

# 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"



### CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E MODULADORA DE ANTIBIÓTICOS DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Curcuma longa* L.

Francisco Junio Dias<sup>1</sup>, Alexandro Rodrigues Dantas<sup>1</sup>, Carla de Fatima Alves Nonato<sup>1</sup>, Cicera Janaine Camilo<sup>1</sup>, Débora Odília Duarte Leite<sup>1</sup>, Natália Kelly Gomes de Carvalho<sup>1</sup>, Fabíola Fernandes Galvão Rodrigues<sup>2</sup>, José Galberto Martins da Costa<sup>1</sup>

**Resumo:** Muitas espécies da família Zingiberaceae demonstram potencial farmacológico, dentre elas se destaca a *Curcuma longa* L. (açafrão) utilizada desde a antiguidade para diversos fins. Esse estudo buscou a identificação dos componentes químicos do óleo essencial do rizoma de *C. longa* através de Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de massas (GC/MS). Bem como avaliar sua capacidade antibacteriana frente a duas linhagens de bactérias multirresistente (*E. coli* 27 e *S. aureus* 358) pelo método de microdiluição em placa e pelo mesmo método avaliar sua capacidade moduladora de antibióticos aminoglicosídicos. Foram identificados ao todo 12 constituintes químicos, entre eles Ar-turmerone,  $\beta$ -tumerone e curlone. O óleo demonstrou baixo potencial antibacteriano com concentração inibitória mínima  $\geq 1024 \mu\text{g/mL}$ , porém significativa modulação de antibióticos com resultado de até  $3 \mu\text{g/mL}$  associado a gentamicina frente a *S. aureus*. A caracterização química do óleo essencial foi consistente com outros estudos. A concentração inibitória mínima (CIM) não demonstrou atividade inibitória significativa. Porém demonstrou atividade sinérgica significativa na modulação com antibióticos.

**Palavras-chave:** Zingiberaceae. *Curcuma longa*. Açafrão. Antibacteriano.

#### 1. Introdução

A família Zingiberaceae tem sido evidenciada como fonte de alimentos funcionais, sendo utilizada na culinária, perfumaria e medicina popular por possuir propriedades anti-inflamatória, antibacteriana, antifúngica, antioxidante e estimulantes da digestão. Suas espécies estão distribuídas nos trópicos, especialmente no Sudeste da Ásia, e são facilmente reconhecidas por possuir aromas e rizomas carnudos (Albuquerque e Neves, 2004; Habsah et al., 2000). A espécie *Curcuma longa* L é uma planta de origem indiana bastante difundida, utilizada desde a antiguidade como corante por apresentar pigmento característico, como condimento e também na medicina popular por apresentar propriedades farmacológicas (ALONSO, 2007). No Brasil a *C. longa* faz parte da Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde (RENISUS), por apresentar diversas atividades biológicas como antiparasitária, antiespasmódica, antibacteriana, antioxidante, antiinflamatória e

---

1 Universidade Regional do Cariri, email: juniordias195@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"



anticancerígena (PR VADEMECUM, 1998). O açafrão revela um grande potencial econômico de mercado, dentre as variadas plantas medicinais em estudo (PRADO et. al., 2010). O açafrão mostra-se como um suplemento nutricional eficaz, por suas propriedades funcionais quando consumido diariamente, nessa perspectiva se faz importante seu estudo (BRUNELLI, 2015).

### 2. Objetivo

- Identificar compostos voláteis presentes no óleo essencial de *Curcuma longa*;
- Avaliar a capacidade antibacteriana frente a bactérias multirresistentes;
- Avaliar a capacidade modulatória de antibióticos aminoglicosídeos.

### 3. Metodologia

#### Material vegetal

O rizoma de *C. longa* (291g) foi adquirido comercialmente em junho de 2019, na feira de Juazeiro do Norte, Ceará, Brasil. O óleo essencial de *Curcuma longa* (OECL) foi extraído em hidroddestilador com aparelho do tipo Clevenger durante 6 h. Foi tratado com sulfato de sódio para remoção de água. O óleo essencial obteve rendimento de 0,044 %.

