

# 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”

## QUANTIFICAÇÃO DE POLIFENÓIS E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO ETANÓLICO DO CAULE DE *Auxemma glazioviana* Taub.

Natália Kelly Gomes de Carvalho<sup>1</sup>, Johnatan Wellisson da Silva Mendes<sup>2</sup>, Cícera Janaine Camilo<sup>3</sup>, Carla de Fátima Alves Nonato<sup>4</sup>, Débora Odília Duarte Leite<sup>5</sup>, Alexandro Rodrigues Dantas<sup>6</sup>, Fabiola Fernandes Galvão Rodrigues<sup>7</sup>, José Galberto Martins da Costa<sup>1</sup>

**Resumo:** *Auxemma glazioviana* Taub. (Boraginaceae), popularmente conhecida como pau branco, é utilizada na medicina tradicional no tratamento de ferimentos. O objetivo desse estudo é quantificar os polifenóis totais e avaliar a atividade antimicrobiana e moduladora de antibióticos do extrato etanólico do caule de *A. glazioviana*. O reagente Folin-ciocalteu foi usado para quantificação de polifenóis, e o potencial antimicrobiano foi determinado pela concentração inibitória mínima e ação modulatória com os antibióticos benzotina, amialina, cafaloxina e gentamicina. Os resultados apresentaram 4,4822 mg.GA/g de polifenóis totais no extrato. Em relação a análise antimicrobiana o extrato demonstrou sinergismo com todas as linhagens bacterianas e maior ação moduladora com benzotina frente *Staphylococcus aureus* com diminuição da concentração inibitória mínima de  $\geq 64\mu\text{g/mL}$  para  $\geq 8\mu\text{g/mL}$ . Pode-se concluir que o extrato de *A. glazioviana* possui quantidades significativas de polifenóis e capacidade de modificar a ação de antibióticos.

**Palavras-chave:** *Auxemma glazioviana*. Atividade antibacteriana. Ação modulatória

### 1. Introdução

O uso de antimicrobianos representa importante avanço no tratamento das doenças infecciosas, pois atuam na redução dos elevados índices de morbimortalidade (SILVA *et al.*, 2021). Por se tratar de misturas complexas, os extratos vegetais apresentam baixo risco de aumento da resistência microbiana à sua ação como agentes antimicrobianos e/ou modificadores da resistência a antibióticos, uma vez que, proporcionam maiores dificuldades de adaptabilidade microbiana (OUSSAID *et al.*, 2017).

Dentre os produtos de origem natural, a família Boraginaceae oferece variedade de espécies com atividades biológicas já estabelecidas. Entre essas, *Auxemma glazioviana*, popularmente conhecida por “pau branco”, dotada de propriedades anti-inflamatórias, é utilizada na medicina tradicional no tratamento

---

<sup>1</sup> Universidade Regional do Cariri, email: natalia.gomes@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 fermentos, além de ser frequentemente reconhecida pela resistência ao ataque de fungos e cupins (FERREIRA *et al.*, 2004).

### 2. Objetivo

Quantificar os polifenóis totais e avaliar as propriedades antimicrobianas e moduladora de antibióticos do extrato do caule de *Auxemma glazioviana*.

### 3. Metodologia

#### 3.1 Coleta e preparo da amostra

O cerne do caule de *Auxemma glazioviana* (300g) foi coletado no município de Barro – CE. Posteriormente, o material foi triturado e submetido ao processo de maceração à frio, em hexano por 72 h, seguida de destilação em evaporador rotativo sob pressão reduzida, à 50°C, gerando 109 mg de extrato bruto (0,36 %). Após a secagem do material vegetal o mesmo procedimento à frio foi utilizado em etanol para a obtenção do extrato etanólico do caule de *Auxemma glazioviana* (EECAG) tendo um produto de (15,7g) e rendimento de 5,2 %.

#### 3.2 Quantificação de Polifenóis totais

O teor de compostos fenólicos presentes no EECAG seguiu o método proposto por Waterman *et al.*, (1994). Foram preparadas 04 amostras do EECAG com concentrações de 50 mg diluídas em etanol. O meio reacional foi composto pela adição de 200 µl do EECAG, 600 µl de etanol 70 %, 400 µl do reagente folin-ciocalteu e 2000 µl da solução de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (20 % m/v). A mistura foi homogeneizada e adicionado 800 µl da solução de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (20 % m/v). Posteriormente, as amostras foram incubadas por 20 minutos em banho maria à 45 °C, e centrifugadas por 3 min a 14.000 rpm, mantidas em repouso sob temperatura ambiente. O teste foi realizado em triplicata, tendo o ácido gálico como padrão de referência e leitura em espectrofotômetro UV-visível a 735 nm.

