 2010). Levando em consideração que o exemplar do qual foi coletado o látex é cultivado no quintal de uma residência na cidade, longe de ambientes úmidos a qual é sua característica de desenvolvimento, pode ter havido influência na produção de seus metabólitos, posto que a planta não se encontrava em ambiente próprio.

Alguns metabólitos secundários produzidos pelo *Croton urucurana* possuem atividade antimicrobiana com mecanismos ainda em elucidação, como é o caso dos flavonoides em que sua atividade deve-se provavelmente à habilidade de formar complexos com a parede bacteriana e com proteínas solúveis extracelulares, sendo que os flavonoides mais lipofílicos podem também romper as membranas microbianas. O comportamento anfifílico das saponinas e a sua capacidade de formar complexos com esteroides, proteínas e fosfolipídios de membranas também ocasionarão um efeito antimicrobiano mediante a ação sobre membranas celulares, formando poros, produzindo vazamento das células e alterando a sua permeabilidade. Diversos compostos com atividade antibacteriana estão presentes no látex de *Croton urucurana*, sendo muito provável que estes compostos atuem de maneira sinérgica (López, 2010).

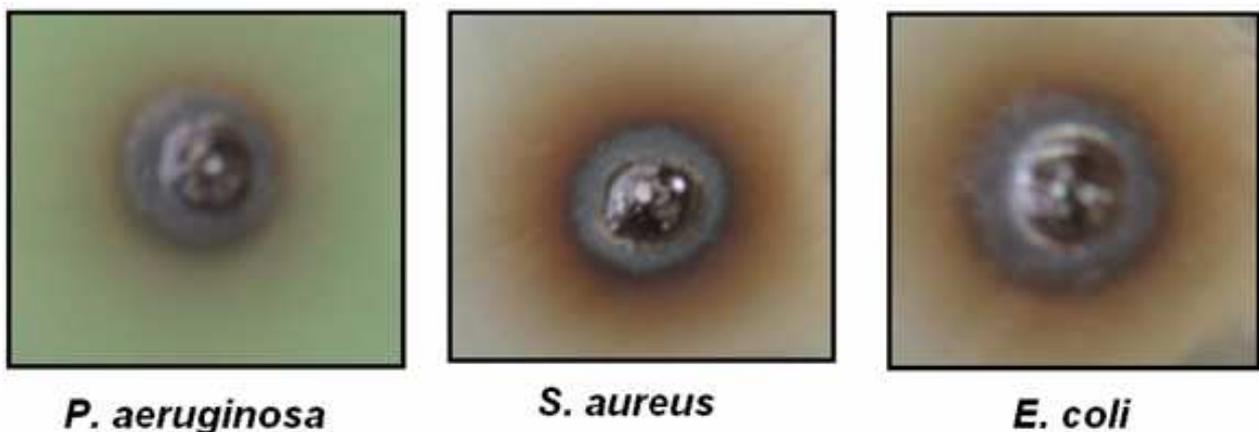


Figura 5: Halo de inibição do crescimento bacteriano pelo látex de *Croton urucurana* na época de floração

Fonte: Dados coletados pelos autores.

Conclusão

No primeiro experimento, em que o látex foi coletado de um exemplar no período de ausência de floração, tanto o látex *in natura* quanto as preparações apresentaram atividade contra *S. aureus* e mostraram-se inativas contra as bactérias Gram negativas testadas. Já no segundo experimento, quando o látex foi coletado na fase de floração, não foi observada atividade contra nenhuma das bactérias testadas. A floração, além dos fatores de estresse, possivelmente interferiu na concentração de ativos no látex. Devido a isso e à importância de se conhecer os fatores que influenciam na produção de metabólitos secundários pela planta, sugere-se estudos mais aprofundados relacionados à detecção e monitoramento da influência de tais fatores de estresse na concentração de princípios ativos na planta.

