

IX SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXVII Semana de Iniciação Científica da URCA

04 a 08 de NOVEMBRO de 2024

Tema: "CIÊNCIA, TECNOLOGIA E AMBIENTE: MÚLTIPLOS SABERES E FAZERES"



PERFIL QUÍMICO E ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO EXTRATO ETANÓLICO DAS CASCAS DE *SARCOMPHALUS JOAZEIRO* (RHAMNACEAE)

Mariana Pereira da Silva¹, Natália Kelly Gomes Carvalho², José Jonas Ferreira Viturino³, Débora Odília Duarte Leite⁴, Fázia Fernandes Galvão Rodrigues⁵, Geane Gabriele de Oliveira Souza⁶, Fabíola Fernandes Galvão Rodrigues⁷, José Galberto Martins da Costa⁸

Resumo: A incidência de infecções causadas por bactérias com resistência à antibióticos é considerado um problema emergente e de ameaça à saúde humana mundial. Como alternativa, espécies de origem natural têm sido investigados. Dentre estas, *Sarcomphalus joazeiro* (Rhamnaceae) possui atividade antibacteriana relatadas, sendo um candidato promissor no combate a resistência bacteriana. O objetivo desse estudo é verificar o perfil químico e a atividade antibacteriana de *S. joazeiro*. A prospecção química foi realizada qualitativamente pela adição de reagentes específicos. A atividade antibacteriana foi verificada pela concentração mínima (CIM) e efeito modificador de antibióticos contra as cepas multirresistentes *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa*. Os resultados indicam que o extrato possui taninos e flavonóides na composição química. Na atividade antibacteriana, o extrato exibiu de CIM de 512µg/mL contra todas as cepas testadas. No efeito modificador de antibióticos, o extrato quando associado a benzilpenicilina potencializou a ação apenas para cepa SA10 com redução da CIM de 16 µg/mL para 0,5 µg/mL.

Palavras-chave: Atividade antibacteriana. Perfil químico. *Sarcomphalus joazeiro*.

1. Introdução

A descoberta de antibióticos foi um dos maiores avanços que a ciência já conquistou. Porém, o seu uso prolongado e generalizado tem intensificado o desenvolvimento e propagação de microrganismos resistentes. Nos últimos anos, os índices elevados de infecções causadas por bactérias com resistência à antibióticos têm sido considerado um problema emergente e de grave ameaça à saúde pública mundial (Costa et al., 2017).

¹ Universidade Regional do Cariri, email: mariana.pereira@urca.br

² Universidade Regional do Cariri, email: nataliakellygc@gmail.com

³ Universidade Regional do Cariri, email: jonas.ferreira@urca.br

⁴ Universidade Regional do Cariri, email: debora.duarte@urca.br

⁵ Universidade Regional do Cariri, email: fazia.galvao@urca.br

⁶ Universidade Regional do Cariri, email: geane.souza@urca.br

⁷ Universidade Regional do Cariri, email: fabiolafer@gmail.com

⁸ Universidade Regional do Cariri, email: galberto.martins@urca.br

IX SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXVII Semana de Iniciação Científica da URCA

04 a 08 de NOVEMBRO de 2024



Tema: “CIÊNCIA, TECNOLOGIA E AMBIENTE: MÚLTIPLOS SABERES E FAZERES”

Como alternativa a essa problemática, as plantas produzem um amplo espectro de compostos químicos, comumente conhecido como metabólitos secundários, que estão associados aos mecanismos de proteção a estresses abióticos e bióticos, além de possuírem valores nutricionais e farmacológicos (CARDOSO, J. C, 2019; LACERDA-NETO et al., 2019; STANGARLINI et al., 2011).

Sarcomphalus joazeiro Mart (Rhamnaceae) anteriormente classificada como *Ziziphus joazeiro* Mart (The plant list, 2023) possui atividade antibacteriana relatadas, sendo um candidato promissor no combate a resistência bacteriana. A espécie é endêmica da caatinga e possui ampla distribuição na região Nordeste do Brasil. Popularmente conhecida como “juá”, “joazeiro”, possui um alto valor potencial econômico para as comunidades locais, aplicado como fonte de energia, alimentação e no desenvolvimento de cosméticos. (ANDRADE et al. 2019). Na medicina tradicional, é utilizado como antisséptico oral, antimicótico, bactericida e expectorante, além do tratamento de úlceras gástricas e condições respiratórias (ANDRADE et al., 2019).

A disseminação de bactérias resistentes a antibióticos é considerada um grande problema de saúde pública. Dessa forma, são necessárias pesquisas que visam propor novas formas de tratamento capazes de resolver ou minimizar essa problemática (WHU, 2015). Logo, este estudo teve como objetivo contribuir e avaliar o perfil químico e a atividade antibacteriana do extrato etanólico obtido das cascas de *S. joazeiro*.

