

Potencial antimicrobiano e caracterização fitoquímica de extratos da casca do caule de *Drimys brasiliensis* Miers (Winteraceae)

*Antimicrobial potential and phytochemical investigation of stem bark extracts from *Drimys brasiliensis* Miers (Winteraceae)*

Andréa Michel Sobottka^{1*}, Caroline Boff da Luz², Fabiana Tonial³, Luciana Grazziotin Rossato-Grando⁴, Charise Dallazem Bertol⁵

¹Doutora em Ciências Naturais pela Universidade de Münster, Alemanha; ²Farmacêutica pela Universidade de Passo Fundo (UPF), RS; ³Doutora em Microbiologia, Parasitologia e Patologia pela Universidade Federal do Paraná; ⁴Doutora em Ciências Farmacêuticas pela Universidade do Porto, Portugal; ⁵Doutora em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Resumo

Introdução: na área da saúde, a resistência aos antimicrobianos tem se constituído um grave problema, fazendo com que a busca por alternativas farmacológicas assumam grande importância. Produtos de origem natural, como extratos de plantas, têm sido pesquisados para uso potencial no tratamento antibacteriano. *Drimys brasiliensis* Miers (Winteraceae) é uma árvore nativa do Brasil que tem sido utilizada como medicinal. **Objetivo:** investigar o perfil fitoquímico e a atividade antimicrobiana de amostras obtidas a partir de extratos da casca do caule de *Drimys brasiliensis*. **Metodologia:** frações de características químicas variadas foram obtidas a partir de extratos da casca do caule da planta. Realizou-se o *screening* fitoquímico destas frações através de reações gerais de caracterização e cromatografia em camada delgada. As amostras foram testadas por difusão em ágar e por microdiluição contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas e contra uma levedura. **Resultados:** o perfil fitoquímico mostrou diferenças entre as frações analisadas. Alcaloides foram detectados nas frações mais apolares. Taninos e flavonoides estavam presentes nas amostras mais polares e obtidas sem o uso de calor. As amostras com maior atividade antimicrobiana foram as obtidas com os solventes hexano e diclorometano, de características mais apolares. Destaca-se a atividade contra *Bacillus cereus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina e *Candida albicans*. **Conclusão:** extratos da casca do caule de *Drimys brasiliensis* apresentam potencial antimicrobiano, com destaque para as frações mais apolares contra bactérias gram positivas.

Palavras-chave: Casca-de-anta. Bactérias Gram-Positivas. Plantas medicinais. Farmacorresistência bacteriana.

Abstract

Introduction: in the health field, antimicrobial resistance has been a serious issue, making the search for pharmacological alternatives very important. Natural products, such as plant extracts, have been researched for potential use in antibacterial treatment. *Drimys brasiliensis* Miers (Winteraceae) is a tree native to Brazil that has been medicinally used. **Objective:** to investigate the phytochemical profile and antimicrobial activity of samples obtained from *Drimys brasiliensis* stem bark extracts. **Methodology:** fractions of different chemical characteristics were obtained from extracts of the stem bark. Phytochemical screening of these fractions was performed by general reactions and thin layer chromatography. Samples were tested by agar diffusion and microdilution against Gram-positive and Gram-negative bacteria and yeast. **Results:** the phytochemical profile showed differences between the analyzed fractions. Alkaloids were detected in the most nonpolar fractions. Tannins and flavonoids were present in the most polar samples and obtained without the use of heat. The samples with the highest antimicrobial activity were those obtained with hexane and dichloromethane solvents, which present the most nonpolar characteristics. We highlight the activity against *Bacillus cereus*, *Staphylococcus epidermidis*, Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*. **Conclusion:** *Drimys brasiliensis* stem bark extracts have antimicrobial potential, especially the most nonpolar fractions against gram positive bacteria.

Keywords: Casca-de-anta. Gram-Positive Bacteria. Medicinal Plants. Bacterial Drug Resistance.

INTRODUÇÃO

O aumento da resistência aos antimicrobianos somado ao declínio na descoberta de novos agentes tem sido uma grande preocupação. A exposição microbiana aos antibióticos aumenta os casos de resistência (AN-

DERSSON; HUGHES, 2014). Associações de fármacos têm sido utilizadas como estratégia para controlar a evolução destes mecanismos de resistência (BOLLENBACH, 2015). Outras estratégias têm sido discutidas, entre as quais a educação pública sobre como o uso excessivo de antibióticos pode potencializar esse problema, mostrando a necessidade de controlar o uso e incentivar outras alternativas, como as vacinas (BUSH *et al.*, 2011). A pesquisa de novos compostos antimicrobianos a partir de recursos naturais, explorando nossa rica biodiversidade,

Correspondente/Corresponding: *Andréa Michel Sobottka – End: Universidade de Passo Fundo. Campus I – Rodovia BR 285 – Km 292 – Bairro São José – 99.052-900. Passo Fundo. RS. Brasil – Tel.: (54) 3316-8499/ Cel.: (51) 99977-3533 – E-mail: sobottka@upf.br

alia-se às estratégias necessárias para o enfrentamento deste problema (GUIMARÃES *et al.*, 2010).

