

V SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXIII Semana de Iniciação Científica

07 a 11 de Dezembro de 2020

Tema: "Os impactos e desafios da pandemia COVID no ensino, pesquisa e extensão"



PERFIL QUÍMICO E EFEITO ANTIBACTERIANO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Symphypappus cuneatus* (DC.) SCH.BIP. EX BAKER

José Bezerra de Araújo Neto¹, Maria Milene Costa da Silva², Andressa Brandão de Souza³, Ricardo Gomes dos Santos Nunes⁴, Luiz Everson da Silva⁵, Wanderlei do Amaral⁶, Cícero Deschamps⁷, Saulo Relison Tintino⁸

Resumo: Diante da necessidade de compostos com eficácia na atividade antibacteriana, os produtos naturais têm ganhado cada vez mais destaque. Assim, objetivou-se investigar o perfil químico e a atividade antibacteriana intrínseca do óleo essencial de *Symphypappus cuneatus* (DC.) Sch.Bip. ex Baker (OESc). Para a extração do OESc (folhas) foi utilizado o método de hidrodestilação em aparelho Clevenger e aplicou-se a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM) para identificar seus constituintes químicos. Na determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) do OESc utilizou-se o método de microdiluição em caldo com *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*. Obteve-se um teor de óleo essencial de 0.34% e identificados 8 constituintes, onde os terpenos limoneno (31.6%), espatulenol (22.2%) e alfa-pineno (20.9%) foram os majoritários. Para todas as cepas testadas a CIM do OESc foi $\geq 1.024 \mu\text{g/mL}$, denotando irrelevância clínica. Conclui-se que o OESc é composto principalmente por monoterpenos e não possui eficácia na atividade antibacteriana por ação direta.

Palavras-chave: Asteraceae. Fitoquímica. Terpenos. Bactérias Patogênicas.

1. Introdução

A descoberta da penicilina em 1928 por Alexander Fleming deu início à chamada "Idade de Ouro" dos antibióticos, havendo uma rápida expansão no desenvolvimento destes fármacos entre as décadas de 1940 e 1980 (LUEPKE *et al.*, 2016). Todavia, apesar do impacto que os antibióticos tiveram na medicina do século XX, o seu uso indevido acarretou em um novo problema: a resistência bacteriana, de modo que, hodiernamente, infecções causadas por bactérias resistentes a múltiplas drogas (MDR) são responsáveis por altos índices de mortalidade todos os anos (TACCONELLI *et al.*, 2018).

Ao passo que a resistência aos antibióticos se tornou um problema mundial de saúde pública, são demandadas novas estratégias para combater as doenças causadas por cepas MDR (PRATS-EJARQUE *et al.*, 2019). Assim, a utilização de produtos naturais tem se mostrado como uma alternativa

1 Universidade Regional do Cariri, e-mail: jose.bezerra456@gmail.com

2 Universidade Regional do Cariri, e-mail: mariamilenecs@gmail.com

3 Universidade Regional do Cariri, e-mail: andressa.brandaosouza@gmail.com

4 Universidade Regional do Cariri, e-mail: ricardo.gomes232@gmail.com

5 Universidade Federal do Paraná, e-mail: luiz_everson@yahoo.de

6 Universidade Federal do Paraná, e-mail: wdoamaral@hotmail.com

7 Universidade Federal do Paraná, e-mail: cicero@ufpr.br

8 Universidade Regional do Cariri, e-mail: saulorelison@gmail.com

V SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXIII Semana de Iniciação Científica

07 a 11 de Dezembro de 2020

Tema: “Os impactos e desafios da pandemia COVID no ensino,
pesquisa e extensão”



promissora na atividade antibacteriana e na reversão da resistência bacteriana, nesse sentido, o Brasil, por possuir grande biodiversidade, apresenta elevado potencial em pesquisas desse tipo (ARAÚJO *et al.*, 2020; FREITAS *et al.*, 2020).

A espécie *Symphiopappus cuneatus* (DC.) Sch.Bip. ex Baker, pertencente à família Asteraceae, é uma planta aromática de hábito subarborescente nativa e endêmica do Brasil, ocorrendo nas regiões Sul e Sudeste, nos domínios fitogeográficos Cerrado e Mata Atlântica (FLORA DO BRASIL, 2020). Esta espécie não possui estudos sobre suas atividades biológicas, de modo que a presente pesquisa demonstra relevância pelo seu caráter pioneiro.

2. Objetivo

O presente estudo objetivou investigar o perfil químico e a atividade antibacteriana intrínseca do óleo essencial de *Symphiopappus cuneatus* (DC.) Sch.Bip. ex Baker.

