

Atividade antibacteriana e moduladora de *Cecropia pachystachya* Trécul sobre a ação de aminoglicosídeos

Antibacterial and modulatory activity of *Cecropia pachystachya* Trécul on the action of aminoglycosides

Actividad antibacteriana y moduladora de *Cecropia pachystachya* Trécul en la acción de los aminoglucósidos

MSc. Daniele Oliveira Souza,¹ MSc. Saulo Relison Tintino,¹ Esp. Fernando Gomes Figueredo,¹ Enf. Maria Cristina Melo Borges,¹ MSc. Maria Flaviana Bezerra Moraes Braga,¹ Dr. Cícero Francisco Bezerra Felipe,¹¹ Dr. José Galberto Martins da Costa,¹ Dr. Henrique Douglas Melo Coutinho,¹ Dr. Irwin Rose Alencar de Menezes,¹ Dra. Marta Regina Kerntopf¹

¹ Laboratório de Farmacologia e Química Molecular, Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular, Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais, Universidade Regional do Cariri, Crato - CE, Brasil.

¹¹ Departamento de Biologia Molecular, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa - PB, Brasil.

RESUMO

Introdução: a *Cecropia pachystachya* Trécul., é conhecida como toré (Urticaceae), com ocorrência em todo o território brasileiro, usada na medicina popular no tratamento de infecções respiratórias e gonorreia.

Objetivo: avaliar a atividade antibacteriana e moduladora sobre antibióticos, do extrato etanólico e frações metanólicas das folhas e caule de *C. pachystachya* T., contra linhagens bacterianas padrões e multirresistentes.

Métodos: o material vegetal (folhas e caule), coletado na Chapada do Araripe, foi triturado e submerso em solvente etanol PA, e submetido à destilação do solvente no aparelho evaporador rotativo para a produção dos extratos, que foi particionado e submetido ao solvente metanólico, fornecendo as frações metanólicas. Um ensaio

de microdiluição foi realizado para verificar a atividade antibacteriana e as possíveis interações dos aminoglicosídeos associados às amostras estudadas, utilizando uma concentração sub-inibitória de 128 µg/mL (CIM/8).

Resultados: o efeito mais representativo a associação da neomicina com o EEFCP (Extrato Etanólico das Folhas de *C. pachystachya* T) e sua fração com redução da CIM de 312.5 para 39,06 µg/mL e redução de 312,50 para 78,13 µg/mL, respectivamente ambos contra *Staphylococcus aureus* 358. Quando frente a *E. coli* 27, foi observado antagonismo.

Conclusões: os dados obtidos indicam que o extrato e as frações metanólicas de *C. pachystachya*, podem ser uma alternativa relevante na pesquisa de substâncias que tenham ação contra as bactérias *Staphylococcus* multirresistentes. Entretanto, o mesmo também pode interferir negativamente na ação das drogas testadas. Contudo são necessários novos teste *in vivo* para melhor comprovar essa ação.

Palavras-chave: *Cecropia pachystachya* T., atividade antibacteriana, atividade moduladora.

ABSTRACT

Introduction: *Cecropia pachystachya* Trécul, commonly known as 'toré' (Urticaceae) and distributed throughout Brazil, is used in folk medicine to treat respiratory and sexually transmitted infections such as gonorrhoea.

Objective: evaluate the antibacterial and modulatory activity on antibiotics of the ethanolic extract and methanolic fractions of *C. pachystachya* T. leaves and stems against standard and multiresistant bacterial strains.

Methods: the plant material (leaves and stems) was collected in Araripe, crushed and put into ethanol PA as solvent. Distillation of the solvent was then performed in a rotary evaporator to produce the extracts, which were divided and subjected to the methanolic solvent to obtain the fractions. A microdilution assay was conducted to verify antibacterial activity and the possible interactions of aminoglycosides associated with the study samples. A sub-inhibitory concentration of 128 µg/mL (MIC/8) was used.

Results: the most representative effect was the association of neomycin with EEFCP (ethanolic extract of leaves of *C. pachystachya* T.) and its fraction, with a MIC reduction of 312.5 for 39.06 µg/mL and 312.50 for 78.13 µg/mL, respectively, against *Staphylococcus aureus* 358. An antagonistic effect was observed against *E. coli* 27.

Conclusions: the data obtained indicate that *C. pachystachya* methanolic fractions and extract may be an important alternative in the search for substances with an action against multiresistant *Staphylococcus* bacteria. However, such a substance may also negatively affect the action of the drugs studied. It is necessary to conduct new experiments *in vivo* to verify such an action.

Key words: *Cecropia pachystachya* T., antibacterial activity, modulatory activity.

