



ESTUDO FITOQUÍMICO E ANTIMICROBIANO DA CASCA DE ENDOPLEURA UCHI

PHYTOCHEMICAL AND ANTIMICROBIAL STUDY OF UCHI ENDOPLEURA BARK

DOI: 10.5281/zenodo.10905748

Rodrigo Queiroz de Lima¹

Sara Jéssica Teixeira de Andrade²

Sarah Pessoa da Silva³

Orivaldo da Silva Lacerda Junior⁴

Ângela Lúcia Carvalho de Andrade⁵

RESUMO: *Endopleura uchi* é uma planta da região amazônica, conhecida como uchi ou uxi amarelo. A casca do caule é usada popularmente no tratamento contra miomas e inflamações uterinas. A planta é alvo de muitas pesquisas, voltadas principalmente com as cascas do caule do vegetal. Com essa parte da planta são feitos extratos do vegetal que apresenta como marcador químico a bergenina, substância química que pode ser isolada de extratos do uchi com comprovado efeitos anti-inflamatório, antimicrobiano, neuroprotetor e hepatoprotetor. A modificação da estrutura química da bergenina, pela acetilação gerando a acetilbergenina mostra um aumento das atividades biológicas com maior lipofilidade, destacando o maior efeito hepatoprotetor e aparecimento da atividade antimicrobiana contra *Escherichia coli*. Dessa forma percebe-se a importância da modificação molecular na busca por aumento da ação e por novas atividades, em substâncias de origem natural. Assim, presente trabalho tem o objetivo de modificar a bergenina isolada da casca de *Endopleura uchi* e avaliar a atividade antimicrobiana deste novo composto. A bergenina foi isolada do extrato metanólico das cascas de *E. uchi* particionado em solventes de diferentes polaridades e identificada por espectros de RMN ¹H e ¹³C e comparadas com dados da literatura. A partir da bergenina foi efetuada a reação química para obtenção de derivados que foram identificados por espectros de RMN ¹H e ¹³C. Com a substância obtida foi realizado testes antibacterianos. Para os testes antimicrobianos foram utilizado duas cepas

1 UNINORTE

2 UNINORTE

3 UNINORTE

4 Doutor em Química pela Universidade Federal do Amazonas, Docente do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará, Tianguá, Ceará, Brasil.

5 UNINORTE



bacterianas, *Staphylococcus aureus* isolado de queijo e *Escherichia coli* ATCC 13706, as quais foram feito antibiograma e coloração de Gram. Com ativação das bactérias para teste antimicrobiano pelo método de disco de difusão em meio sólido. Com desenvolvimento da metodologia nas análises macro e microscópica se detectou estruturas de identificação do vegetal *E. uchi* tais como amido, cristais poliédricos e idioblastos cristalíferos. Os processos extrativos apresentaram rendimento para etanol de 1,89 %, o metanólico de 3,84 % e acetato de etila de 5,00% inferiores ao relatados na literatura científica. Nos testes microbiológicos com cepas de *E. coli* ATCC 13706 o antibiograma evidenciou halos de inibição contra todos os discos de antibiótico, no entanto apresentou resistência a Ampicilina e sensibilidade alta e intermediária para os demais. O teste com uso da bergenina e da bergenina butilada (BBN) não apresentou efeito antimicrobiano contra a cepa de *E. coli*. Com presente trabalho pode-se contribuir com o uso da planta *E. uchi* e dos compostos isolados deste vegetal e principalmente evidencia que a bergenina e BBN não tem qualquer efeito antimicrobiano.

Palavras-chave: Bergenina; casca do caule; Fitoterapia; isolamento & purificação; Espectroscopia de Ressonância Magnética.

ABSTRACT: *Endopleura uchi* is a plant from the Amazon region, popularly known as “uxi” or “uxi-amarelo”. The bark of the stem is popularly used in the treatment for myoma and uterine inflammation. The plant is the subject of much research, mainly focused on the bark of the plant stem. With this part of the plant are made of vegetable extracts which has as a chemical marker bergenin, chemical that can be isolated from uchi extracts with proven anti-inflammatory, antimicrobial, neuroprotective and hepatoprotective. The modification of the chemical structure of bergenin by acetylation generating acetilbergenin shows an increase of biological activities with the highest lipophilicity, emphasizing the higher hepatoprotective effect and appearance of antimicrobial activity against *Escherichia coli*. Thus we see the importance of molecular modifications in the search for increased action and new activities, naturally occurring substances. Thus, this study aims to modify the isolated bergenin of *Endopleura uchi* peel and evaluate the antimicrobial activity of this new compound. The bergenin will be isolated from the methanol extract of *E. uchi* shells partitioned into solvents of different polarities and identified by ¹H and ¹³C NMR spectra and compared with literature data. From the bergenin will occur chemical reaction to obtain derivatives that are identified by ¹H and ¹³C NMR spectra. With the obtained substance will be held antibacterial tests. For antimicrobial testing was used two bacterial strains isolated from *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* ATCC cheese 13706, which was made antibiogram and Gram stain. With activation of the bacteria to antimicrobial testing disk diffusion method on solid medium. With development of the methodology in the analysis macro and microscopic plant was detected identification structures *E. uchi* such as starch, polyhedral crystals and crystalliferous idioblasts. The extractive processes to yield showed 1.89% ethanol, 3.84% of the methanol and ethyl acetate 5.00% lower than reported in the scientific literature. By microbiological methods with *E. coli* strains ATCC 13706 antibiogram showed inhibition halos against all antibiotic disks however were resistant to ampicillin and high sensitivity and intermediate for others. The test with use of bergenin and butylated bergenin (BBN) showed no antimicrobial effect against the strain of *E. coli*. With this study can contribute to the use of the plant *E. uchi* and isolated compounds of this plant and mainly shows that bergenin and BBN has no antimicrobial effect.



Keywords: Bergenin; stem bark; Phytotherapy; /isolation & purification ; Magnetic Resonance Spectroscopy.

1 INTRODUÇÃO

A fitoterapia é um método de tratamento de enfermidades por meio de plantas, que emprega vegetais frescos, drogas ou os extratos vegetais (OLIVEIRA; AKISUE, 2009). A Organização Mundial da Saúde (OMS) incentiva a fitoterapia, devido 65-80% da população dos países subdesenvolvidos não terem acesso à medicina moderna (CALIXTO, 2000; OLIVEIRA; AKISUE, 2009).

O Brasil conta com a maior biodiversidade do planeta com cerca de 130 mil espécies diferentes de plantas, e muitas delas usadas com fins medicinais (SEBASTIÃO, 2010; SALOMÃO, 2014), diante disso é um campo ideal no desenvolvimento de pesquisas relacionadas à comprovação de usos populares de plantas (FOGLIO et al. 2006).

Na região Amazônica a pesquisa de plantas medicinais da região tem grande importância. O Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) evidencia que cerca de 300 espécies de plantas nativas da região ou nela introduzidas têm potencial para as áreas medicinal, fitoterápica, aromática e de cosméticos (ARAÚJO, 2008). Ressalta-se que essas plantas com emprego medicinal contêm substâncias de interesse que podem ser diretamente utilizadas para fins terapêuticos ou servir como precursores de substâncias para este fim (OLIVEIRA; AKISUE, 2009).

Endopleura uchi (Huber) Cuatrec. (Humiriaceae) é uma planta da região amazônica, conhecida também como uchi, uxi amarelo e uxi-liso (NAHUZ, 2013) de amplo uso: a madeira na construção civil e naval (NAHUZ, 2013), seus frutos nutritivos e usados para produzir refresco (SHANLEY; MEDINA, 2005), sementes usadas como amuletos e casca do caule que tem uso medicinal. Essa finalidade medicinal da casca do caule é popularmente utilizada na forma de chá para o tratamento contra miomas (POLITI et al., 2010), inflamações uterinas e outras desordens femininas (SILVA et al., 2009).



Há vários estudos que visam validar o uso desta planta e a maioria utiliza a casca do caule como objeto de pesquisa. Entre as pesquisas com uso casca do caule *E. uchi* podem ser citadas: farmacognósticos com análises físico-químicas, microscópicas de histologia vegetal e cromatografia (POLITI, 2009); toxicidade aguda e crônica dos extratos vegetais em camundongos. (POLITI et al., 2010; SÁ et al., 2015); fitoquímicos como detecção de metabólitos secundários (POLITI, 2009) e isolamento de substâncias ativas.

Os extratos vegetais já avaliados do *Endopleura uchi* foram extrato aquoso, hidroalcoólico e metanólico e frações de alguns desses extratos como acetato de etila e outros. Destaca-se a presença da bergenina nesses extratos, que é a substância química isolada desses extratos considerada o principal marcador do uchi amarelo e constituinte ativo da planta. (LIMA et al., 2010; MAGALHÃES et al., 2007). No extrato aquoso foi detectado 3,18% de bergenina (OLIVEIRA; NUNOMURA; NUNOMURA, 2009). A bergenina isolada apresenta várias atividades biológicas tais como anti-inflamatória (NUNOMURA et al., 2009), neuroprotetora, antinoceptiva (SÁ et al., 2015), antimicrobiano (SILVA et al., 2009) e hepatoprotetora (MAGALHÃES et al., 2007).

A atividade antimicrobiana da bergenina foi de leveduras do gênero *Candida* (SILVA et al., 2009). Ainda em relação atividade antimicrobiana também foi relatada por Politi (2009) com extrato hidroalcoólico atividade contra *Staphylococcus aureus* pelo método de difusão com discos. As modificações na estrutura química da bergenina, com a acetilação tem aumentado as atividades biológicas pelo aumento da lipofilicidade, maior efeito hepatoprotetor *in vivo* (BORGES, 2010); e atividade antimicrobiana contra *Escherichia coli* não observada com a bergenina (CASTRO, 2013).

Dessa forma o presente trabalho teve como objetivo realizar o isolamento e modificação da bergenina da casca do caule de *E. uchi* e avaliar a atividade antimicrobiana para verificar a importância da modificação molecular na busca por novas atividades e possível aumento dos efeitos terapêuticos, principalmente, de substâncias de origem natural da região Amazônica, além da contribuição para futuras pesquisas sobre as plantas medicinais nativas.



2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Fitoterapia

A fitoterapia é um método de tratamento de enfermidades que emprega vegetais frescos, drogas vegetais ou, ainda extratos vegetais, ou seja, o tratamento por meio de plantas. Destaca-se que os termos drogas vegetais se referem a planta ou suas partes que sofreram processo de coleta, preparo e conservação (secagem ou estabilização) e extratos são preparações concentradas obtida do vegetal fresco ou droga vegetal por dissolvente apropriado (OLIVEIRA; AKISUE, 2009).

