

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"



COMPOSIÇÃO QUÍMICA E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Schinus terebinthifolius* Raddi

Maria Milene Costa da Silva¹, José Bezerra de Araújo Neto², Andressa Brandão de Souza³, Ricardo Gomes dos Santos Nunes⁴, Luiz Everson da Silva⁵, Wanderlei do Amaral⁶, Cícero Deschamps⁷, Saulo Relison Tintino⁸

Resumo: Perante a multirresistência bacteriana e a exiguidade dos antibióticos, os produtos naturais estão conquistando progressivamente notoriedade. Destarte, objetivou-se perquirir a composição química e a atividade antibacteriana intrínseca do óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* Raddi (OEst). Para tanto, realizou-se a extração do OEst das suas folhas, através do método de hidrodestilação em aparelho Clevenger, utilizou-se a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM) a fim de verificar sua composição química. Seguidamente, o OEst teve a sua Concentração Inibitória Mínima (CIM) determinada, mediante o método de microdiluição em caldo com cepas de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*. Logo, constatou-se que o OEst apresentou um teor de 0,44%, sendo detectado 28 compostos, predominando os constituintes alfa-pineno (24,3%), gama-muroleno (16, 6%) e mirceno (13,7%). A CIM do OEst foi de $\geq 1.024 \mu\text{g/mL}$, sendo esta, uma concentração considerada irrelevante clinicamente. Portanto, pode-se concluir que o óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* Raddi não apresentou atividade antibacteriana satisfatória quando utilizado isoladamente, exibindo os terpenos, alfa-pineno, gama-muroleno e mirceno como compostos majoritários

Palavras-chave: Anacardiaceae. Fitoquímica. Terpenos. Bactérias.

1. Introdução

A introdução da antibioticoterapia no tratamento das doenças causadas por microrganismos, caracterizou um grande avanço para a medicina moderna. Todavia, com o passar tempo, as bactérias foram desenvolvendo um perfil de resistência a ação dos antibióticos, tendo a utilização inapropriada destes, apontada como uma das causas (SILVA; SILVA JÚNIOR, 2015).

Nessa vertente, produtos naturais que apresentam aplicabilidades terapêuticas, estão, gradativamente, sendo apontadas como possíveis soluções para reverter ou amenizar a multirresistência das bactérias frente aos mecanismos de ação dos fármacos (BLAIR *et al.*, 2015; ARAÚJO *et al.*, 2020).

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

2 Universidade Regional do Cariri, e-mail: jose.bezerra456@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”



À vista disso, observa-se uma ascensão frenética de pesquisas voltadas para plantas nativas, a exemplo, a espécie *Schinus terebinthifolius* Raddi, pertencente à família botânica Anacardiaceae, popularmente conhecida como aroeira-vermelha, vem se destacando devido ao seu perfil químico e suas potencialidades bioativas (CARVALHO *et al.*, 2013; CORREIA; DAVID; DAVID, 2006). Logo, o presente trabalho denota um cunho vanguardista, visto que, busca investigar as atividades biológicas da espécie *Schinus terebinthifolius* Raddi.

2. Objetivo

O presente estudo, buscou perquirir a composição química e a atividade antibacteriana intrínseca do óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* Raddi.

3. Metodologia

O material vegetal (ramos terminais e inflorescências) foi coletado na Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) Butaguara – Paraná (S 25° 19.982' / W 049° 48.371'), mediante licença do Instituto Ambiental do Paraná sob o nº 284/11, e depositado no Herbário das Faculdades Integradas “Espírita” sob o nº HFIE 8.814.

O óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* Raddi (OEst) foi extraído através da hidrodestilação, feita por meio do aparelho tipo Clevenger manipulando 50 g de folhas secas em 1 L de água destilada, com 3 repetições (WASICKY, 1963). O computo do teor do óleo essencial em base seca, foi taxado a partir da massa total de óleo essencial produzida em relação à quantidade de massa seca do material botânico utilizado na extração.

A análise dos compostos químicos presentes no material vegetal, foi realizado por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM). A obtenção dos compostos químicos foi realizada por meio de comparação de seus espectros de massas com aqueles das espectrotecas e também por seus índices de retenção linear (ADAMS, 2007).

Seguidamente, 10 mg do OEst foi diluído em 1 mL de dimetilsulfóxido (DMSO) e subsequentemente foi adicionado 8.765 µL de água destilada estéril até atingir a concentração de 1.024 µg/mL (OLIVEIRA *et al.*, 2017). As bactérias testadas foram: *Escherichia coli* American Type Culture Collection (ATCC) 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 e *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, sendo semeadas em *Heart Infusion Agar* (HIA) e mantidas em estufa bacteriológica a 37 °C por 24 h. Passando esse período, parte das amostras crescidas foram diluídas em 3 mL de solução salina estéril (0,9% NaCl) até atender a turbidez equivalente à 10⁵ Unidades Formadoras de Colônias (UFC) (BEZERRA *et al.*, 2017).

Para a determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) do produto, foram preparados *ependorfs* contendo 900 µl de BHI caldo (*Brain Heart Infusion*) e 100 µl de inóculo das cepas testadas. As placas de microdiluição 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"



96 poços, foram preenchidas com o conteúdo, sendo distribuído 100 µl em cada poço. Posteriormente, teve-se a microdiluição seriada, utilizando-se 100 µl do OEst, até o penúltimo poço, sendo o último poço um indicador do controle de crescimento bacteriano. Os ensaios foram realizados em triplicata e as placas foram incubadas a uma temperatura de 37°C por de 24h. Para a determinação da CIM, foram distribuídos 20 µl de resazurina sódica em cada poço, após 1h, realizou-se a leitura dos resultados, observando a variação colorimétrica, onde a cor rosa indica crescimento bacteriano e a cor azul sugere a ausência. (COUTINHO *et al.*, 2008).