Drimys brasiliensis Miers é uma árvore nativa do Brasil pertencente à família Winteraceae. Essa família possui cerca de 8 gêneros e 70 espécies, que ocorrem predominantemente no hemisfério sul, em formações vegetais junto com espécies primitivas como *Araucaria angustifolia* e *Ginkgo biloba*, sendo por isso consideradas “fósseis vivos”. O gênero *Drimys* é o único remanescente do Novo Mundo, sendo que no Brasil ocorrem duas espécies: *Drimys angustifolia* e *Drimys brasiliensis*. A diferença entre estas espécies é baseada no tamanho das folhas e pedúnculos, sendo que *Drimys brasiliensis* possui folhas mais estreitas e pedúnculos mais curtos que a *Drimys angustifolia*. Com predomínio na Floresta Ombrófila Mista, *Drimys brasiliensis* pode ser encontrada nos Estados da Bahia até o Rio Grande do Sul (MARIOT *et al.*, 2011). Ela é conhecida popularmente como casca-de-anta ou cataia, entre outros. Em tupi-guarani é chamada de caá-tuya (árvore-para-velho). O nome casca-de-anta se origina de relatos que afirmam que a anta (*Tapirus americanus*), quando doente, se alimenta das cascas desta árvore. Entre as espécies nativas brasileiras, a casca-de-anta assume grande importância, principalmente por seu histórico como planta medicinal. Sua casca e folhas apresentam diversos usos terapêuticos. A casca é utilizada popularmente como estomática, antiescorbútica, antidiarreica, antifebril, sudorífica, tônica, estimulante, antiespasmódica, contra hemorragia uterina e em certas afecções do trato digestivo, e pode ser usada como condimento para carne, no lugar da pimenta-do-reino (SIMÕES *et al.*, 1998; TRINTA; SANTOS, 1997).

Plantas do gênero *Drimys* são conhecidas por apresentarem metabólitos secundários sesquiterpênicos do grupo dos drimanos, com destaque para o sesquiterpeno poligodial e seus derivados (VICHNEWSKI; KULANTHALVEL; HERZ, 1986). Presente em todas as espécies do gênero *Drimys* estudadas até o momento, o poligodial pode ser considerado um marcador químico-taxonomico para o gênero. Em extratos da casca do caule de *Drimys brasiliensis* este composto é predominante (MECCHI; LAGO, 2013), tendo sido isolado primeiramente da espécie *Polygonum hydropiper* (BARNES; LODER, 1962). Em extratos de *Drimys brasiliensis*, ele tem demonstrado sua ação anti-inflamatória (BARROSA *et al.*, 2016), antifúngica (MALHEIROS *et al.*, 2005), efeito inseticida (ANESE *et al.*, 2018) e leishmanicida (CLAUDINO *et al.*, 2013; CORRÊA *et al.*, 2011), além do uso potencial como herbicida natural (ANESE *et al.*, 2015b). Outros sesquiterpenos drimanos derivados do poligodial, além de extratos e frações purificadas da *Drimys brasiliensis*, também têm sido objeto de estudos, apresentando ação antimicrobiana (SILVEIRA *et al.*, 2012), hipotriglicemiante e hipocolesterolemiantes (MEROTTO *et al.*, 2017). Significativa atividade antiviral contra herpes bovina e equina foi relatada em extratos obtidos a partir das folhas

desta planta (PARREIRA *et al.*, 2017). Drimanos obtidos da casca do caule apresentaram ação antiproliferativa (FRATONI *et al.*, 2018). O óleo essencial de *Drimys brasiliensis* apresenta também importantes atividades, como ação anti-inflamatória (LAGO *et al.*, 2010), citotóxica (GOMES *et al.*, 2013) e larvicida (RIBEIRO *et al.*, 2008), além de atividade repelente contra o cupim da madeira seca *Cryptotermes breves* (GOMES *et al.*, 2014). Mono e sesquiterpenos foram isolados e caracterizados neste óleo, com destaque para os compostos ciclocoloronona, terpinen-4-ol e alfa-gurjuneno (GOMES *et al.*, 2013; LAGO *et al.*, 2010; LIMBERGER *et al.*, 2007).