No Brasil, um marco importante no conhecimento e emprego das plantas medicinais brasileiras para a correta recuperação e manutenção da saúde foi o Programa de Pesquisas de Plantas Medicinais (PPPM). PPPM era desenvolvimento por pesquisadores apoiados pelo Ministério da Saúde, por meio do setor de pesquisas da antiga CEME (Central de Medicamentos) (BRASIL, 2006).

Outro acontecimento importante do uso de plantas medicinais é emprego da fitoterapia no Sistema Único de Saúde (SUS). Tal fato estimula a fitoterapia ter base uma científica, escolha de plantas de fácil acesso em cada região do país e de uso empírico como única opção para o tratamento de suas doenças (BRASIL, 2006). Assim, o estudo de plantas medicinais passou a ser incentivado (OLIVEIRA; AKISUE, 2009).

Na Amazônia há grande potencial de plantas, pois cerca de 300 espécies nativas da região ou nela introduzidas têm potencial para as áreas medicinal, fitoterápica, aromática e de cosméticos (ARAÚJO, 2008). Entre os órgãos de pesquisas desta região destaca-se, o Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA).

O INPA é órgão criado para realizar o estudo científico da região amazônica, com a missão de gerar e disseminar conhecimentos e tecnologia, e capacitar recursos humanos para o desenvolvimento da Amazônia. Um dos focos é na flora entre as várias plantas nativas se destaca como alvo de pesquisas o *Endopleura uchi* (INPA, 2015).



2.2 *Endopleura uchi*

2.2.1 Botânica

Humiriaceae é uma família de plantas angiospérmicas (plantas com flor) que pertence à ordem Malpighiales. A família Humiriaceae é constituída pelos gêneros: *Duckesia*, *Endopleura*, *Hylocarpa*, *Humiria*, *Humirastrum*, *Sacoglottis*, *Shistostemon* e *Vantanea*. Esses gêneros possuem cerca de 50 espécies (LUNA et al. 2015). Em geral são plantas lenhosas com folhas simples, alternas, coriáceas (NETO e LIMA, 2003); flores hermafroditas e frutos como drupas (BORGES, 2010).

Classificação botânica da *Endopleura uchi* (BORGES, 2010):

- Reino: Plantae
- Divisão: Magnoliophyta
- Classe: Magnoliopsida
- Sub-classe: Magnoliidae
- Ordem: Malpighiales
- Família: Humiriaceae
- Gênero: *Endopleura*
- Espécie: *Endopleura uchi*

Endopleura uchi (Huber) Cuatrec. (Humiriaceae) ou popularmente chamado, uchi, uxi amarelo (SILVA et al., 2009), axuá, cumatê, paruru e uxi-liso (NAHUZ, 2013). É uma espécie originário da Amazônia brasileira, tipicamente silvestre da mata alta de terra firme, dispersa por toda a Bacia Amazônica (SHANLEY; MEDINA, 2005; POLITI, 2009).

As árvores de *E. uchi* são frutíferas, de casca cinza, eretas com cerca de 25 a 30 metros de altura, 1 metro de diâmetro, ou 3 metros de rodo (POLITI, 2009). Apresenta folhas denteadas e drupas comestíveis, com sementes oleaginosas e flores pequenas, brancas esverdeadas. Em geral a frutificação ocorre em junho a dezembro, mas em Manaus e Belém, ocasionalmente frutifica entre julho e agosto (BORGES, 2010).



O fruto é nutritivo, rico em vitaminas, minerais e óleos. Apresenta uma dupla camada oblongo-elipsóide de em média 6 cm de comprimento, 4 cm de diâmetro, com peso entre 50 e 70 g e apresenta coloração verde-amarelada ou parda-escuro quando maduro (POLITI, 2009).

A casca do caule de *E. uchi* foram avaliadas por Politi (2009) que evidencia as características microscópicas importantes para autenticidade do uchi amarelo são:

In natura () - distribuição periclinal das células do esclerênquima em relação ao parênquima radial. Abundância de idioblastos cristalíferos no tecido parenquimático, e reservas de compostos fenólicos.

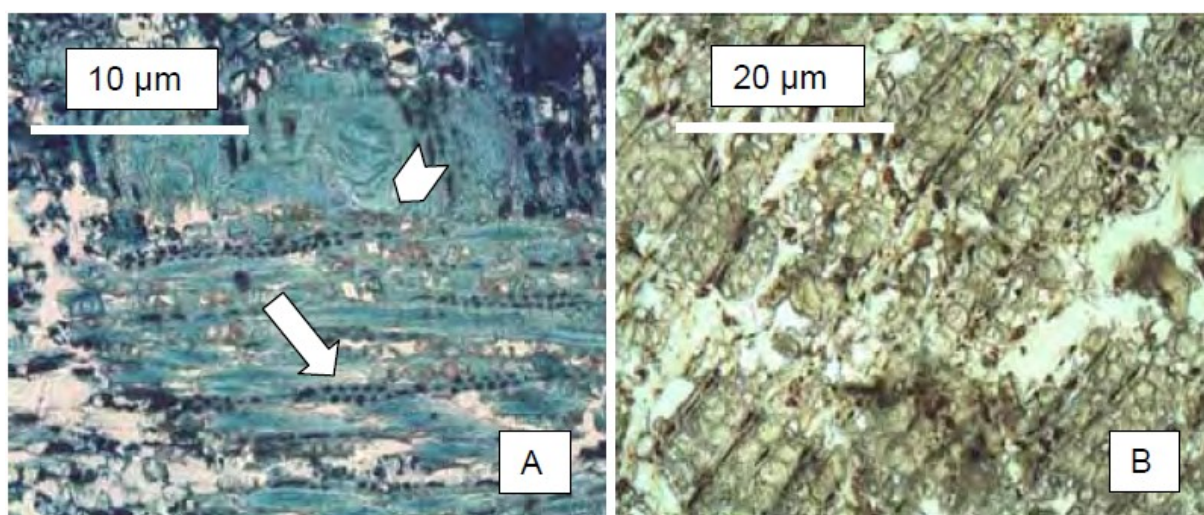


Figura 1: Cortes histológicos das cascas *in natura* de *Endopleura uchi*.

A) Secção longitudinal radial, com reagente azul de toluidina. Nota: A seta indica células parenquimáticas preenchidas por material fenólico, corado mais intensamente. A ponta de seta indica idioblastos cristalíferos dispostos ao longo do esclerênquima. B) Secção longitudinal radial, submetida ao reagente cloreto férrico 10%, evidenciando a presença de material fenólico no tecido parenquimático.

Fonte: (POLITI, 2009).

No pó da casca () - presença de fragmentos de fibras lignificadas envolvidas por bainha cristalífera, de cristais prismáticos, de fragmentos de fibras gelatinosas, poucas células pétreas e grãos de amido pequenos, esféricos e isolados (POLITI, 2009).

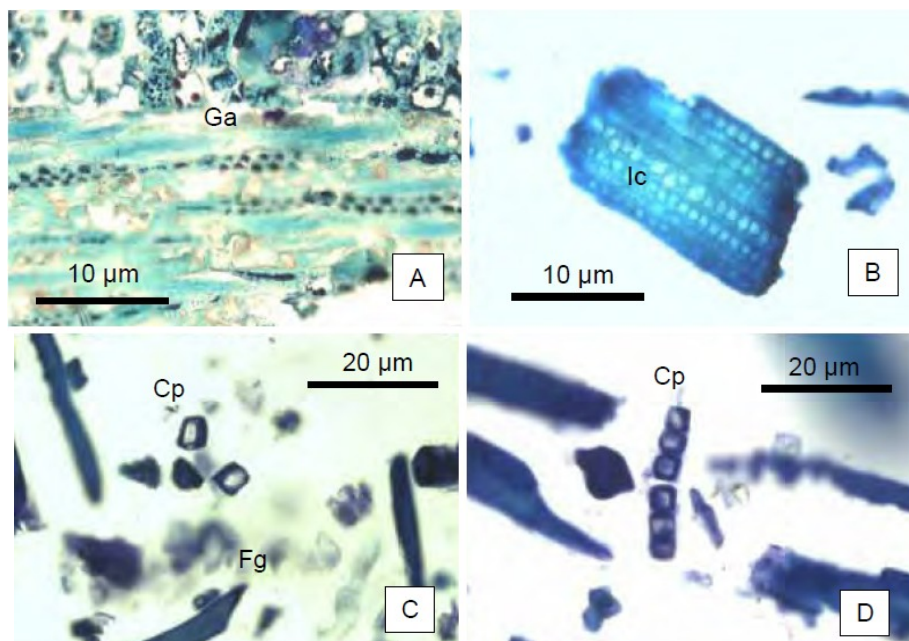


Figura 2: Microscopia do pó da casca de *Endopleura uchi* submetida ao reagente azul de toluidina.

Ga – grão de amido; Ic – idioblastos cristalíferos; Cp – cristal poliédrico; Fg – fibra gelatinosa.

Fonte: (POLITI, 2009).

2.2.2 Etnobotânica e Etnofarmacologia

E. uchi tem múltipla utilização sendo usado sua madeira, frutos, sementes e caule. A madeira é usada para produção de energia (FONSECA; LISBOA; URBINATI, 2005), na construção civil e naval, marcenaria e carpintaria (MAGALHÃES et al., 2007; NAHUZ, 2013).

O fruto é nutritivo, rico em vitaminas, minerais e óleos. É considerado um alimento de grande importância para subsistência de muitas comunidades rurais, em Belém durante os quatro meses de frutificação estima-se que gera 1.000.000 (um milhão) de dólares durante a safra (SHANLEY; GAIA, [20--]). Os seus frutos podem ser comidos cru, ou a polpa *in natura* consumida na forma de refresco, sorvete, picolé ou licor (SHANLEY; MEDINA, 2005). O fruto é ainda apreciado por vários animais silvestres (POLITI, 2009).

A semente ou caroço do fruto é usado para fins ornamentais como confecção de amuletos (SHANLEY; MEDINA, 2005). Há óleo vegetal do uxi é extraído da polpa dos frutos



e amêndoas. O rendimento, em óleo, é de 47,1% para a extração da polpa dos frutos e de 28,1% para a extração das amêndoas (ARAÚJO et al., 2007). O óleo é de boa qualidade, utilizado na comida e como remédio, além disso, é rico em fitoesteróis (1,4 g/100 gramas de óleo) (BORGES, 2010).

A casca do caule serve como remédio, sendo usada na medicina popular para tratamento contra mioma, inflamações uterinas e outras desordens femininas (SILVA et al., 2009). Esse emprego popular despertou atenção dos pesquisadores, que começaram a fazer pesquisas usando principalmente com extratos vegetais das casca do caule *E. uchi*.

