

ATIVIDADE ANTIMICROBIOLÓGICA DE COMPOSTOS BIO- INSPIRADOS NA PIPERLONGUMINA DA PLANTA MEDICINAL *PIPER LONGUM*.

Igor Baggio Pereira¹; Laura Peters Matias¹; Manuella Porto Luiz Trindade¹; Rafaela de Figueiredo¹; Monica Paulina Kruk¹; Laísa Firmino Luciano¹; Bianca da Silva¹; Aline Fidelis Marques¹; Alison Ribeiro Mendes¹; Ezequiel Fernandes Martins¹; Léo Antunes dos Santos¹; Wesley Vieira da Rosa¹; Yane do Amaral Stopassole¹; Pedro Silvestri de Mello¹; Leonardo Guedes de Oliveira¹; Rafaella Glovacki Calegari¹; Dra. Simony Davet Muller² (orientadora)

RESUMO:

O gênero *Piper* é utilizado popularmente como condimento e como tratamentos medicinais tais como antimicrobiano e antioxidante. O objetivo foi investigar a atividade antimicrobiana do extrato etanólico da espécie *Piper longum* contra isolados bacterianos clínicos multirresistentes. Metodologia: A avaliação da atividade antibacteriana do extrato etanólico dos frutos de *P. longum*, frente às bactérias *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli* foi realizado através da técnica de difusão em ágar. Foi observada inibição do crescimento de *P. aeruginosa* frente ao extrato etanólico bruto (1g/mL) (halo de inibição de 10 mm de diâmetro). Para as demais bactérias testadas, o extrato e suas diluições não apresentaram efeito bacteriostático. Pode-se concluir que o extrato etanólico bruto apresentou atividade antibacteriana frente à *P. aeruginosa*, porém não foi eficaz frente à *E. coli* e *Staphylococcus aureus*. São necessários novos estudos com diferentes linhagens de microrganismos, para definir o potencial antimicrobiano do extrato etanólico da *P. longum*.

INTRODUÇÃO:

O gênero *Piper* está dentro dos representativos da família Piperaceae (*Piper*, *Peperomia*, *Manekia*, *Zippelia* e *Verhuellia*), pertencente a ordem Piperales, a qual é

- 1 – Igor Baggio Pereira; acadêmico de Medicina; UNISUL
- 1 – Laura Peters Matias; acadêmica de Medicina; UNISUL
- 1 – Manuella Porto Luiz Trindade; acadêmica de Medicina; UNISUL
- 1 – Rafaela de Figueiredo; acadêmica de Medicina; UNISUL
- 1 – Mônica Paulina Kruk; acadêmica de Medicina; UNISUL
- 1 – Aline Fidelis Marques; acadêmica de Estética e Cosmetologia; UNISUL
- 1 – Bianca da Silva; acadêmica de Estética e Cosmetologia; UNISUL
- 1 – Ezequiel Fernandes Martins, acadêmico de Medicina; UNISUL
- 1 – Léo Antunes dos Santos; acadêmico de Medicina; UNISUL
- 1 – Pedro Silvestri de Mello; acadêmico de Medicina; UNISUL
- 1 – Leonardo Guedes de Oliveira; acadêmico de Enfermagem; UNISUL
- 1 – Rafaella Glovacki Calegari; acadêmica de Odontologia; UNISUL
- 1 – Yane do Amaral Stopassole, acadêmica de Medicina, UNISUL
- 2 – Doutora em farmácia; simony.muller@animaeducacao.com.br

composta por cerca de 3.600 espécies, sendo o gênero *Piper* responsável por mais de dois terços dessa representatividade.

As propriedades do gênero *Piper* são relatados como condimento e como planta medicinal (CUNHA et al, 2021; KOEHN; CARTER, 2005). Este fato é explicado devido a sua variedade de metabólitos secundários, possuindo diversas propriedades farmacológicas, fazendo com que as pimentas fossem amplamente utilizadas na medicina popular em todo o mundo (CUNHA et al, 2021).

A *Piper Longum L.*, também conhecida como “Pimenta indiana” é cultivada em países tropicais e subtropicais como Brasil, Índia, Indonésia, Malásia, Filipinas, Sri Lanka, Tailândia e Vietnã (BERYL; OGORZALY, 1995).