2. Objetivo

Averiguar as principais classes de metabólitos secundários do extrato etanólico das cascas de *Sarcomphalus joazeiro* Mart e avaliar a atividade antibacteriana e modificadora de antibióticos β -lactâmicos e aminoglicosídeos.

3. Metodologia

3.2 Coleta e preparação

As cascas (730 g) foram coletadas no Sítio Tabocas, localizado na zona rural do Município de Exu, Pernambuco. O material foi higienizado, cortado e submetido a extração pelo método de maceração a frio durante 72h sob temperatura ambiente, em hexano para remoção de gorduras, e posteriormente, em etanol 99,5% para obtenção do extrato bruto. Após essa extração, os materiais solventes orgânicos foram removidos com auxílio de evaporador rotativo sob pressão reduzida e a secagem ocorreu no banho maria. O rendimento obtido extrato etanólico das cascas de *S. joazeiro* (EECSJ) foi de 4,71 %.

3.2 Prospecção química

A Prospecção química foi realizada seguindo a metodologia proposta por Matos (2009). A presença e ausência dos metabólitos secundários ocorreu com base na observação da mudança de cor e/ ou precipitação após adição de reagentes específicos.

IX SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXVII Semana de Iniciação Científica da URCA

04 a 08 de NOVEMBRO de 2024



Tema: "CIÊNCIA, TECNOLOGIA E AMBIENTE: MÚLTIPLOS SABERES E FAZERES"

3.3 Determinação concentração Inibitória Mínima (CIM)

As cepas bacterianas foram cultivadas em meio de cultura (BHI) por 24 horas a 35°C. A determinação da CIM foi realizada através da técnica de microdiluição em caldo utilizando placas esterilizadas com 96 poços. As soluções utilizadas no teste foram preparadas 1024 µg/mL. A alíquota de 100 µL desta solução foi transferida para cada poço da placa. Logo após isso cada poço foi adicionado com 100 µL do tratamento correspondente diluído em série de concentrações que variaram de 512 a 8 µg/mL. Poços contendo apenas o inóculo em BHI foram usados como controle de crescimento. O crescimento bacteriano foi analisado adicionando 25 µL de resazurina sódica (0,1%) a cada poço e incubado a placa em temperatura ambiente por 1h. A CIM foi definida como a menor concentração capaz de inibir o crescimento bacteriano, observada pela mudança na cor da solução. Todos os experimentos foram realizados em triplicata (COUTINHO et al., 2008).

3.4 Atividade modificadora de antibióticos

Na análise dos efeitos do extrato de *S. joazeiro* (EECSJ) na resistência aos antibióticos β-lactâmicos (benzilpenicilina e cefalotina) e aminoglicosídeos (amicacina e gentamicina), seguiu a metodologia de Coutinho et al. (2008) com adaptações. As soluções com inóculo bacteriano foram preparadas em meio BHI com cada extrato em concentração equivalente à CIM/8. Os poços da placa de 96 poços foram preenchidos com 100 µL destas soluções e, em seguida, antibióticos foram microdiluídos em série, aos poços em sistemas variando de 512 a 0,5 µg/mL. Essa redução na CIM dos antibióticos do EECSJ foi interpretada como aumento da atividade antibiótica, que significa a modificação da resistência aos antibióticos. Os controles experimentais e os valores de CIM para cada antibiótico, na presença ou ausência dos extratos, foram determinados conforme anteriormente.

4. Resultados

4.1 Prospecção química

Na prospecção química, foi verificada a presença dos metabólitos secundários flavonóis, xantonas, chalconas e catequinas (tabela 1).

Tabela 1: Resultado da prospecção química do extrato etanólico das cascas de *Sarcomphalus joazeiro* (EECSJ).

	Classes de metabólitos secundários														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
EECSJ	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Legenda: 1- Fenóis; 2 -Taninos hidrolisáveis; 3 -Taninos condensados; 4- Antocianinas; 5- Antocianidinas; 6- Flavonas; 7- Flavonóis; 8- Xantonas; 9- Chalcona; 10- Auronas; 11- Flavononóis; 12- Leucoantocianidinas; 13- Catequinas; 14- Flavononas; 15- Alcaloides; (+) presença; (-) ausência.

