Revista de Ciências
Farmacêuticas
Básica e Aplicada
Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences

Rev Ciênc Farm Básica Apl., 2011;32(2):193-199
ISSN 1808-4532

Atividades antioxidante e antimicrobiana de *Ziziphus joazeiro* mart. (Rhamnaceae): avaliação comparativa entre cascas e folhas

Silva, T.C.L[1]*; Almeida, C.C.B.R.[2]; Veras Filho, J.[2]; Peixoto Sobrinho, T.J.S.[2]; Amorim, E.L.C.[2]; Costa, E.P.[3], Araújo, J.M.[4]

[1]Departamento de Enfermagem, Centro Acadêmico de Vitória, Universidade Federal de Pernambuco, Vitória de Santo Antão – PE, Brasil.
[2]Departamento de Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife - PE, Brasil.
[3]Mestranda em Ciências Farmacêuticas, Departamento de Farmácia,Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências da Saúde, Recife - PE, Brasil.
[4]Departamento de Antibióticos, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife - PE, Brasil.

Recebido 06/09/2010 / Aceito 03/12/2010

RESUMO

Os objetivos deste estudo foram determinar as atividades antioxidante e antimicrobiana de extratos de cascas e folhas de uma notável árvore da Caatinga (semi-árido brasileiro), usado em remédios populares, *Ziziphus joazeiro* Mart. A atividade antioxidante foi avaliada através do método de captação pelo DPPH, enquanto a atividade antimicrobiana foi avaliada pelo método de difusão em ágar seguido pela determinação da concentração inibitória mínima (CMI). Os resultados mostraram que ambos os extratos de Z. joazeiro possuem atividade antioxidante com EC_{50} de 461,88 e 1.743,05mg/mL para as folhas e casca, respectivamente. As amostras foram ativas contra 70% das bactérias testadas. O extrato de folhas mostrou CMI entre 0,25-0,5 mg/mL contra *Micrococcus luteus* e entre 0,125-0,250 mg/mL contra *Mycobacterium smegmatis*, enquanto o extrato da casca apresentou CMI entre 0,5-1,0 mg /ml *M. smegmatis*.

Palavras-chave: Juazeiro. DPPH. CMI.

INTRODUÇÃO

A atividade metabólica normal produz constantemente radicais livres que reagem com DNA, RNA, proteínas e outras substâncias oxidáveis, promovendo danos que podem contribuir para o envelhecimento e o aparecimento de doenças degenerativas, como câncer, aterosclerose e artrite reumática (Melo et al., 2006). Antioxidantes são substâncias que retardam ou previnem significativamente a oxidação de lipídios ou outras moléculas ao inibirem a iniciação e/ou propagação da reação de oxidação em cadeia (Lima et al., 2006).

A presença de radicais livres tem sido correlacionada com um grande número de doenças, não possuindo papel etiológico na grande maioria dos estados patológicos, mas que participam diretamente dos mecanismos fisiopatológicos que determinam a continuidade e as complicações presentes nesses processos (Sousa et al., 2007; Ardestani & Yazdanparast, 2007). O aumento na produção de radicais livres pode ocorrer devido à hiperóxia (aumento na quantidade de oxigênio em tecidos e órgãos) e à exposição das células ou indivíduos a certos componentes químicos, à radiação ou à inflamação tecidual local, resultando em estresse oxidativo, caracterizado por um desequilíbrio entre oxidantes e antioxidantes, no qual ocorre predominância de radicais livres (El-Habit et al., 2000).

Em relação aos danos causados pela radiação ionizante, os mais importantes são os relacionados à molécula de DNA, uma vez que é a responsável pelo armazenamento e transporte das informações genéticas. Quando presentes no interior dos tecidos, os radicais livres podem danificar o DNA, lipídios, proteínas e carboidratos (Sousa et al., 2007; Ardestani & Yazdanparast, 2007). Adicionalmente, são responsáveis por numerosas condições clínicas, como enfarto do miocárdio, câncer e doenças renais, hepáticas, pulmonares (fibrose cística), intestinais, cerebrais (Mal de Parkinson), articulares (artrite reumatóide) e oftamológicas (catarata) (Stratil et al., 2007). A produção de radicais livres constitui um dos fatores decorrentes da interação da radiação com a matéria.