Os extratos vegetais já avaliados do *Endopleura uchi* foram extrato aquoso, hidroalcoólico e metanólico e frações de alguns desses extratos como acetato de etila e outros. Destaca-se a presença da bergenina nesses extratos, que é a substância química isolada desses extratos considerada o principal marcador do uchi amarelo e constituinte ativo da planta (LIMA et al., 2010; MAGALHÃES et al., 2007). No extrato aquoso foi detectado 3,18% de bergenina (OLIVEIRA; NUNOMURA; NUNOMURA, 2009). Politi et al. (2010) verificou que os extratos aquoso não apresentam toxicidade sistêmica em camundongos.

2.2.3 Extratos vegetais

Os extratos vegetais do *E. uchi* apresentam diferentes ações. O extrato aquoso decocção não revelaram sinais de toxicidade sistêmica e nem morte em camundongos, com DL acima de 2.000 mg/kg (POLITI et al., 2010). Extratos secos mostraram o alto teor de fenóis e a alta atividade antioxidante (TACON, 2012). Ação no crescimento de gêneros de *Candida*, inibindo o crescimento das leveduras (TACON, 2012). Extrato aquoso e acetato de etila contra *C. albicans*, *C. guilliermondii* e *C. tropicalis* (GIORDANI; SANTIN; CLEFF, 2015).

No trabalho de Politi (2009) a atividade do extrato aquoso por infuso 10 % (m/v) um pequeno halo de inibição frente à linhagem de *Candida albicans* e extrato hidroalcoólico 10% (m/v) por percolação apresentou baixa atividade contra *Staphylococcus aureus*.



2.2.4 Fitoquímica

Estudos fitoquímicos das cascas do *E. uchi* são evidenciados três tipos de metabolitos secundários: taninos, cumarinas e saponinas (POLITI, 2009). Os taninos são polifenóis encontrados em plantas. Substâncias solúveis em água e possuem a propriedade de precipitar proteínas e alcalóides. Sua capacidade de precipitar proteínas, particularmente salivares da cavidade oral, caracteriza o sabor adstringente dos taninos (POLITI, 2009).

Saponinas são glicosídeos de esteróides ou de terpenos policíclicos. A estrutura possui característica de reduzir a tensão superficial da água e suas ações detergentes e emulsificantes. Tem sido de interesse farmacêutico, como adjuvante em formulações, componentes ativos em drogas vegetais, ou ainda usada para síntese de esteróides (SIMÕES et al., 2007).

As cumarinas são a classe de metabólitos derivados do metabolismo da fenilalanina. O primeiro e mais simples representante é a cumarina per se (1,2-benzopirona), isolada em 1820, da espécie *Coumarouna odorata* (fava tonca), por Vogel (MONTAGNER, 2007). As cumarinas são metabolitos secundários presentes principalmente nos vegetais, e até em plantas e bactérias. As propriedades farmacológicas desses compostos se devem aos padrões de substituição da estrutura química, portanto muitas cumarinas são isoladas de fontes naturais (SIMÕES et al., 2007). Uma das cumarinas detectadas como no *Endopleura uchi* é a chamada bergenina.

2.2.5 Bergenina

No *uchi* amarelo destaca-se a bergenina (Figura 3) um cumarina extraída e isolados do extrato etanólico das cascas de *E. uchi*. No extrato aquoso foi detectado 3,18% de bergenina (OLIVEIRA; NUNOMURA; NUNOMURA, 2009). Substância encontrada também no extrato aquoso liofilizado (BORGES, 2010), metanolico e fração acetato de etila do metanolico tem bergenina (MAGALHÃES et al., 2007; SILVA et al., 2009).

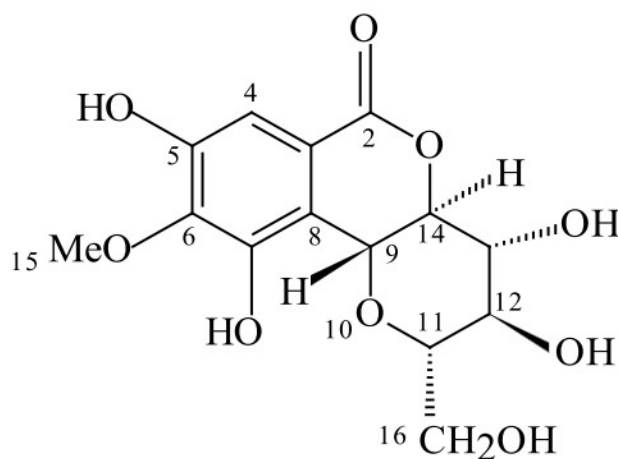


Figura 3: Bergenina.

Entre os efeitos da bergenina destaca-se a ação anti-inflamatória seletiva contra ciclo-oxigenase 2 (COX-2) (NUNOMURA et al., 2009). Ação antimicrobiano contra leveduras *Candida* spp. (SILVA et al., 2009). Segundo Sá et al. (2015) ação neuroprotetora e antinoceptiva.

A molécula química da bergenina é composta de três anéis de seis membros: um anel aromático, um anel glucopiranoose e um anel lactona (BORGES, 2010). O espectro de RMN da bergenina apresenta 1H sinais característicos da bergenina: um sinal de aromático em δ 6,98 e de metoxila em δ 3,77 (3H, s) além dos sinais típicos do C- glicosídeo. No espectro de RMN 13C (Tabela 1), o sinal de carbonila em δ 163,63, a metoxila em δ 60,05 e o grupo hidroximetileno em δ 61,33 (MAGALHÃES et al., 2007).

2.2.6 Modificação Química de Bergenina

As modificações na estrutura química da bergenina, como a acetilação tem aumentado as atividades biológicas pelo aumento da lipofilicidade por ser um grupamento orgânico de baixa polaridade. Tal modificação gerou a chamada acetilbergenina que apresenta maior efeito hepatoprotetor *in vivo* (BORGES, 2010); e atividade antimicrobiana contra *Escherichia coli* não observada com a bergenina (CASTRO, 2013).



2.3 Atividade antimicrobiana

2.3.1 Método de disco difusão em meio sólido

O método de disco difusão em meio sólido é usado para avaliação preliminar da atividade antibacteriana, mais adequado para se trabalhar com extratos vegetais coloridos e/ou com solventes orgânicos, pois é possível evaporar o solvente do disco, antes da colocação deste no meio de cultura e a cor não interfere na leitura dos resultados. Outras vantagens são a possibilidade de usar pequeno volume da substância teste e testar vários compostos por placa frente a um único micro-organismo (SARAIVA, 2012).

2.3.2 Microrganismos

Staphylococcus aureus, é uma bactéria Gram-positiva, que faz parte da microbiota normal da pele e mucosas de alguns animais. São cocos anaeróbios facultativo, mesófilo, com temperatura ótima de crescimento de 30-37 °C. É reconhecida por sua elevada capacidade de desenvolver resistência a diversos antibióticos (POLITI, 2009). O *S. aureus* está associados a síndrome da pele escaldada, estafilocócica, intoxicação alimentar e síndrome do choque tóxico (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2009)

Escherichia coli é uma bactéria Gram-negativa versátil quanto a sua patogenicidade, podendo causar infecções intestinais, urinárias, septicemias, meningites, além de outros tipos (POLITI, 2009). Apresenta uma variedade de fatores de virulência destacado-se: as adesinas e exotoxinas (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2009).

3. METODOLOGIA

3.1 Material vegetal

O material botânico da *Endopleura uchi* foram as cascas do caule secas obtidas em um Empório da cidade de Manaus - AM aproximadamente 1 Kg. Essas cascas foram previamente trituradas no liquidificador posteriormente em moinho de facas (Figura 4), pesadas em balança semi-analítica e armazenados, no caso a obtida do empório foi colocada em frasco Mariotte (Figura 5) a outra amostra em um saco de plástico, até utilização.

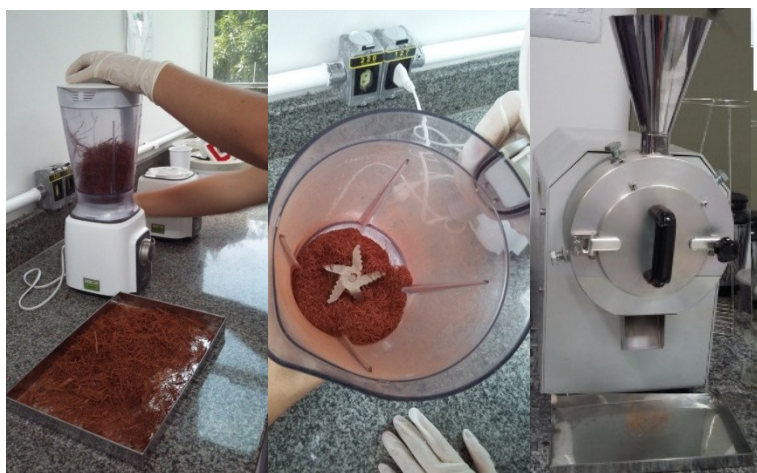


Figura 4: Trituração do material botânico.



Figura 5: Material Botânico, casca do caule de uchi amarelo (*Endopleura uchi*)

3.2 Avaliação do material botânico

A análise do material vegetal ou droga vegetal corresponde a avaliação macroscópica e microscópica do pó das cascas caule de *E. uchi*. Macroscopicamente foi analisado aspectos como cor, odor e sabor (OLIVEIRA; AKISUE e AKISUE, 1998). O exame microscópico do pó vegetal (ALICE et al., 1995) foi realizado com intuito de verificar características histológicas que favorecem a identificação da droga vegetal mencionadas pelo autor Politi (2009).



Para preparação das lâminas com pó vegetal procedeu-se usando lâminas, lamínulas e corantes (Figura 6 e Figura 7). Foi realizado exame direto usando uma pequena quantidade da amostra, finamente pulverizada, colocada sobre a lâmina e adicionado 1 a 2 gotas de água e cobrir com lamínula. Também foi realizado a clarificação e coloração do material. A clarificação foi realizada com solução hipoclorito de sódio pura e diluída à 50%. Os corantes usados foram lugol, azul de toluidina e hematoxilina de Harris. Foi tirado fotos das estruturas visualizadas em microscópio óptico nas objetivas de 10x e 40x.



Figura 6: Material para exame microscópico lâmina, lamínula e corantes.

