

CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA E DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE *PIPTOCHAETIUM MONTEVIDENSE* (SPRENG.) PARODI¹

Tauane Galina², Maiara Ganasini³, Raquel Tonello⁴, Júlia Gabrieli Bender⁵, Felipe Goronski⁶, Juliana Roman⁷

¹ Monografia de Conclusão do Curso de Graduação em Farmácia da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões

² Aluna do Curso de Graduação em Farmácia (URI), Bolsista PIIC/URI. 097704@aluno.uricer.edu.br - Erechim, RS, Brasil

³ Graduada em Farmácia pela URI, maiara_ganasini@outlook.com - Campinas do Sul, RS, Brasil

⁴ Aluna do Curso de Graduação em Farmácia (URI), rakel.to@hotmail.com - Getúlio Vargas, RS, Brasil

⁵ Aluna do Curso de Graduação em Farmácia (URI), juliagbender@hotmail.com - Erechim, RS, Brasil

⁶ Aluno do Curso de Graduação em Farmácia, felipegoronski@gmail.com - Erechim, RS, Brasil

⁷ Professora Orientadora, Mestre em Ciências Farmacêuticas, Curso de Farmácia (URI), juliana@uricer.edu.br - Erechim, RS, Brasil

RESUMO

A *Piptochaetium montevidense* (Spreng.) Parodi é uma planta que, na medicina popular, por muito tempo, foi usada como uma possível solução para tratar de problemas renais. Contudo, um estudo científico acerca desta planta, torna-se relevante a medida em que propõe investigar a capacidade de ação diurética e/ou antibiótica no tratamento de ITU (infecção do trato urinário). Portanto, essa pesquisa tem como objetivo realizar o perfil fitoquímico da planta, para identificar quais os metabólitos secundários presentes na mesma e também analisar a atividade antimicrobiana frente a bactéria *Escherichia coli*, a principal responsável por causar infecções do trato urinário. A partir deste estudo, identificou-se que a *Piptochaetium Montevidense* (Spreng.) Parodi possui muitos metabólitos secundários, sugerindo que a planta possa ter alguma atividade farmacológica. Todavia, sua utilização para tratar infecção do trato urinário não se mostrou eficaz frente a bactéria *Escherichia coli* em concentrações de até 100 µg/ml.

1 INTRODUÇÃO

Tanto para o manejo no tratamento de doenças quanto para a prevenção delas, a fitoterapia é usada como um recurso, essa utiliza parte de plantas ou preparações com plantas. Para isso, a PNPMF (Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos) visa promover a ampliação ao acesso a plantas medicinais, fitoterápicos e serviços de fitoterapia, com qualidade, segurança, eficácia na atenção à saúde dos brasileiros.

(BRASIL 2006; MACHADO CZERMAINSKI, LOPES, 2012; IBIAPINA et al., 2014).

As plantas podem ser usadas na medicina popular para tratar diversas doenças, como por exemplo doenças infecciosas. A gramínea *Piptochaetium montevidense* (Spreng.) Parodi está entre uma dessas plantas, que se acredita poder tratar problemas renais e urinários (GARLET, IRGANG, 2001).

Esta, pertence à família Poaceae e é conhecida popularmente por cabelo-de-porco, se distribui na Argentina, Chile, Bolívia, Paraguai, Peru, Uruguai e Brasil e habita campos de altitude, beira de estrada junto à mata de *Araucaria angustifolia* Kuntze. (LONGHI-WAGNER, 2001).

A *Piptochaetium montevidense* (Spreng.) Parodi é utilizada de maneira empírica, visto que foi encontrado apenas uma pesquisa científica a qual demonstra que esta não possui propriedades antibióticas concretas ou qualquer outro estudo que busque a atividade ou constituintes de interesse da mesma.

Em alguns problemas renais, as infecções por bactérias patogênicas são muito comuns e acometem grande parte da população. Dentre as bactérias causadoras das ITUs (infecções do trato urinário), a *Escherichia coli* se destaca: uma bactéria gram-negativa e patogênica responsável por cerca 80% das infecções urinárias (BRAOIOS et al., 2009). Desta forma, se a *Piptochaetium montevidense* (Spreng.) Parodi possuir propriedades antibióticas relevantes para o tratamento das ITUs, então, os tratamentos poderão aliar a erva como uma alternativa para a cura, assim evidenciando o uso empírico da planta pela população.

