

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E MODULADORA DE ANTIBIÓTICOS BETA-LACTÂMICOS DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Croton grewoides* BALL

José Jonas Ferreira Viturino¹, Cícera Janaine Camilo², Mariana Pereira da Silva³, Ana Maria Fernandes Duarte⁴, Ana Cecília Calixto Donelardy⁵, Geane Gabriele de Oliveira Souza⁶, Lariza Leisla Leandro Nascimento⁷, Fabiola Fernandes Galvão Rodrigues⁸ e José Galberto Martins da Costa⁹

Resumo:

Os beta-lactâmicos são agentes antibacterianos que atuam na inibição da síntese da parede celular e seu uso indiscriminado assim como os demais antibióticos está levando ao desenvolvimento de microrganismos resistentes. A espécie de *Croton grewoides* Ball da família Euphorbiaceae apresenta inúmeras atividades biológicas, tais como antioxidante, antinociceptiva, antimicrobiana e inseticida. Assim essa pesquisa busca identificar a composição química do óleo essencial de *C. grewoides* bem como as atividades antimicrobiana e moduladora de antibióticos betalactâmicos frente a cepas padrões. A composição química do óleo essencial de *C. grewoides* (OECG) revelou a presença do estragol como componente majoritário com 50,34%. Os efeitos do OECG na concentração de 1000 µg/mL potencializou os efeitos da amoxicilina nas cepas de *K. pneumoniae* ICU e *S. aureus* ATCC 29213 sendo que nesta obteve um fator de redução da CIM de 40x (vezes) o que mostrou um potencial terapêutico promissor de relevância clínica que poderá auxiliar no combate de bactérias que estão envolvidas em diversos processos de infecções hospitalares.

Palavras-chave: beta-lactâmicos. óleo essencial e bactérias patogênicas.

1. Introdução

O uso de antibióticos foi um dos maiores avanços que a ciência já conquistou. Porém, o seu uso descontrolado está levando ao desenvolvimento de microrganismos resistentes (Costa *et al.*, 2017) tornando a pesquisa por produtos naturais uma prática viável para o combate a resistência microbiana (Costa *et al.*, 2008). Os beta-lactâmicos são antibióticos que se caracterizam por conter o anel beta-lactâmico em sua estrutura, é uma classe muito importante devido sua baixa toxicidade e alta eficácia terapêutica. O anel beta-lactâmico é responsável pela inibição da parede celular bacteriana, é o principal responsável pelo mecanismo de ação dessa classe de antibióticos (Arruda *et al.*, 2019).

-
- 1 Universidade Regional do Cariri, email: jonas.ferreira@urca.br
 - 2 Universidade Regional do Cariri, email: janainecamilo@hotmail.com
 - 3 Universidade Regional do Cariri, email: mariana.pereira@urca.br
 - 4 Universidade Regional do Cariri, email: ana.fernandes@urca.br
 - 5 Universidade Regional do Cariri, email: cecilia.donelardy@urca.br
 - 6 Universidade Regional do Cariri, email: geane.souza@urca.br
 - 7 Universidade Regional do Cariri, email: lariza.leandro@urca.br
 - 8 Universidade Regional do Cariri, email: fabiolafer@gmail.com
 - 9 Universidade Regional do Cariri, email: galberto.martins@urca.br

A espécie de *Croton grewoides* Ball da família Euphorbiaceae apresenta inúmeras atividades biológicas, tais como antioxidante, antinociceptiva, antimicrobiana e inseticida (Sousa *et al.*, 2022; Andrade *et al.*, 2015; Coelho-de-Souza *et al.*, 2013). Seu óleo essencial é rico em compostos bioativos relacionados a propriedades farmacológicas, dentre estes podem ser citados o estragol e anetol que apresentam atividades fungicida, bactericida e atuam na redução do estresse oxidativo (Andrade *et al.*, 2015; Sá *et al.*, 2018).

2. Objetivo

Identificar a composição química do óleo essencial de *C. grewoides* e avaliar as atividades antimicrobiana e moduladora de antibióticos betalactâmicos.