Em função da grande diversidade química existente, particularmente, entre os compostos fenólicos, vários ensaios têm sido desenvolvidos para avaliar a capacidade antioxidante de diferentes amostras. Alguns deles determinam a habilidade dos antioxidantes para sequestrar

Autor correspondente: Tássia Campos de Lima e Silva - Departamento de Enfermagem - Centro Acadêmico de Vitória - Universidade Federal de Pernambuco - CEP.55608-680 - Vitória de Santo Antão - PE - Brasil - fone:(81) 8805-9352/8688-9352/3361-2767 - e-mail:tassiacampos@yahoo.com.br

radicais livres gerados no meio da reação, outros avaliam a eficiência dos antioxidantes em inibir a peroxidação lipídica por meio da quantificação dos produtos da reação, como dienos conjugados e hidroperóxidos, bem como dos produtos de decomposição da peroxidação lipídica ou medindo a inibição da oxidação do lipídio do sistema pelo antioxidante a ser testado (Melo et al., 2006).

Pertencente à família Rhamnaceae, o gênero *Ziziphus* Mill. possui cerca de 100 espécies amplamente distribuídas, sendo *Z. joazeiro* Mart., conhecida por juazeiro ou laranjeira-do-vaqueiro, o representante mais notável do bioma Caatinga (Lorenzi & Matos, 2002). *Z. joazeiro* apresenta vasto uso popular para o tratamento de problemas de pele, como dermatites e micoses (Cruz et al., 2007). De acordo com Albuquerque et al., (2007), a planta inteira possui diversos usos medicinais, como antisséptico bucal, contra problemas dermatológico (caspa, sarna, dermatite por seborreia e coceiras), do sistema respiratório (asma, tosse, pneumonia, tuberculose, bronquites, inflamação de garganta e gripe) e sistema digestório (constipação, estomatite, úlceras gástricas e má-digestão), sendo ainda relatado o uso como cicatrizante (Almeida et al., 2005; Kato, 1998). Segundo Kato (1998), o córtex do caule e folhas é rico em saponinas, sendo usado na fabricação de xampu anticaspa e tônico capilar, como também na lavagem de tecidos de algodão e objetos de vidros. Além disso, raspas do córtex do caule quando secas e reduzidas a pó são usadas como dentifrício.

Estudos da atividade antifúngica com a entrecasca da planta foram realizados com a finalidade de avaliar a ação contra monilíase e dermatoses. Observou-se atividade importante frente a *Candida albicans, Cryptococcus neoformans* e *Fonsecaea pedrosoi* - com valores de CMI inferiores ao do controle (anfotericina B) -, além de *Candida guilliermondii* e *Trichophyton rubrum* - com resultados semelhantes ao do antibiótico de referência (Cruz et al., 2007). Este fato, somado ao alto custo dos antibióticos de última geração e ao crescente fenômeno de resistência de drogas, aumenta a procura por novas substâncias com menor custo (Alviano et al., 2008).

Em estudos conduzidos por Alviano et al., (2008), o extrato aquoso, da entrecasca de *Ziziphus joazeiro* Mart., apresentou atividade contra bactérias da microbiota oral, associadas a doenças peridentais, *Prevotella intermédia, Porphyromonas gingivalis, Fusobacterium nucleatum*, *Streptococcus mutan* e *Lactobacillus casei*, bactérias cariogênicas. A atividade antioxidante também foi avaliada pelos autores a partir de ensaios fotométricos, apresentando o extrato aquoso da entrecasca um bom potencial antioxidante.

Ensaios pré-clínicos são relatados por Nunes et al., (1987), avaliando a atividade antipirética do extrato aquoso das cascas de Juá em coelhos infectados com a endotoxina de *E. coli*. Os autores relataram que houve uma diminuição significativa da febre nos animais através da administração oral da infusão. A ação antipirética foi também observada para o extrato metanólico das folhas de *Zizyphus oxyphylla* Edgew (Nisar et al., 2007).

Em relação à composição química da entrecasca da planta, é relatada a presença de ácido betulínico, ácido oleanólico e saponina (Barbosa-Filho et al., 1985; Higuchi et al., 1984). A cera epicuticular das folhas de *Z. joazeiro* Mart. é rica em n-alcanos que retêm água na planta, além de triterpenoides (lupeol, beta-amirina, epifriedelinol e ácido ursólico) (Oliveira & Salatino, 2000; 2003).

Schühly et al., (1999, 2000) isolaram, do extrato metanólico da entrecasca, duas novas saponinas e uma aglicona, e posteriormente realizaram testes antimicrobianos utilizando extrato diclorometano, para o qual se observou atividade apenas frente a bactérias Gram-positivas, com destaque para *Staphylococcus epidermidis* e *Bacillus cereus.*

O presente estudo analisou a atividade antioxidante e antimicrobiana dos extratos etanólicos de *Ziziphus joazeiro* Mart. por meio de uma investigação comparativa entre cascas e folhas.

MATERIAL E MÉTODOS

Caracterização da área e coleta de material vegetal

A coleta foi realizada na comunidade de Carão (08°35'13,5"S e 36°05'34,6"W), zona rural do município de Altinho, distante 163 km de Recife. A região está localizada no Agreste central de Pernambuco, com área total de 454.486 km², clima Bsh (semiárido quente) (IBGE, 2000), a 469 m acima do nível do mar e a 16 km do centro urbano.