Considerando as alternativas que as plantas oferecem como fonte de novas moléculas terapêuticamente úteis, o aumento da resistência dos microrganismos aos tratamentos com antibacterianos convencionais e o potencial da espécie *Drimys brasiliensis* como planta medicinal, caracterizamos o perfil fitoquímico de frações obtidas a partir da casca do caule desta planta, por dois métodos de extração, e avaliamos sua atividade antimicrobiana. As análises permitiram identificar frações com maior potencial antimicrobiano, relacionando estas com o perfil fitoquímico e método de extração utilizado.

METODOLOGIA

Material vegetal

Cascas do caule de *Drimys brasiliensis* foram coletadas em março de 2015, na cidade de Lagoa Vermelha – Brasil (Latitude: 28°12'39"S; Longitude: 51°31'34"W). A identificação foi realizada por comparação com uma exsiccata depositada no Herbário da Universidade de Passo Fundo, em Passo Fundo, Brasil, sob o número RSPF 12748.

As cascas da planta foram lavadas, secas em estufa com circulação de ar (MAO 35/5, Marconi®) à 35 °C por 2 dias e moídas em liquidificador industrial (Metvisa LQL 10). Uma parte do material vegetal foi deixado sob maceração com água:metanol (1:1) por dez dias, sendo após filtrado e evaporado em rotavapor (B-490, Buchi®). O resíduo resultante foi codificado como: (1) extrato obtido por maceração. Outra parte do material vegetal seco e moído foi submetido ao processo de turbo-extração com água tipo 1 (Direct-Q, Millipore®) durante 10 min. O filtrado obtido foi concentrado e seco em Spray Dryer (LM mds 1.0), e o resíduo resultante foi codificado como: (2) extrato obtido por turbo-extração. Ambos extratos (1 e 2) foram então ressuspensos em água e submetidos à partição líquido-líquido, sequencialmente, com solventes de polaridade crescente: hexano (H), diclorometano (D), acetato de etila (AC) e n-butanol (B). As frações resultantes foram concentradas, armazenadas em embalagens estéreis e congeladas. As análises foram realizadas com essas amostras, denominadas de H1, D1, AC1 e B1 quando obtidas a partir do extrato 1, e H2, D2, AC2 e B2 quando obtidas a partir do extrato 2.

Screening fitoquímico e cromatografia em camada delgada

Foram realizadas reações gerais de caracterização de metabólitos secundários (CARDOSO, 2009) nas frações obtidas a partir dos dois extratos da casca do caule de *Drimys brasiliensis*. Após extração ácido-base, pesquisou-se a presença de alcaloides através de reações de precipitação com os reagentes Dragendorff, Mayer, Bertrand e Bouchardat. Taninos foram caracterizados pela reação com solução de cloreto férrico 1 % (p/v) em etanol, e reação com solução aquosa de acetato de chumbo 10 % (p/v). Coloração verde-azulada e precipitado castanho-avermelhado indicaram, respectivamente, positividade nos ensaios. Visando a detecção de flavonoides, foi realizada a reação com ácido bórico etanólico 3 % (p/v) e ácido oxálico etanólico 10 % (p/v), seguido de observação de fluorescência verde-amarelada sob luz UV 365 nm, característica de reação positiva.

Além dos testes gerais de caracterização, as frações foram analisadas por cromatografia em camada delgada (WAGNER; BLADT, 1996), utilizando cromatoplasmas de sílica F254 (Merck®). Visando a detecção de flavonoides, os sistemas cromatográficos foram compostos por ácido fórmico:tolueno:acetona (1:4:2) e acetona:tolueno (2:4), revelados com NP/PEG (difetilboriloxietilamina metanólica 1%; polietilenoglicol 4000 etanólico 5 %). Para taninos o sistema cromatográfico utilizado foi acetona:tolueno (2:4) e revelador cloreto férrico metanólico 1 %. Como padrões de comparação foram aplicadas nas placas as substâncias de referência quercetina, rutina, ácido gálico, catequina, epicatequina, ácido cafeico, ácido ferrúlico, ácido cumárico, ácido vanílico.