#### 3.3 Análise microbiológica

Método de microdiluição com base no documento M7-A10 (CLSI, 2015), com as cepas Gram-positivas: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Streptococcus mutans* (ATCC- 00446), *Bacillus cereus* (INCQS- 00303) e Gram-negativas: *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442), *Escherichia coli* (ATCC 10536), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 10031). O EECAG foi diluído com água destilada e dimetilsulfóxido (DMSO) a uma concentração de 1024 µg/mL. Seguiram-se diluições seriadas através da adição aos poços contendo a

# 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"

suspensão, atingindo concentrações no intervalo de 512 a 8 µg/mL, em triplicata e a placa incubada a  $35 \pm 2$  °C por 24 h. A leitura foi realizada por colorimetria pela adição de 25 µL de solução de resazurina (0,01%).

Para análise do EECAG como potencializador de antibióticos da classe dos aminoglicosídeos (amicacina e gentamicina) e b-lactâmicos (cefalexina e benzatina) seguiu-se a metodologia proposta por Coutinho et al., (2008). Todos os valores de CIM foram testados, e realizados na presença e na ausência das amostras, com padronização do inóculo a uma suspensão de  $1 \times 10^8$  UFC/mL em meio de cultura específico a 10% distribuídos em placas de microdiluição seguidos da adição de concentrações das soluções de antibióticos (1024 µg/mL) através de diluição seriada. As placas foram incubadas a  $35 \pm 2$  °C por 24 h e a leitura realizada por colorimetria pela adição de 25 µL de solução de resazurina.

## 4. Resultados

O EECAG apresentou valores relevantes de polifenóis totais, com média de  $4,4822 \pm 0.1371$  mg. ácido gálico (GA)/g. EECAG (Tabela 1).

**Tabela 1:** Quantidade de polifenóis totais do EECAG

Massa (g) extrato	mg. GA/mg. de EECAG	Media $\pm$ S.E.M (mg. GA/g. EECAG)
0,0513	4,5926	4,4822 $\pm$ 0.1371
0,0500	4,2087	
0,0506	4,5926	
0,0508	4,5358	

Amudha e Rani (2016) identificaram teor de fenóis totais em *Cordia retusa* de  $1,86 \pm 0,65$  mg/g, significativamente menor que o obtido para a *A. glazioviana*. O conteúdo de polifenóis totais pode variar em decorrência a diversos fatores, como região geográfica, variações à exposição solar (SILVA et al., 2019).

Os resultados obtidos na investigação antibacteriana do EECAG demonstraram potencial inibitório no crescimento das cepas Gram-negativas *E. coli* e *P. aeruginosa*, com valores de CIM  $\geq 128$ , como mostra a Tabela 2.

**Tabela 2:** CIM em relação ao EECAG com as cepas bacterianas.

CEPA	CIM (µg/mL)
<i>K. pneumoniae</i>	$\geq 256$
<i>E. coli</i>	$\geq 128$
<i>P. aeruginosa</i>	$\geq 128$
<i>S. mutans</i>	$\geq 512$

# 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"

<i>B. cereus</i>	≥ 256
<i>S. aureus</i>	≥ 256

Estudo recente de Silva et al., (2021) com oncocalicona A, composto isolado de *A. glazioviana*, demonstraram a inibição no crescimento das bactérias Gram-negativas *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* e *E. coli* com CIM de >151 µg/mL, corroborando com os dados obtidos. Polifenóis são frequentemente reconhecidos por fornecerem atividade antibacteriana, devido a capacidade de interação com as proteínas da membrana através de ligação de hidrogênio por meio dos seus grupos hidroxilo, podendo causar alterações na permeabilidade da membrana e conseqüentemente destruição celular (OUSSAID et al., 2017).

Os resultados da ação moduladora do EECAG apontam sinergismo com todos antibióticos e linhagens bacterianas testados, exceto quando combinado com amicalina frente *K. pneumoniae*, apresentando antagonismo (Tabela 3). Sousa et al., (2019) descrevem que essa menor taxa de resistência, ocorre devido, a *K. pneumoniae* possuir pouca detecção do gene metilase, o principal mecanismo de resistência a esse fármaco.

