



# Atividade Antimicrobiana de Extratos Etanólicos de *Peperomia pellucida* e *Portulaca pilosa*

Mendes, L.P.M.<sup>1</sup>; Maciel, K.M.<sup>1</sup>; Vieira, A.B.R.<sup>2</sup>; Mendonça, L.C.V.<sup>1</sup>; Silva, R.M.F.<sup>1</sup>; Rolim Neto, P.J.<sup>3\*</sup>; Barbosa, W.L.R.<sup>1</sup>; Vieira, J.M.S.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Faculdade de Farmácia. Instituto de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Pará. Brasil.

<sup>2</sup>Instituto de Ciências Biológicas. Universidade Federal do Pará. Brasil.

<sup>3</sup>Departamento de Ciências Farmacêuticas. Centro de Ciências da Saúde. Universidade Federal de Pernambuco. Brasil.

Recebido 11/05/2010 / Aceito 03/12/2010

## RESUMO

As plantas utilizadas na medicina tradicional estão sendo cada vez mais estudadas por serem possíveis fontes de substâncias com atividades antimicrobianas. Dentre elas, destacando-se a *Peperomia pellucida* (erva-de-jabutí) e a *Portulaca pilosa* (amor-crescido), utilizadas comumente na Amazônia. A *P. pellucida* é utilizada, popularmente, em casos de hemorragia, como curativo para feridas, dores abdominais, abscessos, acne, furúnculos, cólicas, problemas renais, hipertensão e colesterol, enquanto a *P. pilosa* é utilizada como hepato-protetor, antidiarreico, diurético, para queimaduras, erisipelas e ferimentos. Neste trabalho, foram realizadas a abordagem fitoquímica e a atividade antimicrobiana *in vitro* desses dois materiais vegetais. A prospecção fitoquímica revelou a presença de açúcares redutores, fenóis e taninos, esteroides e triterpenoides, glicosídeos cardíacos e carotenoides no extrato etanólico seco (EES) de *P. pilosa*, e a presença de proteínas e aminoácidos, fenóis e taninos, flavonoides, esteroides e triterpenoides, azulenos, carotenoides, depsídeos e depsídonas no EES de *P. pellucida*. Para avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos etanólicos brutos, foi empregado o método de disco difusão em ágar, nas concentrações de 500; 250; 125 e 62,5 µg/mL. Os extratos testados que apresentaram atividade antimicrobiana na avaliação preliminar foram submetidos à determinação da concentração inibitória mínima (CIM) pela técnica de microdiluição em caldo. O extrato de *P. pellucida* possui atividade antimicrobiana frente a *S. aureus* e *P. aeruginosa*, e o de *P. pilosa* contra *Pseudomonas aeruginosa*.

**Palavras-chave:** Atividade antimicrobiana. *Peperomia pellucida*. *Portulaca pilosa*. Erva-de-jabutí. Amor-crescido.

## INTRODUÇÃO

O surgimento e a disseminação de micro-organismos resistentes aos antimicrobianos disponíveis no mercado têm sido relatados há décadas, incentivando a busca de novas fontes de substâncias com atividades antimicrobianas, como as plantas utilizadas na medicina tradicional.

O conhecimento e a pesquisa dos benefícios das espécies vegetais foram realizados por várias civilizações em todos os continentes. Embora de modo empírico ou intuitivo, baseando-se em descobertas ao acaso, as sociedades antigas utilizavam as plantas para fins terapêuticos e, mais tarde, elas serviram de base para a Botânica, Química e Medicina. Observa-se, atualmente, uma tendência de retorno à fitoterapia, atitude recomendada pela OMS – Organização Mundial de Saúde. O referido órgão apoiou o estudo e o uso de plantas medicinais regionais como forma de baixar os custos dos programas de saúde pública, principalmente nos países subdesenvolvidos ou ainda em desenvolvimento, como o Brasil (Martins, 1995).

