

# VI SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA XXIV SEMANA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA URCA

13 a 17 de Dezembro de 2021

Tema: "Centenário de Paulo Freire: contribuição da divulgação científica e tecnológica em defesa da vida, da cidadania e da educação"

## AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E MODIFICAÇÃO DA AÇÃO DE ANTIBIÓTICOS DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Symphopappus cuneatus* (DC.) SCH. BIP. EX BAKER

Jaqueline Lima dos Santos<sup>1</sup>, Gildênia Alves de Araújo<sup>2</sup>, Maria Milene Costa da Silva<sup>3</sup>, José Bezerra de Araújo Neto<sup>4</sup>, Ana Carolina Justino de Araújo<sup>5</sup>, Saulo Relison Tintino<sup>6</sup>

**Resumo:** O uso errôneo dos fármacos ao longo dos anos tem cooperado no aumento da resistência de bactérias, em destaque, a *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, assim, a busca e utilização de produtos naturais com potencial antibacteriano tem ganhado cada vez mais destaque, portanto, o trabalho tem por objetivo avaliar atividade antibacteriana e modificadora da ação de antibióticos do óleo essencial de *Symphopappus cuneatus* (DC) Sch Bip. Ex Baker, por meio de hidrodestilação em aparelho Clevenger e aplicação da cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM) como identificador de seus constituintes químicos, através da Concentração Inibitória Mínima (CIM) do OESc utilizou-se método de microdiluição em caldo com *E. coli*, *P. aeruginosa* e *S. aureus*, o teor de óleo essencial foi de 0.34%, sendo identificados oito constituintes dos quais os terpenos limoneno (31.6%), espatulenol (22.2%) e alfa-pineno (20.9%) foram os majoritários, o OESc é composto principalmente por monoterpenos. Conclui-se que o antibiótico potencializado em associação com o OESc foi a penicilina, enquanto o norfloxacin apresentou resultados positivos de forma isolado, o CIM do OESc foi  $\geq 1.024 \mu\text{g/mL}$  para todas as cepas testadas resultando em irrelevância clínica.

**Palavras-chave:** Óleo essencial, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*

### 1. INTRODUÇÃO

As Bactérias já ocasionaram diversas fatalidades que acarretaram potencialmente doenças agravantes na população de altos índices de mortalidade, ao longo dos anos adquiriram a capacidade de aumentar sua resistência a variados fármacos dificultando seu efeito e problematizando tratamentos, citado por Eliana et al.,(2019,p.62), a resistência bacteriana aos antimicrobianos emergiu como principal problema de saúde na última década.

Os antimicrobianos têm por finalidade destruir ou suprimir o crescimento e desenvolvimento de patógenos, sua utilização na área clínica melhorou o prognóstico de diversas doenças infecciosas, Ribeiro (2020) menciona que a ação de tais medicamentos auxiliaram em diversos tratamentos envolvendo

---

1 Universidade Federal do Cariri,  
email:Jaqueline\_limasantos@hotmail.com,gildenia.araujo@urca.br,mariamilenecs@gmail.com,jose.bezerra456@gmail.com,caroljustino@outlook.com,saulo.tintino@urca.br

# VI SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

## XXIV SEMANA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA URCA

13 a 17 de Dezembro de 2021

Tema: "Centenário de Paulo Freire: contribuição da divulgação científica e tecnológica em defesa da vida, da cidadania e da educação"

doenças causadas por inúmeras bactérias minimizando mundialmente as taxas tanto de morbidade quanto de mortalidade, contudo, a prática incorreta de remédios ocasionou aumento na resistência bacteriana denominando como bactérias multirresistentes, dentre as quais mais recorrentes clinicamente estão a *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.

Demandados novos compostos capazes de auxiliar na superação da resistência bacteriana, a prática da utilização de fitoterápicos sempre foi bem presente na cultura Brasileira, O gênero *Symphyopappus* é uma das plantas usadas com essa finalidade, pertencente à família Asteraceae, espécie *Symphyopappus cuneatus* nativa e endêmica do Brasil, subarbustivo, ocorrendo no Cerrado e Mata Atlântica, áreas do Sul e Sudeste, auxilia no desenvolvimento de novos produtos com potencial antibiótico contra bactérias multirresistentes.