RESUMEN

Introducción: *Cecropia pachystachya* Trécul., es conocida como "toré" (Urticaceae), presente en todo el territorio brasileño, utilizada en la medicina popular para el tratamiento de infecciones respiratorias y de transmisión sexual (gonorrea).

Objetivo: evaluar la actividad antibacteriana y moduladora sobre antibióticos del extracto etanólico y fracciones metanólicas de las hojas y tallo de *C. pachystachya* T. contra cepas bacterianas estándar y multirresistentes.

Métodos: el material vegetal (hojas y tallos), colectado en el Araripe, fue triturado y sumergido en etanol PA como solvente. Seguidamente, fue sometido a destilación del solvente en un evaporador rotativo para la producción de los extractos, que fueron divididos y sometidos al solvente metanólico, formando así las fracciones. Se llevó a cabo un ensayo de microdilución para verificar la actividad antibacteriana y las posibles interacciones de aminoglucósidos asociados con las muestras estudiadas, se utilizó una concentración sub-inhibitoria de 128 µg/mL (CIM/8).

Resultados: el efecto más representativo resultó el de la asociación de neomicina con el EEFCP (Extracto Etanólico de hojas de *C. pachystachya* T) y su fracción con disminución de la CIM de 312,5 para 39,06 µg/mL y 312,50 para 78,13 µg/mL, respectivamente contra *Staphylococcus aureus* 358. Se observó un efecto antagónico contra *E. coli* 27.

Conclusiones: los datos obtenidos indican que el extracto y fracciones metanólicas de *C. pachystachya*, pueden ser una alternativa importante en la búsqueda de sustancias que tienen acción contra las bacterias *Staphylococcus* multirresistentes. Sin embargo, puede afectar negativamente a la acción de las drogas estudiadas. No obstante, es necesario realizar nuevos experimentos *in vivo* para comprobar esta acción.

Palabras clave: *Cecropia pachystachya* T., actividad antibacteriana, actividad moduladora.

INTRODUÇÃO

O crescimento da resistência de microrganismo a antimicrobianos têm preocupado as autoridades de saúde, representando gastos econômicos e perda de produtividade para as populações.¹ Considerado atualmente um problema de saúde pública, causado tanto pelo uso adequado como inadequado de medicamentos para controlar a disseminação de infecções utilizados na saúde humana e animal bem como na produção de alimentos.² Várias espécies bacterianas desenvolveram resistência contra agentes antimicrobianos, como exemplo: *Enterococcus faecalis*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Neisseria gonorrhoeae*, e *Staphylococcus aureus*.^{3,4}

Uma das alternativas relevantes na busca do controle da resistência bacteriana são as plantas medicinais. A pesquisa da atividade biológica de plantas medicinais originárias de diversas regiões do mundo é orientada pelo uso popular, que evidencia maior eficiência na porcentagem de plantas com melhores ou maiores atividades do que amostras de plantas selecionadas aleatoriamente.⁵ Espécies vegetais têm sido usadas, pelas propriedades antimicrobianas, através de compostos sintetizados pelo metabolismo secundário da planta, que são reconhecidos por suas substâncias ativas, como é o caso dos compostos fenólicos e taninos.⁶ Outros estudos mostram que alguns metabólitos secundários podem potencializar a ação de drogas como os antibióticos, quando utilizados em associação, restaurando a atividade antibiótica contra cepas bacteriana resistentes tais como *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.⁷

Uma das famílias bastante estudada é a Urticaceae que apresenta distribuição cosmopolita, incluindo 1200 espécies, distribuídas em cerca de 50 gêneros, dos quais o gênero *Cecropia*, compreende cerca de 100 espécies ocorrendo na América

Tropical, desde o México até o sul do Brasil,⁸ com maior destaque na flora brasileira por ser típico de formações secundárias ou clareiras no interior de florestas, sendo considerada pioneira para recuperação de áreas degradadas.⁹

Uma das espécies pertencentes a esse gênero é a *Cecropia pachystachya* T., conhecida popularmente como embaúva, embaúba, imbaúba, umbaúba, árvore da preguiça, e como toré na região do Cariri-Cearense. Uma planta arbórea e frutífera com finalidade ornamental e medicinal, pertencente à família Urticaceae, usada na medicina tradicional no tratamento de infecções respiratórias,¹⁰ hiperlipidemias,¹¹ antidiabética,¹² gonorreia e citada como diurética.¹³ Foram relatadas na literatura atividades farmacológicas, tais como atividade ansiolítica, antidepressiva,¹⁴ antioxidante,¹⁵ cardiotônica, sedativa,¹⁶ e antiinflamatória.¹⁷

Neste contexto o objetivo deste trabalho foi verificar a atividade antibacteriana do extrato etanólico e frações metanólicas das folhas e caule de *C. pachystachya* bem como verificar sua ação como um agente modificador da resistência aos aminoglicosídeos.