#### Composição química dos óleos essenciais

A análise dos constituintes voláteis do óleo essencial de *C. longa* se deu por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de massas (GC/MS) pelo modelo Shimadzu GC-MS QP2010 equipado com uma coluna capilar de sílica fundida Rtx-5MS (30 m x 0.25 mm DI; 0.25 m de espessura de filme) e temperatura programada a seguir: 60 –240 ° C a 3 ° C / min, depois a 280 ° C a 10 ° C / min, terminando com 10 min a 280 ° C. O gás transportador foi He a uma taxa de fluxo de 1.5 mL / min e o modo de divisão tinha uma razão de 1:50. A porta de injeção foi ajustada a 220 ° C. Parâmetros operacionais significativos do quadrupolo MS: temperatura da interface 240 ° C; ionização por impacto de elétrons a 70 eV com faixa de massa de varredura de 40 a 350 m / z a uma taxa de amostragem de 1.0 scan / s. Volume injetado: 1 µL de solução de 5 µg / mL em diclorometano. Constituintes foram identificados por pesquisa de computador usando bibliotecas digitais de dados espectrais de massa (NIST 08) e por comparação de seus espectros de massa autênticos (Adams, 2001).

#### Concentração inibitória mínima (CIM)

A concentração inibitória mínima foi realizada pelo método de microdiluição em placas, de acordo com o documento M7 6ª. Foram utilizadas 2 linhagens de bactérias, sendo uma Gram-positiva: *Staphylococcus aureus* 358, e uma Gram-negativa: *Escherichia coli* 27. As bactérias foram previamente reavivadas utilizando meio de cultura Brain Heart Infusion Broth (BHI 3,8%) e em seguida foram incubadas durante 24 h a 35 ± 2° C em estufa bacteriológica. Logo após, procedeu-se a padronização do inóculo a uma suspensão que continha aproximadamente 1 x 10<sup>8</sup> UFC/mL (0,5 unidades de turbidez nefelométrica -

# 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"



escala McFarland). Em seguida, essa suspensão foi diluída a  $1 \times 10^6$  UFC/mL em caldo BHI 10%, e volumes de 100µL foram adicionados e homogeneizados nos poços da placa de microdiluição, acrescido de diferentes concentrações do OECL (512 a 8µg/mL), resultando num inóculo final de  $5 \times 10^5$  UFC/mL. O teste foi realizado em triplicata e a placa incubada em estufa a  $35 \pm 2$  ° C, durante 24 h. A leitura foi realizada pelo método de colorimetria pela adição de 25µL do corante resazurina (0,01%) em cada poço. A concentração inibitória mínima (CIM) foi definida como a menor concentração do extrato capaz de inibir o crescimento dos microrganismos.

### Modulação com antibióticos

Para análise do potencial modulatório do OECL, utilizou-se antibióticos aminoglicosídeos (amicacina e gentamicina), que inibem a síntese proteica agindo na subunidade 30s dos ribossomos bacterianos. Seguiu-se a metodologia proposta por Coutinho *et al.* (2008). Foram utilizadas as mesmas linhagens bacterianas utilizadas na CIM a Gram-positiva: *Staphylococcus aureus* 358, e a Gram-negativa: *Escherichia coli* 27. O teste foi realizado na presença e na ausência do OECL. Os inóculos bacterianos (CIM/8) em BHI 10% foram distribuídos em placas de microdiluição seguido da adição das concentrações das soluções dos antibióticos (1.024µg/mL), através de diluições seriadas. As placas foram incubadas a 35 ° C por 24 h em estufa bacteriológica e a leitura realizada por colorimetria pela adição de 25µL da solução de resazurina (0,01%) conforme o ensaio anterior (CIM).

## 4. Resultados

### Composição química

Foram identificados 12 constituintes no OECL tendo como componentes majoritários Ar-turmerone (36,78 %), β-turmerone (32,33 %) e curlone (19,18 %) Todos os constituintes estão representados na Tabela 1.

**Tabela 1.** Composição química (%) do óleo essencial do *C. longa* (OECL).

Components	RT(min)	(%)
Curcuma	10,48	1,06
α-zingibereno	10,96	0,76
β-sesquifelandreno	11,29	1,15
dicumeno	11,96	1,86

# 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"



cedren-13-ol	12,33	0,80
lanceol	12,75	1,32
Ar-tumerone	13,25	36,78
$\beta$ -tumerone	13,33	32,33
curlone	13,91	19,18
diciclo-hexil-monolônitrilo	15,27	086
2-ciclo-hexill-2-fenil-propano	15,37	1,05
Total		97,15

Majolo et al. (2014) obtiveram como componente majoritário o Ar-tumerona no OECL, porém não identificaram a presença dos compostos  $\beta$ -tumerona e curlone. Os resultados também corroboram com Gounder & Lingamallu (2011) que relataram a presença de Ar-tumerona e  $\beta$ -tumerona como majoritários na composição do óleo essencial. As variações na presença e quantidade de compostos de óleos essenciais é determinada por fatores genéticos, porém fatores sazonais podem alterar a produção de metabólitos secundários, sendo a composição química e o teor de óleo essencial capazes de sofrer alterações durante as estações do ano (Choudhury et al., 1986). Segundo Martins et al. (1995), o excesso ou a deficiência de nutrientes pode estar diretamente correlacionado à variação na produção de substâncias ativas. Outros determinantes que podem ser citados são o estágio de desenvolvimento da planta e frequência e a intensidade do estresse hídrico. Fatores estes que podem justificar a diferença na composição do óleo em diferentes trabalhos.