Preparação do material vegetal

As amostras de *Z. joazeiro* foram coletadas e acondicionadas em sacos de papel até o processo de secagem. O material testemunho foi armazenado no Herbário UFP Geraldo Mariz do Departamento de Botânica na Universidade Federal de Pernambuco (exsicata de nº. 55.097). Após secagem à temperatura ambiente, o material foi submetido à trituração, sendo o pó resultante devidamente identificado.

Avaliação da capacidade antioxidante dos extratos

A ação antioxidante foi analisada pela capacidade que compostos antioxidantes têm de captar o radical livre DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil), conforme a metodologia descrita por Sousa et al., (2007). As amostras foram preparadas adicionando-se 1mL desta solução de DPPH a 3 mL de soluções dos extratos diluídos em etanol a concentrações de 5, 10, 25, 50, 125 e 250 µg/mL. Como controle, foi utilizado 0,5 mL de solução etanólica de DPPH 1 mM e 3 mL de etanol. A atividade captadora de radical foi avaliada por espectrometria (517 nm) e a porcentagem de inibição foi calculada conforme a equação:

$$\%\ de\ Inibição = \left[\frac{(Abs_{Controle} - Abs_{Amostra})}{Abs_{Controle}}\right] X\ 100$$

Onde: Abs controle = absorbância do controle (solução de DDPH sem antioxidante); Abs amostra = absorbância da amostra a ser testada. Comprimento de onda: 517nm.

Os experimentos foram realizados em triplicata. Usando concentrações crescentes de amostras, foram

obtidos gráficos de concentração x resposta inibitória (%). A CE_{50}, ou seja, a concentração da amostra ou padrão que causa 50% de redução da concentração inicial de DPPH, foi obtida por regressão linear.

Ensaios microbiológicos

A atividade antimicrobiana foi avaliada em dois ensaios. Inicialmente, realizou-se o teste de difusão em ágar com o uso de discos de papel conforme Bauer et al., (1966), com adaptações. Posteriormente, para os extratos que apresentaram halos de inibição acima de 15 mm, determinou-se a Concentração Mínima Inibitória (NCCLS, 1997).

Microrganismos testes

Os extratos de *Z. joazeiro* foram avaliados frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, álcool-ácido resistentes, fungos (levedura) (Tabela 1) cultivadas em meios apropriados para cada espécie das classes acima citadas.

Os microrganismos selecionados estão associados à infecção nosocomial e presentes na microbiota bacteriana colonizante da ferida por queimadura, cujo tratamento é importante para evitar complicações infecciosas mais graves (Martins et al., 2004). Essas espécies foram doadas pelo Laboratório de Bacteriologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco, sendo posteriormente incorporadas à coleção de microrganismos do Departamento de Antibióticos da UFPE.

Teste de Difusão em Ágar

Os microrganismos utilizados nos testes foram mantidos em meios de conservação específicos, a 5ºC, e cultivados a 35°C por 24 horas, com exceção de *Mycobacterium smegmatis* e *Candida albicans,* que foram cultivados a 30°C por 48 horas para que fossem usadas colônias no ápice da curva de crescimento. Foi preparada uma suspensão dos microrganismos em solução fisiológica estéril, a uma concentração de 3 x 10^8 UFC/ mL, na escala padronizada MacFarland de 2,0 para *Mycobacterium smegmatis* e para os demais na escala de 0,5 a 1,0 (Murray et al., 1995). Com um swab, os microrganismos foram inoculados em Agar. Foi utilizada uma concentração de 1mg/mL de amostra impregnada em discos de papel. Os solventes, bem como os diluentes utilizados na dissolução dos extratos, foram usados como controle negativo. Os testes foram realizados em triplicata.

A leitura dos halos de inibição foi realizada, após incubação, a temperaturas de 30°C para *Mycobacterium smegmatis* e *Candida albicans,* durante 48 horas, e 35 ºC para as demais bactérias durante 24 horas.

A atividade antibacteriana de cada amostra foi avaliada comparando-se os diâmetros dos halos de inibição frente aos microrganismos estudados, sendo considerado que o extrato tem forte atividade quando o mesmo produz halos superiores a 16 mm; moderada atividade, para halos entre 13 mm e 15 mm e baixa atividade para halos abaixo de 12 mm (Koneman, 2008; Ayres et al., 2008).

Concentração Mínima Inibitória (CMI) em meio sólido

Para a determinação da CMI foi usada a técnica em meio sólido, usando concentrações de 5000, 2500, 1250, 1000, 500, 250, 125, 60, 30 e 10 µg/mL, de acordo com as recomendações do NCCLS (1997). Os testes foram realizados em duplicata.