A ação antioxidante da *P. longum L.* apresenta um potencial promissor contra danos oxidativos induzidos por radicais livres, sendo seu extrato de éter de petróleo da raiz e piperina que obtém a diminuição dos níveis de peróxidos lipídicos e conseguem manter o teor de glutathione, demonstrando atividade antioxidante. A ação antimicrobiana é demonstrada nos extratos de éter de petróleo e acetato de etila da *P. longum* que exercem efeitos antimicrobianos contra vários microrganismos (KUMAR, S. et al, 2011).

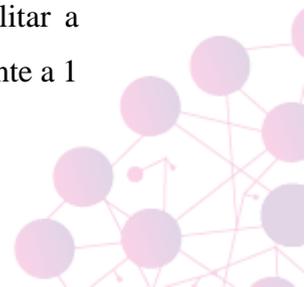
Frente aos estudos levantados na literatura científica, este trabalho teve por objetivo investigar a atividade antimicrobiana do extrato enriquecido de flavonoides da espécie *Piper longum*, sem a associação de quaisquer outros fármacos envolvidos contra isolados clínicos bacterianos multirresistentes.

PALAVRAS-CHAVE: *Piper longum*; antioxidante; antimicrobiano.

MÉTODO:

Tratou-se de uma pesquisa quantitativa, experimental aplicada (GIL, 2007). O objeto de estudo foi o extrato enriquecido em flavonoides da planta medicinal *Piper longum*, produzido e cedido pelo Laboratório de Neurobiologia da Dor e Inflamação (LANDI/UFSC) da Universidade Federal de Santa Catarina.

O extrato seco enriquecido com flavonoides bruto obtido foi ressuspensionado em água estéril contendo 10% de tensoativo monoláurico (*Tween 20*) para facilitar a dissolução, ajustando a concentração final para 1 g de extrato seco correspondente a 1



mL de solução. Do volume total do extrato concentrado obtido (aproximadamente 7,8 mL) foram feitas diluições com água destilada estéril de 1:1, 1:2, 1:4, 1:8 e 1:10. As concentrações obtidas foram: 1000; 500; 250; 125; 62,5 e 31,25 mg/mL; respectivamente.

Para a identificar a ação antimicrobiana do extrato em diferentes concentrações, isolados bacterianos multirresistentes foram obtidos, em parceria com o laboratório de microbiologia do Instituto de Ciências Básicas da Saúde (ICBS) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Foram testados isolados da espécie *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*.

Na técnica de difusão em ágar, 100 µL de cada suspensão bacteriana foram semeadas em placas contendo ágar *Mueller-Hinton* (DIFCO), em triplicata. Com auxílio de uma pinça estéril, foram colocados sobre a superfície do meio inoculado, seis discos de papel filtro estéreis impregnados com o extrato bruto, diluído 1:1, 1:2, 1:4, 1:8 e 1:10, respectivamente. Como controle negativo foi utilizado um disco embebido em água estéril, e como controle positivo, um disco contendo álcool 70% (NCCLS, 2003).

A leitura dos resultados foi realizada medindo-se o diâmetro dos halos, em mm, formados ao redor dos discos contendo os extratos. Foi considerado como resultado de cada concentração do extrato a média das três medidas dos halos e, como positivo, a concentração do extrato que apresentou halo maior ou igual a 9 mm (SMÂNIA et al, 1995).

As placas e os tubos foram incubados em estufa, a 37°C por 24 horas.

RESULTADOS PARCIAIS E DISCUSSÃO:

O extrato etanólico bruto, inibiu o crescimento de *Pseudomonas aeruginosa* na técnica de difusão em ágar, onde se observou halo de inibição de 10 mm de diâmetro ao redor dos discos. Foi observado halo de inibição nos discos contendo extrato etanólico bruto (d = 8 mm), diluído 1:1 (d = 7 mm) e diluído 1:2 (d = 5 mm) frente à *Staphylococcus aureus*. Portanto, para considerar o extrato ativo baseado em resultados equivalentes nos testes de difusão em disco, padronizou-se o diâmetro do halo de inibição maior ou igual a 9 mm (SMÂNIA et al, 1995). (Tabela 1).



Não foi observada atividade antibacteriana em nenhuma concentração dos extratos etanólico frente a *E. coli*, na técnica de difusão em ágar (Tabelas 1).

O fato do extrato da *P. Longum* não apresentar atividade antimicrobiana frente à *S. aureus* e *E. coli*, não inviabiliza os estudos sobre o potencial efeito antibacteriano frente à *P. aeruginosa*, uma vez que outras espécies vegetais, comprovadamente, já apresentaram atividade antimicrobiana para esta bactéria, observando-se que há variação na sensibilidade para cada tipo de extrato vegetal utilizado.