Atividade antimicrobiana

Os microrganismos selecionados para o estudo foram: *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Salmonella typhimurium* (NEWP 0028), *Bacillus cereus* (ATCC 14579), *Enterobacter aerogenes* (NEWP 0048), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Klebsiella pneumoniae* (NEWP 0083), *Staphylococcus epidermidis* (NEWP 0128), *Staphylococcus aureus* resistente à metilina (MRSA) e *Candida albicans* (NEWP 0031), adquiridos comercialmente. O *Staphylococcus aureus* resistente à metilina (MRSA) foi fornecido pelo laboratório SANI do Hospital São Vicente de Paula (HSVP), Passo Fundo – RS.

Para o preparo dos inóculos, as linhagens foram mantidas em caldo soja – caseína a 35 °C e após 48 horas foram transferidas com alça de platina para ágar Mueller Hinton (MH) inclinado por 24 horas a 35 °C. As colônias crescidas na superfície do ágar foram lavadas com solução fisiológica estéril e a turvação foi avaliada em espectrofotômetro (BEL 22 ED/ Photonics) em 580 nm. A turvação foi ajustada até transmitância de 25 % (BRASIL, 2019).

No ensaio de difusão em ágar, 100 µL do inóculo foram espalhados com alça drigalski em placas de Petri contendo 20 mL de ágar MH. Com o auxílio de perfurador estéril, foram confeccionados poços nas placas. Nesses poços, foram adicionadas 50 µL das frações a serem testadas. As frações AC e B foram ressuspensas em água com 1 % de dimetilsulfóxido (DMSO). As frações H e D foram retomadas nos solventes de origem. Todas as frações foram filtradas em filtro estéril (0,20 µm). As placas foram incubadas a 35 °C por 24 horas. Após este período, os halos de inibição foram medidos. Paralelamente foram realizados controles dos solventes utilizados (controle negativo) e, como controle positivo contra as bactérias foi utilizado cloranfenicol (30 µg). Para *Candida albicans* foi utilizada suspensão de nistatina (100.000 U.I.) como controle positivo (DIAS *et al.*, 2006; MICHELIN *et al.*, 2005; OSTROSKY *et al.*, 2008).

Foi realizado ensaio em placas com 96 cavidades para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM). Utilizando 50 µL de cada amostra (100 mg/mL) e 50 µL de caldo nutriente, foram realizadas diluições seriadas perfazendo concentrações decrescentes: 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, correspondendo respectivamente às concentrações 5; 2,5; 1,25; 0,625; 0,312; e 0,156 mg/mL. As diluições foram adicionadas em microplacas de 96 cavidades. Em cada cavidade foi adicionado 10 µL de inóculo. Após incubação de 24 horas a 35 °C foi observada a ocorrência de turvação dos caldos de culturas para determinação da CIM. A fim de obter uma CIM mais precisa, foram realizadas diluições intermediárias entre a última concentração onde se observou turvação e a primeira onde não ocorreu turvação. As determinações foram realizadas em sextuplicata. Paralelamente foram realizados os controles utilizando apenas o meio de cultura (caldo nutriente), o meio de cultura adicionado dos diluentes dos extratos (água contendo 1 % de DMSO ou hexano/diclorometano), meio contendo as cepas padronizadas, meio adicionado de diluente e das cepas padronizadas, e o meio de cultura adicionado das cepas e de cloranfenicol ou de nistatina (DIAS *et al.*, 2006; MICHELIN *et al.*, 2005; OSTROSKY *et al.*, 2008).

RESULTADOS

Conforme a fração testada e o método de obtenção do extrato, observamos diferenças no perfil fitoquímico das amostras, evidenciado pelos resultados dos testes gerais de identificação de metabólitos secundários (Quadro 1). A partir do screening realizado, detectamos a presença de alcaloides na fração mais apolar do extrato obtido por maceração (fração H1), de taninos nas frações mais polares (AC e B), e de flavonoides em todas as frações. Podemos destacar maior conteúdo de taninos e flavonoides nas frações obtidas a partir do extrato 1 (maceração) do que nas frações obtidas a partir do extrato 2 (turbo-extração).

Quadro 1 – Resultados dos testes gerais de identificação de metabólitos secundários em frações obtidas de extratos da casca do caule de *Drimys brasiliensis*.

Grupo químico	Frações	H1	H2	D1	D2	AC1	AC2	B1	B2
	Reação								
Alcaloides	Dragendorff	+	+						
	Mayer	+							
	Bertrand	+							
	Bouchardat	+							
Taninos	Sais de ferro					++	+	++	+
	Acetato de chumbo					++	+	++	+
Flavonoides	Oxalo-bórica	+	+	++	+	+++	++	+	+

Fonte: dados da pesquisa

(1) Extrato obtido por maceração; (2) Extrato obtido por turbo-extração. Frações: (H) Hexano; (D) Diclorometano; (AC) Acetato de etila; (B) n-Butanol

Reações positivas indicam precipitado ou formação de coloração. (+) fraco; (++) moderado; (+++) forte.