Os trabalhos de pesquisa através de espécies vegetais com propriedades terapêuticas originam medicamentos em menor tempo, de custo inferior e, consequentemente, mais acessíveis à população, que, em sua maioria, encontra-se sem quaisquer condições financeiras de arcar com os custos elevados da aquisição de medicamentos que possam ser utilizados como parte de atendimento das necessidades primárias de saúde (Furlan, 1998).

No Brasil, encontram-se cerca de 20% das 250 mil espécies medicinais catalogadas pela *United Nations Educational Scientific and Cultural Organization* (UNESCO), facilitando o aproveitamento do potencial curativo dos vegetais para o tratamento de doenças no país (Drumond et al., 2004). O ecossistema amazônico, detentor de uma das regiões de maior biodiversidade do planeta, apresenta inúmeras espécies vegetais com propriedades medicinais relatadas e outras em que seus efeitos terapêuticos são desconhecidos. Dentre as utilizadas popularmente na medicina popular, destacam-se a erva-de-jabutí (*Peperomia pellucida* (L.) H.B.K.), também conhecida como língua-de-sapo, e o amor-crescido (*Portulaca pilosa* L.) (Pimentel, 1994).

Autor correspondente: Pedro José Rolim Neto. Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos - Departamento de Ciências Farmacêuticas - Universidade Federal de Pernambuco - Av. Prof. Arthur de Sá, S/N - Cidade Universitária CEP.50740-521 - Recife - PE - Brasil - tel/fax: (81)3272-1383 - pedro.rolim@pq.cnpq.br

A família Piperaceae, descrita por Paul Dietrich Giseke, compreende, aproximadamente, três mil espécies distribuídas em oito gêneros, dentre os quais se destacam os gêneros *Piper*, *Peperomia* e *Pothomorphe*. Geralmente, as plantas desses gêneros são arbustos, lianas, epífitas, ervas e pequenas árvores. A família é muito importante como fonte de substâncias, pois apresenta atividade farmacológica. Pela ampla ocorrência e abundância no Brasil, várias espécies dessa família foram referidas como medicinais (Mabberley, 1997). A *P. pellucida* é utilizada popularmente em casos de hemorragia, como curativo para feridas, dores abdominais, abscessos, acne, furúnculos, cólicas, problemas renais, hipertensão e colesterol. (Arrigoni-Blank et al., 2004; Barbosa et al., 2009).

O composto isolado de *P. pellucida*, com atividade antibacteriana, apresenta cristais incolores na forma de agulhas e fórmula molecular  $C_{42}N_{23}OH$  (Bojo et al., 1994). Estudos demonstraram que o extrato hidroalcoólico de *P. pellucida* apresentou atividades diurética (Santos et al., 2007), hipotensora (Siqueira, 1997), antibacteriana, analgésica e antiedematogênica (Aziba et al., 2001; Kham & Omiloso, 2002; Arrigoni-Blank et al., 2004).

A *Portulaca pilosa* L. é uma planta herbácea com folhas carnosas e flores vermelhas em cachos terminais, sendo comum nas Américas. Como uso popular, a infusão **das folhas**, em descanso noturno, é hepato-protetor, antidiarreico e diurético, ao passo que as **folhas contusas, em emplastro**, servem para queimaduras, erisipelas e ferimentos. Possui a ação inibidora sobre a tirosinase (Baurin et al., 2002) e provoca aumento da excreção de  $K^+$  na urina de ratos sem aumento da diurese (Rocha et al., 1994). Segundo Di Stasi & Hurama-Lima (2002), a planta possui potencialidade de ser importante antibiótico de largo espectro.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antimicrobiana *in vitro* realizando, concomitantemente, a abordagem fitoquímica dos extratos etanólicos de *P. pellucida* e de *P. pilosa*.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Coleta e Identificação

Os materiais vegetais *P. pellucida* e *P. pilosa* foram coletados no município de Icoaraci, na cidade de Belém (PA). A amostra da *P. pellucida* foi identificada pelo Prof. Dr. Milton Hélio Lima da Silva e foi registrada, com o n° MG. 181632, no Herbário João Murçapire do Museu Emilio Goeldi (PA). Já a amostra da *P. pilosa* foi identificada pelo Prof. Dr. Luiz Carlos Batista Lobato e registrada, com o n° MG. 161921, nesse mesmo herbário.