### Concentração Inibitória Mínima (CIM)

No ensaio da concentração inibitória mínima o óleo essencial não apresentou inibição do crescimento bacteriano nas concentrações testadas, obtendo CIM  $\geq$  1024  $\mu\text{g/mL}$ . Estudos comprovam baixa atividade antibacteriana do OECL, principalmente em linhagens Gram negativas. Teramoto et al., (2018) testando o OECL em cepas de *P. aeruginosa*, *E. coli*, *E. hirae* e *S. aureus* obteve CIM de 2000  $\mu\text{g/mL}$  em todas as linhagens testadas, o que lhes confere uma fraca atividade antimicrobiana.

### Modulação

# 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"



O OECL apresentou resultados significantes na modulação, principalmente associado ao antibiótico gentamicina. Resultados representados na tabela 2.

**Tabela 2.** Resultados da modulação com antibióticos aminoglicosídeos frente a *E. coli* e *S. aureus*. Resultados obtidos a partir de uma média da triplicata

	Amicacina	Gentamicina
<i>E. coli</i>	8 µg/mL	4 µg/mL
<i>S. aureus</i>	14,7 µg/mL	3 µg/mL

### 5. Conclusão

A caracterização química do óleo essencial foi consistente com outros estudos, havendo variações nas concentrações dos compostos. A concentração inibitória mínima (CIM) não demonstrou atividade inibitória significativa do crescimento bacteriano. O óleo essencial demonstrou atividade sinérgica significativa na modulação com antibióticos aminoglicosídeos frente as duas linhagens de bactérias.

### 6. Referências

BRUNELLI, A. C.. *Pesquisa da Esalq indica que cúrcuma pode reduzir sintomas da depressão*. Jan. 2015. [NET] Disponível em: <http://www5.usp.br/80952/pesquisa-da-esalq-indica-que-curcuma-pode-reduzir-sintomas-da-depressao/> Acesso em: 05 de dezembro de 2015.

COUTINHO, H. D. M., Costa, J.G.M., Lima, E. O., Falcão-Silva, V. S., Siqueira-Júnior, J.P., 2008, Enhancement of the antibiotic activity against a multiresistant *Escherichia coli* by *Mentha arvensis* L., and chlorpromazine *Chemotherapy* 54, 328-330. doi:10.1159/000151267.

CHOUDHURY SM; BORDOLOI DN. 1988. Effect of sowing on the growth, yield and oil quality of *Ocimum gratissimum* Linn. *Indian Perfum* 30: 25-60.

Albuquerque, E. S. B., L. de J. Neves. Anatomia foliar de *Alpinia zerumbet* (Pers.) Burt & Smith (Zingiberaceae). *Acta bot. bras.* 18(1): 109-121. 2004.

Gounder, D. K; Lingamallu, J. Comparison of chemical composition and antioxidant potential of volatile oil from fresh, dried and cured turmeric (*Curcuma longa*) rhizomes. *Industrial Crops and Products*, 38 (2012) 124– 131. doi: 10.1016/j.indcrop.2012.01.014.

Martins ER; Castro DM; Castellani DC; DIAS JE. 1995. *Plantas medicinais*. Viçosa:UFV, Imprensa universitária. 22p.

Majolo, C; Nascimento, V.P; Chagas, E.C; Chaves, F.C.M. Atividade antimicrobiana do óleo essencial de rizomas de açafrão (*Curcuma longa* L.) e gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) frente a salmonelas entéricas isoladas de frango resfriado. *Rev. Bras. Pl. Med., Campinas*, v.16, n.3, p.505-512, 2014. DOI: 10.1590/1983-084X/13\_109.

Prado, C. N. do. *et. al.* O uso de Fitoterápicos no tratamento da obesidade. *Rev. Bras. Obes. Nutr. Emagrec.* São Paulo. V.4. Jan./Fev. 2010.