IX SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXVII Semana de Iniciação Científica da URCA

04 a 08 de NOVEMBRO de 2024



Tema: "CIÊNCIA, TECNOLOGIA E AMBIENTE: MÚLTIPLOS SABERES E FAZERES"

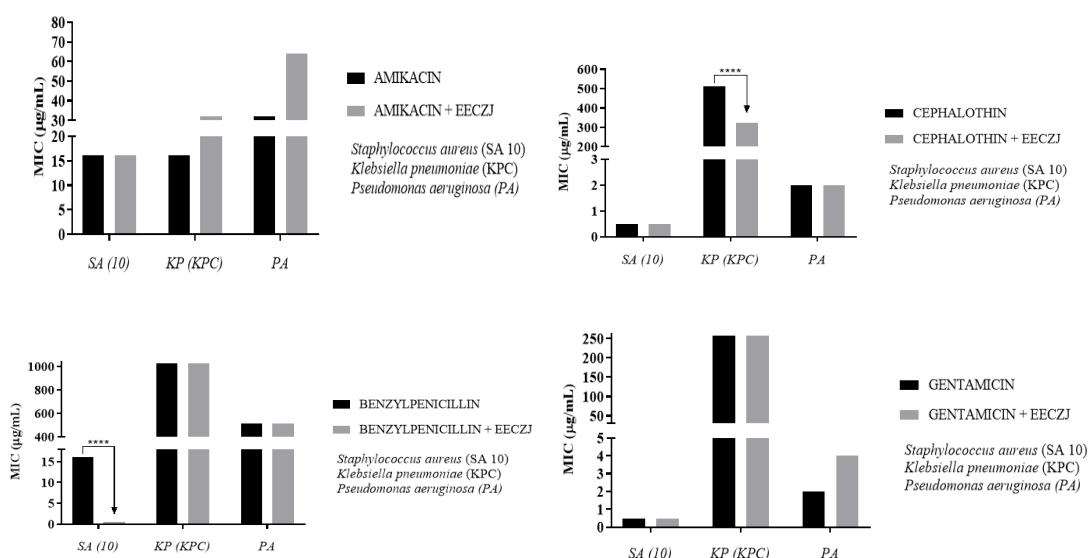
4.2 Atividade antibacteriana

O EECSJ, possui atividade bacteriana direta, clinicamente relevante apresentando uma CIM: 128 $\mu\text{g/mL}$, 512 $\mu\text{g/mL}$ e 512 $\mu\text{g/mL}$, para PA, SA e KPC, respectivamente (tabela 2).

Tabela 2: Concentração inibitória mínima do EECSJ frente às cepas bacterianas Gram negativa e Gram positiva.

BACTÉRIAS	CIM ($\mu\text{g/mL}$)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (PA)	128
<i>Staphylococcus aureus</i> (SA)	512
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (KPC)	512

Na avaliação da modificação antibiótica, o EECSJ quando associado a amicacina, não demonstrou redução da CIM frente às cepas testadas. Já para o antibiótico cefaloxina, foi capaz de reduzir a CIM quando testada frente a cepa KPC, por outro lado, nas demais não demonstrou redução. O extrato quando associado a benzilpenicilina potencializou a ação apenas para cepa SA 10, tendo uma redução de 16 para 0,5 $\mu\text{g/mL}$. Para as demais cepas, não possui valor significativo. Para o antibiótico gentamicina, foi observado ação antagônica para a cepa PA, e para as demais não demonstraram redução significativa.



Figuras: Potencial modulador do EECSJ na atividade antibiótica de β -lactâmicos e aminoglicosídeos.

Em estudo Andrade et al., (2019) a caracterização química do extrato aquoso das cascas *S. joazeiro* constatou a presença de metabólitos secundários comuns a ambos os extratos, como flavonoides (leucoantocianidinas, flavonas, flavonois, flavononas, xanthonas, catequinas), esteroides e saponinas.

IX SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXVII Semana de Iniciação Científica da URCA

04 a 08 de NOVEMBRO de 2024

Tema: "CIÊNCIA, TECNOLOGIA E AMBIENTE: MÚLTIPLOS SABERES E FAZERES"



5. Conclusão

O trabalho demonstrou que o EECSJ não possui atividade relevante clinicamente frente às cepas testadas, quando associado aos respectivos antibióticos. Entretanto, mais pesquisas são necessárias para esclarecer e relacionar possíveis efeitos do extrato na ação antibacteriana.

6. Agradecimentos

Ao Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais (LPPN), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico (CNPQ) e a Universidade Regional do Cariri (URCA).

7. Referências

ANDRADE, J. C., SILVA, A. R. P., SANTOS, A. T. L., FREITAS, M. A., CARNEIRO, J. N. P., GONÇALO, M. I. P., DE SOUZA, A., FREITAS, T. S., RIBEIRO, P. R. V., BRITO, E. S., MORAIS-BRAGA, M. F. B., & COUTINHO, H. D. M. **UPLC-MS-ESI-QTOF characterization and evaluation of the antibacterial and modulatory antibiotic activity of Ziziphus joazeiro Mart. aqueous extracts.** *South African Journal of Botany*, 123, 105–112. 2019.

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, ago. 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.

Cardoso JC, Oliveira MEBS, Cardoso FCI. 2019. Advances and challenges on the in vitro production of secondary metabolites from medicinal plants. **Horticultura Brasileira** 37: 124-132.

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

MATOS, F. J. A. **Introdução a fitoquímica experimental**, 3a. ed. Fortaleza: UFC, 2009.