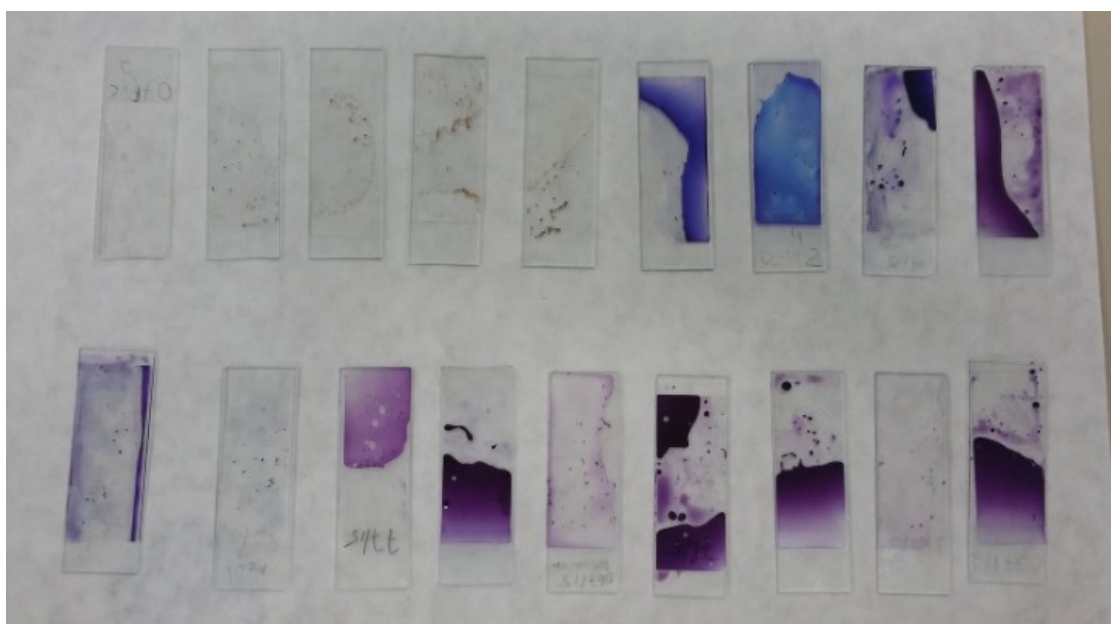


Figura 7: Lâminas do pó do caule de *E. uchi* preparadas para análise microscópica.



3.3 Obtenção de extratos

Para a obtenção dos extratos vegetais foi realizado extração em aparelho de Soxhlet com uso de líquidos extratores em contato com material botânico pulverizado. O aparelho de Soxhlet é composto por condensador, balão de fundo redondo, vidraria de Soxhlet e manta aquecedora (Figura 8). Inicialmente coloca-se material pulverizado em cartuchos de papel filtro previamente confeccionados, os quais foram colocados no interior do Soxhlet, posteriormente se adicionou líquido extrator, deixando-o em extração por 6 horas por 3 vezes, renovando o solvente a cada 6 horas. O líquido extrator usado foi etanol, metanol e acetato de etila (MATOS, 1980).

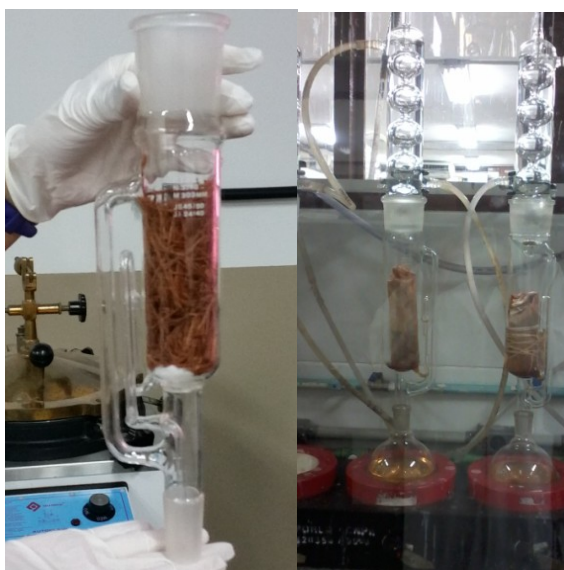


Figura 8: Obtenção de extratos no aparelho de Soxhlet

A solução resultante foi concentrada, pela evaporação do solvente, em rotaevaporador a 50°C em 30 a 50 RPM. O equipamento rotaevaporador é composto por uma manta aquecedora (Fisatom mod. 550), bomba de vácuo, dois balões de vidro de fundo redondo. Com obtenção dos extratos foi realizado cálculo de rendimento em porcentagem conforme a fórmula a seguir:



$$\text{Teor Extrativo (\%)} = \frac{\text{extrato seco (g)}}{\text{material vegetal (g)}} \cdot 100$$

Para os extratos etanólico e metanólico das cascas de *E. uchi* foi necessário realizar partição em solventes de diferentes polaridades. A fração em acetato de etila foi submetida a várias técnicas de separação cromatográfica que resultaram no isolamento da bergenina, identificada por espectros de RMN (Ressonância Magnética Nuclear) ^1H , ^{13}C e LC-MS (Liquid Chromatography–Mass Spectrometry, Cromatografia líquida com espectrômetro de massa) comparadas com dados da literatura (MAGALHÃES; et al. 2007; SILVA, 2009).

Os espectros de RMN ^1H e ^{13}C , DEPT 135, foram obtidos na Central Analítica do Laboratório Temático de produtos Naturais (CA-LTPQ) do INPA. Os solventes utilizados foram clorofórmio (CDCl_3) e metanol (CD_3OD) deuterados. Os deslocamentos químicos foram registrados em PPM (δ).

Para LC-MS foram utilizados os equipamentos do Sistema LC-MS/MS Cromatógrafo Líquido Alliance Separations Module 2695 (Waters, Milford, MA, USA) equipado com:

- Amostrador automático, bomba quaternária, forno para coluna e sistema de degaseificação;
- Detector MS, Micromass ® Quatro Micro™ API (Waters, Inglaterra) com fonte API, utilizando o modo de ionização por Electrospray, atuando no modo MRM;
- Sistema de aquisição de dados através do software MassLynx 4.1 (Waters, Inglaterra);
- Sistema gerador de nitrogênio Peak Scientifics (Instruments Ltda., Escócia);
- Coluna XTerra ® MS C18, 50x3,0 mm de d.i. e 3,5 μm de tamanho de partícula (Waters, Irlanda).
- Sistema de purificação de água Direct-Q UV3 ®, resistividade 18,2 $\text{M}\Omega$ cm Millipore (Bedford, MA, USA);
- Bomba à vácuo Tecnal TE-058 (Piracicaba, SP);
- Manifold para SPE Phenomenex (Torrance, CA, USA) para a pré-concentração simultânea de até 12 amostras;



- pHmetro modelo pH21 Hanna – eletrodo de vidro combinado com BNC (São Paulo, Brasil);
- Ultra-som Quimis® modelo Q335D (Diadema, SP, Brasil).

3.3.1 Partição líquido-líquido

O processo de partição líquido-líquido (MATOS, 1980) foi utilizado o material: Erlemeyer de 500 mL, Funil de separação 250 mL, Suporte, Proveta de 100 mL, 300 mL Hexano (PE= 68 °C, d= 0,654 g/cm³), 300 mL Clorofórmio (PE= 61° C, d= 1,489 g/cm³), Metanol (PE=65°C, d= 0,786 g/cm³), Água destilada, Acetato de etila (PE= 77 °C, d=0,894 g/cm³), Lavadora Ultrasom. O processo de partição do extrato metanólico de *E. uchi* foi iniciado redissolvendo-o em metanol e água (9:1) ou seja 90 mL de metanol e 10 mL de água com auxílio do equipamento Lavadora ultrasom para solubilizar. Depois, transferi-se o solubilizado para o funil de separação e inicia a partição com solventes em polaridade crescente Hexano, Clorofórmio e por último Acetato de Etila. Para partição foram realizadas três lavagens com 100 mL de cada solvente posteriormente a fases foram colhidas em erlemeyer gerando as frações Hexânica de uchi (FHU), cloroformica (FCIU), acetato de etila (FACeU) e o restante foi denominado fração hidrometanólica de uchi (FHMU).

3.3.2 Técnicas de Cromatografia

As técnicas de separação físico-química de coluna cromatográfica (MATOS, 1980) e cromatografia de camada delgada (CHAVES, 1997) foram necessárias da fração acetato de etila. O procedimento da coluna foi previamente solubilizado a fração acetato de etila em metanol, misturada gradativamente com sílica gel com uso de um gral e pistilo, até evaporação do solvente (Figura 9).



Figura 9: Material da fração Acetato de etila com Sílica gel para coluna cromatográfica.

A coluna foi preparada com sílica. Empacotada com auxílio do solvente (mistura de clorofórmio e metanol 70:30) cerca de 700 mL. A coluna de vidro de 39x2,5 (hxd) e a altura do até 22 cm. O método de fazer a coluna foi colocar um algodão preencher com Sílica gel 60 (Figura 9) (70-230 mesh). Colocar solvente suficiente para empacotar a colunar. Adicionar a amostra (FACeTU) previamente misturada com a sílica gel. Adicionar um algodão sobre a amostra e começar eluir o solvente sem deixar secar a colunar e coletar 12 frações de 50 ml cada (Figura 10). Por fim foi lavada a coluna com metanol e coletado em frasco a chamada “purgar”. As 12 frações coletadas foram colocadas em capela para evaporação do solvente.



Figura 10: As frações coletadas por meio da coluna do Fração Acetato de Etila uchi.



A técnica de CCD (Figura 11) foi feita usando solução eluente foi usando 80 mL de clorofórmio e 20 mL de metanol. As placas das frações foram reveladas em anisaldeído (Figura 12).

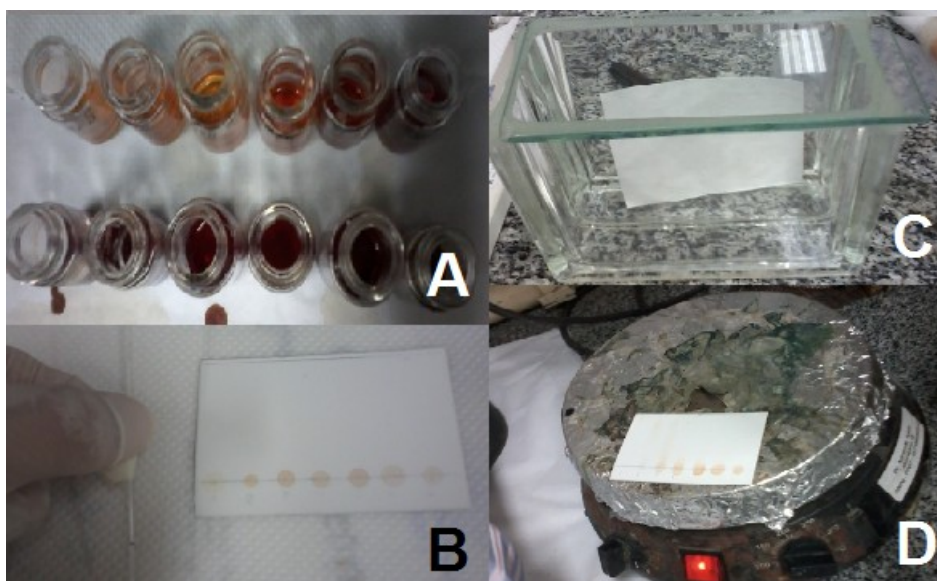


Figura 4: Técnica da Cromatografia de Camada Delgada (CCD).