3. Metodologia

A coleta do material vegetal para extração do óleo essencial de *C. grewoides* foi realizada no município do Crato, Ceará, Brasil, entre os meses de agosto a setembro de 2022 no período da manhã. Os galhos de *C. grewoides* foram previamente triturados e posteriormente seguiu-se para o processo de hidrodestilação em aparelho do tipo Clavenger por um período de 4 horas obtendo um rendimento de 0,198% do peso total da amostra (2kg). Para avaliar a composição química do óleo essencial foi utilizada a técnica de cromatografia acoplada a espectrometria de massas (CG/MS) (ADAMS, 2017).

Para determinação da atividade antibacteriana foi utilizado o método de microdiluição com base no documento CLSI (2012) utilizando as seguintes cepas padrão *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Klebsiella pneumoniae* isolado clínico de urina. Para avaliar a atividade moduladora do OECG, foram utilizados antibióticos da classe dos betalactâmicos amoxicilina e penicilina. Para a realização do teste foi calculada a concentração subinibitória onde os valores da CIM do OECG respectivos de cada bactéria foram divididos por 8 obtendo a quantidade de amostra a ser adicionada no meio de cultura de BHI a 10% contendo 100 µL do inóculo (Coutinho *et al.*, 2008).

4. Resultados

A avaliação da composição química do óleo essencial extraído dos galhos de *C. grewoides* revelou a presença do estragol como componente majoritário com 50,34% seguido dos compostos metil eugenol com 19,39% e anisol com 10,99%. A atividade antibacteriana do óleo essencial de *C. grewoides* testada nas cepas padrão demonstrou resultados clinicamente relevantes na cepa de *K. pneumoniae* (ATCC ICU) com valores da concentração inibitória mínima (CIM) de 512 µg/mL. As demais cepas testadas não apresentaram valores significantes e tiveram seus valores da CIM de ≥ 1024 µg/mL.

A avaliação da atividade moduladora do OECG mostrou resultados promissores nas cepas bacterianas testadas.

O OECG potencializou os efeitos da amoxicilina nas cepas de *K. pneumoniae* ICU e *S. aureus* ATCC 29213 sendo que nesta obteve um fator de redução da CIM de 40x (vezes). Já na penicilina apresentou resultados em *S. aureus* ATCC 29213 sendo seus efeitos mais potentes na *K. pneumoniae* ICU com fator de redução da CIM de 50x. Os valores de redução da CIM dos antibióticos na presença e ausência do OECG estão descritos na tabela 1 na

qual se baseiam nos valores obtidos da média das triplicatas realizadas nos testes.

Tabela 1: Concentrações inibitórias mínimas ($\mu\text{g/mL}$) de antibióticos na ausência e presença do óleo essencial de *C. growioides*.

Amostra	microrganismos	CIM dos antibióticos ($\mu\text{g/mL}$)	
		Amoxicilina	Penicilina
Ausência	KP ICU	101,59	406,37
	SA 29213	256	256
	EC 25922	256	512
OECG	KP ICU	16 (6x)	8 (50X)
	SA 29213	6,35 (40X)	40,31 (6X)
	EC 25922	203,18	512

KP ICU – *K. pseudomoniae* isolado clínico de urina; SA 29213 - *S. aureus* ATCC 29213; EC 25922 - *E. coli* ATCC 25922; OECG – óleo essencial de *C. growioides*; entre parênteses estão os fatores de redução do MIC.

O óleo essencial de *C. growioides* apresenta compostos que podem atuar em diversas atividades biológicas e uma delas se trata de seu potencial antimicrobiano como sugerem os dados expostos nessa pesquisa (Costa *et al.*, (2008). Os efeitos do OECG na atividade antibacteriana relatada nessa pesquisa podem ter relação com os diversos compostos terpenoides presentes em sua composição demonstrando sua relação intrínseca a essa atividade (Nicolson *et al.*, 1999). Além disso óleos essenciais por possuírem caráter de hidrofobicidade ao entrarem em contato com as membranas bacterianas interferem processos bioquímicos essenciais a célula como a cadeia respiratória e produção de energia para célula o que leva a desregulação da permeabilidade da membrada facilitando a entrada de drogas antibióticas (Rodrigues *et al.*, 2009 e Coutinho *et al.*, 2010). Isso explica os potentes efeitos sinérgicos encontrados nessa pesquisa para bactérias padrão.