O objetivo deste trabalho, foi verificar se a *Piptochaetium montevidense* (Spreng.) Parodi possui propriedades antibióticas relevantes frente a bactéria *Escherichia coli*, bem como desenvolver o perfil fitoquímico para tomar conhecimento dos compostos químicos presentes nela, possibilitando assim maior conhecimento da sua composição.

2 METODOLOGIA

2.1 Local, espaço e tempo de pesquisa

A pesquisa foi realizada na Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, localizada no município de Erechim, no período de novembro de 2019 a julho de 2020.

2.2 Avaliação botânica

A *Piptochaetium montevidense* (Spreng.) Parodi foi coletada, para a utilização neste estudo, em propriedade particular proveniente do município de Jacutinga – Rio Grande do Sul. A coleta do material foi realizada em novembro de 2019.

Um exemplar da planta foi anteriormente coletado, para identificação botânica, e uma exsicata da *Piptochaetium montevidense* (Spreng.) Parodi encontra-se sob nº 12.340, identificada pela bióloga Angela Chaves, arquivada no Herbário Padre Balduino Rambo, pertencente ao Museu Regional do Alto Uruguai e das Missões - Campus Erechim.

2.3 Obtenção do extrato

As folhas da *Piptochaetium montevidense* (Spreng.) Parodi foram previamente secas em estufa com circulação de ar a uma temperatura de 40°C, em seguida trituradas em moinho de facas.

O extrato foi preparado a partir das folhas secas e trituradas na proporção 1:10 (m/v) com solução hidroetanólica a 70% (v/v), pelo processo de maceração, com renovação do líquido extrator. Para extração, foram pesadas 50g das folhas e deixadas em contato com 450 mL da solução hidroetanólica em recipiente âmbar. O mesmo foi deixado em temperatura ambiente, com agitação ocasional. A filtração e renovação do líquido extrator foi realizada a cada 72 horas, até o esgotamento do material vegetal.

Após esgotamento do material, os filtrados obtidos foram concentrados sob pressão reduzida em evaporador rotatório, à temperatura de 45°C. Após a eliminação do solvente alcoólico, em placas de petri, foi colocado uma fina camada dos extratos que foram congelados a -80°C e liofilizados até remoção da água residual. Os extratos liofilizados

foram armazenados em frascos âmbar hermeticamente fechados e mantidos sob refrigeração (SIMÕES et al., 2017).

2.4 Caracterização fitoquímica

O extrato bruto liofilizado das folhas de *Piptochaetium montevidense* (Spreng.) Parodi foi utilizado para a identificação das classes dos metabólitos secundários. A metodologia utilizada foi proposta por Vishwakarma e colaboradores (2014) e Silva e Lima (2016). Foram realizados os seguintes testes: pesquisa de alcalóides, cumarinas, flavonóides, taninos, saponinas, terpenóides, esteróides e antraquinonas livres.

Para identificação de alcaloides, foi utilizado 2,0 mL da solução de amostra (extrato liofilizado dissolvido em água), mais 2,0 mL de ácido clorídrico (HCl) a 10% e aquecida essa mistura por 10 minutos. Após o resfriamento, a mistura foi filtrada e dividida em três porções onde foi adicionado algumas gotas dos reativos de reconhecimento: Dragendorff e Mayer. Uma leve turbidez ou precipitado (respectivamente roxo a laranja, branco a creme e marrom) evidencia a possível presença dos mesmos.

No ensaio para identificação de cumarinas, em um tubo de ensaio foi colocada 2,0 mL da amostra, 2 mL de hidróxido de sódio (NaOH) a 10%. Após a adição, a formação de uma coloração amarela, indica a presença de cumarinas.

Buscando identificar flavonóides, foi colocado em um tubo, 2,0 mL de solução amostra, alguns fragmentos de Mg e agregar-se-á, pelas paredes do tubo, algumas gotas de HCl concentrado. A formação de coloração vermelha é indicativa da presença de flavonóides.

No reconhecimento de taninos, foi adicionado 2 mL da solução amostra em um tubo de ensaio e duas gotas de cloreto férrico (FeCl₃) a 10%. O aparecimento de precipitado escuro de tonalidade azul indica a presença de taninos hidrossolúveis e verde de taninos condensados.