### Preparação dos extratos

Para a obtenção do extrato etanólico seco (EES) da *P. pilosa*, as folhas frescas, após a limpeza, foram deixadas seis dias secando à temperatura ambiente e levadas, para finalização da secagem, em estufa de fluxo de ar contínuo (45-48°C). Foi obtida uma massa de 71,07 g de folhas secas. Estas foram, então, trituradas e submersas em solvente

etanol a 95%, seguindo-se a extração por maceração. A amostra foi filtrada em funil de Büchner (à vácuo) e armazenada em frasco de vidro.

O filtrado resultante foi concentrado à baixa pressão a 50°C, em evaporador rotativo, até a evaporação total do solvente. O concentrado foi seco em estufa por 24h a 50°C e, posteriormente, pesado, obtendo-se a massa de 7,015 g do material vegetal.

Para a obtenção do EES da *P. pellucida*, as folhas secas, após a limpeza, foram deixadas quatro dias secando à temperatura ambiente e, após esse tempo, levadas, para finalização da secagem, em estufa de fluxo de ar contínuo (45-48°C), obtendo-se a massa de 13,64 g. Foi seguido o mesmo procedimento utilizado na extração da *P. pilosa* até o fim da primeira extração. Os macerados obtidos foram, então, filtrados em papel-filtro. Fez-se a evaporação do solvente do filtrado e a secagem do concentrado na estufa, obtendo-se a massa de 4,02g.

Abordagem Fitoquímica dos materiais vegetais:

Foi realizada a prospecção fitoquímica dos materiais através de técnicas utilizadas pelo Laboratório de Fitoquímica da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Pará (Barbosa, 2004).

### Micro-organismos

Foram testadas cepas padrão (*American Type Collection Culture* - ATCC) da bactéria Gram-positiva *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), das Gram-negativas *Escherichia coli* (ATCC 25922), de *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 10145) e do fungo leveduriforme *Candida albicans* (ATCC 10231), recomendadas para testes de suscetibilidade aos antimicrobianos (CLSI, 2003a).

### Preparação dos inóculos

Os inóculos foram preparados tomando-se de três a quatro colônias da cepa isolada em ágar Muller-Hinton e diluídos em solução salina a 0,85% até atingirem a turbidez correspondente ao tubo 0,5 da escala de Mac-Farland (CLSI, 2003a).

### Avaliação Preliminar da atividade antimicrobiana

Para avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos etanólicos secos, foi empregado o método de disco difusão em ágar. Cada suspensão de micro-organismo foi semeada (em duplicata), com auxílio de um *swab* descartável, em toda a superfície de meio ágar Muller Hinton. Em seguida, foram adicionados discos de papel-filtro (Whatman – tipo 3), de 6 mm de diâmetro, impregnados com 10 µL de cada extrato das plantas nas concentrações de 500, 250, 125 e 62,5 µg/mL, dissolvidos em dimetilsulfóxido (DMSO). Após incubação das placas a 35°C por 24h, foi realizada a leitura dos resultados medindo-se o halo formado ao redor dos discos contendo os extratos. Foi considerado, como resultado final de cada extrato, a média das duas medidas e, como suscetível halo, uma dimensão igual ou superior a 8 mm de diâmetro (Parekh & Chanda, 2007; Santos et al., 2007).

### Determinação da concentração inibitória mínima

Os extratos testados que apresentaram atividade antimicrobiana na avaliação preliminar foram submetidos à determinação da concentração inibitória mínima (CIM) pela técnica de microdiluição em caldo (Lima et al., 2006; Santos et al., 2007).