**Tabela 3:** Efeito modulador do EECAG expresso em valores ≥ µg/mL.

Antibióticos	<i>S. mutans</i>	Controle	<i>K. pneumoniae</i>	Controle
Benzotina	4	64	2	4
Amicalina	0,5	8	8	4
Cefaloxina	0,5	1	0,5	2
Gentamicina	2	4	2	2

Os efeitos mais pronunciados do EECAG foram com os antibióticos benzotina e amicalina sobre *S. mutans* com diminuição da CIM de ≥ 64 µg/mL para ≥4 µg/mL e ≥8 µg/mL para ≥0,5 µg/mL, respectivamente. Corroborando com os resultados obtidos para cepa Gram-positiva, Matias et al., (2016) evidenciaram potencial modulador do extrato metanólico de *Cordia verbenácea* com amicacina frente *S. aureus* com diminuição da CIM de 256 µg/mL para 32 µg/mL. Pode-se correlacionar os resultados obtidos pela presença de compostos fenólicos, e ainda, sustentada por estudos que relatam a ação desses compostos como modificadores de antibióticos (LIMA et al., 2016).

### 5. Conclusão

Tais dados têm contribuição química-biológica para espécie *A. glazioviana*, onde a partir dos resultados obtidos, pode-se concluir que, o EECAG possui quantidades significativas de polifenóis e a ação moduladora de antibióticos, especialmente, benzotina frente *S. aureus*.

# 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”

## 6. Referências

- AMUDHA, M.; RANI, S. **Evaluation of in vitro Antioxidant Potential of *Cordia retusa***, Indian J Pharm Sci. 2016 Jan-Feb; 78(1): 80–86.
- CLSI, 2015. **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically**; Approved Standard—Tenth Edition. Wayne.
- COUTINHO, H.D.M., COSTA, J.G.M., LIMA, E.O., FALCÃO-SILVA, V.S., SIQUEIRA-JÚNIOR, J.P. **Enhancement of the antibiotic activity against a multiresistant *Escherichia coli* by *Mentha arvensis* L. and chlorpromazine**. Chemotherapy 54, 328–330, 2008.
- FERREIRA, M.A.D; NUNES, O.D.R.H.; FONTENELE, J.B; PESSOA, O.D.L; LEMOS, T.L.G.; VIANA, G.S.B. **Analgesic and anti-inflammatory activities of a fraction rich in oncocalyxone A isolated from *Auxemma oncocalyx***. Phytomedicine 11: 315–322, 2004
- LIMA, V.N., OLIVEIRA-TINTINO, C.D.M., SANTOS, E.S., MORAIS, L.P., TINTINO, S.R., FREITAS, T.S., GERALDO, Y.S., PEREIRA, R.L.S., CRUZ, R.P., MENEZES, I.R.A., COUTINHO, H.D.M. **Antimicrobial and enhancement of the antibiotic activity by phenolic compounds: Gallic acid, caffeic acid and pyrogallol**. Microb. Pathog. 99, 56–61, 2016.
- MATIAS, E. F. F., ALVES, E. F., SILVA, M. K. N., CARVALHO, V. R. A., MEDEIROS, C. R., SANTOS, F. A. V., BITU, V.C.N., SOUZA, C.E.S., FIGUEREDO, F.G., BOLIGON, A.A., ATHAYDE, M.L., COSTA, J.G.M., COUTINHO, H. D. M. **Potential of antibiotic activity of aminoglycosides by natural products from *Cordia verbenacea* DC**. Microbial Pathogenesis, 95, 111–116. 2016.
- OUSSAID, S., CHIBANE, M., MADANI, K., AMROUCHE, T., ACHAT, S., DAHMOUNE, F., HOUALI, K., RENDUELES, M., DIAZ, M. **Optimization of the extraction of phenolic compounds from *Scirpus holoschoenus* using a simplex centroid design for antioxidant and antibacterial applications**. LWT - Food Sci. Technol. 86, 635–642, 2017.
- SILVA, R. E., RIBEIRO, F. DE O. S., ARAÚJO, G.S., ILES, B., PESSOA, O.D.L., ARAÚJO, A.R., SOARES, M.J.S. **Biological properties of Oncocalyxone A: a review**. Research, Society and Development, [S. l.], v. 10, n. 4, p. e57810414343. 2021.
- SOUSA, A. T. H. I., MAKINO, H., BRUNO, V. C. M., CANDIDO, S. L., NOGUEIRA, B. S., MENEZES, I. G., NAKAZATO, L., DUTRA, V. **Perfil de resistência antimicrobiana de *Klebsiella pneumoniae* isoladas de animais domésticos e silvestres**. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 71(2), 584–593. 2019.
- WATERMAN, P.G.; MOLE, S. **Analysis of phenolic plant metabolites**. Blackwell Scientific Publications 38(4):1064, 1994.