No ensaio para as saponinas, foi misturado 2,0 mL da solução amostra e 5,0 mL de água destilada que foi aquecida em banho maria por 10 minutos. Após resfriamento, foi agitada e

deixada em repouso por 20 minutos. Considera-se a presença de saponinas pela formação de espuma persistente.

Para os terpenóides foi misturado 2 mL da solução amostra, 2 mL de clorofórmio e 4 a 5 gotas de ácido sulfúrico concentrado, onde a formação de uma cor marrom vermelho ou o surgimento de colorações que vão do azul ao verde que indicam a presença desse metabólito.

Para a detecção de esteróides foi misturado 2 mL da solução amostra, 2 mL de clorofórmio e 1 mL de ácido sulfúrico concentrado, onde a formação de cor marrom vermelho mutável ou o surgimento de colorações que vão do azul ao verde é indicativo da presença de esteroides.

Para identificação da presença de antraquinonas livres, foi misturado em tubo de ensaio, 2 mL da amostra com 5 mL de solução de hidróxido de amônio (NH₄OH) diluído. Uma coloração rósea ou avermelhada evidencia a presença deste metabólito.

2.5 Atividade antimicrobiana

Para análise antimicrobiana, foi utilizada cepa conhecida da bactéria gram negativa *Escherichia coli* ATCC25922. A técnica utilizada foi de difusão em placas com o meio Ágar Mueller-Hinton e discos de papel Waltmann nº3, com 6mm de diâmetro. A cada placa foi acrescentado um disco controle positivo com antibiótico sensível a bactéria, um disco com controle negativo, contendo água, e discos contendo 10µl de amostra em concentrações de 25 mg/mL, 50 mg/mL e 100 mg/mL (CLSI, 2015).

A bactéria teste foi inoculada em meio sólido Mueller-Hinton, em tubo inclinado, por 24 horas a 35°C com a finalidade de crescimento das mesmas. A seguir foram ressuspensas em água destilada até obter uma turvação equivalente ao padrão 0,5 na escala MacFarland, o que corresponde a 90% de transmitância (CLSI, 2012).

Com uma alça de Drigalski, a bactéria padronizada foi distribuída uniformemente sobre a superfície do ágar. Utilizando pinça esterilizada, os discos com as soluções e os controles foram distribuídos sobre a superfície do ágar. As placas foram incubadas em estufa a 35°C por 24 horas. Os halos de inibição do crescimento foram medidos utilizando régua,

considerando o diâmetro do disco. Os testes foram realizados em triplicata (CLSI, 2015).

3 RESULTADOS

3.1 Extrato Bruto Liofilizado

O extrato bruto liofilizado resultou em um sólido de coloração verde escura, consistência pegajosa e de característica higroscópica. O rendimento final, após a liofilização, foi de 6,521 g de extrato seco, correspondendo a 13,04%, em relação ao material de partida (folhas secas).

3.2 Caracterização Fitoquímica

Os resultados das identificações de metabolitos secundários estão apresentados na tabela 1 e figura 2.