Os resultados da CIM foram definidos através das médias aritméticas das três repetições \pm Erro padrão da média (SEM), calculados em Excel® versão 2016.

4. Resultados

A análise fitoquímica do OEst, revelou que seu teor é de 0,44% e que ele alberga 28 compostos, se sobressaindo os constituintes alfa-pineno (24,3%), gama-muuroloeno (16,6%) e mirceno (13,7%) como ilustrado na Tabela 1. O estudo de Uliana *et al.* (2016), com o óleo essencial extraído das folhas dessa mesma espécie, apresentou resultados semelhantes com a presente pesquisa, uma vez que o mirceno (6,78%) e o alfa pineno (4,05%) foram os compostos que tiveram maior predominância.

Cavalcanti *et al.* (2015), em seu estudo com o óleo essencial dos frutos de *S. terebinthifolius* apresentou o alfa-pineno (44,9%), beta-pineno (15,1%) e germacreno D (17,6%) como sendo os constituintes majoritários. Similarmente, Dannenberg *et al.* (2019), apontou em sua pesquisa que o beta-mirceno (41%), beta-cuvebreno (12%), limoneno (9%) e alfa-pineno (8%) são compostos preponderantes em relação aos demais, resultados que também corroboram com o presente estudo.

Tabela 1- Composição química do óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* Raddi

Composição	%	IR*	Composição	%	IR*
alfa-pineno	24,3	937	(E)-beta-farneseno + allo-aromadendreno	0,9	1457
alfa-fencheno	0,3	951	gama-muuroloeno	16,6	1478
sabineno	1,0	975	biciclogermacreno	3,8	1492
beta-pineno	4,1	979	alfa-muuroloeno	0,5	1495
mirceno	13,7	991	germacreno A	1,1	1499
para-cimeno	0,4	1025	delta-cadineno	1,8	1519
limoneno	1,5	1030	germacreno B	0,6	1551
(Z)-beta-ocimeno	0,3	1039	espatulenol	1,7	1573
terpinen-4-ol	0,9	1176	óxido de cariofileno	2,1	1577
alfa-terpineol	0,9	1189	viridiflorol	0,6	1585

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"



alfa-copaeno	3,8	1373	cubeban-11-ol	0,4	1587
beta-elemeno	1,6	1389	epi-alfa-cadinol	1,7	1637
(E)-cariofileno	8,9	1416	alfa-muurolol	0,6	1641
alfa-humuleno	1,1	1449	alfa-cadinol	2,3	1649

Os ensaios de avaliação da atividade antibacteriana intrínseca do OEst, apresentou CIM $\geq 1.024 \mu\text{g/mL}$ frente as cepas testadas. Esses resultados não expressaram relevância clínica, uma vez que seus elevados valores, podem denotar efeitos deletérios ao organismo humano (HOUGHTON *et al.* 2007).

A pesquisa de Silva *et al.*, (2010), revelou que óleo essencial da folha de *Schinus terebinthifolius* Raddi, não demonstrou efeito relevante contra algumas cepas de *S. aureus*, dados estes, que enfatizam os resultados apresentados no presente trabalho.

5. Conclusão

Frente aos resultados alcançados no presente estudo, pôde-se constatar que o OEst apresenta como componentes majoritários o alfa-pineno, gama-muuroleno e mirceno. Outrossim, este produto não demonstrou atividade antibacteriana direta satisfatória frente as cepas testadas, sendo necessário a premência da realização de pesquisas que investiguem suas competências frente a restituição ou redução do perfil de multirresistência das bactérias a ação dos 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.

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.

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"



BLAIR, J. M. A. *et al.* Molecular mechanisms of antibiotic resistance. **Nature Reviews Microbiology**, v. 13, n. 1, p. 42-51, 2015.

CARVALHO, M. G. *et al.* *Schinus terebinthifolius* Raddi: composição química, propriedades biológicas e toxicidade. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, São Paulo**, v. 15, n. 1, p. 158-169, 2013.

CAVALCANTI, A. S. *et al.* Volatiles composition and extraction kinetics from *Schinus terebinthifolius* and *Schinus molle* leaves and fruit. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 25, n. 4, p. 356-362, 2015.

CORREIA, S. J.; DAVID, J. P.; DAVID, J. M. Metabólitos secundários de espécies de Anacardiaceae. **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1287-1300, 2006.

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.

DANNENBERG, G. S. *et al.* Essential oil from pink pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi): Chemical composition, antibacterial activity and mechanism of action. **Food Control**, v. 95, p. 115-120, 2019.

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.

OLIVEIRA, F. S., *et al.* Evaluation of the antibacterial and modulatory potential of abisabolol, b-cyclodextrin and a-bisabolol/b-cyclodextrin complex. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 92, p. 1111-1118, 2017.

SILVA, A. B. *et al.* Antibacterial activity, chemical composition, and cytotoxicity of leaf's essential oil from Brazilian pepper tree (*Schinus terebinthifolius*, Raddi). **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 41, n. 1, p. 158-163, 2010.

SILVA, C. D. R.; SILVA JÚNIOR, M. Estratégias para uso adequado de antibioticoterapia em unidade de terapia intensiva. **Einstein (São Paulo)**, v. 13, n. 3, p. 448-453, 2015.

ULIANA, M. P. *et al.* Composition and biological activity of Brazilian rose pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi) leaves. **Industrial Crops and Products**, v. 83, p. 235-240, 2016.

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.