As amostras foram analisadas por cromatografia em camada delgada e observou-se, após revelação com NP/PEG, manchas de coloração amarelada na fração AC1, revelando a presença de flavonoides, entre eles uma mancha semelhante à substância de referência rutina. Foi também observada a presença de manchas de coloração azul escuro após revelação com cloreto férrico, demonstrando a presença de taninos nas frações AC1 e B1 e de uma mancha semelhante à epicatequina, visível na fração AC1. Não foram observadas manchas semelhantes a flavonoides e/ou taninos nas frações do extrato (2), obtido por turbo-extração.

Os testes de atividade antimicrobiana mostraram que as amostras mais ativas foram as frações extraídas com os solventes hexano e diclorometano, de características mais apolares (H1; H2; D1; D2). Estas quatro frações, que pelo método de partição líquido-líquido foram obtidas primeiramente, foram ativas contra *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*, *Enterobacter aerogenes*, MRSA, *Klebsiella pneumoniae* e *Candida albicans*. Além disso, elas apresentaram, diante do fungo *Candida albicans*, halos de inibição maiores ou iguais ao controle nistatina. A atividade antimicrobiana das frações extraídas posteriormente, com os solventes acetato de etila e n-butanol, de características mais polares, foi quase que restrita às amostras obtidas pelo método de extração por maceração (1). Entre as amostras obtidas por turbo-extração (2) com esses dois últimos solventes, somente apresentou ação antimicrobiana a fração AC2, contra o microrganismo *Staphylococcus epidermidis* (Quadro 2).

As CIM mais significativas foram obtidas com a fração H2, que controlou o crescimento de *Bacillus cereus* com 0,625 mg/mL e de *Enterobacter aerogenes* com 1,25 mg/mL. A fração H1 foi capaz de inibir o crescimento de *Staphylococcus epidermidis* a 1,25 mg/mL.

Quadro 2 – Resultados médios (n = 6) do ensaio de difusão em ágar para cada fração das cascas do caule de *Drimys brasiliensis* frente aos microrganismos testados (halo de inibição em mm).

Frações	H1	H2	D1	D2	AC1	AC2	B1	B2	C+
Microrganismo									
<i>Escherichia coli</i>	0	0	12	11	0	0	0	0	24
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	18	15	15	10	0	0	0	0	9
<i>Salmonella typhimurium</i>	0	0	0	9	0	0	0	0	26
<i>Bacillus cereus</i>	16	13	17	15	15	0	14	0	37
<i>Enterococcus aerogenes</i>	11	10	11	12	0	0	0	0	32
<i>Staphylococcus aureus</i>	14	12	0	0	13	0	14	0	36
MRSA	15	13	18	21	0	0	0	0	11
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	12	16	13	10	0	0	0	0	22
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	31	0	42	0	14	14	12	0	39
<i>Candida albicans</i>	21	13	16	13	0	0	0	0	13

Fonte: dados da pesquisa

(1) Extrato obtido por maceração; (2) Extrato obtido por turbo-extração; (H) Hexano; (D) Diclorometano; (AC) Acetato de etila; (B) n-Butanol; (C+) Controle positivo: cloranfenicol (30 µg) ou nistatina (100.000 U.I.)

DISCUSSÃO

Ao verificar o perfil fitoquímico e ação antimicrobiana de extratos do caule da planta *Drimys brasiliensis*, constatamos que o método e o solvente utilizados para a obtenção dos extratos exerceu forte influência sobre os resultados obtidos. No screening fitoquímico, a fraca positividade das reações, ou seja, o menor conteúdo de compostos fenólicos nas frações polares obtidas a partir do extrato submetido à turbo-extração e secagem no *Spray-Dryer* (extrato 2), relaciona-se com a conhecida instabilidade destes compostos em altas temperaturas (ALEAN; CHEJNE; ROJANO, 2016). A maceração, sem uso de fonte de calor, ainda é um dos métodos mais adequados para extração de compostos do metabolismo secundário. A secagem do extrato 2 pelo método do *Spray-Dryer* envolveu exposição da amostra durante cerca de 10 horas a uma temperatura de 140 °C, levando, possivelmente, à degradação dos compostos termolábeis.