Empregaram-se nessa etapa os microrganismos *Mycobacterium smegmatis* e *Enterococcus faecalis* para testes com extratos obtidos a partir das cascas e *Enterobacter aerogenes, Micrococcus luteus* e *Mycobacterium smegmatis* a partir das folhas, pois, para estes microrganismos, observou-se halos de inibição superiores a 15mm.

A suspensão-inóculo das amostras testadas foi preparada em solução salina (NaCl p/v 0,85%) a partir de culturas de 18-20 horas em ágar Muller Hinton, e a suspensão foi ajustada para a turbidez equivalente ao tubo 0,5 da escala de MacFarland. As placas foram inoculadas 30 minutos após o preparo do inóculo e semeadas com 200µL de cada suspensão distribuídas uniformemente sobre a superfície do Agar com o auxílio da alça de Drigalsky descartável. Após incubação a 37ºC por 48 horas para *Mycobacterium smegmatis* e 24 horas para as demais bactérias, foi observado o crescimento do ponto de inoculação na superfície da placa.

A CMI foi definida como a menor concentração dos extratos capaz de inibir o crescimento dos microrganismos visíveis a olho nu. Foram considerados fortes inibidores os extratos com CMI até 500 µg/mL, inibidores moderados aqueles entre 600 e 1500 µg/mL e inibidores fracos os que apresentam CMI acima 1600 µg/mL (Aligiannis et al., 2001).

RESULTADOS

Avaliação da capacidade antioxidante dos extratos

No teste de atividade antioxidante para folhas e cascas de *Z. joazeiro*, foram obtidos os valores de CE_{50} iguais a 461,88 e 1743,05 µg/mL, respectivamente. No entanto, estes resultados estão abaixo dos padrões ácido ascórbico (CE_{50} = 13,95 µg/mL) e rutina (CE_{50} = 40,48 µg/mL). Na Figura 1 são apresentados os dados da porcentagem de atividade antioxidante dos extratos de folhas ou cascas de *Z. joazeiro* e padrões.

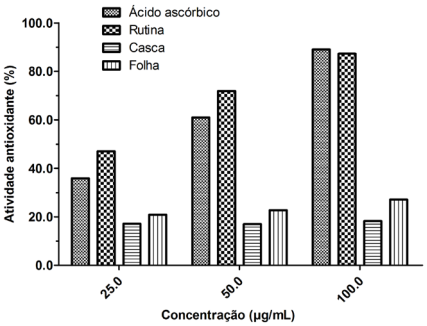

Figura 1. Efeito antioxidante do extrato de cascas e do extrato de folhas de *Z. joazeiro*. Porcentagens de atividade antioxidante obtidas pelo teste de DPPH nas concentrações de 25, 50 e 100 µg/mL. Ácido ascórbico e rutina foram usados como controle positivo.

Teste de difusão em ágar

Na Tabela 1 são apresentadas as medidas de halos de inibição (mm) do crescimento microbiano. Observa-se que a levedura *Candida albicans* foi pouco inibida pelo extrato das cascas da planta.

Tabela 1. Diâmetro dos halos de inibição (mm) do crescimento microbiano promovidos pelos extratos de cascas ou de folhas de *Ziziphus joazeiro* Mart.

Microrganismo	Cascas	Folhas
Pseudomonas aeruginosa (UFPEDA 416)	-	11,5 ± 0
Escherichia coli (UFPEDA 224)	-	-
Staphylococcus aureus (UFPEDA 01)	11,5 ± 0,5	-
Bacillus subtilis (UFPEDA 86)	12,0 ± 1,0	-
Candida albicans (UFPEDA 1007)	10,5±0,5	-
Mycobacterium smegmatis (UFPEDA 71)	22,0 ± 3,0	34,0 ± 4,0
Enterococcus faecalis (UFPEDA 138)	13,0±1,0	-
Serratia marcescens (UFPEDA 352)	10,0 ± 0	-
Klebsiella pneumonae (UFPEDA 369)	12,0 ± 0	11,0 ± 0
Enterobacter aerogenes (UFPEDA 739)	11,0 ± 1,0	15,0 ± 0
Acinetobacter baumanni (UFPEDA 738)	-	-
Proteus mirabilis (UFPEDA 737)	10,0 ± 1,0	-
Pseudomonas aeruginosa (UFPEDA 416)	-	11,0 ± 0
Proteus vulgares (UFPEDA 740)	10,5 ± 0,5	10,0 ± 0
Micrococcus luteus (UFPEDA 100)	12,5 ± 0,5	16,0± 1,0
Enterobacter cloacae (UFPEDA 55)	-	-
Staphylococcus sp. Coagulase (UFPEDA 629)	-	-
Streptococcus pyogenes (UFPEDA 07)	10,5 ±0,5	10,5 ± 0,5

UFPEDA = Coleção do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco. (-) = Não apresentou halo de inibição.

