

2.12.99-Microbiologia

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE MICROBIOLÓGICA E CITOPROTETORA DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DAS FOLHAS DE *Licania rigida* Benth (oiticica)

CORREIA, Denise Bezerra¹, ROSA, Andressa Gabrielli da Silva¹, ALENCAR, Cícero Damon Carvalho de¹, COSTA, Maria Haiele Nogueira da¹, HONORATO, Rosilaine de Lima¹, MONTEIRO, Álefe Brito², LIMA-FERNANDES, Cicera Norma², SANTOS, Enaide Soares dos³, TINTINO, Saulo Relison⁴, KERNTOPF, Marta Regina⁵

1. Graduando(a) em Ciências Biológicas - Universidade Regional do Cariri - URCA
2. Mestre em Bioprospecção Molecular - URCA
3. Mestranda em Bioprospecção molecular - URCA
4. Doutorando pelo Programa Rede Nordeste de Biotecnologia - RENORBIO
5. LFPN-URCA – Departamento de Química Biológica/ Orientador

Resumo:

Esse trabalho visa avaliar a atividade antibacteriana e moduladora do extrato hidroalcoólico das folhas da *Licania rígida* Benth (EHFLr) em associação com oxacilina, clorafenicol, vancomicina e gentamicina; e avaliar o seu potencial citoprotetor diante de metais pesados sulfato de ferro (FeSo₄), sulfato de cobre (CuSo₄), cobalto (CoCl₂) e cloreto de cádmio (CdCl₂).

Nos ensaios, a concentração antibacteriana do EHFLr, da oxacilina e da vancomicina contra a cepa de *Escherichia coli* foi $\geq 1024 \mu\text{g/mL}$. Na avaliação do efeito modulador associando o EHFLr com a oxacilina, clorafenicol e vancomicina, observou-se um antagonismo contras as cepas de *E. coli*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*. Quanto a atividade citoprotetora, o EHFLr apresentou efeito protetor diante do CuSo₄.

Diante disso, pode-se afirmar que o EHFLr não tem potencial antimicrobiano e sim citoprotetor, porém torna-se viável a realização de mais estudos para elucidar os mecanismos de ação envolvidos nessa atividade.

Palavras-chave: *Licania rígida* BENTH; Antibiótico; Microdiluição.

Apoio financeiro: FUNCAP

Trabalho selecionado para a JNIC pela instituição: Universidade Regional do Cariri - URCA

Introdução:

As plantas medicinais são usadas desde as regiões mais pobres do país até em grandes cidades brasileiras, sendo encontradas em feiras livres, mercados populares ou em quintais residenciais.

No nordeste do Brasil, espécies do gênero *Licania*, popularmente conhecidas como “oiticica”, é muito utilizada na medicina popular no tratamento de diabetes, inflamações e infecções bacterianas, sendo que para este fim, a população utiliza suas folhas.

Em análises previamente divulgadas na literatura, evidenciou em sua composição a presença de alguns metabólitos secundários como: taninos, flavonóides e ácidos graxos.

Bactérias são microrganismos inseparáveis da vida na terra, podendo ser encontradas em qualquer lugar. Algumas bactérias são inofensivas, atuando de forma benéfica para seu hospedeiro e providenciam nutrientes ou proteção contra patógenos e doenças.

Porém, existem bactérias que estão intimamente ligadas à infecções humanas, sendo um dos problemas mais graves na maioria dos países em desenvolvimento.

O uso indiscriminado de antibióticos aumenta o espectro de exposição dos microrganismos a estes além de desencadear um aumento de pressão seletiva, facilitando a estes microrganismos criarem mecanismos de resistência.

Na maioria das vezes os metais pesados estão presentes nos solos, em concentrações ou formas que não oferecem risco para o ambiente, todavia, as células expostas a esses elementos como: sulfato de ferro (FeSo₄), sulfato de cobre (CuSo₄), cobalto (CoCl₂) e cloreto de cádmio (CdCl₂), vão sofrer danos que comprometem a funcionalidade das mesmas sendo assim este, um aspecto de grande preocupação quanto à segurança ambiental, assim como à segurança humana.

Assim, o estudo com produtos naturais com fins medicinais, a qual compete à farmacoterapia, visa descobrir métodos em

que os possíveis fármacos possam ser um princípio ativo para proteger as células eucariontes de metais pesados.

Portanto esse trabalho visa avaliar a associação do extrato da *L. rígida* Benth com os antibióticos (oxacilina, clorafenicol, vancomicina e gentamicina) tendo em vista, se irá potencializar a ação destes e venha a ser uma substância promissora para combater essa resistência bacteriana, e também se a substância em teste consegue proteger células eucarióticas da ação de metais.

Metodologia:

As folhas de *L. rígida* foram coletadas em Missão Nova, distrito de Missão Velha/Ceará. Foram trituradas e submersas em água e álcool (na proporção de 1:1) por 72h. Após esse período, a solução foi filtrada e submetida à destilação do solvente (álcool) no aparelho rotaevaporador, onde o produto obtido foi liofilizado durante 48 horas para a remoção total da água. Seguindo a metodologia de Matos (1997).

Para avaliar a atividade antibacteriana e moduladora, foram utilizadas diversas drogas, sendo os antibacterianos padrões (oxacilina, gentamicina, clorafenicol e vancomicina). As linhagens bacterianas utilizadas foram às cepas padrões: *E. coli*, *S. aureus* e *P. aeruginosa*.