Os resultados obtidos na cromatografia em camada delgada, onde foram observados os compostos rutina e epicatequina na fração AC1, estão de acordo com Merotto *et al.* (2017), que relataram a presença destas duas substâncias nas cascas do caule de *Drimys brasiliensis*. Neste ensaio observa-se mais uma vez a diferença entre as frações obtidas a partir do extrato 1 e as obtidas a partir do extrato 2. A presença de manchas escuras, características de taninos, e a presença de manchas amareladas, características de flavonoides (WAGNER; BLADT, 1996), somente foram observadas nas cromatografias realizadas com as frações obtidas a partir do extrato 1, confirmando

a degradação destas substâncias quando submetidas a altas temperaturas.

As frações mais promissoras nos testes de atividade antimicrobiana foram as apolares, extraídas a partir do hexano e diclorometano. Compostos com características apolares, como o poligodial, têm se destacado em estudos com *Drimys brasiliensis*. Como composto predominante na fração hexânica das cascas do caule da planta (LAGO *et al.*, 2010; MECCHI; LAGO, 2013), o poligodial isolado deste material mostrou ação anti-inflamatória (BARROSA *et al.*, 2016) e, juntamente com o extrato bruto hexânico, atividade contra os protozoários *Leishmania spp.* e *Trypanosoma cruzi* (CORRÊA *et al.*, 2011). Também o extrato clorofórmico das cascas do caule, com características de polaridade muito próximas às frações diclorometano obtidas no presente estudo, apresentou ação contra *Leishmania amazonenses* e *Leishmania brasiliensis*. Deste extrato foram isolados, além poligodial, o sesquiterpeno aromadendrano espatulenol e outros três sesquiterpenos drimanos derivados do poligodial: 1-β-(p-metoxicinamoil)-poligodial, drimaniol e 1-β-(p-cumaroiloxil)-poligodial, sendo que este último foi o que apresentou a maior atividade leishmanicida (CLAUDINO *et al.*, 2013). Foram ainda avaliadas as condições para a obtenção destes três compostos derivados do poligodial, sendo que a extração das cascas por maceração dinâmica com diclorometano foi a que apresentou melhores resultados (FRATONI *et al.*, 2018). Estes estudos reforçam a importância de se utilizar solventes de baixa ou média polaridade, como hexano e diclorometano, para a obtenção de frações enriquecidas com os compostos ativos poligodial e seus derivados. Outros extratos hexânicos, obtidos de partes da planta como folhas e raízes, também têm apresentado atividades farmacológicas. Utilizando o extrato hexânico das folhas, Gonçalves *et al.* (2019) isolaram o epi-poligodial, isômero do poligodial no carbono 9, que apresentou atividade contra o *Trypanosoma cruzi*. A fração hexânica das raízes apresentou potencial fitotóxico no controle de plantas daninhas (ANESE *et al.*, 2015a) e ação inseticida sobre o pulgão-preto dos citros (ANESE *et al.*, 2018).

Tanto microrganismos Gram-positivos como Gram-negativos e leveduras tiveram o crescimento controlado por alguma fração dos extratos de *Drimys brasiliensis* avaliados, mas destacamos a atividade das frações mais apolares H1, H2 e D1 contra as bactérias Gram positivas *Bacillus cereus* e *Staphylococcus epidermidis* e contra a levedura *Candida albicans*. Estas frações também mostraram-se ativas contra MRSA, que é um microrganismo isolado clínico resistente à metilicina. Silveira *et al.* (2012) também destacam a ação, principalmente de extratos de clorofórmio de casca de *Drimys brasiliensis*, contra bactérias Gram-positivas, em especial *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* e *Streptococcus pneumoniae*. Sendo que o melhor resultado do trabalho referenciado também foi contra *Bacillus cereus*, no qual a CIM do extrato foi de 62,5 µg/mL e uma das frações desse extrato apresentou CIM de 31,25 µg/mL. A atividade da casca da planta contra

Candida albicans também é descrita na literatura a partir de um extrato de acetato de etila (TRATZ *et al.*, 2018). Os óleos essenciais de galhos e folhas de *Drimys angustifolia* também se destacam pela ação contra *Bacillus cereus*, com CIM de 125 e 250 µg/mL, respectivamente. Dos compostos isolados desses óleos o biciclogermacreno apresentou CIM de 167 µg/mL contra *Bacillus cereus* (SANTOS *et al.*, 2013).