Os testes foram realizados em caldo Muller Hinton contidos em placa "Sensitive microtiter" de 96 poços, esterilizada e utilizada em análises de ELISA. Uma alíquota de 10 µL de cada extrato nas concentrações de 500, 250, 125 e 62,5 µg/mL foi depositada em cada poço da placa contendo caldo Muller Hinton e suspensão de micro-organismos para um volume final de 200 µL em cada poço. Foi realizado controle de extrato, no caldo Muller Hinton, das suspensões de micro-organismos.

As placas foram cobertas com parafilme e incubadas a 35°C por 24 horas. A leitura foi realizada em leitor de ELISA no comprimento de onda de 650 nm (Lima et al., 2006). Foi considerada como CIM a menor concentração do extrato capaz de inibir o crescimento microbiano.

### RESULTADOS

A abordagem fitoquímica revelou a presença de açúcares redutores, fenóis e taninos, esteroides e triterpenoides, glicosídeos cardíacos e carotenoides no EES de *P. pilosa*. A presença de proteínas e aminoácidos, fenóis e taninos, flavonoides, esteroides e triterpenoides, azulenos, carotenoides, depsídeos e depsidonas no EES de *P. pellucida* também foi verificada.

Na verificação preliminar da atividade antimicrobiana do extrato de *P. pilosa*, observou-se atividade antibacteriana apenas contra *P. aeruginosa*. Já o EES de *P. pellucida* apresentou atividade antibacteriana contra *S. aureus* e *P. aeruginosa*.

O extrato de *P. pilosa* frente ao *P. aeruginosa* apresentou halo de 25 mm de diâmetro na concentração de 500 µg/mL e 20 mm na concentração de 250 µg/mL, que foram testadas no método de difusão em ágar. O extrato de *P. pellucida* apresentou, frente a *P. aeruginosa*, o halo de 9mm e, frente a *S. aureus*, o de 11mm, ambos na concentração de 62,5 µg/mL.

A determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) pelo método de microdiluição em caldo mostrou que o extrato etanólico bruto de *P. pellucida* frente a *S. aureus* e *P. aeruginosa* teve uma CIM de 62,5 µg/mL. *P. pilosa* apresentou CIM igual a 250µg/mL frente a *P. aeruginosa*.

### DISCUSSÃO

Segundo alguns autores, a presença de taninos e flavonoides pode conferir atividade antimicrobiana a um extrato (Scalbert, 1991; Harbone, 2000; Veluri et al., 2004; Bylka et al., 2004). Dessa maneira, a presença desses compostos no extrato de *P. pellucida*, bem como de fenóis e taninos na *P. pilosa*, leva à expectativa de uma atividade antimicrobiana nesses extratos.

Não existe um consenso sobre o nível aceitável para extratos de materiais vegetais quando comparados com antibióticos padrões. Alguns autores consideram somente resultados similares aos de antibióticos conhecidos desde

que se trabalhe com uma fração já determinada (Aligianis et al., 2001). Entretanto, como trabalhamos com extrato bruto dos materiais vegetais, seguimos o critério sugerido por Holetz et al., (2002) (Quadro 1). A maior concentração de extrato empregado no presente estudo foi de 500 µg/mL, uma vez que, em concentrações mais altas, as soluções dos extratos não permitiram uma absorção total nos discos, além da intensa coloração, que prejudicava a leitura dos resultados. Para Holetz et al., (2002), extratos vegetais que apresentam atividade antimicrobiana em concentrações acima de 500 µg/mL possuem fraca atividade, sendo de difícil aproveitamento farmacêutico no tratamento de infecções bacterianas ou fúngicas.

Quadro 1 – Critérios para aceitação da atividade antimicrobiana de extratos brutos de plantas segundo Holetz et al., 2002.

CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA DO EXTRATO BRUTO	RESULTADO
Abaixo de 100 µg/mL	Boa atividade antimicrobiana
Entre 100 e 500 µg/mL	Moderada atividade antimicrobiana
Entre 500 e 1000 µg/mL	Fraca atividade antimicrobiana
Acima de 1000 µg/mL	Inativo

Considerando os critérios sugeridos por Holetz et al., (2002), os melhores resultados foram contra *P. aeruginosa*, tanto para a *P. pilosa* quanto para *P. pellucida*. Esses resultados revelaram que esses extratos possuem entre moderada e boa atividade antimicrobiana. Portanto, têm potencial para serem usados na produção de fitoterápicos contra infecções causadas por micro-organismos Gram-positivos e Gram-negativos.

A determinação da CIM do extrato frente ao micro-organismo foi realizada pela técnica de microdiluição em placas, método mais recomendável para essa determinação.

Os resultados obtidos demonstram as propriedades antibacterianas dessas plantas medicinais, revelando a potencialidade de seus extratos etanólicos.

Com base nos resultados, confirma-se o conhecimento empírico das comunidades tradicionais do Estado do Pará em relação às propriedades medicinais antibacterianas desses vegetais. Esse fato contribui, também, de forma a ampliar as informações científicas dessas plantas constituintes do bioma amazônico com características terapêuticas, confirmando-se seu potencial farmacológico.

Devido à presença de metabólitos que podem apresentar atividade antimicrobiana, é recomendável a continuação do estudo fitoquímico e microbiológico. É importante também isolar e identificar as substâncias responsáveis pela atividade e determinar as frações ativas.

### AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao CNPq pela bolsa concedida.

### ABSTRACT

*Antimicrobial Activity of Ethanol Extracts of Peperomia pellucida and Portulaca pilosa*

**Plants used in traditional medicine are under increasing scrutiny as possible sources of substances**

with antimicrobial activity. In this article we focus on *Peperomia pellucida* (erva-de-jabuti) and *Portulaca pilosa* (amor crescido), both commonly used in the Amazon. *P. pellucida* is popularly used as a wound dressing, to stop bleeding, and in cases of abdominal pain and cramps, abscesses, acne, boils, kidney problems, hypertension and raised cholesterol, and *P. pilosa* as a hepatoprotective, antidiarrheal and diuretic and for burns, erysipelas and injuries. In this study, we investigated the phytochemistry and antimicrobial activity of extracts of these two plant materials. Phytochemical screening revealed the presence of reducing sugars, phenols and tannins, steroids and terpenoids, cardiac glycosides and carotenoids in the dried ethanol extract (DEE) of *P. pilosa* and of proteins and amino acids, phenols and tannins, flavonoids, steroids and triterpenoids, azulenes, carotenoids, depsides and depsidones in the *P. pellucida* DEE. The antimicrobial activity of the ethanol extracts was assayed by the agar disc diffusion method, at concentrations of 500, 250, 125 and 62.5 µg/mL. The plant extracts that showed antimicrobial activity in the preliminary assessment were subjected to the broth microdilution test to determine the minimum inhibitory concentration (MIC). The *P. pellucida* extract had antimicrobial activity against *S. aureus* and *P. aeruginosa* and that of *P. pilosa* against *P. aeruginosa*.  
**Keywords:** Antimicrobial activity. *Peperomia pellucida*. *Portulaca pilosa*. Erva-de-jabuti. Amor-crescido.