MÉTODOS

O material vegetal (folhas e caule) foi coletado na Chapada do Araripe, região do Cariri, no município de Crato, Ceará à orientação sul 7° 19.700; oeste 39° 27.949, no mês de maio de 2010. Após a identificação e produção da exsiccata, esta foi depositada no Herbário Caririense Dárdano de Andrade Lima – HCDAL da Universidade Regional do Cariri – URCA, catalogada sob número de registro 5595.

As partes coletadas foram trituradas e submersas em solvente etanol PA, separadamente em temperatura ambiente por 72 horas. Após esse período, a solução obtida foi filtrada e submetida à destilação do solvente no aparelho evaporador rotativo a vácuo, onde o produto obtido foi levado ao banho-maria, para evaporação do excedente etanólico. O rendimento do extrato obtido foi de 12,29 % para as folhas, 2,92 % para o caule. O Extrato Etanólico das Folhas de *C. pachystachya* T. foi denominado de EEFCP e o Extrato Etanólico do Caule de *C. pachystachya* T., denominado: EECCP.

As frações metanólicas do EEFCP (15,0g) e do EECCP (6,0g) foram obtidas a partir de 22,87 g e 9,0192 g, respectivamente. Para tanto foi realizado o processo de fracionamento utilizando o solvente polar metanol. Os extratos foram macerados em sílica gel até obtenção de uma mistura homogênea, onde posteriormente foram tratados com solvente metanólico e filtração a vácuo utilizando funil de Büchner e kitassato acoplado a bomba a vácuo, produzindo frações metanólicas com rendimento de 31,7 % para as folhas, que foi denominada de FMFCP e 25,27 %, para o caule, denominada de FMCCP.

Para a realização da prospecção fitoquímica dos extratos etanólicos seguiu a metodologia de Matos,¹⁸ onde classes de metabólitos secundários foram identificados por mudanças colorimétricas e precipitados formados após a adição de reagentes específicos.

Nos ensaios bacteriológicos a solução inicial dos extratos etanólicos das folhas e caule e suas respectivas frações metanólicas, foram preparadas a partir de 200 mg, solubilizadas em 1 mL de Dimetilsulfóxido (DMSO), para obter uma concentração inicial de

200 mg/mL. Em seguida, estas soluções foram diluídas para 1024 µg/mL, com acréscimo de água destilada, para cada amostra. Para esse ensaio foram utilizadas quatro linhagens bacterianas padrões, cepas oriundas da *American Type Culture Collection*-ATCC. Deste grupo a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, como representante Gram-positiva, e *Escherichia coli* ATCC 10536, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 e *Klebsiella pneumoniae* ATCC 4362, Gram-negativas. E como bactérias multirresistentes, *Escherichia coli* 27 e *Staphylococcus aureus* 358, ambas obtidas a partir de isolados clínicos com perfil de resistência (tabela 1). Todas as linhagens foram mantidas em *Agar infusão de coração* (HIA, DifcoLaboratories Ltda.) e reavivadas em meio *Brain Heart Infusion* (BHI, DifcoLaboratories Ltda.) e incubadas por 24 horas a 37 ± 2 °C em estufa bacteriológica.

Tabela 1. Perfil de resistência das bactérias multirresistente de acordo com sua origem

Bactéria	Origem	Perfil de Resistência
<i>E. coli</i> 27	Ferida cirúrgica	Ast, Ax, Amp, Ami, Amox, Ca, Cfc, Cf, Caz, Cip, Clo, Im, Can, Szt, Tet, Tob
<i>S. aureus</i> 358	Ferida cirúrgica	Oxa, Gen, Tob, Ami, Can, Neo, Para, But, Sis, Net

Ast-Aztreonam; Ax-Amoxicilina; Amp-Ampicilina; Ami-Amicacina; Amox-Amoxicilina; Ca -Cefadroxil; Cfc-Cefaclor; Cf-Cefalotina; Caz-Ceftazidima; Cip-Ciprofloxacina; Clo-Cloranfenicol; Im-Imipenem; Can-Canamicina; Szt-Sulfametrim; Tet-Tetraciclina; Tob-Tobramicina; Oxa-Oxacilina; Gen-Gentamicina; Neo-Neomicina; Para-Paramomicina; But - Butirosina; Sis- Sisomicina; Net-Netilmicina.

A Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi determinada através do método de microdiluição utilizando-se um inóculo de 100 µL de cada linhagem, suspensas em caldo *Brain Heart Infusion*-BHI até uma concentração final de 10⁵ UFC/mL em placas de microdiluição com 96 poços. Em cada poço foi adicionado 100 µL de solução de cada produto natural sofrendo diluições em série. A última fileira de poços foi usada como controle de crescimento de microrganismos. As concentrações finais dos extratos e frações variaram entre 512-8 µL. As CIMs foram definidas como as menores concentrações para a inibição do crescimento.