CONCLUSÃO

Neste trabalho demonstramos o potencial antimicrobiano de extratos da casca do caule de *Drimys brasiliensis*, uma árvore nativa do Brasil utilizada como medicinal. A partir dos extratos brutos, obtidos por dois métodos de extração, foram preparadas frações de diferentes polaridades, com o objetivo de separar os compostos químicos presentes nos extratos de acordo com sua maior afinidade pelos solventes utilizados. As frações mais apolares, obtidas a partir dos solventes hexano e diclorometano, foram as que apresentaram maior atividade antimicrobiana. Foi evidenciado que a atividade antibacteriana dos metabólitos secundários obtidos da casca da planta apresenta melhor potencial de bioatividade contra bactérias Gram-positivas em relação às Gram-negativas, destacando-se também o potencial antimicrobiano da planta frente a uma bactéria resistente.

REFERÊNCIAS

- ALEAN, J.; CHEJNE, F.; ROJANO, B. Degradation of polyphenols during the cocoa drying process. *J. Food Eng.*, London, v. 189, p. 99-105, 2016.
- ANDERSSON, D. I.; HUGHES, D. Microbiological effects of sublethal levels of antibiotics. *Nat. Rev. Microbiol.*, London, v. 12, n. 7, p. 465-478, July 2014.
- ANESE, S. *et al.* Phytotoxic potential of *Drimys brasiliensis* Miers for use in weed control. *Acta Sci. Agron.*, [s.l.], v. 37, n. 4, p. 505, Oct. 2015a.
- ANESE, S. *et al.* Bioherbicidal activity of drimane sesquiterpenes from *Drimys brasiliensis* Miers roots. *Ind. Crops Prod.*, [s.l.], v. 74, p. 28-35, Nov. 2015b.
- ANESE, S. *et al.* Insecticidal action of *Drimys brasiliensis* Miers on black citrus aphid. *Rev. Ciênc. Agron.*, Fortaleza, v. 49, n. 3, p. 484-490, 2018.
- BARNES, C. S.; LODER, J. W. The structure of Polygodial a new sesquiterpene dialdehyde from *Polygonum hydropiper*. *Aust. J. Chem.*, Melbourne, v. 15, n. 2, p. 322-327, 1962.
- BARROSA, K. H. *et al.* Polygodial, a sesquiterpene isolated from *Drimys brasiliensis* (Winteraceae), triggers glucocorticoid-like effects on pancreatic β-cells. *Chem.-Biol. Interact.*, [s.l.], v. 258, p. 245-256, Oct. 2016.
- BOLLENBACH, T. Antimicrobial interactions: mechanisms and implications for drug discovery and resistance evolution. *Curr. Opin. Microbiol.*, New York, v. 27, p. 1-9, out. 2015.
- BRASIL. *Farmacopeia brasileira*. 6. ed. Brasília: Anvisa, 2019. v. 1
- BUSH, K. *et al.* Tackling antibiotic resistance. *Nat. Rev. Microbiol.*, London, v. 9, n. 12, p. 894-896, Dec. 2011.

