

IV SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXII Semana de Iniciação Científica

21 a 25 de outubro de 2019

Tema: "Desmonte da Pesquisa, Ciência e Tecnologia: repercussões e impactos tecnológicos, sociais e culturais"



AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E MODIFICADORA DA AÇÃO ANTIBIÓTICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE CROTON CEANOETHIFOLIUS BAILL FRENTE A CEPAS MULTIRRESISTENTES

Cícera Laura Roque Paulo¹, Ana Carolina Justino de Araújo², Priscilla Ramos Freitas³, José Bezerra de Araújo Neto⁴, Ray Silva de Almeida⁵, Saulo Relison Tintino⁶, Talysson Felismino Moura⁷, Wanderlei do Amaral⁸, Henrique Douglas Melo Coutinho⁹

Resumo: O presente estudo objetivou avaliar a atividade antibacteriana e modificadora da ação antibióticos do óleo essencial de *Croton ceanothifolius* Baill e relatar sua composição química. Das folhas de *Croton ceanothifolius* foi extraído o óleo essencial (OECc), por meio de hidrodestilação, para que posteriormente fosse realizado sua caracterização química, por meio de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas, e verificação de sua atividade antibacteriana, pela metodologia de diluições seriadas. Para realização dos testes antibacterianos foram utilizadas cepas multirresistentes de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*. O OECc foi avaliado sozinho para determinação da concentração inibitória mínima (CIM), porém não houve inibição de crescimento em nenhuma das concentrações testadas. Nos ensaios com associação a penicilina, norfloxacino e gentamicina, o óleo essencial demonstrou efeito sinérgico com os antibióticos pertencentes as classes das quinolonas e aminoglicosídeos. Logo, conclui-se sobre o potencial deste óleo essencial enquanto aliado na antibioticoterapia.

Palavras-chave: Antibióticos. *Croton ceanothifolius*. Bactérias multirresistentes.

1. Introdução

O Brasil possui grande diversidade de espécies vegetais com potencial medicinal. Várias espécies do gênero *Croton* são utilizadas de maneira empírica para tratar de enfermidades como; cárie (Gironi et al., 2017), antimicrobiana (Da Costa et al., 2013), e anti-inflamatório (Maciel et al., 2002).

A resistência de alguns micro-organismos à fármacos antibióticos têm se tornado um problema de saúde pública cada vez mais preocupante. Cepas multirresistentes de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*, estão comumente ocasionando infecções em âmbito hospitalar,

1 Universidade Regional do Cariri, e-mail: lauraroquealencar@gmail.com

2 Universidade Regional do Cariri

3 Universidade Regional do Cariri

4 Universidade Regional do Cariri

5 Universidade Regional do Cariri

6 Universidade Regional do Cariri

7 Universidade Regional do Cariri

8 Universidade Federal do Paraná

9 Universidade Regional do Cariri, e-mail: hdmcoutinho@gmail.com

IV SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXII Semana de Iniciação Científica

21 a 25 de outubro de 2019

Tema: "Desmonte da Pesquisa, Ciência e Tecnologia: repercussões e impactos tecnológicos, sociais e culturais"



e de forma mais preocupante, em comunidades (GOPALAKRISHNAN; SURESHKUMAR, 2010).

Óleos essenciais vêm sendo estudados, afim de combater a resistência bacteriana. Atualmente não há relatos de estudos do potencial antibacteriano, nem da capacidade de modificar a ação de alguns antibióticos relacionados a *Croton ceanothifolius* Baill.

2. Objetivo

Avaliar a atividade antibacteriana e modificadora da ação antibióticos do óleo essencial de *Croton ceanothifolius* Baill e relatar sua composição química.

3. Metodologia

A coleta do material vegetal (folhas) de no mínimo 50 exemplares para a extração do óleo essencial foi realizada na Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) Butaguara, no município de Palmeira, PR, localizada a 25° 20.884' S e 049° 47.258' W. A exsicata foi transportada até o Herbário das Faculdades Integradas Espírita, onde foram herborizadas sendo tombadas no acervo sob o nº HFIE 8.288. A extração do óleo essencial foi realizada pelo método de hidrodestilação utilizando o aparelho tipo *Clevenger*. As análises da composição química do produto obtido foram realizadas por Cromatografia Gasosa acoplado à Espectrometria de Massas (CG/EM) em aparelho Shimadzu.

O óleo essencial e os antibióticos: gentamicina, norfloxacin e penicilina foram pesados (10 mg) e diluídos em DMSO e água destilada estéril até se obter a concentração de 1024 µg/mL. Foram utilizadas cepas multirresistentes de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*.