Para a avaliação dos produtos naturais como moduladores da ação antibiótica, a CIM dos aminoglicosídeos gentamicina, canamicina, amicacina e neomicina (Sigma Chemical Corp., St. Louis, MO, EUA) foi determinada na presença e na ausência dos produtos naturais que estavam em concentração sub-inibitória (CIM/8).¹⁹ As concentrações dos antibióticos variaram de 2500 a 2,5 µL/mL. As bactérias utilizadas foram as multirresistentes, *E. coli* 27 e *S. aureus* 358, devido à relevância clínica. As placas foram então incubadas a 37 °C e lidas depois de 24 h. Revelou-se o resultado com resazurina, 20 µl em cada poço, preparada em água destilada a 0,01 %. Após uma hora foi feita a leitura do teste com base na coloração, onde cor azul típica da resazurina indica ausência de crescimento bacteriano e a mudança

coloração para vermelho indica presença crescimento bacteriano. O teste de modulação sinaliza um efeito sinérgico e/ou antagônico da amostra natural em estudo aos antibióticos aminoglicosídeos.

RESULTADOS

A análise fitoquímica do EEFCP e EECCP e suas respectivas frações metanólicas (FMFCP; FMCCP), revelou a presença de diversos compostos (tabela 2). Esta investigação evidenciou diferença de compostos entre as amostras estudadas. Entre os extratos das folhas e caule de *C. pachystachya* T., (EEFCP; EECCP) a diferença de compostos foi observada apenas na ausência de flavononas no EECCP. Entretanto, este composto foi identificado na fração metanólica (FMCCP) deste extrato. Na FMFCP, mostrou ausência de auronas, leucoantocianidinas e flavononas, enquanto no EEFCP, estes constituintes foram identificados.

Tabela 2. Prospeção fitoquímica de extratos e frações metanólicas de *C. pachystachya*

METABÓLITOS															
Amostras	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
EEFCP	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
FMFCP	-	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-
EECCP	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
FMCCP	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

EEFCP=Extrato Etanólico das Folhas de *C. pachystachya*; FMFCP=Fração Metanólica das Folhas de *C. pachystachya*; EECCP=Extrato Etanólico das Cascas de *C. pachystachya*; FMCCP=Fração metanólica das Cascas de *C. pachystachya*. 1-Fenóis; 2-Taninos Pirogálicos; 3-Taninos Flobabênicos; 4-Antocianinas; 5-Antocianidinas; 6-Flavonas; 7-Flavonóis; 8-Xantonas; 9-Chalconas; 10-Auronas; 11-Flavononóis; 12-Leucoantocianidinas; 13-Catequinas; 14-Flavononas; 15-Alcalóides; (+) presença; (-) ausência.

O EEFCP e o EECCP e as frações metanólicas (FMFCP; FMCCP), apresentaram uma CIM $\geq 1024 \mu\text{g/mL}$ frente às cepas padrões testadas, não demonstrando atividade clínica relevante de acordo com os limites estabelecidos pelo protocolo.²⁰

No entanto, as amostras naturais associadas aos aminoglicosídeos mostraram modulação da atividade antibacteriana dos aminoglicosídeos, apresentando sinergismo contra *S. aureus* 358 e efeito antagônico frente *E. coli* 27 (tabelas 3 e 4).

A associação frente a *S. aureus* 358 apresentou diminuição da CIM, principalmente no que diz respeito à associação das amostras naturais com neomicina, evidenciando sinergismo. A CIM de neomicina foi de $312,5 \mu\text{g/mL}$, quando associado com EEFCP e FMFCP, reduziu para $39,06 \mu\text{g/mL}$, combinado com o EECCP e FMCCP diminuiu a CIM para $78,12 \mu\text{g/mL}$. A canamicina obteve uma CIM de

78,12 µg/mL, quando associada à EEFCP e FMCCP a CIM foi para 19,53 µg/mL, na associação com o EECCP, houve modulação antagônica, aumentando a CIM para 625 µg/mL, assim como a FMFCP, que aumentou a CIM para 1250 µg/mL. A amicacina obteve uma CIM de 78,125 µg/mL e nenhuma das amostras vegetais demonstrou modulação. A gentamicina apresentou uma CIM de 4,88 µg/mL, as amostras EEFC e EECCP, não demonstraram modulação nesta associação, com FMFC e FMCCP a CIM foi para 19,53 µg/mL.