Nota: A= Subfrações, B= placa de CCD, C= Camara de vidro, D= revelação da placa.



Figura 12: Área de Revelação de Placas cromatográficas



3.4 Semi-sínteses com a bergenina

Foi preparado derivados químicos, utilizando a bergenina isolada do *E. uchi* (Figura13) com uso de algumas reações adaptadas de trabalhos conhecidos na literatura e pelo grupo de pesquisa. Para a butilação foi realizada com uso 20 mg foi adicionado 1,3 mL de anidrido butílico na presença de piridina 1,0 mL e a reações permaneceu por 24 horas, após foi realizado o tratamento pós-reacional com lavagem com HCl 0,1 molar, seguido de lavagem com NaHCO₃ saturado, e água destilada obtendo o produto puro, o rendimento da reação foi obtida com o peso do semissintético em mol pelo peso da bergenina e também em mol multiplicado por 100. O derivado obtido foi identificado como BBN caracterizado por técnicas espectroscópicas (RMN ¹³C e ¹H), IV e CL-EM (MAGALHÃES; et al. 2007; SILVA, 2009).



Figura13. Cristais de Bergenina isolada da planta *E. uchi*.

3.5 Atividade antimicrobiana

Toda a manipulação das bactérias e meios de cultivo para evitar contaminação e manter a esterilidade foi realizada dentro da bancada de fluxo laminar vertical (modelo PA 320 Pachane[®]). A bancada apresenta filtro HEPA classe A3, 100 % de recirculação de ar, luz



UV e provida também do Bico de Bunsen. Foi realizado coloração de Gram das cepas utilizadas.

A coloração de Gram (TORTORA, FUNKE e CASE, 2012) foi feita coletando algumas colônias bacterianas e colocadas em lâminas de vidro e fixadas com chama de bico de bunsen. Posteriormente se fez coloração com cristal violeta por 1 min. e limpar excesso com água corrente; seguinte foi usado lugol por 1 min. retirado excesso com água; procede-se a descoloração com álcool-acetona e por fim colocar corante fucsina por 30 s e retira excesso com água. No fim os esfregaços bacterianos foram secos e visualizados em microscópio óptico.

3.5.1 Antibiograma das cepas bacterianas

Foi realizado estudo da sensibilidade das cepas utilizadas no presente estudo de *Escherichia coli* ATCC 13706 e *Staphylococcus aureus* isolado de queijo cedidas gentilmente pela Setor de Nutrição e Alimentos do INPA. Os discos de antibiótico utilizados estão no foram vários conforme Tabela 1 (Figura 14). O método foi de suspensão direta das colônias (NCCLS/CLSI, 2003).

Tabela 1: Discos de antibióticos utilizados no antibiogramas das cepas bactérias.

Antibacteriano	Código	Potência
Ácido Nalidixico	NAL	30
Ampicilina	AMP	10
Cefepime	CPM	30
Ciprofloxacina	CIP	05
Cloranfenicol	CLO	30
Gentamicina	GEN	10
Levofloxacina	LVX	05
Norfloxacina	NOR	10
Sulfazotrim Sulfametoxazol/Trimetoprim	SUT	25
Tetraciclina	TET	30

Fonte: www.dme.ind.br/?portfolio=polisensidisc-15-serie-urinaria-2; LABORCLIN, 2011.

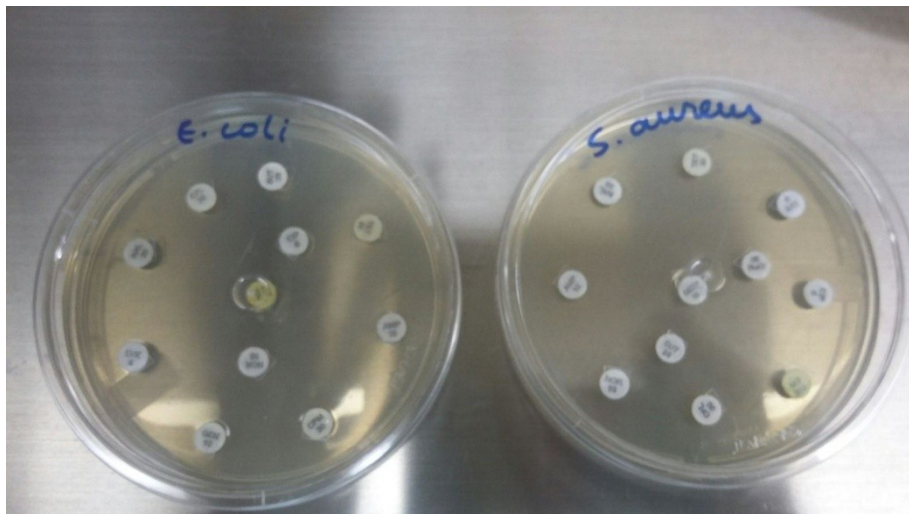


Figura 14: Antibiógrama feito com as cepas de *E. coli* e *S. aureus*.

3.5.2 Preparo das amostras de teste

Foram usadas as soluções teste: 5 mg/ml da bergenina, 5 mg/m de BBN, DMSO a 10%. Para o teste foi usando ainda discos de papel filtro e discos do antibiótico cloranfenicol. Os discos de papel filtro, foram previamente preparados com 6 mm de diâmetro, recortados com perfurador de papel e esterilizados em autoclave (MORAIS; LIMA; VILELA, 2012). Esses discos estéreis foram impregnados com 10 µL das soluções testes.

3.5.3 Preparo da suspensão de bactéria

A padronização da suspensão de bactéria foi feita pelo método de suspensão direta das colônias (NCCLS/CLSI, 2003). As espécies bacterianas utilizadas foram de *Escherichia coli* ATCC 13706 e *Staphylococcus aureus* isolado de queijo. A cepa bacteriana foi semeada em uma placa de ágar Muller Hinton e realizar a incubação a 35 °C. Após 18-24 horas do crescimento nas placas, foram selecionadas 5 colônias, bem isoladas, do mesmo tipo morfológico da placa de ágar. Toca-se a superfície de cada colônia com uma alça estéril descartável, e transferir para um tubo contendo 5mL de salina (NaCl 0,9%).



Foi realizada leitura da turbidez empregando-se um espectrômetro filtro de 600 nm e 625 nm (Figura 15). O espectrofotômetro utilizado foi Wavelength Biospectro® modelo SP-22. A leitura de 625 nm foi empregada para detectar absorvância da de uma solução padrão de McFarland 0,5 ($1 \text{ a } 2 \times 10^8 \text{ UFC/mL}$) que corresponde ao valor de 0,08 a 0,13 (BRASIL, 2005). Segundo Tortora, Funke e Case (2012) valores de absorvância em 600 nm ou também chamada de Densidade Ótica (DO) é maneira útil de determinação do número de bactérias.



Figura 15: Espectrofotômetro utilizado para verifica absorvância dos inoculos bacterianos.

3.5.4 Método de disco difusão em meio sólido

O método de disco difusão em meio sólido (Figura 16) consisti em aplicar com *swab* estéril com um inoculo bacteriano preparado anteriormente que distribuído uniformemente sobre toda a superfície do ágar Muller Hinton em uma placa de Petri. Após, um período de até 5 minutos foram colocados os discos sobre a placa semeada com auxílio de uma pinça. As placas foram incubadas por 18 a 24 horas em estufa bacteriológica com temperatura de 36°C.

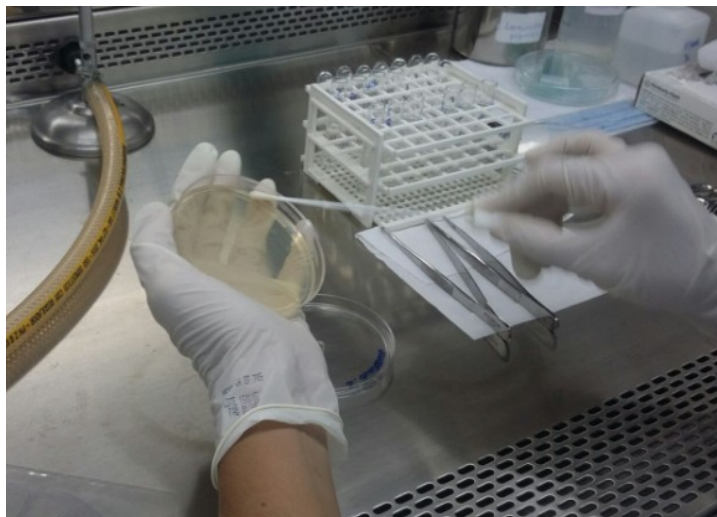


Figura16. Distribuição do inóculo na placa no método de disco difusão em meio sólido

Após a incubação, os diâmetros dos halos de inibição do crescimento bacteriano ao redor de cada disco foram mensurados em milímetros, que são relacionados à sensibilidade da amostra bacteriana. Os halos devem ser interpretados nas categorias sensível, intermediário ou resistente, considerado como resultado final do extrato a média de 3 medidas e como suscetível halo igual ou acima de 8 mm de diâmetro considerando também o diâmetro do disco (SARAIVA, 2012).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Aspectos macroscópicos das cascas do caule de *E. uchi* apresentam cor marrom, inodoro e sabor levemente adstringente. Na análise microscópica foi detectado estruturas de identificação da planta (Figura 17 e Figura 18) como cristais poliédricos isolados e em cadeia, idioblastos cristalíferos e grãos de amido estruturas também mencionadas em Politi (2009). A identificação de plantas medicinais é indispensável na prática da fitoterapia principalmente para evitar adulterações e falsificações como também uso seguro dos mesmos (MACRINI, 2011).