O extrato com atividade mais expressiva foi o das cascas que inibiu 66,66% dos microrganismos testados. Deve ser ressaltado que 10 mg/mL desse extrato inibiu tanto bactérias Gram-positivas quanto Gram-negativas e álcool-ácido resistente.

Cruz et al., (2007), em seu trabalho sobre plantas medicinais utilizadas para o tratamento de micoses, observou que *C. albicans* foi sensível ao extrato aquoso das cascas de *Z. joazeiro,* apresentando CMI de 25 µg/mL. Os diferentes métodos extrativos e diferentes locais de coleta podem ter levado a resultados distintos, como também os diferentes métodos usados para detectar a atividade antimicrobiana.

Concentração mínima inibitória (CMI) em meio sólido

A concentração mínima inibitória (CMI) em meio sólido (Tabela 2) foi determinada para os extratos que apresentaram atividade antimicrobiana mais significativa no teste de difusão em ágar. Observa-se que a CMI dos extratos das cascas de *Z. joazeiro* está entre 0,5 e 1,0 mg/mL para *Mycobacterium smegmatis,* sendo este extrato considerado um inibidor moderado. Para essa mesma bactéria, o extrato das folhas mostrou-se mais eficaz, com CMI entre 0,125 e 0,250 mg/mL, sendo considerado um forte inibidor. O extrato das folhas também foi um forte inibidor para *Micrococcus luteus*, cuja CMI está entre 0,25-0,5 mg/mL. Já para *Enterococcus faecalis* e *Enterobacter aerogenes* os extratos das cascas e das folhas de joazeiro são considerados inibidores fracos, apresentando CMI's respectivamente >10,0 mg/mL e entre 5,0 e 10,0 mg/mL.

Tabela 2 Concentração mínima inibitória (mg/mL) dos extratos das cascas ou folhas de *Ziziphus joazeiro* Mart.

Microrganismo	Cascas	Folhas
Mycobacterium smegmatis (UFPEDA 71)	0,5-1,0	0,125 - 0,25
Enterococcus faecalis ATCC 6057	>10,0	-
Enterobacter aerogenes (UFPEDA 739)	-	5,0 – 10,0
Micrococcus luteus (UFPEDA 100)	-	0,25 - 0,5

(-) = Teste não realizado.

DISCUSSÃO

Avaliação da capacidade antioxidante dos extratos

A análise dos resultados desse trabalho considera como valor de referência a CE_{50} do ácido ascórbico (CE_{50} = 13,95 µg/mL) e da rutina (CE_{50} = 40,48 µg/mL) para comparar a atividade antioxidante das partes da espécie estudadas. Esses compostos foram escolhidos como padrões porque são compostos com alta atividade antioxidante.

A partir dos resultados apresentados na Figura 1, pode-se observar que o extrato das folhas (CE_{50} = 461,88 µg/mL), quando comparado com o de cascas de *Z. joazeiro* (CE_{50} = 1743,05 µg/mL), possui uma atividade antioxidante cerca de 400 vezes maior. Esse fato se deve provavelmente ao alto teor de taninos presentes nessa espécie, com variados tipos estruturais (Silva et al., 2009).

Se comparado aos padrões utilizados (ácido ascórbico e rutina), não apresentou uma atividade antioxidante intensa; no entanto, leva-se em consideração que o objeto de estudo se trata de um extrato bruto comparado a compostos isolados de classes de metabólitos secundários presentes nessa espécie (Silva et al., 2009).

Alviano et al., (2008), utilizando o mesmo método, avaliaram a atividade antioxidante de *Z. joazeiro* e observaram que o extrato etanólico da entrecasca apresentou melhor potencial antioxidante (CE_{50} = 821.4 ±35.3 µg/mL). Acredita-se que a discordância com os valores obtidos no presente estudo seja devido à variação da área de coleta.

Vale destacar a importância de observar que a atividade antioxidante na folha é superior à da casca. Sendo assim, a substituição do uso popular das cascas pelas folhas (fonte renovável) poderia constituir uma atitude importante para a preservação da espécie.

Teste de difusão em ágar

Trabalhos sobre a atividade antimicrobiana de outras espécies de *Ziziphus* são citados na literatura. Ali-Shtayeh et al., (1998), ao realizarem estudo com 20 plantas usadas na medicina popular da Palestina, observaram para *Ziziphus spinachristi* atividade frente às bactérias testadas (*Staphylococcus aureus, Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* e *C. albicans*), com halos que variaram de 6 a 10 mm. Comparando com a espécie estudada, é observada uma semelhança na atividade inibitória (com halos que variaram de 10 a 12mm), exceto para *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*, pois o extrato das cascas da espécie não apresentou atividade.