Tabela 3. Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos aminoglicosídeos na presença e na ausência dos produtos naturais em uma concentração CIM/8 (128 µg/mL), frente a linhagens de *S. aureus*

<i>S. aureus</i> 358					
	Controle	EEFCP Combinado	FMFCP Combinado	EECCP Combinado	FMCCP Combinado
Antibióticos					
Canamicina	78,12	19,53	1,250	625	19,53
Amicacina	78,12	78,12	78,12	78,12	78,12
Neomicina	312,5	39,06	39,06	78,12	78,12
Gentamicina	4,88	4,88	19,53	4,88	19,53

EEFCP=Extrato Etanólico das Folhas de *C. pachystachya*; FMFCP=Fração metanólica das folhas de *C. pachystachya*; EECCP=Extrato Etanólico das cascas de *C. pachystachya*; FMCCP=Fração metanólica das cascas de *C. pachystachya*.

Tabela 4. Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos aminoglicosídeos na presença e na ausência dos produtos naturais em uma concentração CIM/8 (128 µg/mL), frente a linhagens de *E. coli*

<i>E. coli</i> 27					
	Controle	EEFCP Combinado	FMFCP Combinado	EECCP Combinado	FMCCP Combinado
Antibióticos					
Canamicina	9,76	2,500	78,12	2,500	1,250
Amicacina	4,88	39,06	156,25	39,06	39,06
Neomicina	9,76	39,06	78,12	78,12	78,12
Gentamicina	4,88	4,88	19,53	19,53	4,88

EEFCP=Extrato Etanólico das Folhas de *C. pachystachya*; FMFCP=Fração metanólica das folhas de *C. pachystachya*; EECCP=Extrato Etanólico das cascas de *C. pachystachya*; FMCCP=Fração metanólica das cascas de *C. pachystachya*.

A associação dos extratos e frações metanólicas com os aminoglicosídeos, frente a *E. coli*, apresentaram aumento da CIM, antagonizando a atividade antibacteriana dos aminoglicosídeos. As amostras EEFCP e FMCCP associado à gentamicina não demonstrou modulação.

DISCUSSÃO

O uso de extratos como agente antimicrobiano, apresenta uma baixa possibilidade dos microrganismos adquirirem resistência à sua ação, porque são misturas complexas, fazendo com que a adaptabilidade microbiana seja dificultada.²¹ Estes compostos de fontes naturais, quando associados a antibióticos podem ter atividade direta contra muitas espécies de bactérias, modulando ou mesmo aumentando a atividade de um antibiótico específico, invertendo a resistência natural das bactérias a antibióticos específicos. A potencialização da atividade antibiótica ou a reversão da resistência aos antibióticos permite a classificação destes compostos como modificadores de atividade antibiótica.²²

A prospecção fitoquímica dos extratos das folhas e caule e suas respectivas frações metanólicas em estudo indicaram a presença de vários tipos de compostos fenólicos, como flavonoides e taninos. Esses resultados corroboram com outros estudos, nos quais foram verificadas a presença de flavonoides, taninos,²³ flavonas,²⁴ flavonoides, catequinas.^{25,26} Costa e outros²⁷ detectou compostos fenólicos nas folhas de *C. pachystachya*, através da análise por Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE-DAD), obteve os flavonoides C-glicosídeos isoorientina, isovitexina e orientina, o flavonoide isoorientina se apresentou como majoritário para *C. pachystachya*. Também foi identificado o ácido clorogênico (ácido 3-O-cafeoilquínico). Estes compostos apresentam atividades conhecida, dentre estas a atividade antimicrobiana.²⁸

Neste estudo o extrato e frações metanólicas de *C. pachystachya*, de forma isolada não demonstrou atividade antimicrobianos. Entretanto, associados aos aminoglicosídeos apresentou atividade frente *S. aureus*, ao reduzir a CIM dos aminoglicosídeos, através do método de microdiluição. No estudo de Paula²³ foi demonstrada atividade antibacteriana moderada para *S. aureus*, pelo método de difusão em disco, formando zona de inibição de 10 e 12mm realizado com extrato metanólico das folhas de *C. pachystachya*. Esta diferença de resultados, possivelmente relaciona-se com a variabilidade genética das espécies vegetais, compostos que apresentam atividade antimicrobiana que podem estar ausentes ou em menor percentual nas amostras estudadas, ou ainda pela diferença dos métodos de cada estudo, associado a fatores variáveis entre os testes, como o crescimento microbiano, exposição do microrganismo ao produto natural testado, a sua solubilidade, a concentração testada e o agente solubilizante.²⁹

A atividade sinérgica observada pode ser devido a presença dos metabolitos secundários presentes nas amostras como os taninos e flavonóides que são sintetizados por plantas em resposta a infecções microbianas,³⁰ sendo capazes de alterar a parede celular ou destruir a membrana plasmática facilitando absorção das drogas.³¹

Diversos estudos relatam que as atividades biológicas dos vegetais estão relacionadas à presença de metabolitos secundários, ou que estes podem facilitar a atividade de antimicrobianos quando em associação. O efeito sinérgico apresentado neste estudo, dos produtos naturais sobre a ação do aminoglicosídeos, frente a *S.*

aureus, pode estar relacionado aos polifenóis, visto que estes compostos são mais ativos contra bactérias Gram-positivas, especialmente, *S. aureus*.³² Esta atividade provavelmente seja relacionada à habilidade dos flavonóides se complexarem com a parede de células bacterianas, resultando no rompimento das membranas microbianas,³³ favorecendo a desintegração das membranas celulares bacterianas por meio da complexação dos agentes associados (produto natural/antibiótico) com a parede celular bacteriana.