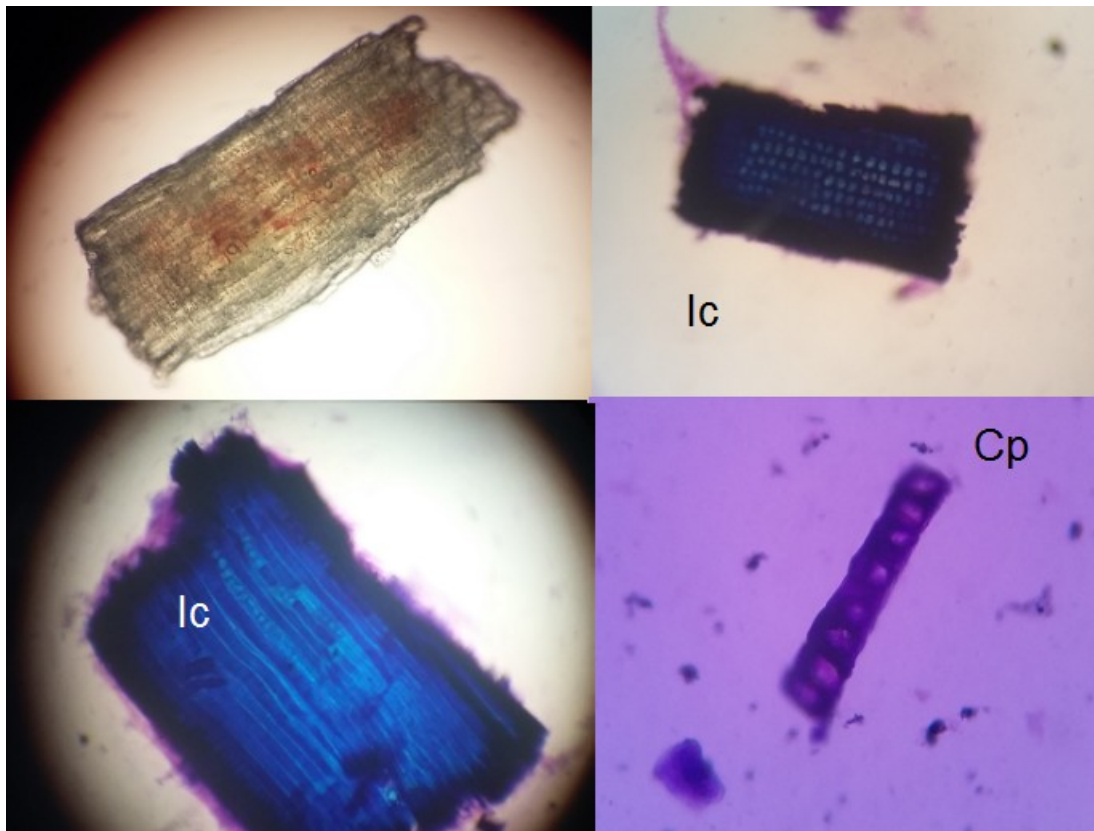


Figura 17: Microscopia do pó da casca de *E. uchi* submetida aos corantes de azul toluidina.

Nota: Cp= cristais poliédrico; Ic= idioblastos cristalíferos.

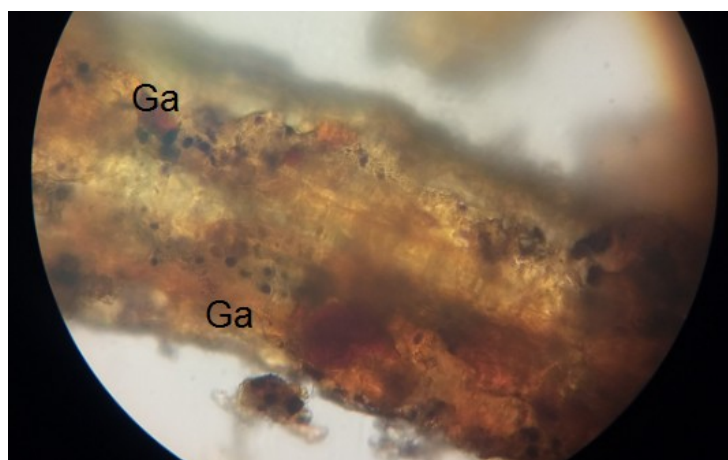


Figura 18: Microscopia do pó corado com lugol evidenciando grão de amido de cor escura.

Nota: Ga= grão de amido.



O rendimento dos extratos foi etanol de 1,89 %, o metanólico de 3,84 % e acetato de etila de 5,00%. Nos trabalhos de Muniz (2013), o rendimento dos extratos vegetais foi bem superior para metanólico foi de 13,5% a 13,7% e os extratos etanólicos de 6,0 a 8,0 %, que se deve a origem da planta como local de cultivo. Em relação aos métodos de extração da bergenina percebe-se que a quantidade de bergenina extraída do extrato etanólico e metanólico juntos apresentou teor de 0,030 % em relação a massa, porem com a extração em Soxhlet seguido de recristalização utilizando acetato de etila como solvente foi possível obter um melhor rendimento de extração com teor extrativo de 0,677 %. Ressalta-se que a extração em soxhlet com acetato de etila foi menos laboriosa e mais eficiente uma vez que a partir da rotaevaporação se obteve cristais de bergenina.

A identificação realizada com RMN ^1H e ^{13}C e LC-MS para a bergenina foram obtidos pelo espectro de massa LC-MS uma sinal em 2,7 minuto com $M+1$ igual a 329,0693 característico da formula molecular igual a $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{O}_9$ para o RMN ^1H e ^{13}C foram obtidos os seguintes resultados (300 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}-d_4$): δ 7.09 (s, 1H, H-4); 4.94 (d, 10, 1H, H-9); 3.68 (m, 1H, H-11); 3.43 (dd, 9.5; 8.5, 1H, H-12); 3.81 (dd, 9.5; 8.5, 1H, H-13); 4.07 (dd, 9.5; 10.0, 1H, H-14); 3.91 (s, 3H, OMe); 3.68 (m, 1H, H-16); 4.03 (dd, 10.7; 2.5, 1H, H-16). ^{13}C NMR (125 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}-d_4$): δ 164.6 (C-2); 151.1 (C-5); 141.1 (C-6); 148.2 (C-7); 116.1 (C-8); 118.2 (C-3); 109.9 (C-4); 73.1 (C-9); 81.9 (C-11); 70.7 (C-12); 74.4 (C-13); 80.2 (C-14); 59.8 (C-15); 61.5 (C-16).

Com método de partição líquido-líquido dos extratos etanólico e metanólico obteve-se que a FHU de 1,41 g; FCIU 4,52 g; FAcEtU 1,05 e FHMU 16,12 g. Em relação à coluna cromatográfica as subfrações da FAcEtU de maior foi n°2 (0,5307 g) e menor foi a n°12 (0,0038 g) (Quadro 1).

Quadro 1: Valores em gramas das subfrações da fração acetato de etila de <i>E. uchi</i> .	
1= 0,0718	7= 0,0202
2= 0,5307	8= 0,0154
3= 0,1228	9= 0,0111
4= 0,0772	10= 0,0066
5= 0,0452	11= 0,0060



Para o derivado semi- sintético da bergenina (BBN) (Figura 19) foram obtidos pelo espectro de massa LC-MS uma sinal em 3,7 minuto com M+1 igual a 84,0133 característico da fórmula molecular igual a $C_{34}H_{46}O_{14}$ para o RMN 1H e ^{13}C foram obtidos os seguintes resultados (300 MHz, CD_3OD-d_4): δ 7.09 (s, 1H, H-4); 4.94 (d, 10, 1H, H-9); 3.68 (m, 1H, H-11); 3.43 (dd, 9.5; 8.5, 1H, H-12); 3.81 (dd, 9.5; 8.5, 1H, H-13); 4.07 (dd, 9.5; 10.0, 1H, H-14); 3.91 (s, 3H, OMe); 3.68 (m, 1H, H-16); 4.03 (dd, 10.7; 2.5, 1H, H-16). ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD-d_4): δ 164.6 (C-2); 151.1 (C-5); 141.1 (C-6); 148.2 (C-7); 116.1 (C-8); 118.2 (C-3); 109.9 (C-4); 73.1 (C-9); 81.9 (C-11); 70.7 (C-12); 74.4 (C-13); 80.2 (C-14); 59.8 (C-15); 61.5 (C-16) para parte natural da bergenina e para a parte sintética 1,11 (t, 7,5, 6,5 H $^{3''}$), 1,55 (m, H $^{2''}$), 2,55 (t, 7,5 6,0, H $^{1'}$) para ^{13}C 178, 168, 188, 190 ,177, são referentes a cinco carbonilas (C=O) e em 13 atribuído a metila (CH $_3$), 22,6 e 29,7 a metilenos (CH $_2$) com base nos resultados de LC-MS e RMN 1H e ^{13}C podemos identificar a BBN com a seguinte formula estrutural.

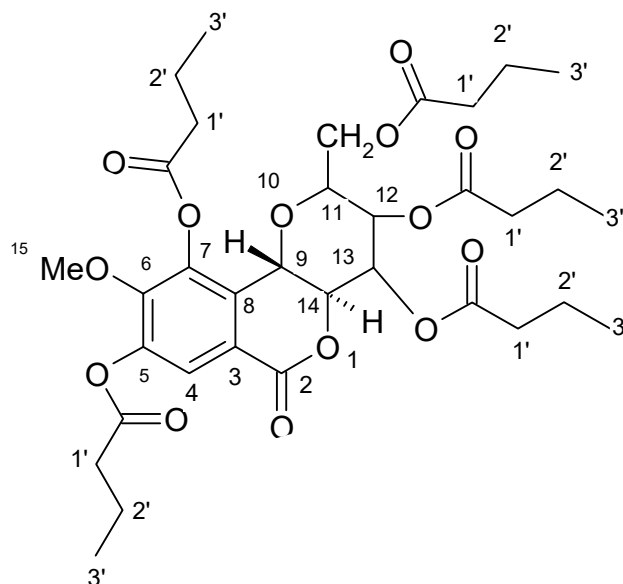


Figura 19: Semissintético obtido da bergenina (BBN)



Para testes antimicrobianos foi realizada duas vezes a técnica proposta, identificada como “Teste A” ou primeira tentativa ocorreu imprevisto da estufa bacteriológica deixa de funcionar devido a uma falha na rede elétrica. Na segunda tentativa houve ativação das duas espécies de bactérias, entretanto com execução do teste apenas houve crescimento da cepa de *E. coli* ATCC 13706.

O antibiograma da *E. coli* apresentou halo de inibição contra todos os antibióticos testados (Erro: Origem da referência não encontrada) (Figura 20). Segundo Fendi (2013) e Laborclin (2011) a interpretação dos halos de inibição se observa que a espécie utilizada apresenta sensibilidade a cefepime, cloranfenicol, gentamicina, levofloxacina e tetraciclina, entretanto resistência a ampicilina. O termo sensibilidade refere-se ao fato de numa infecção por essa bactéria o agente antimicrobiano seria eficaz, logo, recomendada para esse tipo de infecção causada por esse patógeno (NCCLS/CLSI, 2003). Enquanto, “resistência” ocorre quando o patógeno não é inibido pelas concentrações sistêmicas dos antibióticos, além de a eficácia clínica não ter sido confiável nos estudos terapêuticos (NCCLS/CLSI, 2003).