Em estudo desenvolvido por Adamu et al., (2005), extratos aquosos de quatro espécies de *Ziziphus* (*Z. abyssinica, Z. spina-christi, Z. mauritiana* e *Z. mucronata*), coletadas na Nigéria, mostraram atividade contra cepas de *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. No entanto, apenas a espécie *Z. mucronata* apresentou halos de inibição maiores que 15mm.

Cavalcante (2010), ao avaliar patógenos da cavidade bucal em testes de microdiluição em meio sólido, observou a atividade do extrato etanólico da casca do Juá frente *S. mutans, S. salivarius* e *S. aureus,* sendo a medição do halo inibitório deste último patógeno (15mm) superior ao deste estudo (11,5mm). No entanto, ao se avaliar o decocto da espécie vegetal, a mesma só apresentou atividade frente a *S. mutans.*

Levando em consideração a atividade do extrato das cascas de Juá frente a *Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis, Candida albicans, Mycobacterium smegmatis, Enterococcus faecalis, Serratia marcescens, Klebsiella pneumonae, Enterobacter aerogenes, Proteus mirabilis, Proteus vulgares, Micrococcus luteus* e *Streptococcus pyogenes,* observa-se semelhança nos resultados com a literatura, discordando apenas de *Escherichia coli*, pois os extratos da espécie (folhas e cascas) não apresentaram inibição dessa bactéria e de *Acinetobacter baumanni, Enterobacter cloacae* e *Staphylococcus sp.* Coagulase. O extrato das folhas apresentou atividade frente a *Mycobacterium smegmatis, Klebsiella pneumonae, Enterobacter aerogenes, Proteus vulgares, Micrococcus luteus* e *Streptococcus pyogenes,* diferenciado da casca apenas pela atividade frente *Pseudomonas aeruginosa.*

Concentração mínima inibitória (CMI) em meio sólido

Cruz et al., 2007, verificaram que o extrato aquoso das cascas dessa espécie inibiu 100% dos fungos testados (*Trichophyton rubrum*, *Candida guilliermondii*, *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* e *Fonsecaea pedrosoi*), com CMI entre 6,25 a 400 µg/mL. Da mesma forma, Alviano et al., (2008) também observaram efeito inibitório em estudos conduzidos com mesmo extrato, apresentando atividade contra cinco bactérias da microbiota oral, associadas a doenças periodentais e cariogênicas com CMI entre 1000 e 16000 µg/mL.

Outra espécie de *Ziziphus*, como *Ziziphus spinachristi*, foi testada recentemente por Eldeen et al., (2008), em um estudo comparativo entre diferentes tipos de extratos (diclorometano, acetato de etila e etanólico) e duas partes da planta (cascas e folhas) frente a *Mycobacterium aurum* A+, em que foi observada melhor atividade com o extrato etanólico das cascas (CMI de 0,39 mg/mL). Para as folhas, a CMI foi de 6,25 mg/mL.

A espécie *Zizyphus jujuba* foi testada por Al-Reza et al., (2009) frente a cinco diferentes cepas *de Listeria monocytogenes*, bactéria responsável pela deterioração precoce de alimentos. Os quatro extratos de cascas testados (hexânico, clorofórmico, acetato de etila e metanólico) tiveram comportamento semelhante, com CMI entre 0,0625 a 0,500 mg/mL, sendo o extrato hexânico o menos ativo.

Os extratos vegetais das cascas e folhas de *Z. joazeiro*, devido ao seu potencial antimicrobiano, podem ser considerados um recurso promissor para o tratamento de enfermidades. Os extratos mostraram maior potencial inibitório frente às bactérias *Mycobacterium smegmatis* (para cascas e folhas) e *Micrococcus luteus (extrato das folhas)*. Observa-se que ambas as bactérias são consideradas oportunistas, sendo *Mycobacterium smegmatis,* bacilo álcool-ácido resistente, originalmente isolada do esmegma humano (saprófita) e associada a infecções em lesões dos tecidos moles após trauma. Além disso, é o possível fator na carcinogênese peniana e está relacionada a doenças genitais (Winn et al., 2006). *Micrococcus luteus* (Gram-positiva), isolada da derme, está presente em abscessos dérmico e dento-alveolares (Bergamaschi, 2006).

Organismos provocadores de doença possuem uma capacidade extraordinária para se adaptarem e, nomeadamente, para adquirirem e transmitirem resistência antimicrobiana. Além disso, a utilização excessiva e descontrolada de agentes antimicrobianos favorece o crescimento de organismos resistentes. Apesar de a resistência antimicrobiana existir mesmo antes do aparecimento dos agentes antimicrobianos no tratamento médico, a relação entre as concentrações utilizadas e o aumento da resistência aos microrganismos é do conhecimento geral.