Segundo Ribeiro (2008), não existe um consenso sobre o nível de inibição aceitável para extratos e óleos essenciais de plantas, quando comparados aos antibacterianos padrões. Porém, analisando os diâmetros dos halos do extrato etanólico bruto frente à *P. aeruginosa* (10 mm) com o controle positivo álcool 70% (8 mm), pode ser inferida a atividade antibacteriana do extrato frente a esta bactéria.

Uma vez que a *P. aeruginosa* é considerada um patógeno de grande importância em saúde pública e animal, e que vem desenvolvendo crescente resistência aos antimicrobianos, sendo, portanto, de difícil controle, os resultados do presente estudo denotam a importância da atividade antibacteriana do extrato da *P. longum* frente a esta bactéria, já que diversos estudos relataram a resistência da mesma a diferentes extratos vegetais (Santos et al., 2011; Pelissari et al., 2010; Cordeiro et al., 2006). Tal fato reforça a hipótese de que o extrato da *P. longum* pode ter potencial para fornecer substâncias com atividade antibacteriana *in vitro*.

Tabela 1. Atividade antibacteriana de extrato etanólico obtidos de frutos de *Piper Longum* pela técnica de difusão em ágar frente a cepas de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*.



Extrato	Diluição/concentração (mg/mL)	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>
Etanólico	Bruto (1000)	8 mm ± 0*	10 mm ± 0	-
	1:1 (500)	7 mm ± 1	-	-
	1:2 (250)	5 mm ± 1	-	-
	1:4 (125)	-	-	-
	1:8 (62,5)	-	-	-
	1:10 (31,25)	-	-	-
Controle positivo (+)	Álcool 70%	8 mm ± 0	8 mm ± 0	9 mm ± 0
Controle Negativo (-)	Água estéril	-	-	-

* Média do diâmetro dos halos de inibição ± desvio padrão (mm); (-): ausência de halo de inibição

CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS:

Tais resultados reforçam a hipótese de que o extrato da *P. longum* pode ter potencial atividade antibacteriana *in vitro* frente à *P. aeruginosa*, e este estudo denota a importância dos dados de levantamentos etnofarmacológicos na seleção de plantas que podem ser utilizadas na medicina tradicional.

Como perspectivas pretende-se determinar a concentração inibitória mínima do extrato e realizar as análises antioxidantes. Além disso está sendo realizado uma revisão narrativa das atividades biológicas dos compostos da planta em estudo.

REFERÊNCIAS:





BERYL BRINTNALL SIMPSON; OGORZALY, M. Economic botany plants in our world. [s.l.] New York Mcgraw-Hill. (1995).

CUNHA, M. R. et al. Peppers: A “Hot” Natural Source for Antitumor Compounds. *Molecules* (Basel, Switzerland), v. 26, n. 6, p. 1521, 10 mar. (2021).

KOEHN, F. E.; CARTER, G. T. The evolving role of natural products in drug discovery. *Nature Reviews Drug Discovery*, v. 4, n. 3, p. 206–220, 24 fev. (2005).

KUMAR, S. et al. Overview for Various Aspects of the Health Benefits of Piper Longum Linn. Fruit. *Journal of Acupuncture and Meridian Studies*, v. 4, n. 2, p. 134–140, junho. (2011).

NCCLS. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard. Sixth Edition. NCCLS document M7-A6 (ISBN 1-56238 486-4), v.23, n.2, 2003. Disponível em: <http://www.sbac.org.br/pt/pdfs/biblioteca/clsi_OPASM7_A6.pdf>. Acesso em: 04 out. 2022.

RIBEIRO, C. M. Avaliação da atividade antimicrobiana de plantas utilizadas na medicina popular da Amazônia. 2008. 67p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) Universidade Federal do Pará, Belém.

SMÂNIA, A. et al. Antibacterial activity of a substance produced by the fungus *Pycnoporus sanguineus* (Fr.) Murr. *Journal of Ethnopharmacology*, v.45, p.177-181, 1995.

FOMENTO:

O trabalho teve a concessão de Bolsa pelo PROGRAMA DE BOLSAS UNIVERSITÁRIAS DE SANTA CATARINA – UNIEDU ART. 170/CE e ART. 171 – Bolsa de Pesquisa.