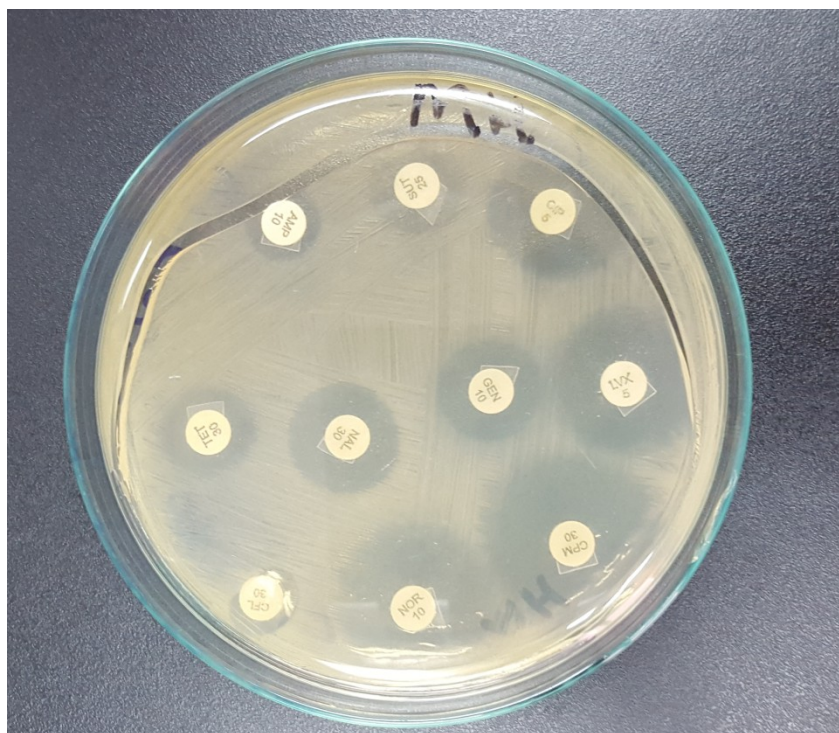


Figura 20: Placa do antibiograma realizado com cepa de *E. coli* ATCC 13706.



Tabela 2: Valores de halo de inibição do Antibiógrama da *Escherichia coli* ATCC 13706.

Antibacteriano	Código	Potencia	Halo de inibição (mm)	Valores Padrão (mm) *			Interpretação*
				R	I	S	
Ácido Nalidixico	NAL	30	15	≤13	14-18	≥19	I
Ampicilina	AMP	10	10	≤13	14-16	≥17	R
Cefepime	CPM	30	25	≤14	15-17	≥18	S
Ciprofloxacina	CIP	5	20	≤15	16-20	≥21	I
Cloranfenicol	CLO	30	30	≤12	13-17	≥18	S
Gentamicina	GEN	10	15	≤12	13-14	≥15	S
Levofloxacina	LVX	5	22	≤13	14-16	≥17	S
Norfloxacina	NOR	10	25	≤12	13-16	≥17	S
Sulfazotrim							
Sulfametoxazol/Trimetoprim	SUT	25	15	≤10	11 -15	≥16	I
Tetraciclina	TET	30	15	≤11	12-14	≥15	S

*FENDI, 2013; LABORCLIN, 2011. R= resistente; I= intermediário; S= sensível.

A resistência ampicilina pode ser explicada pela existência de fatores de virulência da bactéria com produção de penicilinas como a β -lactamases, enzimas produzidas capazes de quebra a estrutura molecular dos antibióticos da classe das penicilinas pois hidrolisa o anel β -lactâmico (Figura 21). Devido esses mecanismos específicos de resistência, recomenda-se a utilização desses antibióticos em associação com substâncias como ácido clavulânico, sulbactam, ou tazobactam que inativam esta enzima (β -lactamase) (NCCLS/CLSI, 2003).

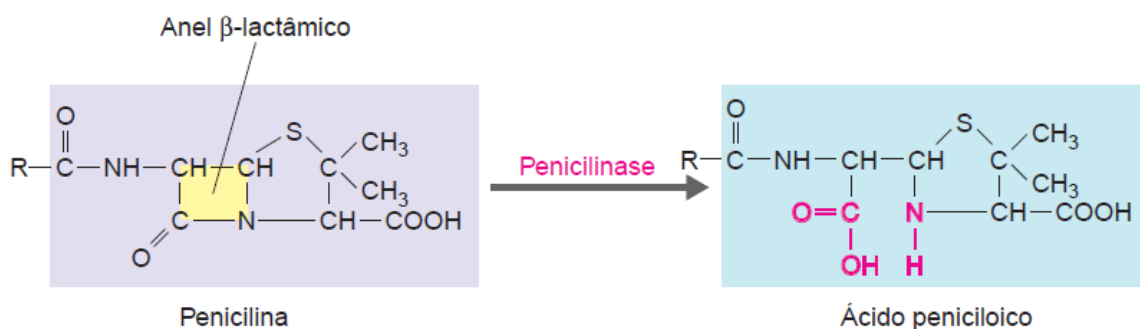


Figura 21: Mecanismo de atuação da penicilinase sobre antibióticos do grupo penicilina, com quebra do anel β -lactâmico.

Fonte: Tortora, Funke e Case (2012)



O teste antibacteriano com uso das substancias testes nota-se que a bergenia e nem o novo composto semissintetizado apresentaram qualquer ação inibitória contra a cepa de *E. coli* ATCC 13706 (Figura 22). Ressalta-se que estas substancias podem apresentar outras atividades, por exemplo, antifúngica, hepatoprotetora e etc. cabendo ser realizado novos testes com essa planta nativa. Recomenda-se ainda que sobre a ação antimicrobiana seja testado outros micro-organismos como *Bacillus subtilis*, *Candida* spp. e *Mycobacterium* spp.

Em relação o cloranfenicol utilizado como controle positivo o média e desvio padrão foi de $28,3 \pm 2,9$ do teste em triplicata sendo 30 mm, 25 mm e 30 mm os respectivos halos de inibição.

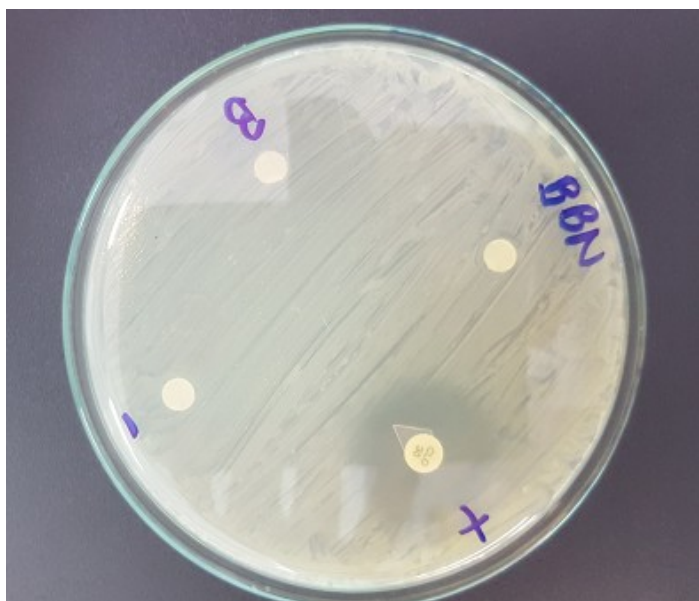


Figura 22: Placa do teste antimicrobiano contra cepa de *E. coli*.

Em relação a medidas das absorbâncias com uso do espectrofotômetro (Tabela 3), nota-se que DO da *E. coli* foi menor no tubo nº 1/teste A/635 nm (DO = 0,140) e maior Tubo nº 2/teste B/600 nm (DO= 0,562) para o *S. aureus* menor em nº 2/teste B/ 625nm (DO= 0,090) e maior nº 1/ teste B/ 600 nm (DO= 0,295). Nota-se que a suspensão de *S. aureus* apresentou menor turbidez significando menor numero de bactérias, que poderia ser um dos fatores que contribuiu com ausência de crescimento durante os testes de antibiograma e



antimicrobiano, apesar de que esses valores estejam dentro da recomendação de absorbância da solução padrão de McFarland 0,5 que vai de 0,08 a 0,13 (BRASIL, 2005). Ressalta-se que o tubo 0,5 de McFarland corresponde a cerca de $1 \text{ a } 2 \times 10^8$ UFC/mL. Recomenda-se que seja feito adaptações no preparo da suspensão no caso de utilizar caldo nutritivo para enriquecimento das bactérias previamente.

Tabela 3: Valores de absorbância (Densidade Ótica –DO) detectados em espectrofotômetro de inoculo bacterianos.

Teste	Tubo	<i>E. coli</i>		<i>S. aureus</i>	
		600 nm	625 nm	600 nm	625 nm
Teste A	1	0,151	0,140	0,224	0,200
	2	0,200	0,180	0,200	0,149
	3	0,256	0,234	0,256	0,193
	Média	0,202 ±0,053	0,185 ±0,047	0,227 ±0,028	0,181 ±0,028
Teste B	1	0,408	0,375	0,295	0,269
	2	0,562	0,526	0,091	0,090
	3	0,319	0,305	0,127	0,121
	Média	0,430 ±0,123	0,402 ±0,113	0,171 ±0,109	0,160 ±0,096

5 CONCLUSÃO

Com a execução do trabalho nota-se que a matéria-prima, as cascas do caule de *E. uchi* devem ter origem segura e de qualidade de cultivo para que apresentem maiores concentrações do princípio ativo, no caso a bergenina. Foi possível compreender que pelos processos extrativos e de isolamento há necessidade de noção das características físico-químicas do princípio ativo, e que estes métodos tem relação direta ao rendimento desses compostos.

O isolamento da bergenina e utilização desta substância como precursor de síntese de uma outra substância, inédita, com característica novas e de potencial e ações biológica ainda desconhecidas. Apesar de não ter sido detectada ação antimicrobiana contra a cepa de *E. coli* com uso da bergenina e nem do composto obtido pela modificação da bergenina (BBN) estas substancias podem ser utilizadas em outros ensaios biológicos importantes.



Se incentivar o uso de outras plantas com potencial uso na fitoterapia ou busca de outras matérias-primas para formulações de novos produtos naturais. Portanto, este trabalho de conclusão de curso foi possível com a aplicação do conhecimento teórico-prático de diversas disciplinas do curso de graduação em farmácia que possibilitou a realização desta pesquisa científica.