## 2. OBJETIVOS

Avaliamos a atividade antibacteriana e modificadora da ação de antibióticos do óleo essencial de *Symphyopappus cuneatus* (DC) Sch Bip. Ex Baker.

## 3. METODOLOGIA

Extração do óleo dos ramos terminais da planta colhidos nos Campos Gerais, Vale do Ribeira, Litoral do Paraná, Atalanta, e Santa Catarina Sul do Brasil, no campo serão localizadas as espécies, preparadas as exsicatas para identificação botânica e registro fotográfico, as amostras constarão aproximado de 1 kg de ramos terminais e/ou inflorescências, coleta aleatória no mínimo 10 plantas individuais, amostras secas obtidas após a manutenção do material vegetal a 40°C por 24hs em secador elétrico.

Hidrodestilação em aparelho graduado do tipo Clevenger fica duas horas e meia, um litro de água para cada 50g de folhas secas, com três repetições, secas com secador elétrico com circulação de ar a 40°C por 24 hs, visto do teor de umidade das folhas frescas foram coletadas amostras de 20 g em triplicata secas por secador elétrico com circulação de ar a 65°C até atingir peso constante, extração do óleo coletado com pipeta de precisão levado ao freezer logo após permanecendo até o momento da análise, sendo definido o teor do óleo em base seca, a extração o óleo coletado com pipeta de precisão é levado ao freezer até o momento da análise, definindo teor do óleo em base seca aferindo massa total de óleo gerado ao que se refere a quantidade de massa seca de material botânico utilizada na extração.

Indicação química por cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM), óleos diluídos em diclorometano na proporção de 1 % e 1,0 µL da solução injetada, divisão de fluxo de 1:20 no

1 Universidade Federal do Cariri,  
email: Jaqueline\_limasantos@hotmail.com, gildenia.araujo@urca.br, mariamilenecs@gmail.com, jose.bezerra456@gmail.com, caroljustino@outlook.com, saulo.tintino@urca.br

# VI SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

## XXIV SEMANA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA URCA

13 a 17 de Dezembro de 2021

Tema: "Centenário de Paulo Freire: contribuição da divulgação científica e tecnológica em defesa da vida, da cidadania e da educação"

cromatógrafo Agilent 6890 (Palo Alto, CA) acoplado a detector seletivo de massas Agilent 5973N, injetor a 250 °C, dividindo os constituintes obtendo em coluna capilar HP-5MS (5%-fenil-95%-dimetilpolissiloxano, 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm), usando hélio como gás carreador (1,0 mL min<sup>-1</sup>), com o forno de 60 a 240°C a 3°C min<sup>-1</sup>, detector de massa na ionização eletrônica (70 eV) com 3,15 varreduras s<sup>-1</sup>, faixa de massas de 40 a 450 u, linha de transferência a 260° C, fonte de íons a 230° C, analisador (quadrupolo) 150° C, amostras diluídas inseridos em cromatógrafo Agilent 7890<sup>a</sup>, detector de ionização por chama (DIC) 280°C, empregadas as mesmas colunas e condições analíticas descritas acima, exceto pelo gás carreador usado a hidrogênio, vazão de 1,5 mL min<sup>-1</sup>, composição percentual constará pela integração eletrônica do sinal do DIC pela divisão da área de cada componente pela área total (área %), apontando os constituintes químicos por comparação de seus espectros aos espectrotecas e seus índices de retenção linear, calculados a partir da injeção de uma série homóloga de hidrocarbonetos (C7-C26), comparados com dados da literatura.

Diluídas em dimetilsufóxido (DMSO) e depois em água destilada estéril, a concentração de DMSO contido nas amostras não será considerada tóxica para as células, os antibióticos serão dissolvidos em DMSO a 10 mg/mL e diluídos em água, diminuindo a concentração para 1024 µg/mL, os antibióticos selecionados são das classes dos aminoglicosídeos (gentamicina), fluoroquinolonas (norfloxacino) e macrolídeos (eritromicina) obtidos através da SIGMA Chemical Co. St. Louis, E.U.A.