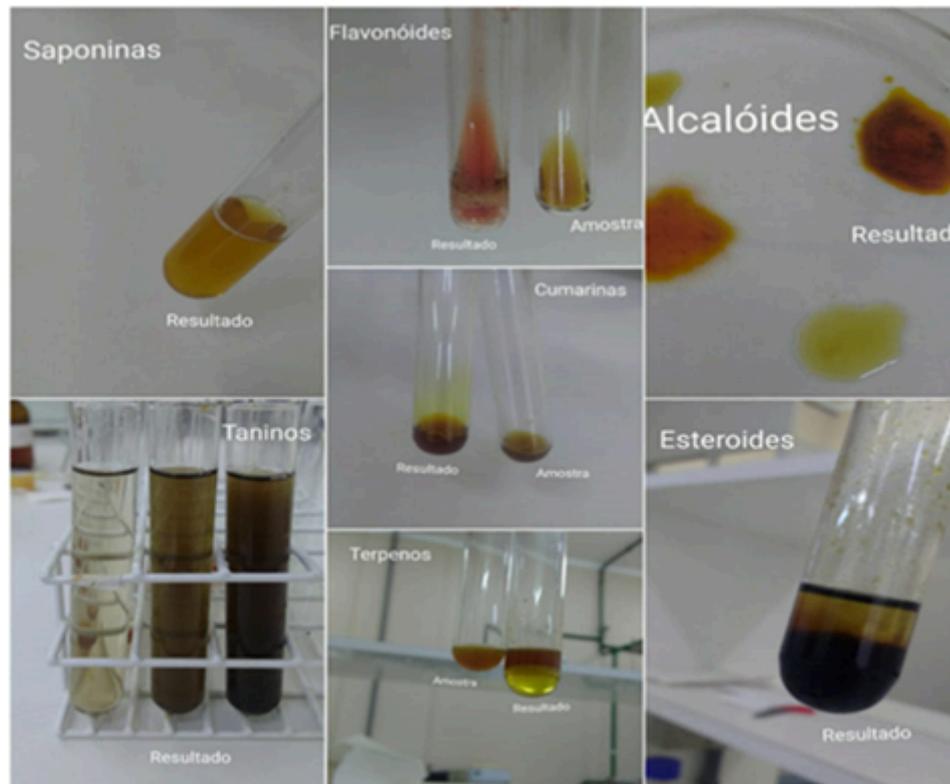
Tabela 1: Resultados dos testes de caracterização fitoquímica das folhas de *Piptochaetium montevidense* (Spreng.) Parodi

Metabolito secundário	Presença	Ausência
Alcalóides	•	
Cumarinas	•	
Taninos	•	
Saponinas		•
Terpenoides	*	*
Esteroides	•	
Antraquinonas livre		•
Flavonoides	•	

* inconclusivo

Fonte: [Maizara Ganasini](#)

Figura 2: Reações ocorridas na caracterização fitoquímica da *Piptochaetium montevidense* (Spreng.) Parodi



Fonte: [Maiara Ganasini](#)

As reações gerais para alcaloides baseiam-se na formação de complexos insolúveis (precipitados) a turvações, onde se observou que através do reativo de Dragendorff há formação de precipitado.

Para detecção de cumarinas o aparecimento de uma coloração amarela no momento do contato do hidróxido de sódio (NaOH) 10% com o extrato, revelou a presença desse metabólito. A identificação dos flavonoides mostrou-se positiva através do aparecimento de coloração vermelha.

Outro metabólito secundário que se revelou presente no extrato foi o tanino, os quais são classificados em dois grupos: taninos hidrolisáveis e taninos condensados. Pelo aparecimento de coloração esverdeada/cinza e precipitado sabe-se que há taninos condensados presentes.

Após reação da amostra com clorofórmio e ácido sulfúrico concentrado, o aparecimento de coloração marrom indicou a presença de esteroides.

O resultado dos terpenos mostrou-se inconclusivo, uma vez que a visualização foi

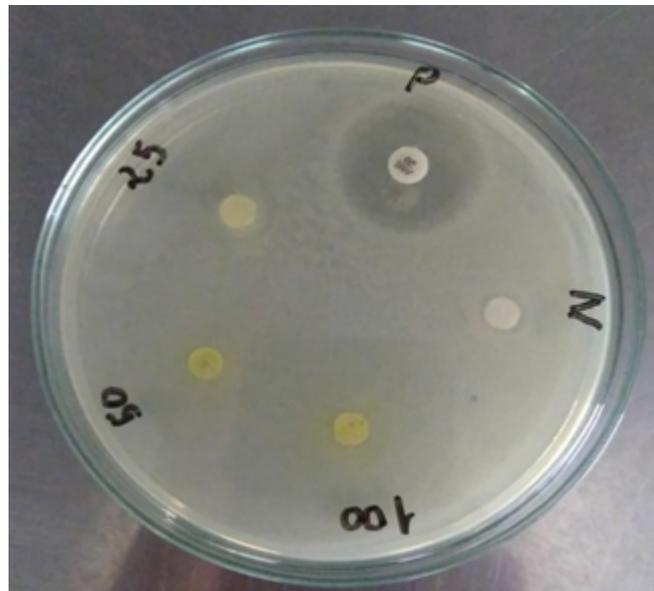
dificultada, sendo que sua presença ou não deve ser confirmada por hidrodestilação em estudos futuros.

O extrato liofilizado revelou ausência de saponinas e antraquinonas livres.