- CARDOSO, C. M. Z. **Manual de controle de qualidade de matérias-primas vegetais para farmácia magistral**. São Paulo: Pharmabooks, 2009.
- CLAUDINO, V. D. *et al.* Drimanes from *Drimys brasiliensis* with leishmanicidal and antimalarial activity. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 108, n. 2, p. 140-144, 2013.
- CORRÊA, D. S. *et al.* Anti-leishmanial and anti-trypanosomal potential of polygodial isolated from stem barks of *Drimys brasiliensis* Miens (Winteraceae). **Parasitol. Res.**, Berlin, v. 109, n. 1, p. 231-236, July 2011.
- DIAS, J. F. G. *et al.* Atividade antibacteriana e antifúngica de extratos etanólicos de *Aster lanceolatus* Willd., Asteraceae. **Rev. Bras. Farmacog.**, São Paulo, v. 16, n. 1, p. 83-87, mar. 2006.
- FRATONI, E. *et al.* Antiproliferative and toxicological properties of drimanes obtained from *Drimys brasiliensis* stem barks. **Biomed. Pharmacother.**, Paris, v. 103, p. 1498-1506, July 2018.
- GOMES, M. R. F. *et al.* Citotoxic activity evaluation of essential oils and nanoemulsions of *Drimys angustifolia* and *D. brasiliensis* on human glioblastoma (U-138 MG) and human bladder carcinoma (T24) cell lines in vitro. **Rev. Bras. Farmacog.**, São Paulo, v. 23, n. 2, p. 259-267, Mar. 2013.
- GOMES, M. R. F. *et al.* Chemical composition of essential oils of *Drimys angustifolia* Miens and *Drimys brasiliensis* Miens and their repellency to drywood termite *Cryptotermes brevis* (Isoptera: Kalotermitidae). **Rev. Ciênc. Farmac. Bás. Aplic.**, Araraquara, v. 35, n. 1, p. 41-46, 2014.
- GONÇALVES, G. E. G. *et al.* Antitrypanosomal activity of epi-polygodial from *Drimys brasiliensis* and its effects in cellular membrane models at the air-water interface. **Bioorg. Chem.**, New York, v. 84, p. 186-191, Mar. 2019.
- GUIMARÃES, D. O.; MOMESSO, L. DA S.; PUPO, M. T. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 33, n. 3, p. 667-679, 2010.
- LAGO, J. H. G. *et al.* Chemical composition and anti-inflammatory evaluation of essential oils from leaves and stem barks from *Drimys brasiliensis* Miens (Winteraceae). **J. Brazil. Chem. Soc.**, São Paulo, v. 21, n. 9, p. 1760-1765, 2010.
- LIMBERGER, R. P. *et al.* Comparative analysis of volatiles from *Drimys brasiliensis* Miens and *D. angustifolia* Miens (Winteraceae) from Southern Brazil. **Biochem. Syst. Ecol.**, Oxford, v. 35, n. 3, p. 130-137, Mar. 2007.
- MALHEIROS, A. *et al.* Antifungal activity of drimane sesquiterpenes from *Drimys brasiliensis* using bioassay-guided fractionation. **J. Pharm. Pharmac. Sci.**, Washington, v. 8, n. 2, p. 335-339, 2005.
- MARIOT, A. *et al.* *Drimys brasiliensis*. Casca-de-anta. In: **Espécies nativas da Flora Brasileira de valor econômico atual e potencial: plantas para o futuro – Região Sul**. Brasília: Lidio Coradin; Alexandre Siminski; Ademir Reis, 2011. p. 601-607.
- MECCHI, M. C.; LAGO, J. H. G. Chemical constituents derived from *Drimys brasiliensis* Miens (Winteraceae). **Nat. Prod. Res.**, [s.l.], v. 27, n. 20, p. 1927-1929, out. 2013.
- MEROTTO, J. *et al.* Anti-lipid potential of *Drimys brasiliensis*. **Pharmacogn. Mag.**, [s.l.], v. 13, n. 50, p. 370, 2017.
- MICHELIN, D. C. *et al.* Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos vegetais. **Rev. Bras. Farmacog.**, São Paulo, v. 15, n. 4, dez. 2005.
- OSTROSKY, E. A. *et al.* Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Rev. Bras. Farmacog.**, São Paulo, v. 18, n. 2, p. 301-307, jun. 2008.
- PARREIRA, R. M. *et al.* Phytochemical profile and in vitro evaluation of extracts from leaves of *Drimys brasiliensis* (Winteraceae) against bovine and equine herpesviruses. **J. Appl. Pharmaceutical Sci.**, [s.l.], v. 7, p. 122-127, 2017.
- RIBEIRO, V. L. S. *et al.* Chemical composition and larvicidal properties of the essential oils from *Drimys brasiliensis* Miens (Winteraceae) on the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* and the brown dog tick *Rhipicephalus sanguineus*. **Parasitol. Res.**, Berlin, v. 102, n. 3, p. 531-535, Feb. 2008.
- SANTOS, T. G. *et al.* Chemical characterization of essential oils from *Drimys angustifolia* Miens (Winteraceae) and antibacterial activity of their major compounds. **J. Brazil. Chem. Soc.**, São Paulo, v. 24, n. 1, p. 164-170, Jan. 2013.
- SILVEIRA, A. C. *et al.* Antibacterial activity and toxicity of *Drimys brasiliensis*. **Lat. Am. J. Pharm.**, Bethesda, v. 31, n. 7, p. 935-940, 2012.
- SIMÕES, C. M. O. *et al.* **Plantas da medicina popular no Rio Grande do Sul**. 5. ed. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1998.
- TRATZ, D. *et al.* Atividade inibitória do extrato em acetato de etila e hidro destilação de folhas e cascas de *Drimys brasiliensis* sobre a *Candida albicans* e sobre o *Staphylococcus aureus*. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 19, n. 1, 18 maio 2018.
- TRINTA, E. F.; SANTOS, E. **Flora Ilustrada Catarinense: Winteráceas**. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 1997.
- VICHNEWSKI, W.; KULANTHAIVEL, P.; HERZ, W. Drimane derivatives from *Drimys brasiliensis*. **Phytochemistry**, New York, v. 25, n. 6, p. 1476-1478, 1986.
- WAGNER, H.; BLADT, S. **Plant Drug Analysis. A thin layer chromatography atlas**. 2. ed. Berlin: Springer, 1996.

Submetido em: 04/11/2019

Aceito em: 13/04/2020