Considerando que as bactérias Gram-positivas, possuem parede celular quimicamente menos complexa e menor teor lipídico do que as Gram-negativas,³⁴ devido à ausência da membrana externa de lipopolissacarídeos e das proteínas porinas,³⁵ a estrutura celular de *S. aureus*, possivelmente, contribui para facilitar a ação sinérgica dos produtos naturais aos aminoglicosídeos. Vários trabalhos realizados mostram inibição do crescimento de *S. aureus*, atribuída aos flavonoides.³⁶⁻³⁸ Entretanto, a mistura de compostos presentes nos extratos brutos e frações possuem quantidades elevadas de metabólitos, o que também pode diminuir o efeito das substâncias ativas,³⁹ este dado possivelmente pode justificar o efeito antagônico de FMFCP, EECCP e FMCCP frente a *S. aureus*.

A redução na atividade dos aminoglicosídeos na presença dos produtos naturais testados, frente a *E. coli*, possivelmente seja relacionado ao efeito antioxidante dos flavonoides, que é atribuído à propriedade quelante dos mesmos.⁴⁰ De acordo com *Granowitz Brown*⁴¹ Os efeitos antagônicos do uso combinado entre antibióticos podem ser atribuído a quelação mútua. *Velásquez* e colaboradores relatam potencial antioxidante de *C. pachystachya*, e a prospecção fitoquímica identificou à presença de flavonoides neste estudo, dos quais *Costau* outros identificou que o flavonoide marjoritário é isoorientina nesta espécie. Vários trabalhos demonstram atividade antioxidante *in vivo* e *in vitro* da isoorientina.⁴²⁻⁴⁵

De modo geral, os extratos e frações metanólicas das folhas e caule de *C. pachystachya* demonstraram eficácia em modular a atividade dos antibióticos testados, sendo que para a seu efeito foi potencializado quando associados a estes produtos naturais contra linhagens Gram-positivas, e efeito modulador antagônico para linhagens Gram-negativas testadas. A atividade sinérgica apresentada pelas amostras em estudo frente à linhagem Gram-positiva é bastante relevante, visto que o aumento crescente da frequência *S. aureus* resistentes nos últimos anos tem sido um problema.⁴⁶

Os presentes resultados indicam que extratos e frações de *C. pachystachya*, foram eficazes em potencializar a ação antibacteriana dos aminoglicosídeos frente a *S. aureus* multirresistente testada, uma vez que possuem compostos com reconhecida atividade antibacteriana tais como taninos e flavonóides.

Evidenciando a possibilidade do uso de produtos naturais combinados aos aminoglicosídeos, apresentando uma fonte alternativa de pesquisa de agentes contra as bactérias do gênero *Staphylococcus*, bem como avaliar o efeito dos produtos naturais testados associados a outras classes de antimicrobianos.

REFERÊNCIAS

1. Bush K, Courvalin P, Dantas G, Davies J, Eisenstein B, Huovinen P, et al. Tackling antibiotic resistance. Nat Rev Microbiol. 2011;9(12):894-6.