Torna-se necessário que haja investigação contínua para encontrar novos grupos de medicamentos que combatam os organismos resistentes a partir de produtos naturais. No entanto, ainda não há a certeza de quando esses medicamentos estarão eventualmente disponíveis.

O desenvolvimento de fitomedicamentos com atividade antimicrobiana e a informação acerca do mesmo devem destacar-se na estratégia e no sucesso das ações orientadas para conter a resistência antimicrobiana, necessitando de um maior apoio e contribuição da indústria farmacêutica.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo auxílio financeiro. Agradecemos à Dra. Maria do Carmo Monteiro Villar, do Laboratório de Bacteriologia – HC/UFPE, pela coleta e doação das cepas dos isolados clínicos.

ABSTRACT

Antioxidant and antimicrobial activities of Ziziphus joazeiro mart. (Rhamnaceae): comparison between bark and leaves

The objectives of this study were to determine the antioxidant and antimicrobial activities of ethanolic extracts of the bark and leaves of a notable tree of the *caatinga* (Brazilian semiarid scrubland) used in many popular remedies, *Ziziphus joazeiro* Mart. The antioxidant activity was assessed by the DPPH free-radical scavenging assay, while the antimicrobial activity, against a range of Gram positive and negative bacteria and a yeast, was determined by the agar disk diffusion method, followed by an assay of the minimum

inhibitory concentration (MIC). The results showed that both extracts of *Z. joazeiro* have antioxidant activity, the EC_{50} of leaf extract being 461.88 and that of bark 1743.05 mg/mL, with respect to DPPH absorbance in a standard assay. Samples were active against 70% of the bacterial species tested. The leaf extract showed MICs of 0.25-0.5 mg/mL against *Micrococcus luteus* and 0.125-0.250 mg/mL against *Mycobacterium smegmatis*, while the bark extract showed a MIC of 0.5-1.0 mg/mL against *M. smegmatis*.
Keywords: Juazeiro. DPPH. MIC.

REFERÊNCIAS

Adamu HM, Abayeh OJ, Agho MO, Abdullahi AL, Uba A, Dukku HU, Wufem BM. An ethnobotanical survey of Bauchi State herbal plants and their antimicrobial activity J Ethnopharmacol. 2005; 99:1-4.

Albuquerque UP, Medeiros PM, Almeida ALS, Monteiro JM, Lins Neto EMF, Melo JG, Santos JP. Medicinal plants of the Caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil: A quantitative approach. J Ethnopharmacol. 2007; 114:325–54.

Aligiannis N, Kalpoutzakis E, Mitaku S, Chinou IB. Composition and antimicrobial activity of the essential oils two *Origanum* species. J Agric Food Chem. 2001; 49: 4168-70.

Ali-Shtayeh MS, Yaghmour RMR, Faidi YR, Salem K, Al-Nuri MA. Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian área. J Ethnopharmacol. 1998; 60:265-71.

Almeida CFCBR, Silva TCL, Amorim ELC, Maia MBS, Albuquerque UP. Life strategy and chemical composition as predictors of the selection of medicinal plants from the Caatinga (Northeast Brazil). J Arid Environ. 2005: 62(1):127-42.

Al-Reza SM, Bajpai VK, Kang SC. Antioxidant and antilisterial effect of seed essential oil and organic extracts from *Zizyphus jujube*. Food Chem Toxicol. 2009; 47:2374-80.

Alviano WS, Alviano DS, Diniz CG, Antoniolli AR, Alviano C, Farias LM, Carvalho MAR, Souza MG, Bolognese AM. In vitro antioxidant potential of medicinal plant extracts and their activities against oral bacteria based on Brazilian folk medicine. Arch Oral Biol. 2008 ;53:545-52.

Ardestani A, Yazdanparast R. Antioxidant and free radical scavenging potential of *Achillea santolina* extracts. Food chem. 2007; 104:21-9.

Ayres MCC, Brandão MS, Vieira-Júnior GM, Menor JCAS, Silva HB, Soares MJS. Atividade antibacteriana de plantas úteis e constituintes químicos da raiz de *Copernicia prunifera*. Rev Bras Farmacogn. 2008; 18(1):90-7.

Barbosa Filho JM, Trigueiro JA, Cheriyan UO, Bhattacharyya J. Constituents of the Stem-Bark of *Zizyphus joazeiro.* J Nat Prod. 1985 ; 48(1):152-3.

Bauer AW, Kyrby WNM, Serris JC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a stardardized single disck method. Am J Clin Pathol. 1966; 45:493-9.