Para a realização do ensaio de Concentração Inibitória Mínima (CIM), foram preparados eppendorfs com 900 µL de BHI a 10% e 100 µL de inóculo bacteriano. O conteúdo foi distribuído em placas de microdiluição de 96 poços e realizou-se a microdiluição seriada realizada com o óleo essencial, de modo que a concentração variou de 512 a 8 µg/mL. Para o teste de ação modificadora de antibióticos, foram preparados eppendorfs com 1162 µL de BHI, 150 µL e um volume de capa composto correspondente a concentração sub-inibitória (CIM/8). O conteúdo foi distribuído em placas de microdiluição de 96 poços e realizou-se a microdiluição seriada realizada com os antibióticos, de modo que a concentração variou de 512 a 0,5 µg/mL.

Todos os testes foram realizados em triplicata e as placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 37°C por 24h. A leitura dos resultados foi feita utilizando-se 20 µL resazurina sódica. A análise estatística foi realizada através do GraphPad Prism 5.0.

4. Resultados

O rendimento do óleo essencial de *C. ceanothifolius* foi 0,23% em relação ao peso total de folhas secas. Após análise com cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM), foi possível identificar 25 componentes, onde deles biciclogermacreno (26,3%), germacreno D (14,7%) e E-cariofileno (11,7%) foram identificados como majoritários.

IV SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXII Semana de Iniciação Científica

21 a 25 de outubro de 2019

Tema: "Desmonte da Pesquisa, Ciência e Tecnologia: repercussões e impactos tecnológicos, sociais e culturais"



Os resultados apresentados estão de acordo com os encontrados por Vunda *et al.* (2012) que avaliaram a composição química de *Croton pallidulus*, *Croton isabelli* e *Croton ericoides*. *Croton argyrophyloides* e *Croton sincorensis* analisadas por Souza *et al.* (2017) obtiveram predominância de sesquiterpenos assim como o OECc. Essas espécies, citadas anteriormente, e *C. isabelli* apresentam os mesmos componentes majoritários que *C. ceanothifolius*.

A Concentração Inibitória Mínima (CIM) avalia somente o produto a ser estudado frente as bactérias selecionadas. Quando o OECc foi testado frente a bactérias multirresistentes, o resultado foi superior a 1024 μ g/mL, indicando que não houve inibição do crescimento bacteriano em concentrações clinicamente relevantes frente a essas bactérias, que vai de acordo com estudos realizados por Coutinho *et al.* (2011), onde dois diferentes extratos de *Croton campestris* obtiveram o mesmo resultado.

Alguns metabólitos secundários de plantas não têm ação antibacteriana em concentrações relevantes quando avaliados sozinhos, porém potencializam o efeito de certos antibióticos. Esse tipo de modificação do efeito antibacteriano é chamado de sinergismo (FIGUEREDO *et al.*, 2013).

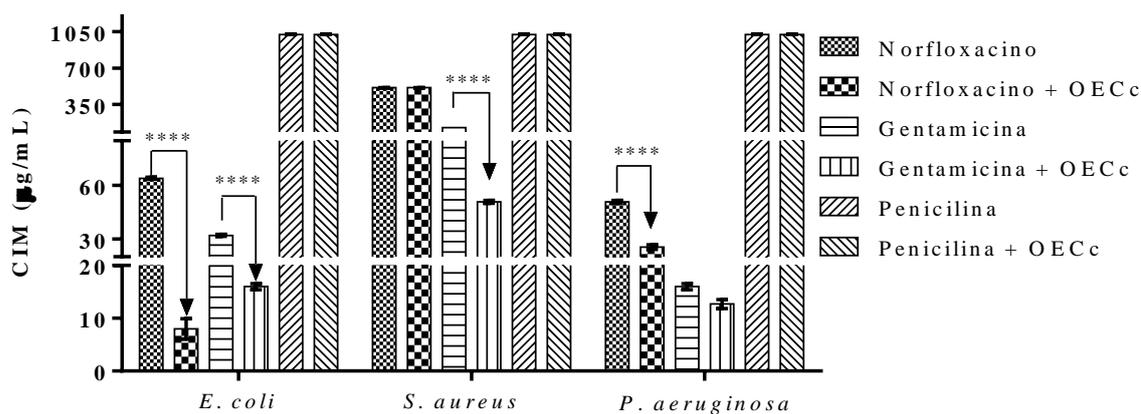


Figura 01 - Efeito modificador da ação de antibióticos por meio do óleo essencial de *Croton ceanothifolius* (OECc) frente a bactérias multirresistentes

Vidal *et al.* (2016) realizou testes microbianos utilizando o óleo essencial de *Croton rhamnifolioides* frente a cepas multirresistentes de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, onde esse óleo reduziu significativamente a MIC de gentamicina. Os resultados obtidos corroboram com os do presente estudo, onde a concentração do antibiótico reduziu de 128 μ g/mL à 50 μ g/mL frente a *S. aureus* e, de 32 μ g/mL para 16 μ g/mL para os testes realizados com *E. coli*.