3.3 Atividade Antimicrobiana

Após o desenvolvimento de toda a técnica de diluição em placas, em triplicata, os halos de inibição do microorganismo foram medidos, para a avaliação dos resultados e constatou-se que o extrato liofilizado da *Piptochaetium montevidense* (Spreng.) Parodi, em concentrações de 25, 50 e 100 mg/mL não tem a capacidade de inibir a bactéria *Escherichia coli*, como pode ser observado na figura 3.

Figura 3: Resultado da atividade antimicrobiana da *Piptochaetium montevidense* (Spreng.) Parodi frente a bactéria *Escherichia coli*



Fonte: Maiara Ganasini

4 DISCUSSÃO

A triagem fitoquímica tem por objetivo conhecer as classes de constituintes químicos presentes em espécies vegetais. Revelam a presença do metabólito secundário a partir

do desenvolvimento de coloração específica ou por formação de precipitado ou turvação a partir de reativos inerentes a cada teste (SILVA, LIMA, 2016).

De maneira geral, os resultados do perfil fitoquímico sugerem potencialidade para atividades terapêuticas visto que constituintes identificados como flavonoides apresentam capacidade antioxidante de neutralizar a atividade de radicais livres gerados no organismo, com associações a diversas doenças crônico-degenerativas como diabetes, câncer e processos inflamatórios inibindo também o risco das doenças cardiovasculares (ROCHA et al., 2011). A presença de taninos também foi identificada onde podem apresentar atividade antioxidante e antinfecçiosa, ação antibacteriana, antifúngica e antiprotozoária, na reparação de tecidos, regulação enzimática e protéica, estimulação das células fagocíticas e ação tumoral em processos de cura de feridas como pequenas ulcerações, queimaduras e inflamações (MELLO, SANTOS, 2001). A presença de esteróides, foi detectada e podem estar envolvidos no desenvolvimento e no controle do sistema reprodutor humano, funcionando como cardiotônicos, precursores de vitamina D, anticoncepcionais orais, agentes antiinflamatórios e agentes anabolizantes (ROBBERS, SPEEDIE, TYLER, 1997). A revelação da presença de cumarinas, pode indicar utilidade no tratamento de doenças de pele, como psoríase, dermatoses, vitiligo e possível efeito anticoagulante (LEITE, 2009); e alcaloides também estão presentes, bastante conhecidos devido a atividades farmacológicas marcantes como atividades do sistema nervoso central (KABERA et al., 2014).

Alguns constituintes químicos presentes nos extratos de plantas medicinais podem responder majoritariamente pela atividade biológica, portanto, a pesquisa fitoquímica é importante principalmente quando ainda não são dispostos estudos químicos com espécies de interesse popular, como é o caso da *Piptochaetium montevidense* (Spreng.) Parodi, onde identificar grupos de metabólitos secundários relevantes é o primeiro passo para que os efeitos da planta sejam estudados (SIMÕES et al., 2017).

A *Piptochaetium montevidense* (Spreng.) Parodi é utilizada para a produção de chás com o intento de minimizar problemas renais e urinários. O uso desta para combater a infecção urinária, é uma prática na medicina popular onde as ideias são transmitidas empiricamente (GARLET, IRGANG, 2001) e, portanto, é importante que sejam confirmados cientificamente.

Este estudo demonstrou que a planta não apresenta efetividade para possível tratamento de infecção urinária causada pela *Escherichia coli*, baseado nas concentrações testadas. Este mesmo resultado pode ser observado em outro estudo, onde utilizaram a mesma planta, em concentrações que variaram entre 12,5 mg/mL e 500 mg/mL, pelo método de difusão em placas, mas utilizando solvente diferente (solução de DMSO a 0,8%) e também não tiveram resultados satisfatórios (VOGEL et al., 2011).

A orientação para estudos de atividades farmacológicas ocorre a partir dos usos indicados popularmente em medida que a detecção de atividade biológica nessas plantas é certamente mais seletiva do que em plantas escolhidas ao acaso (YUNES, 2001). As plantas utilizadas na medicina tradicional estão sendo cada vez mais estudadas por serem possíveis fontes de substâncias com atividades antimicrobianas frente a microorganismos prejudiciais à saúde do homem (MENDES et al., 2011), onde no caso da planta utilizada neste estudo, não houve a comprovação.