A CIM (concentração inibitória mínima) foi determinada em ensaio de microdiluição em caldo (NCCLS 2003) utilizando-se um inóculo de 100 µL de cada linhagem, suspensas em caldo BHI que apresentava uma concentração de 10⁵ UFC/mL em placas de microdiluição. Em cada poço foi adicionado 100 µL de solução do EHFLr. As concentrações finais dos extratos variaram entre 512 - 8 µg/mL. Para os controles foram utilizados os antibióticos padrões oxacilina, gentamicina, clorafenicol e vancomicina, cujas concentrações finais variaram entre 2500 µg/mL – 2,4 µg/mL. As CIMs foram registradas como as menores concentrações para a inibição do crescimento.

O EHFLr foi testado em uma concentração sub-inibitória (CIM/8 µg) com 100 µL de uma solução contendo *Brain Heart Infusion* (BHI) a 10%, solução de teste e suspensão bacteriana. 100 µL de solução antibiótica foram adicionados (na proporção de 1:1) até o penúltimo. As placas foram incubadas a 35° C por 24h, após o qual, colorimétricas leituras foram feitas utilizando resazurina.

Para avaliação citoprotetora do EHFLr sob os metais pesados [Sulfato de ferro (FeSO₄) e

Sulfato de cobre (CuSO₄); Cloreto de cobalto (CoCl₂) e Cloreto de cádmio (CdCl₂)], foram preparados eppendorfs® contendo concentrações subinibitórias do EHFLr, sendo usado o CIM/8 das amostras e suspensões com 10⁵ UFC/mL de *Candida albicans* em meio BHI a 10%. Cada solução foi distribuída nas cavidades da placa de 96 poços. Logo em seguida 100 µL de metal (FeSO₄, CuSO₄, CoCl₂ e CdCl₂) foram adicionados em cada placa, na primeira cavidade seguindo com sucessivas microdiluições até a penúltima cavidade. A concentração do metal variou de 500 a 0,49 µM. O mesmo procedimento foi realizado no controle, entretanto sem a amostra em concentração subinibitória. Após 24 horas foi feito um inóculo de cada poço da placa de microdiluição e subcultivada em placas com *Heart Infusion Agar* (HIA), isso tanto para o teste como para o controle. As placas de microdiluição foram incubadas a 35 ± 2° C por 48h para serem feitas as leituras.

Resultados e Discussão:

Observa-se que no ensaio antimicrobiano, a concentração antibacteriana necessária contra a cepa de *E. coli* foi ≥1024 µg/mL, para o EHFLr e para os antibióticos oxacilina e vancomicina. Já os antibióticos clorafenicol e gentamicina mostraram-se mais eficazes, apresentado uma CIM de 256 µg/mL e 16 µg/mL, respectivamente, contra a referida cepa.

Contra a cepa de *S. aureus* o extrato mostrou-se inefetivo ao apresentar uma CIM ≥1024 µg/mL, enquanto que os antibióticos oxacilina, clorafenicol, vancomicina e gentamicina apresentaram, respectivamente, uma CIM de 256, 512, 128 e 16 µg/mL..

Contra a cepa de *P. aeruginosa* apenas os antibióticos clorafenicol e gentamicina apresentaram efeitos bactericidas *in vitro*, apresentando uma CIM de 512 µg/mL e 8 µg/mL, respectivamente.

Ao avaliar a atividade antibacteriana da associação do EHFLr com os antibióticos oxacilina, clorafenicol e vancomicina, observou-se um efeito antagônico contras as cepas de *E. coli*, *S. aureus* e *P. aeruginosa*, ou seja, a concentração necessária com ação bactericida do antibiótico, aumentou com a adição do extrato.

Ao analisar o efeito do sulfato de cobre sobre as cepas fúngicas e ao comparar o EHFLr associado ao metal pesado, observou-se um efeito citoprotetor ao aumentar a

capacitância de sobrevivência desses microorganismos.

Conclusões:

Conclui-se, portanto que o extrato hidroalcoólico das folhas de *Licania rígida* não apresentou um efeito antimicrobiano, contudo mostrou efeito citoprotetor significativo. Assim, torna-se viável a realização de mais estudos para elucidar os mecanismos de ação envolvidos nessa atividade.

Referências bibliográficas

BRAVO, Laura. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. **Nutrition reviews**, v. 56, n. 11, p. 317-333, 1998.

COUTINHO, H. D. M.; CORDEIRO, L. N.; BRINGEL, K. P. Antibiotic resistance of pathogenic bacteria isolated from the population of Juazeiro do Norte-Ceará. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, v. 9, n. 1, p. 127-38, 2005.

GRUNDHÖFER, Petra et al. Biosynthesis and subcellular distribution of hydrolyzable tannins. **Phytochemistry**, v. 57, n. 6, p. 915-927, 2001.

HUGHES, Colin et al. Genetics and pathogenic role of Escherichiacoli haemolysin. **Toxicon**, v. 20, n. 1, p. 247-252, 1982.

JAVADPOUR, Maryam M. et al. De novo antimicrobial peptides with low mammalian cell toxicity. **Journal of medicinal chemistry**, v. 39, n. 16, p. 3107-3113, 1996.

SADAO, Marcelo. Intoxicação por chumbo. **Revista de oxidologia**, v. 11, p. 37-42, 2002.

VEIGA JÚNIOR, V. F; PINTO A.C; MACIEL. A. M. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.