5. Conclusão

Os efeitos do óleo essencial nas atividades antimicrobianas e moduladoras de antibióticos beta-lactâmicos mostraram um potencial terapêutico de relevância clínica que pode auxiliar no combate de bactérias que estão envolvidas em diversos processos de infecções hospitalares. Entretanto mais pesquisas são necessárias para entender e comprovar como o OECG atua potencializando os efeitos dos antibióticos.

6. Agradecimentos

Ao Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais, a Universidade Regional do Cariri, aos órgãos de fomento de bolsa FUNCACE e CNPQ, e a comissão organizadora do evento.

7. Referências

ADAMS, R.P., 2001. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/ Quadrupole Mass Spectroscopy. **Allured Pub.** Corp, Illinois.

Andrade, T. C., LIMA, S. G., Freitas, R. M., Rocha, M. S., Islam, T., SILVA, T. G., & Militao, G. C. Isolation, characterization and evaluation of antimicrobial and cytotoxic activity of estragole, obtained from the essential oil of croton zehntneri (euphorbiaceae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 87, p. 173-182, 2015.

Arruda, C. J. M., de Almeida Siqueira, V. F., de Souza, F. J. M., das Neves Silva, J. L., Ferreira, K., & Faro, A. Revisão bibliográfica de antibióticos beta-lactâmicos. **Revista Saúde em Foco** – Edição nº 11 – Ano: 2019.

Coutinho, H. D., Costa, J. G., 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**, v. 54, n. 4, p. 328-330, 2008.

CLSI. **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard**-.Ninth Edition. CLSI document Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012.

Costa, J. G., Rodrigues, F. F., Angélico, E. C., Pereira, C. K., Souza, E. O. D., Caldas, G. F.R., Silva, M. R., Santos, N. K. A., Mota, M.L. & Santos, P. F. D. Composição química e avaliação da atividade antibacteriana e toxicidade do óleo essencial de *Croton zehntneri* (variedade estragol). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 583-586, 2008.

Costa, A. R., de Lima Silva, J., Lima, K. R. R., Rocha, M. I., Barros, L. M., da Costa, J. G. M., ... & Coutinho, H. D. M. *Rhaphiodon echinus* (Nees & Mart.) Schauer: Chemical, toxicological activity and increased antibiotic activity of antifungal drug activity and antibacterial. **Microbial pathogenesis**, v. 107, p. 280-286, 2017.

Coelho-de-Souza, A. N., Rocha, M. V. A., Oliveira, K. A., Vasconcelos, Y. A., Santos, E. C., Silva-Alves, K. S., Diniz, L.R.L., Ferreira-da-Silva, F.W., Oliveira, A.C., Ponte, E.L., Evangelistaa, J.S.A.M., Assreu, A.M.S. & Leal-Cardoso, J. H. Volatile oil of *Croton zehntneri* per oral sub-acute treatment offers small toxicity: perspective of therapeutic use. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 29, p. 228-233, 2019.

Nicolson, K., Evans, G., & O'Toole, P. W. Potentiation of methicillin activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by diterpenes. **FEMS Microbiology Letters**, v. 179, n. 2, p. 233-239, 1999.

RODRIGUES, Fabíola FG; COSTA, José GM; COUTINHO, Henrique DM. Synergy effects of the antibiotics gentamicin and the essential oil of *Croton zehntneri*. **Phytomedicine**, v. 16, n. 11, p. 1052-1055, 2009.

Sousa, A. J., Oliveira, G. L., Fonseca, L., Rocha, M. S., Rai, M., Santos, F. E., & Lima, S. G. D. Antioxidant properties of *Croton zehntneri* Pax et Hoffm. Essential oil and its inclusion complex with β -cyclodextrin prepared by spray drying. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 33, p. 1244-1253, 2022.

Sá, N. A. R., Bruno, J. B., Guerreiro, D. D., Cadenas, J., Alves, B. G., Cibin, F. W. S., Leal-Cardoso, J.H., Gastal, E.L. & Figueiredo, J. R. Anethole reduces oxidative stress and improves in vitro survival and activation of primordial follicles. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 51, 2018.