Bergamaschi CC. Efeito do diclofenaco sódico sobre a biodisponibilidade da amoxicilina em humanos. [Dissertação]. Piracicaba: Faculdade de Odontologia, UNICAMP; 2006.

Cavalcante ALFA. Plantas medicinais e saúde bucal: estudo etnobotânico, atividade antimicrobiana e potencial para interação medicamentosa. [Dissertação]. João Pessoa: Faculdade de Odontologia, UFPB; 2010.

Cruz MCS, Santos PO, Barbosa Jr AM, Melo DLFM, Alviano CS, Antoniolli AR, Alviano DS, Trindade RC. Antifungal activity of Brazilian medicinal plants involved in popular treatment of mycoses. J Ethnopharmacol. 2007; 111:409-12.

El-Habit OHM. The modifying of b-carotene on gamma radiation-induced elevation of oxidative reactions and genotoxicity in males. Mutation Res. 2000; 466:179-85.

Eldeen IMS, Van Staden J. Cyclooxygenase inhibition and antimycobacterial effects of extracts from Sudanese medicinal plants. South African J Bot. 2008; 74:225-9.

Higuchi R, Kubota S, Komori T, Kawasaki T, Pandey VB, Singh JP, Shah AH. Triterpenoid saponins from the bark of *Zizyphus joazeiro*. Phytochem. 1984; 23:2597-0.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Rio de Janeiro; 2000.

Kato ETM, Ohara MT, Nishitami M. Evalution of antimicrobial property of *Ziziphus joazeiro* Martius. Lecta-USF. 1998; 16(2):75-85.

Koneman EW. Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido. 6.ed. São Paulo: MEDSI; 2008.

Lima AR, Barbosa VC, Santos Filho PR, Gouvêa CMCP. Avaliação in vitro da atividade antioxidante do extrato hidroalcoólico de folhas de bardana. Rev Bras Farmacog. 2006; 16:531-6.

Lorenzi H, Matos FJA. Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora; 2002.

Martins GR, Costa SSS, Abdalla LF, Gomes STA, Macedo JLS. J Bras de Patologia e Medicina Laboratorial. In: 38º Congresso Brasileiro de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial, 2004, Florianópolis. Resumos de Temas Livre. Florianópolis, 2004.

Melo EA, Maciel MIS, Lima VLAG, Leal FLL, Caetano ACS, Nascimento RJ. Capacidade Antioxidante de hortaliças usualmente consumidas. Ciênc Tecnol Aliment. 2006; 26:639-44.

Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Yolken RH. Manual of clinical microbiology. 6th. ed. Washington D. C: American Society for Microbiology; 1995.

NCCLS, National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals. Tentative Standards. Waine: Villa Nova; 1997. Doc. M31-T.

Nisar M, Adzu B, Inamullah K, Bashir A, Ihsan A, Gilani AH. Antinociceptive and antipyretic activities of the *Zizyphus oxyphylla* Edgew. Leaves. Phytother Res. 2007; 21: 693-5.

Nunes PHM, Marinho LC, Nunes MLRL, Soares EO. Antipyretic activity of an aqueous extract of *Zizyphus joazeiro* Mart (Rhamnaceae). Braz J Med Biol Res. 1987; 20(5): 599-01.

Oliveira AF, Meirelles ST, Salatino A. Epicuticular waxes from Caatinga and cerrado species and their efficiency against water loss. Ann Braz Acad Sci. 2003; 75(4):431-9.

Oliveira AFM, Salatino A. Major constituents of the foliar apicuticular waxes of species from the Caatinga and Cerrado. Zeitschrift fur Naturforschung C-A J Biosci. 2000; 55(9-10):688-92.

Schühly W, Heilmann J, Çalis I, Sticher O. Novel Triterpene Saponins from *Zizyphus joazeiro*. Helv Chim Acta. 2000; 83(7):1509-16.

Schuhly W, Heilmann J, Calis I, Sticher O. New triterpenoids with antibacterial activity from *Zizyphus joazeiro*. Planta Med. 1999; 65(8):740-3.

Silva TCL. Avaliação comparativa de cascas e folhas de *Ziziphus joazeiro* Mart (Rhamnaceae) em relação aos perfis fitoquimico e toxicológico e as atividades antioxidante e antimicrobiana. [Dissertação] Recife: Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UFPE; 2009.

Sousa CMM, Rocha e Silva H, Vieira Júnior GM, Ayres MC, Costa CLS, Araújo DS, Cavalcante LCD, Barros ED, Araújo PBM, Brandão MS, Chaves MH. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. Quím Nova. 2007; 30:351-5.

Stratil P, Kledjus B, KUBAN V. Determination of phenolic compounds and their antioxidant activity in fruits and cereals. Talanta. 2007; 71:1741-51.

Winn WC, et al., editors. Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology. 6th. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2006. 1535 p.