6 REFERÊNCIAS

ALICE, C. B. et al. **Plantas medicinais de uso popular: atlas farmacognóstico**. Canoas: Ed ULBRA, 1995. 208 p.

ARAÚJO, C. **Amazônia tem 10 mil plantas com potencial econômico**. Página do INPA, Assessoria de Comunicação do MCT. 2008. Disponível em: <https://www.inpa.gov.br/noticias/noticia_sгно2.php?codigo=1054>. Acesso em: 17/07/2014.

ARAÚJO, V. F.; et al. **Plantas da Amazônia para Produção Cosmética: Produção não-madeireira e desenvolvimento Sustentável na Amazônia**. 2007. 214 p. Disponível em: <http://www.itto.int/files/itto_project_db_input/2202/Technical/2.2%20Plantas%20da%20Amaz%C3%B4nia%20para%20produ%C3%A7%C3%A3o%20cosm%C3%A9tica.pdf>. Acesso em: 20/05/2015.

BORGES, J. C. M. **Acetilbergenina: Obtenção e Avaliação das Atividades Antinociceptivas e Anti-inflamatória**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêutica). 128f. Universidade Federal do Pará, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. **A fitoterapia no SUS e o Programa de Pesquisa de Plantas Medicinais da Central de Medicamentos**. 148 p, Brasília: Ministério da Saúde, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Centro de Referência Prof. Hélio Fraga. Manual de Bacteriologia da Tuberculose**. 3 ed. Rio de Janeiro, 2005. Disponível em: <[http://www.saude.mt.gov.br/upload/documento/81/manual-de-bacteriologia-da-tuberculose-\[81-080909-SES-MT\].pdf](http://www.saude.mt.gov.br/upload/documento/81/manual-de-bacteriologia-da-tuberculose-[81-080909-SES-MT].pdf)>, Acesso em: 13/05/2015.

CALIXTO, JB. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines. **Braz J Med Biol Res**, v.33, p. 179-189, 2000.



CASTRO, G. F. de. **Estudo Espectroscópico Experimental e Teórico da Acetilbergenina**. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia e Recursos Naturais). 68 f. Universidade do Estado do Amazonas, 2013.

CHAVES, M.H. Análise de extratos de plantas por Cromatografia em Camada Delgada: metodologia aplicada à disciplina “Química Orgânica”. **Química Nova**, v. 20, n. 5, 1997.

FENDI, A. C. **Polisensidisc**. Araçatuba, SP: DME – Diagnósticos Microbiológicos Especializados, 2013.

FOGLIO, M. A.; et al. Plantas Medicinais como Fonte de Recursos Terapêuticos: um Modelo Multidisciplinar. **Multi Ciência - construindo a história dos produtos Naturais**, v. 7, 2006. Disponível em: <http://www.multiciencia.unicamp.br/artigos_07/a_04_7.pdf>, Acesso em: 05/05/2015.

FONSECA, C. N.; LISBOA, P. L. B.; URBINATI, C. V. A Xiloteca (Coleção Walter A. Egler) do Museu Paraense Emílio Goeldi. **Bol. Mus. Para. Emílio Goeldi**, v. 1, n. 1, p. 65–140, 2005.

GIORDANI, C.; SANTIN, R.; CLEFF, M.B. Levantamento de extratos vegetais com ação anti-*Candida* no período de 2005-2013. **Rev. Bras. Pl. Med. Campinas**, v.17, n.1, p.175-185, 2015.

INPA - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. Sobre o INPA. Disponível em: <<http://portal.inpa.gov.br/index.php/institucional>>, Acesso em: 11/12/2015.

LABORCLIN. **Antibiograma**. Rev. 05. 2011. Disponível em: <http://www.interlabdist.com.br/dados/noticias/pdf_190.pdf>, Acesso em: 14/11/2015.

LIMA, N. B. et al. Outros constituintes químicos das folhas de *Endopleura uchi*. **Sociedade Brasileira de Química (SBQ)**. 2010. Disponível em: <<http://sec.sbq.org.br/cdrom/33ra/resumos/T1504-1.pdf>>, Acesso em: 06/05/2015.

LUNA, J. S.; et al. **Isolamento e Identificação Estrutural dos Constituintes Químicos de *Endopleura uchi* (HUMIRIACEAE)**. Departamento de Química - Universidade Federal de Alagoa. Disponível em: <<http://www.sbq.org.br/ranteriores/23/resumos/0597-1/>>, Acesso em: 20/05/2015.

MACRINI, T. **Análise farmacognóstica de amostras de drogas vegetais psicoativas comercializadas em Diadema**. Universidade São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). 123 f. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/.../Mestrado_Thiago_Macrini.pdf>, Acesso em: 14/11/2015.

MAGALHÃES, L. A. M. et al. Identificação de bergenina e carotenóides no fruto de *uchi* (*Endopleura uchi*, Humiriaceae). **Acta Amazonica**, v. 37, n. 3, p. 447–450, 2007.



- MATOS, F. J. A. **Introdução a Fitoquímica Experimental**. 129 p, 1980.
- MONTAGNER, C. **Atividades Antifúngica, Citotóxica (Células Tumorais Humanas) e Hemolítica de Cumarinas Naturais e Semissintéticas**. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia). 126f. Universidade Federal de Santa Catarina, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Florianópolis, 2007.
- MORAIS, A. M.; LIMA, L. R. P.; VILELA, A. F. Estudo da Atividade Antimicrobiana da Cebola (*Allium cepa*). **Farmácia & Ciência**, v.3, p. 34-45, 2012.
- MUNIZ, M. P. **Estudo fitoquímico e da atividade biológica de *Endopleura uchi* Huber Cuatrecasas**. Dissertação (Mestrado em Química Orgânica). 129 f. Universidade Federal do Amazonas, Instituto de Ciências Exatas, Manaus, 2013.
- MURRAY, P.; ROSENTHAL, K. S.; PFALLER, M. A. *Microbiologia Médica*. 6. Ed, 948 p, Rio de Janeiro: Elsevier, 2009.
- NAHUZ, A. R. **Catálogo de madeiras brasileiras para a construção civil**. São Paulo: Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo (IPT), 2013. p. 106.
- NCCLS/CLSI. **Padronização dos Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos por Disco-difusão: Norma Aprovada**. 8 ed, v. 23, n. 1, M2-A8, 2003.
- NETO, A. H. S.; LIMA, R. B. Flora Paraibana: Família Humiriaceae Juss. **Revista Nordestina de Biologia**, v.17, n.1/2, p. 3-10, 2003.
- NUNOMURA, et al. Characterization of Bergenin in *Endopleura uchi* Bark and its Anti-Inflammatory Activity. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 20, n. 6, p. 1060-1064, 2009.
- OLIVEIRA, F. DE; AKISUE, G. **Fundamentos de Farmacobotânica e de morfologia vegetal**. 3. Ed, 229 p, São Paulo: Editora Atheneu, 2009.
- OLIVEIRA, V. G.; NUNOMURA; R. C. S.; NUNOMURA, S. M. **Estudo Fitoquímico e de Atividade Biológica de *Endopleura uchi***. 61ª Reunião Anual da SBPC, Ciências Exatas e da Terra, Química, Química de Produtos Naturais. 2009. Disponível em: <<http://www.sbpnet.org.br/livro/61ra/resumos/resumos/6902.htm>>. Acesso em: 26/05/2015.
- OLIVEIRA, F.; AKISUE, G; AKISUE, M. K. **Farmacognosia**. São Paulo: Atheneu, 426 p. 1998.
- POLITI, F. A. S. **Estudo Farmacognóstico e Avaliação de atividades Biológicas de Extratos Obtidos das Cascas Pulverizadas de *Endopleura uchi* (HUBER) CUATREC. (HUMIRACEAE)**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêutica). 124f. Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, Araraquara, SP, 2009.



POLITI, F. A. S.; et al. Testes preliminares de motilidade intestinal e toxicidade oral aguda com extrato de cascas pulverizadas de *Endopleura uchi* (Huber) Cuatrec. (Humiriaceae) em Camundongos. **Rev Pan-Amaz Saúde**, v. 1, n.1, p. 187-189, 2010.

SÁ, B. M. et al. Subchronic toxicity evaluation of the hydroethanolic extract from *Endopleura uchi* (Huber) Cuatrec in Wistar rats. **AcademicJournals**, v. 9, n. 8, p. 223–229, 2015.

SALOMÃO, N. Rio de Janeiro. Assembleia Legislativa. **Projeto De Lei Nº 2818/2014**. Cria o Programa de Agricultura de Plantas Medicinais do Estado do Rio de Janeiro. Disponível em<[http://alerjln1.alerj.rj.gov.br/scpro1115.nsf/18c1dd68f96be3e7832566ec0018d833/e14562463524d66c83257c1b0076afcc?](http://alerjln1.alerj.rj.gov.br/scpro1115.nsf/18c1dd68f96be3e7832566ec0018d833/e14562463524d66c83257c1b0076afcc?OpenDocument&Start=1.1&Count=200&Collapse=1.1)

OpenDocument&Start=1.1&Count=200&Collapse=1.1>. Acesso em: 05/05/2015.

SARAIVA, R. M. C. **Atividade Antibacteriana de Plantas Medicinais Frente á Bactérias Multirresistentes e a sua Interação com Drogas Antimicrobianas**. Dissertação (Mestre em Ciências Farmacêuticas) 96f. Universidade Federal do Pará, Instituto de Ciências da Saúde, Belém, PA, 2012.

SEBASTIÃO, E. C. O. **Introdução a Farmácia**. Universidade Federal de Ouro Preto Escola de Farmácia. Departamento de Farmácia. 2010.

SHANLEY, P.; GAIA, G. A "fruta do pobre" se torna lucrativa: a *Endopleura uchi* Cuatrec. em áreas manejadas próximo a Belém, Brasil. p 219-240, [20--].

SHANLEY, P.; MEDINA, G. **Frutíferas e Plantas Úteis na Vida Amazônica**. Belém: CIFOR, Imazon, 2005.

SILVA, S. L. DA et al. Antimicrobial activity of bergenin from *Endopleura*. **Acta Amazonica**, v. 39, n. 1, p. 187–192, 2009.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia da Planta ao Medicamento**. 6 ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2007. 1102 p.

TACON, L. A. **Estudo da extração e secagem por spray dryer das cascas de Endopleura uchi (Huber) Cuatrec. Humiriaceae**. Dissertação (Mestre em Ciências Farmacêuticas). 108f. Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, 2012.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 10 ed. Porto Alegre: Artmed, 2012.

Recebido em: 11/02/2024

Aprovado em: 27/03/2024

Publicado em: 01/04/2024