Colônias bacterianas cultivadas e crescidas, com o período determinado, serão preparados os respectivos inóculos colocando-se as mesmas em tubos de ensaio contendo 5 ml de solução salina estéril (0,9% NaCl), os tubos com as suspensões estarão sendo levados ao agitador vortex com turbidez comparada à escala de McFarland correspondente a 105 UFC (Unidades Formadoras de Colônias).

CIM será realizado em série 1:1, técnica de microdiluição em caldo com placas esterilizadas (96 poços), culturas bacterianas mantidas em Agar em refrigeração, repicadas em caldo de infusão de cérebro e coração (BHI) e incubadas a 37°C durante 24 hs, após preparado o meio de distribuição em eppendorfs utilizando 100 µL do inóculo, 900 µL do meio de cultura líquido BHI, o conteúdo do eppendorf será colocado na placa de microdiluição, haverá microdiluição das substâncias, concentração de 1024 µg/mL, 100 µL no meio até penúltima cavidade, a última trata-se do controle de crescimento, não será adicionada, concentrações finais das amostras no meio de cultura serão 512, 256, 128, 64, 32, 16 e 8 µg/mL, os testes serão feitos em triplicata e as placas serão incubadas a 35 ± 2 °C, durante 24 hs, depois as placas serão reveladas com corante específico, a resazurina.

Tubo Eppendorf contém o teste usando caldo BHI a 10%, 150 µl do inóculo, cada cepa e um volume de cada composto correspondendo à concentração sub-inibitória (CIM/8), controles de modulação com 1350 µl do meio BHI 10% e 150 µl do inóculo, conteúdos dos tubos distribuídos em placas

1 Universidade Federal do Cariri,  
email: Jaqueline\_limasantos@hotmail.com, gildenia.araujo@urca.br, mariamilenecs@gmail.com, jose.bezerra456@gmail.com, caroljustino@outlook.com, saulo.tintino@urca.br

# VI SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA XXIV SEMANA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA URCA

13 a 17 de Dezembro de 2021

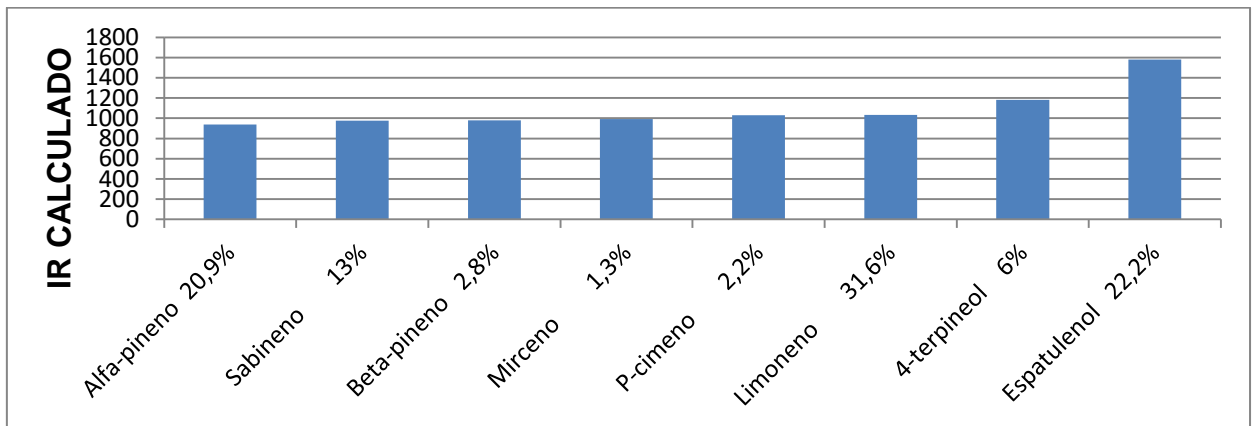
Tema: "Centenário de Paulo Freire: contribuição da divulgação científica e tecnológica em defesa da vida, da cidadania e da educação"

de microdiluição de 96 poços, 100 µl em cada poço, em sentido numérico, microdiluição com 100 µl de cada antibiótico até o penúltimo poço, de modo que a concentração varia de 1024 a 0,5 µg/ml, placas incubadas em estufa por 24hs a 37 °C, leitura com a resazurina.