## REFERÊNCIAS

- Aligianis N, Kalpoutzakis E, Mitaku S, Chinou IB. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of two *Origanum* species. *J Agric Food Chem*. 2001; 49: 4168-70.
- Arrigoni-blank M, Dmitrieva EG, Franzotti EM, Antonioli AR, Andrade MR, Marchioro M. Anti-inflammatory and analgesic activity of *Peperomia pellucida* (L.) HBK (Piperaceae). *J Ethnopharmacol*. 2004; 9:215-8.
- Aziba PI, Adedeji A, Ekor M, Adeyemi O. Analgesic activity of *Peperomia pellucida* aerial parts in mice. *Fitoterapia*. 2001; 72(1):57-8.
- Barbosa WLR. Manual para Análise Fitoquímica e Cromatográfica de Extratos Vegetais. 2ª. edição revisada. Revista Científica da UFPA [Internet] 2004 [citado 2010 mai 10]. 4. Disponível em: <http://www.ufpa.br/rcientifica>.
- Barbosa WLR, Pinto LN, Silva WB, Fernandes JGS, Soler O. Etnofarmácia – Fitoterapia Popular e Ciência Farmacêutica. Belém: NUMA; 2009. 114p.
- Baurin N, Arnoult E, Scior T, Do QT, Bernard P. Preliminary screening of some tropical plants for anti-tyrosinase activity. *J Ethnopharmacol*. 2002; 82(2-3):155-8.
- Bojo AC, Albano-Garcia E, Pocsidio GN. The anti-bacterial activity of *Peperomia pellucida* (L.) HBK (Piperaceae). *Asia Life Sci*. 1994; 3:35-4.
- Bylka W, Matlawska I, Pilewski NA. Natural flavonoids as antimicrobial agents. *J Am Nutraceutical Assoc*. 2004; 7:24-31.
- CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard. 8th. ed. Franklin Lakes, NJ: CLSI; 2003a. (CLSI document M2-A8 CLSI).
- Di Stasi LC, Hurama-lima CA. Plantas Medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica. 2ª ed. São Paulo: Editora UNESP; 2002.
- Drumond MRS, Castro RD, Almeida RVD, Pereira MSV, Padilha WVN. Estudo comparativo in vitro da atividade antibacteriana de produtos fitoterápicos sobre bactérias cariogênicas. *Pesq Bras Odontoped Clin Integr*. 2004; 4(1):33-8.
- Furlam MR. Cultivo de Plantas Medicinais. 15ª. ed. Cuiabá: SEBRAE; 1998. 137p.
- Harbone JB. Advances in flavonoids research since 1992. *Phytochemistry*. 2000; 55:481-504.
- Holetz FB, Pessini GL, Sanches NR, Cortez DA. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2002; 97(7):1027-31.
- Khan MR, Omoloso AD. Antibacterial activity of *Hygrophila stricta* and *Peperomia pellucida*. *Fitoterapia*. 2002; 73:251-4.
- Lima MRF, Luna JS, Santos AF. Anti-bacterial activity of some Brazilian medicinal plants. *J Ethnopharmacol*. 2006; 105:137-14.
- Mabberley DJ. The plant book. A portable dictionary of the vascular plants. 2nd. ed. Cambridge: Cambridge University Press; 1997. 858p.
- Martins ER. Plantas medicinais. Viçosa: Edição Imprensa Universitária, UFV; 1995.
- Parekh J, Chanda SV. In vitro antimicrobial activity and phytochemical analysis of some Indian medicinal plants. *Turk J Biol*. 2007; 31:53-8.
- Pimentel AAMP. Cultivo de Plantas Medicinais da Amazônia. Belém: Faculdade de Ciências Agrárias do Pará; 1994. p.51-52.
- Rocha MJ, Fulgencio SF, Rabetti AC, Nicolau M, Poli A, Simões CM, Ribeiro-do-Valle RM. Effects of hydroalcoholic extracts of *Portulaca pilosa* and *Achyrocline satureioides* on urinary sodium and potassium excretion. *J Ethnopharmacol*. 1994; 43(3):179-83.
- Santos SC, Ferreira FS, Rossi-Alva JC, Fernandez LG. Atividade antimicrobiana in vitro do extrato de *Abarema cochliocarpos* (Gomes) Barneby & Grimes. *Rev Bras Farmacogn*. 2007; 17(2):215-9.

Scalbert A. Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, 1991; 30:3875-83.

Siqueira JM. Anais da XII reunião anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental (FESBE). Caxambú: FeSBE; 1997. 278p.

Veluri R, Weir TL, Bais HP, Stermitz FR, Vivanco JM. Phytotoxic and antimicrobial activities of catechin derivatives. *J Agric Food Chem*. 2004; 52:1077-82.