Frente a bactéria *Pseudomonas aeruginosa* o OECc reduziu a concentração inibitória mínima de gentamicina de 16 μ g/mL para 12 μ g/mL, embora este resultado não seja estatisticamente relevante, o resultado obtido mostra que *Croton ceanothifolius* tem boa ação sinérgica com gentamicina.

Da Costa *et al.* (2013) constataram que o óleo essencial de *Croton rhamnifolioides* tem atividades contra cepas de origem Gram-positiva. *Croton*

IV SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXII Semana de Iniciação Científica

21 a 25 de outubro de 2019

Tema: "Desmonte da Pesquisa, Ciência e Tecnologia: repercussões e impactos tecnológicos, sociais e culturais"



zehntneri apresentou efeito antibacteriana frente a cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* (SARTO; JUNIOR, 2014). Os resultados supracitados comprovam atividade antibacteriana do gênero *Croton*, desse modo fortalecem os resultados atingidos nesse estudo.

O OECc foi testado frente a duas bactérias Gram-negativas, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*, e uma cepa Gram-positiva, *Staphylococcus aureus*. Para as bactérias Gram-negativas os resultados foram mais significativos, mesmo estas cepas tendo uma resistência natural à fármacos devido a camada de lipopolissacarídeos que dificulta a permeabilidade de substâncias.

O efeito de diminuição da concentração inibitória mínima foi observado em dois antibióticos, gentamicina e norfloxacino, quem agem no interior da célula bacteriana, logo, supõe-se que o óleo essencial de *Croton ceanothifolius* facilitou a permeabilidade dos fármacos para o citoplasma bacteriano (COUTINHO *et al.*, 2010).

5. Conclusão

O presente estudo é o primeiro a discorrer sobre *Croton ceanothifolius* Baill enquanto planta com potencial medicinal. Diante dos resultados expostos, pode-se concluir que a espécie desempenha um importante efeito modificador da ação antibacteriana de alguns fármacos, melhorando sua ação frente as bactérias testadas. Dessa forma, sugere-se mais estudos sobre essa espécie pouco conhecida para determinar por qual mecanismo esta consegue potencializar o efeito dos antibióticos testados.

6. Referências

COUTINHO, Henrique DM et al. Modulação da resistência à norfloxacina em *Staphylococcus aureus* por *Croton campestris* A. e *Ocimum gratissimum* L. **Biomédica**, v. 31, n. 4, p. 608-612, 2011.

COUTINHO, H. D. M. et al. Enhancement of the norfloxacin antibiotic activity by gaseous contact with the essential oil of *Croton zehntneri*. **Journal of Young Pharmacists**, v. 2, n. 4, p. 362-364, 2010.

DA COSTA, A. C. V. et al. Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of a *Croton rhamnifolioides* leaves Pax & Hoffm. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 6, p. 2853-2863, 2013.

FIGUEREDO, Fernando G. et al. Modulation of the antibiotic activity by extracts from *Amburana cearensis* AC Smith and *Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan. **BioMed Research International**, v. 2013, 2013.

IV SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXII Semana de Iniciação Científica

21 a 25 de outubro de 2019

Tema: "Desmonte da Pesquisa, Ciência e Tecnologia: repercussões e impactos tecnológicos, sociais e culturais"



GIRONDI, C. M. et al. Screening of plants with antimicrobial activity against enterobacteria, *Pseudomonas* spp. and *Staphylococcus* spp. **Future microbiology**, v. 12, n. 8, p. 671-681, 2017.

GOPALAKRISHNAN, R.; SURESHKUMAR, D. Mudanças nas tendências de suscetibilidade a antimicrobianos e infecções adquiridas em hospitais por um período de 8 anos em um hospital terciário em relação à introdução de um programa de controle de infecções. **J Assoc Physicians**, Índia , v. 58, n. Suppl, p. 25-31, 2010.

MACIEL, M. A. M. et al. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química nova**, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.

SARTO, MPM; JUNIOR, GZ. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais. **Revista uningá Review**. Vol.20,n.1,p.98-102, 2014.

SOUZA, Ana Valéria Vieira de et al. Influência da estação do ano, temperatura de secagem e tempo de extração na produção e composição química do óleo essencial de 'marmeleiro' (*Croton sonderianus*). **Revista de EssEntial oil rEsEarch** , v. 29, n. 1, p. 76-84, 2017.

VIDAL, C. S. et al. Chemical composition, antibacterial and modulatory action of the essential oil of *Croton rhamnifolioides* leaves Pax and Hoffman. **Bioscience Journal**, v. 32, n. 6, 2016.

VUNDA, Sita Luvangadio Lukoki et al. Chemical composition and amoebicidal activity of *Croton pallidulus*, *Croton ericoides*, and *Croton isabelli* (Euphorbiaceae) essential oils. **Parasitology research**, v. 111, n. 3, p. 961-966, 2012.