3. Metodologia

O material vegetal (ramos terminais e inflorescências) foi coletado na Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) Butaguara – Paraná (S 25° 20.957' / W 049° 47.136'), mediante licença do Instituto Ambiental do Paraná sob o nº 284/11, e depositado no Herbário das Faculdades Integradas “Espírita” sob o nº HFIE 9.005.

A extração do óleo essencial de *S. cuneatus* (OESc) foi realizada por hidrodestilação em aparelho tipo *Clevenger* utilizando-se 50 g de folhas secas em 1 L de água destilada, com 3 repetições (WASICKY, 1963). Para determinação do teor de óleo essencial em base seca, foi aferida a massa total de óleo essencial produzida em relação à quantidade de massa seca do material botânico utilizado na extração.

A prospecção fitoquímica foi realizada por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM). A identificação dos constituintes químicos foi obtida por comparação de seus espectros de massas com aqueles das espectroscopias e também por seus índices de retenção linear (ADAMS, 2007).

Para os testes microbiológicos, um total de 10 mg do OESc foi diluído em 1 mL de dimetilsulfóxido (DMSO) seguido pela adição de 8.765 µL de água destilada estéril para atingir a concentração de 1.024 µg/mL (GOMES *et al.*, 2018). As cepas bacterianas utilizadas foram: *Escherichia coli* American Type Culture Collection (ATCC) 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 e *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, sendo sub-cultivadas em *Heart Infusion Agar* (HIA) e mantidas em estufa a 37 °C por 24 h. Após o período, amostras dessas culturas foram diluídas em 3 mL de solução salina estéril (0,9% NaCl) até atingir uma turbidez equivalente à 10⁵ Unidades Formadoras de Colônias (UFC) (BEZERRA *et al.*, 2017).

Para determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) do OESc *ependorfs* foram preenchidos com 900 µL de caldo *Brain Heart Infusion* (BHI) e 100 µL dos respectivos inóculos. As soluções foram distribuídas em placas de

V SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXIII Semana de Iniciação Científica

07 a 11 de Dezembro de 2020

Tema: “Os impactos e desafios da pandemia COVID no ensino, pesquisa e extensão”



microdiluição de 96 poços (100 µL/poço), seguido pela microdiluição seriada (1:1) com 100 µL do OESc. Os testes foram realizados em triplicata e as placas incubadas em estufa por 24 h a 37 °C. Para realizar a leitura, adicionaram-se 20 µL de resazurina sódica em cada poço e após 1 h à temperatura ambiente foi observada sua variação colorimétrica (azul=inibição / rosa=crescimento) (COUTINHO *et al.*, 2008).

Os resultados da CIM são expressos como médias aritméticas das três repetições ± Erro padrão da média (SEM), calculados em Excel® versão 2016.

4. Resultados

Na prospecção fitoquímica, o teor de óleo essencial obtido foi de 0.34% e foram identificados 8 compostos no OESc, sendo estes classificados como: monoterpenos (71.8%), monoterpenos oxigenados (6.0%) e sesquiterpenos oxigenados (22.2%) (Tabela 1). Estes resultados apresentam semelhança com o estudo de Amaral *et al.* (2018), que também indicou o limoneno e o espatulenol como constituintes majoritários do óleo essencial das folhas de *S. cuneatus*.

Em sua pesquisa com os óleos essenciais das folhas de *Symphypappus casarettoi* B.L.Rob. e *Symphypappus reticulatus* Baker, Souza (2007) identificou o alfa-pineno e o beta-pineno como majoritários da primeira espécie, e o limoneno e o germacreno D da segunda, excetuando-se o último constituinte citado, todos os demais foram encontrados no OESc.

Tabela 1 – Constituintes químicos do óleo essencial de *Symphypappus cuneatus* (DC.) Sch.Bip. ex Baker

IR*	Composição	%
937	alfa-pineno	20.9
976	sabineno	13.0
980	beta-pineno	2.8
992	mirceno	1.3
1028	p-cimeno	2.2
1032	limoneno	31.6
1181	4-terpineol	6.0
1581	espatulenol	22.2

*Índice de retenção calculado

Na avaliação da atividade antibacteriana intrínseca, o OESc apresentou CIM $\geq 1.024 \pm 0,577$ µg/mL contra todas as cepas testadas. De acordo com Houghton *et al.* (2007), concentrações iguais ou superiores a 1 mg/mL são clinicamente irrelevantes, tendo em vista que, em valores plasmáticos, podem causar efeitos tóxicos no organismo humano.