2. WHO (World Health Organization). The evolving threat of antimicrobial resistance. Geneva. [acessado em 10 de Fevereiro, 2013]. Disponíveis em 2012: http://whqlibdoc.who.int/publications/2012/9789241503181_eng.pdf.
3. Min LI, Yuping L, Amer EV, David JC, Daniel ES, Michael O. Gram positive three-component antimicrobial peptide-sensing system. PNAS. 2007; 104(22):9469-74.
4. Andersson DI, Hughes D. Antibiotic resistance and its cost: is it possible to reverse resistance? Nat. Rev. Microbiol. 2012;8(4):260-71.
5. Slish DFH, Arvigo R, Balick M. Ethnobotany in the search for vasoactive herbal medicines. J. Ethnopharmacol. 1999;66(2):159-165.
6. Nascimento GGF, Locatelli J, Freitas PC, Silva GL. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. Braz. J. Microbiol. 2000;31(4):24756.
7. Marquez B, Neuville L, Moreau NJ, Genet JP, dos Santos AF, de Andrade MCC, et al. Multidrug resistance reversal agent from *Jatropha elliptica*. Phytochemistry. 2005;66(15):1804-11.
8. Berg CC. Cecropia (Cecropiaceae) no Brasil, ao sul da Bacia Amazônica. Albertoa. 1996;4(16):213-221.
9. Pott A, Pott VJ. Plantas do Pantanal. vol 5. Brasil: Brasília: Embrapa; 1994. p 320.
10. Da Silva MAB, Melo LVL, Ribeiro RV, Souza JPM, Lima JCS, Martins DTO, et al. Ethnobotanical survey of plants used as antihyperlipidemic and anorexigenic by the population of Nova Xavantina-MT, Brazil. Rev Bras Farmacogn. 2010;20(4):549-62.
11. Souza CD, Felfili JM. Uso de plantas medicinais na região de Alto Paraíso de Goiás, GO, Brasil. Acta Bot Bras. 2006;20(1):135-42.
12. Rodrigues VEG, Carvalho DA. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais no domínio do Cerrados na região do Alto Rio Grande - Minas Gerais. Ciênc. Agrotec. 2001;25(1):10223.
13. Rocha FF, Lima-Landman MT, Tanae MM, de Lima TC, Lapa AJ. Antidepressant-Like Effect of *Cecropia glaziovii* Sneth and Its Constituents - *In Vivo* and *In Vitro* Characterization of the Underlying Mechanism. Phytomedicine. 2007;14(6):396-402.
14. Velázquez E, Tournier HA, Buschiazzo PM, Daavedra G, Schinella GR. Antioxidant activity of Paraguayan plant extracts. Fitoterapia. 2003;74(1-2):91-7.
15. Consolini AE, Ragone MA, Migliori GN, Conforti P, Volonté MG. Cardiotoxic and sedative effects of *Cecropia pachystachya* Mart. (Ambay) on isolated rat hearts and conscious mice. J. Ethnopharmacol. 2006;106(1):90-6.
16. Hikawczuk VJ, Saad JR, Guardia T, Juarez AO, Giordano OS. Anti-inflammatory activity of natural compounds isolated from *Cecropia pachystachya*. An. Asociac. Química Argentina. 1998;86(3-6):167-170.
17. Matos FLA. Introdução a Fitoquímica Experimental. 2.ed. Fortaleza: UFC, Fortaleza, 1997. p.141.
18. Coutinho HDM, Costa JGM, Lima EO, Silva FVS, Siqueira JR. Enhancement of the Antibiotic Activity against a Multiresistant *Escherichia coli* by *Mentha arvensis* L. and Chlorpromazine. Chemotherapy. 2008; 54(4):328-30.
19. Houghton PJ, Howes MJ, Lee CC, Steventon G. Uses and abuses of in vitro tests in ethnopharmacology: Visualizing an elephant. J. Ethnopharmacol. 2007;110(3):391-400.

20. Daferera DJ, Ziogas BN, Polissiou MG. The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. Crop Protection. 2003;22(1):39-44.
21. Coutinho HDM, Costa JGM, Lima OE, Falcão-Silva VS, Junior-Siqueira JP. In vitro interference of *Momordica charantia* in the resistance to aminoglycosides. Pharm Biol. 2009;47(11):1056-59.
22. Paula CC. Avaliação da atividade antimicrobiana in vitro e in vivo de *Conyza bonariensis* (L.) Cronquist (Margaridinha do Campo) e *Macrosiphonia velame* (A. St.-Hil.) Müll. Arg. (Velame Branco). 2010. [Dissertação]. Cuiabá: Universidade Federal de Mato Grosso; 2010.
23. Silva FM, Aqüila MEA. Potencial alelopático de espécies nativas na germinação e crescimento inicial de *Lactuca sativa* L. (Asteraceae). Acta bot Bras. 2006;20(1):61-9.
24. Lacaille-Dubois MA, Franck U, Wagner H. Search for potential Angiotensin Converting Enzyme (ACE)-inhibitors from plants. Phytomedicine. 2001;8(1):47-52.
25. Tanae M, Lima-Landman M, De Lima M, Souccar C, Lapa A. Chemical standardization of the aqueous extract of *Cecropia glaziovii* Sneth endowed with antihypertensive, bronchodilator, antiacid secretion and antidepressant-like activities. Phytomedicine. 2007;14(5):309-13.
26. Costa GM, Ortman CF, Schenkel EP, Reginatto FH. An HPLC-DAD method to quantification of main phenolic compounds from leaves of *Cecropia* species. J Braz Chem Soc. 2011;22(6):1089-95.
27. Monteiro JM, Albuquerque UP, Araújo EL. Tannis: from chemistry to ecology. Quím. Nova. 2005;28(5):892-96.
28. Oliveira IS. Avaliação da Atividade Antimicrobiana *in vitro* e *in vivo* de *Crotonurucurana Baillon* (Sangra D`Água). 2007. [Dissertação]. Cuiabá: Universidade Federal de Mato Grosso; 2007.
29. Ho KY, Tsai CC, Huang JS, Chen CP, Lin TC, Lin CC. Antimicrobial activity of tannin components from *Vaccinium vitis-idaea* L. J Pharm Pharmacol. 2001;53(2):187-91.
30. Figueredo FG, Ferreira EO, Lucena BF, Torres CM, Lucetti DL, Lucetti EC, et al. Modulation of the Antibiotic Activity by Extracts from *Amburana cearensis* A. C. Smith and *Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan. Biomed Res Int. 2013;2013:1-5.
31. Taguri T, Tanaka T, Kouno I. Antimicrobial activity of 10 different plant polyphenols against bacteria causing food-borne disease. Biol. Pharm. Bull. 2004;27(12):1965-69.
32. Cowan MM. Plant products as antimicrobial agents. Clin. Microbiol Rev. 1999;12(4):564-82.
33. Loguercio AP, Battistin A, Vargas ACDE, Henzel A, Witt NM. Atividade antibacteriana de extrato hidro-alcoólico de folhas de jambolão (*Syzygium cumini* (L.) Skells). Ciênci. Rural. 2005;35(2):371-76.
34. Montanari MLC, Montanari CA. Validação lateral em relações quantitativas entre estrutura e atividade farmacológica, QSAR. Química Nova. 2002;25(2):231-40.
35. Cushnie TPT, Lamb AJ. Detection of galangin-induced cytoplasmic membrane damage in *Staphylococcus aureus* by measuring *potassium loss*. J Ethnopharmacol. 2005;101(1-3):243-8.