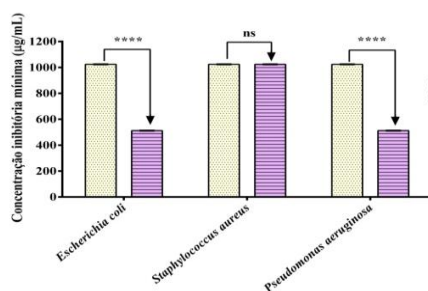
Análise estatística dos resultados dos testes realizada usando programa estatístico GraphPad Prism 5.0, médias geométrica por ANOVA de duas vias seguida por teste post-hoc de Bonferroni (onde  $p < 0,05$  e  $p < 0,0001$  considerados significativos e  $p > 0,05$  não demonstrando significância).

## 4. RESULTADOS

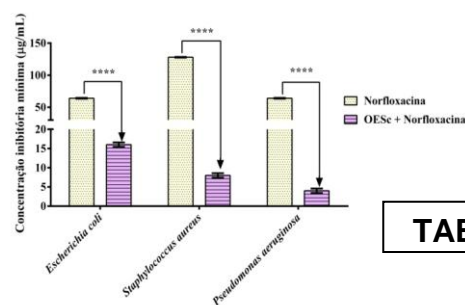
**TABELA 01- Determinação da composição química- PL 46-Symphypappus cuneatus (DC) Sch Bip. Ex Baker**



A Tabela 01 mostra oito compostos no OESc, sua composição na maioria de monoterpenos, o teor do óleo essencial foi de 0.34% na prospecção fitoquímica, Amaral et al. (2018) apontou o limoneno e espatulenol como constituintes majoritários do OESc assim como na tabela 01. A atividade antibacteriana intrínseca do OESc tem um CIM  $\geq 1.024 \pm 0,577$  µg/mL nas cepas testadas, Apel et al. (2006) avaliou o óleo essencial de *Symphypappus itatiayensis* (Hieron.) R.M.King & H.Rob que resultou na inibição do crescimento de *E. coli*, *P. aeruginosa* e *S. aureus* variando de 10 a 50%, porém, a concentração de óleo essencial foi maior do que o presente trabalho, sendo de 3.125 µg/mL.



**TABELA 02**



**TABELA 03**

# VI SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

## XXIV SEMANA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA URCA

13 a 17 de Dezembro de 2021

Tema: "Centenário de Paulo Freire: contribuição da divulgação científica e tecnológica em defesa da vida, da cidadania e da educação"

Na tabela 02 o antibiótico penicilina em associação do OESc resultou efeitos potencializadores positivos, contudo, o antibiótico Norfloxacin presente na tabela 03 se manifestou positivamente contras as determinadas bactérias somente de forma isolado.

### 5. Conclusão:

Composição química do OESc de monoterpene em geral, na associação dos antibióticos Penicilina e Norfloxacin com o óleo essencial *Symphopappus cuneatus* resultou na potencialização somente no caso da penicilina em destaque na bactéria *S. aureus*, já o antibiótico Norfloxacin de forma isolado resultou efeito positivos nas bactérias, atividade antibacteriana intrínseca o OESc com  $CIM \geq 1.024$  apresentou resultados irrelevantes.

### 6. Agradecimentos:

Agradeço a Universidade Regional do Cariri (URCA, ao laboratório de microbiologia molecular (LMBM).

### 7. Referências:

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, Miriam 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.

DA SIVA, Eliana Lacerda et al. Klebsiella pneumoniae carbapenamase (kpc): bactéria multirresistente a antibióticos. *Revista Brasileira Interdisciplinar de Saúde*, 2019.

SILVA, Hyan Ribeiro et al. Reflexo do desequilíbrio ambiental na saúde: bactérias multirresistentes em ambiente hospitalar. *Research, Society and Development*, v. 9, n. 8, p. e220985604-e220985604, 2020.