5 CONCLUSÃO

Com base nos experimentos realizados, o extrato bruto liofilizado resulta em pó com bom rendimento e a caracterização fitoquímica, revela a presença de metabólitos secundários como alcaloides, cumarinas, taninos, terpenos, esteróides e flavonoides, com possível potencialidade farmacológica a ser estudada futuramente. Todavia, o teste de terpenos mostra resultado inconclusivo através da metodologia adotada, carecendo de mais estudos para sua determinação.

Os resultados para a atividade antimicrobiana mostram que o extrato bruto de *Piptochaetium montevidense* (Spreng.) Parodi não possui atividade antimicrobiana para a bactéria *Escherichia coli*, nas concentrações testadas.

Palavras chaves: Infecção urinária; *Escherichia coli*; metabólitos secundários

REFERÊNCIAS

BRAIOS, A. et al. Infecções do trato urinário em pacientes não hospitalizados: etiologia e padrão de resistência aos antimicrobianos, **J Bras Patol Med Lab**, v. 45, n. 6, p. 449-456, dezembro 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. Brasília: **Ministério da Saúde**, 2006.

CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2012. **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically**. Approved Standard M07-A9. Wayne, PA.

CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2015. **Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests**: Approved Standard: Twelfth Edition. CLSI document M02-A12. Wayne, PA.

GARLET, T. M. B.; IRGANG, B. E., Plantas medicinais utilizadas na medicina popular por mulheres trabalhadoras rurais de Cruz Alta, Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 4, n. 1, p. 9-18, 2001.

GARLET, T. M. B.; IRGANG, B. E., Plantas medicinais utilizadas na medicina popular por mulheres trabalhadoras rurais de Cruz Alta, Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 4, n. 1, p. 9-18, 2001.

KABERA, J. N.; SEMANA, E.; MUSSA, A. R.; HE, X. Plant secondary

metabolites: biosynthesis, classification, function and pharmacological properties. **J Pharm Pharmacol**, v. 2, p. 377-392, 2014.

LEITE, J.P.V. Química dos produtos naturais: Uma abordagem Biossintética. In: Leite, J.P.V. Fitoterapia: bases científicas e tecnológicas. 1. ed. São Paulo: **Editora Atheneu**, p. 328, 2009.

LONGHI-WAGNER, H.M. (coord.) 2001. Poaceae In: Wanderley, M.G.L., Shepherd, G.J., Giulietti, A.M., Melhem, T.A., Kameyama, C., Bittrich, V. (Eds.). Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo. **Instituto de Botânica**, São Paulo, vol. 1, p: 1-281.

MELLO, J. C.P. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3 ed. Porto Alegre: Ed.UFGRS/Ed.UFSC, cap. 24, p.517-543, 2001.

MENDES, L.P.M. et al. Atividade Antimicrobiana de Extratos Etanólicos de Peperomia pellucida e Portulaca pilosa. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v.32, n.1, p.121-125, 2011.

ROBBERS, J.E.; SPEEDIE, M.K.; TYLER, V.E. Farmacognosia e Farmacobiotechnologia, 1.

ed. São Paulo: **Editorial premier**, p. 372, 1997.

ROCHA, W. S. et al. Compostos fenólicos totais e taninos condensados em frutas nativas do cerrado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 4, p. 1215-1221, 2011.

SILVA, A. C. O.; LIMA, R. A. **Identificação das classes de metabólitos secundários no extrato etanólico dos frutos e folhas de Eugenia uniflora L. REGET**, v. 20, n. 1, p. 381-388, 2016.

SIMÕES, C. M. O.; et al. Farmacognosia: do produto natural ao medicamento. Porto Alegre: **Artmed**, 2017.

VISHWAKARMA, S.; et al. Comparative study of qualitative phytochemical screening and antioxidant activity of Mentha arvensis, Elettaria cardamomum and Allium porrum. Indo American **Journal of Pharmaceutical Research**. v. 4, n.5, 2014.

VOGEL N.W. et al. Assessment of the antimicrobial effect of three plants used for therapy of community-acquired urinary tract infection in Rio Grande do Sul (Brazil). **Journal of Ethnopharmacology**, n.137, p.1334 – 1336, 2011.

YUNES, R. A. Plantas medicinais sob a ótica da moderna química medicinal. 1 ed. Chapecó: **Editora Argos**, p. 523, 2001.