36. Andrade CA, Peitz C, Cúnico M, Carvalho JLS, Abrahão WM, Miguel OG, Miguel MD, Kerber VA. Avaliação da atividade antibacteriana e triagem fitoquímica das flores de *Acacia podalyriifolia* A. Cunn. ex G. Don Leguminosae-Mimosoideae Ver. Bras Farmacogn. 2005; 15(1): 13-15.
37. Sato J, Goto K, Nanjo F, Kawai S, Murata K. Antifungal activity of plant extracts against *Arthrinium sacchari* and *Chaetomium funicola*. J Biosci Bioeng. 2000; 90(4): 442-46.
38. Peitz C, Cúnico MM, Miguel OG, Miguel MD, Kerber VA. Avaliação da atividade antibacteriana e triagem fitoquímica das folhas de *Acacia longifolia* (Andr.) Willd. (Leguminosae). Rev Bras Farmacogn. 2003; 13(2): 61-5.
39. Behling EB, Sendão MC, Francescato HDC, Antunes LMG, Bianchi MLP. Flavonoid quercetin: general aspects and biological actions. Alim Nutr. 2004; 15(3): 285-92.
40. Granowitz EV, Brown RB. Antibiotic adverse reactions and drug interactions. Crit Care Clin. 2008; 24(2): 421-42.
41. Budzianowski J, Pakulski G, Robak J. Studies on antioxidative activity of some C-glycosylflavones. Pol J of Pharmacol Pharm. 1991; 43(5): 395-401.
42. Deliorman OD, Aslan M, Aktay G, Ergun E, Yesilada E, Ergun F. Evaluation of hepatoprotective effect of *Gentiana olivieri* herbs on subacute administration and isolation of active principle. Life Sci. 2003; 72(20): 2273-83.
43. Coelho RG, Gonzalez FG, Sannomiva M, Di Stasi LC, Vilegas W. Gastric anti-ulcer activity of leaf fractions obtained of polar extract from *Wilbrandia ebracteata* in mice. Nat Prod Res. 2009; 23(1): 51-9.
44. Shibano M, Kakutami K, Taniguchi M, Yasuda M, Baba K. Antioxidant constituents in the dayflower (*Commelina communis* L.) and their β -glucosidase-inhibitory activity. Nat Med. 2008; 62(3): 349-53.
45. Catão RMR, Antunes RMP, Arruda TA, Pereira MSV, Higino JS, Alves JA, Passos MGVM, Santos VL. Atividade antimicrobiana "in vitro" do extrato etanólico de *Punica granatum* Linn. (romã) sobre isolados ambulatoriais de *Staphylococcus aureus*. RBAC. 2006; 38(2): 111-14.

Recibido: 17 de julio de 2013.

Aprobado: 11 de marzo de 2014.

Dr. Saulo Relison Tintino. Departamento de Química Biológica, Universidade Regional do Cariri – URCA, Crato-CE, Brasil. Rua Cel. Antonio Luis 1161, Pimenta, 63105-000. Fone: +55(88)31021212; Fax +55(88) 31021291. Correo electrónico: saulorelison@gmail.com