Apel *et al.* (2006) avaliaram a atividade antibacteriana do óleo essencial de *Symphypappus itatiayensis* (Hieron.) R.M.King & H.Rob. e demonstraram inibição do crescimento de *E. coli*, *P. aeruginosa* e *S. aureus* que variou de 10 a 50%. Entretanto, no referido estudo, a concentração de óleo essencial utilizada

V SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXIII Semana de Iniciação Científica

07 a 11 de Dezembro de 2020

Tema: "Os impactos e desafios da pandemia COVID no ensino, pesquisa e extensão"



foi de 3.125 µg/mL, valor cerca de 3 vezes maior que o aplicado na presente pesquisa (1.024 µg/mL), fator que pode ter contribuído para o efeito inibidor observado (LEJA et al., 2019).

O estudo de Araújo et al. (2020), com o limoneno, e o de Freitas et al. (2020), com o alfa-pineno, ambos os compostos identificados como majoritários do OESc, apresentaram CIM \geq 1.024 µg/mL contra *E. coli* 06, *P. aeruginosa* 24 e *S. aureus* 10, corroborando os resultados obtidos nesse trabalho.

5. Conclusão

Diante dos resultados obtidos, pode-se concluir que o OESc apresenta em sua composição química majoritariamente monoterpenos. Ademais, este produto não possui eficácia na atividade antibacteriana por ação direta contra as cepas testadas, sendo necessários, ainda, estudos que analisem seu potencial reversor da resistência das bactérias aos antibióticos.

6. Agradecimentos

À Universidade Regional do Cariri (URCA) e ao Fundo Estadual de Combate à Pobreza (FECOP) pelo financiamento da pesquisa.

7. Referências

ADAMS, R. P. *et al.* **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry**. Carol Stream, IL: Allured publishing corporation, 2007.

AMARAL, W. *et al.* Yield and chemical composition of the essential oil of species of the Asteraceae family from Atlantic Forest, south of Brazil. **Journal of Essential Oil Research**, v. 30, n. 4, p. 278-284, 2018.

APEL, M. A. *et al.* Screening of the biological activity from essential oils of native species from the Atlantic rain forest (São Paulo - Brazil). **Pharmacologyonline**, v. 3, p. 376-383, 2006.

ARAÚJO, A. C. J. *et al.* GC-MS-FID characterization and antibacterial activity of the *Mikania cordifolia* essential oil and limonene against MDR strains. **Food and Chemical Toxicology**, v. 136, p. 111023, 2020.

BEZERRA, C. F. *et al.* Vanillin selectively modulates the action of antibiotics against resistant bacteria. **Microbial Pathogenesis**, v. 113, p. 265-268, 2017.

COUTINHO, H. D. M. *et al.* Enhancement of the antibiotic activity against a multiresistant *Escherichia coli* by *Mentha arvensis* L. and chlorpromazine. **Chemotherapy**, v. 54, n. 4, p. 328-330, 2008.

V SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXIII Semana de Iniciação Científica

07 a 11 de Dezembro de 2020

Tema: "Os impactos e desafios da pandemia COVID no ensino, pesquisa e extensão"



FLORA DO BRASIL. *Symphyopappus* in **Flora do Brasil 2020 em construção**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB27425>>. Acesso em: 22 out. 2020.

FREITAS, P. R. *et al.* GC-MS-FID and potentiation of the antibiotic activity of the essential oil of *Baccharis reticulata* (ruiz & pav.) pers. and α -pinene. **Industrial Crops and Products**, v. 145, p. 112106, 2020.

GOMES, F. M. S. *et al.* Evaluation of antibacterial and modifying action of catechin antibiotics in resistant strains. **Microbial Pathogenesis**, v. 115, p. 175-178, 2018.

HOUGHTON, P. J. *et al.* Uses and abuses of *in vitro* tests in ethnopharmacology: visualizing an elephant. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 110, n. 3, p. 391-400, 2007.

LEJA, K. *et al.* Influence of sub-inhibitory concentration of selected plant essential oils on the physical and biochemical properties of *Pseudomonas orientalis*. **Open Chemistry**, v. 17, n. 1, p. 492-505, 2019.

LUEPKE, K. H. *et al.* Past, present, and future of antibacterial economics: increasing bacterial resistance, limited antibiotic pipeline, and societal implications. **Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy**, v. 37, n. 1, p. 71-84, 2017.

PRATS-EJARQUE, G. *et al.* Testing a human antimicrobial RNase chimera against bacterial resistance. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, p. 1357, 2019.

SOUZA, T. J. T. **Determinação da composição química e avaliação preliminar das atividades antioxidante e anticolinesterásica dos óleos voláteis de espécies de *Eupatorium* L. (Asteraceae)**. 2007. 232 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2007.

TACCONELLI, E. *et al.* Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 18, n. 3, p. 318-327, 2018.

WASICKY, R. Uma modificação do aparelho de *Clevenger* para extração de óleos essenciais. **Revista Faculdade de Farmácia e Bioquímica**, v.1, n. 1, p. 77-81, 1963.