Referências

- CARVALHO, A. C. B. et al. Aspectos da legislação no controle dos medicamentos fitoterápicos. *T&C Amazônia*, v. 5, n. 11, p. 26-32, 2007.
- CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais: conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. *Quím. Nova*, São Paulo, v. 21, n. 1, p. 99-105, 1998.
- GETTENS, L.; FRASSON, A. P. Z. Estudo comparativo da atividade antioxidante de creme aniônico e não-iônico contendo extrato seco e extrato glicólico de *Ginkgo biloba*. *Revista Contexto & Saúde*, Ijuí: Ed. Unijuí, v. 6, n. 12, p. 41-47, jan./jun. 2007.
- GURGEL, L. A. *Estudo das atividades antifúngica, antiinflamatória intestinal e antinociceptiva visceral do látex do Croton urucurana Baillon.*, 2005. 192f. Tese (Doutorado em Farmacologia) – Universidade Federal do Ceará, UFC, Fortaleza, 2005.
- LOGUERCIO, A. P. et al. Atividade antibacteriana de extrato hidro-alcoólico de folhas de jambolão (*Syzygium cumini* (L.) Skells). *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 35, n. 2, p. 371-376, mar./abr. 2005.
- LÓPEZ, P. V. A. *Bioprospecção de extratos de Croton urucurana Baillon e seus fungos endofíticos.*, 2010. 138f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Universidade Federal do Paraná, UFPR, Curitiba.
- LORENZI, H.; MATOS, J. A. de. *Plantas medicinais no Brasil*. 2. ed. São Paulo: Instituto Plantarum, 2008. p. 243-244.
- MARASCHIN, M.; VERPOORTE, R. Otimização da produção de metabólitos secundários em culturas de células vegetais. *Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*, Brasília, ano 2, n. 10, p. 24-28, set./out. 1999.
- MATTOS, P. E. O. *Validação pré-clínica das atividades antinociceptivas, antiinflamatória, cicatrizante e antiespasmódica do látex do Croton urucurana Baillon* (Sangra d'água)., 2001. 131f. Dissertação (Mestrado em Saúde e Ambiente) – Universidade Federal de Mato Grosso, UFMT, Cuiabá.
- MONTEIRO, J. M. et al. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. *Quím. Nova*, v. 28, n. 5, p. 892-896, 2005.
- NCCLS. *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard – Eighth Edition*. NCCLS document M2-A8 [ISBN 1-56238-485-6]. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2003.
- OLIVEIRA, I. S. et al. Triagem da atividade antibacteriana *in vitro* do látex e extratos de *Croton urucurana* Baillon. *Rev. Bras. Farmacognosia*, v.18, n.4, p. 587-593, out./dez. 2008.
- PALMEIRA JÚNIOR, S. F. et al. Constituintes químicos das folhas e caule de *Croton sellowii* (Euphorbiaceae). *Rev. Bras. Farmacognosia*, v. 16, n. 3, p. 397-402, jul./set. 2006.
- PANIZZA, S. *Ensinando a cuidar da saúde com as plantas medicinais: guia prático de remédios simples da natureza*. São Paulo: Prestígio, 2005. p. 21.
- SANTOS, S. C.; MELLO, J. C. P. de. Taninos. In: SIMÕES, C. M. O. et al. *Farmacognosia da planta ao medicamento*. 6. ed. Porto Alegre: UFRGS, 2007, p. 615-656. cap. 24.
- SILVA, B. O. da. *Análise estrutural e histoquímica de Croton macrobothrys Baillon e Croton floribundus Spreng* (Euphorbiaceae). 2006. 150f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, UFRJ, 2006.
- YOUNES, R. N.; VARELLA, A. D.; SUFFREDINI, I. B. Discovery of new antitumoral and antibacterial drugs from brazilian plant extracts using high throughput screening. *Clinics.*, v. 62, n. 6, p. 763-768, 2007.
- ZUCHINALLI, A. et al. Ensaio preliminar antibacteriano de *Croton urucurana* Baillon. In: ENCONTRO DE QUÍMICA DA REGIÃO SUL, 16, 2008, Blumenau: Furb, 2008. p. 1.