



Avaliação da atividade antibacteriana, moduladora e caracterização fitoquímica das frações acetato de etilo obtidas dos extratos das folhas de *Cordia verbenacea* DC.

Victória Regina de Alencar Carvalho, victoria_alencar1@hotmail.com¹

Maria Karollyna do Nascimento Silva, mariakarollns@hotmail.com¹

Edinaldo Fagner Ferreira Matias, effm_biologia@hotmail.com^{1,2}

¹Faculdade Leão Sampaio-CE-FALS-63180-000, Juazeiro do Norte, CE, Brasil

²Rede Nordeste de Biotecnologia-RENORBIO/Universidade Estadual do Ceará-UECE-60740-000, Fortaleza, CE, Brasil

INTRODUÇÃO

A *Cordia verbenacea* DC, conhecida popularmente como “erva baleeira”, é uma espécie de planta que vem sendo explorada no sentido de produzir fitoterápicos. O gênero *cordia* pertence à família *Boraginacea*, abrangendo cerca de 250 espécies que em maioria, possuem porte arbóreo ou arbustivo; é encontrada desde a América Central até a Região Central da Argentina (Barroso et al., 2002) tendo ampla distribuição na Mata Atlântica e regiões baixas da Amazônia (Lorenzi et al., 2003). O emprego de produtos naturais como agentes antimicrobianos, antiinflamatórios e analgésicos é amplamente utilizado na medicina popular, tal ação é demonstrada através da *C. verbenacea* DC onde estudos realizados apresentaram o potencial antiinflamatório e baixa toxicidade de seus componentes sob a mucosa gástrica de ratos (Sertie et al., 2005). O desenvolvimento da resistência de microrganismos a antibióticos é um problema preocupante no tratamento de doenças, onde este aumenta a morbidade e mortalidade (Coutinho et al., 2005), é nesse contexto, que o desenvolvimento de novas drogas antibacterianas torna-se importante no combate de infecções, em especial, quando aliadas a produtos naturais obtidos de plantas com substâncias que alteram essa resistência (Michelin et al., 2005). Portanto, o objetivo deste estudo foi justificar, por meio de modelos



experimentais *in vitro*, a utilização das frações de acetato de etilo obtidas de extratos metanólicos e hexânicos das folhas de *C. verbenacea* DC como um agente terapêutico e fonte alternativa de novas substâncias.

METODOLOGIA

Inicialmente, as folhas da *C. verbenacea* foram colhidas no município do Crato, Ceará, Brasil; Foi preparada uma exsicata da espécie e enviada ao herbário Prisco Bezerra-UFC para identificação botânica recebendo número de registro: 044171. Para obtenção do extrato, as folhas foram trituradas para aumentar a superfície de contato, e em seguida foram acondicionadas em um recipiente contendo o solvente metanol em quantidade suficiente para submergir todo o material vegetal, permanecendo assim por 72 horas. Após esse período, foi realizada a concentração do extrato em um evaporador rotativo a vácuo (modelo Q-344B-Quimis, Brasil) e banho ultrathermal (modelo Q-214m2-Quimis, Brasil), obtendo-se o extrato bruto. Para obtenção da fração, o extrato foi fracionado a partir de filtração a vácuo com a utilização de solventes de diferentes polaridades, assim, foram obtidos 10,94g da fração acetato de etilo a partir de 44,33g do extrato metanólico de *C. verbenacea* DC.(AFMECV), e 3,56g de fração de acetato de etilo a partir de 16,00g do extrato hexânico de *C. verbenacea* DC.(AFHECV). 10mg/ml da solução foi diluída em DMSO e água destilada para obtenção de uma concentração de 1024 mg/L. Os testes fitoquímicos foram realizados para detectar a presença de metabólitos secundários, sendo utilizada a metodologia descrita por Matos (1997); estes foram baseados na observação visual de uma alteração na cor ou a formação de um precipitado após a adição de reagentes específicos e a quantificação de compostos por meio de HPLC –DAD foram realizadas seguindo o método proposto por (Laghari et al. , 2011), com ligeiras modificações. No teste da Concentração Inibitória Mínima (CIM) foram utilizadas as bactérias das linhagens padrões de *Escherichia coli* ATCC 10536, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 e as linhagens bacterianas multirresistentes de isolados clínicos de *P. aeruginosa* 03, *E. coli* 27 e *S. aureus* 358, já no teste de modulação foram usadas apenas as linhagens multirresistentes; as drogas utilizadas foram os



aminoglicosídeos amicacina, gentamicina e neomicina. O método empregado para determinação da CIM foi o da microdiluição (Javdpour et al., 1996; NCCLS, 2003; CLSI, 2005) e para o teste de modulação a metodologia descrita por Javdpour et al (1996); NCCLS (2003); CLSI (2005) e Lorenzi et al (2003), os resultados foram expressos como média geométrica. A análise estatística foi aplicada a análise de duas vias seguido por pós-testes Bonferroni usando o software GraphPadPrism 5.0 (Matias et al., 2013).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os testes fitoquímicos detectaram a presença de taninos flobatenics, flavonóides (flavonas, flavonóis, xantonas, flavonons, flavonones) e terpenos para a fração de acetato de etilo do extrato metanólico (AFMECV); O resultado para a fração acetato de etilo do extrato hexano (AFHECV) obteve a presença de taninos flobatenics, flavonóides (flavonas, flavonóis, xantonas, flavonons) e terpenos, a presença dessas substâncias é muito importante, pois muitos estudos descrevem que os compostos fenólicos demonstraram seu potencial terapêutico como agentes antifúngicos, antimicrobianos, anti-inflamatório, antioxidante e agente de cicatrização de feridas (Santos *et al* , 2004). A análise por HPLC das frações de acetato de etilo dos extratos metanólicos e hexano das folhas de *Cordia verbenacea* DC revelou a presença de ácido gálico, ácido clorogénico, ácido caféico, fenol glicosídeo não identificado, rutina e quercetina. A avaliação da CIM de AFMECV e AFHECV testado contra cepas padrão e multi-resistentes de *S. aureus*, *E. coli* e *P. aeruginosa* mostrou uma Concentração Inibitória Mínima de 256 a 1,024 mg / L para as estirpes de bactérias utilizadas, onde foram considerados os resultados com atividade clínica relevante (256 mg / L) e irrelevante (1024 mg / L). Nos testes de modulação da resistência bacteriana aos aminoglicosídeos a AFMECV e AFHECV potencializaram o efeito antibacteriano dos antibióticos testados contra todas as cepas bacterianas utilizadas, com exceção de AFHECV quando combinada a amicacina e testado contra o SA358, onde houve antagonismo reduzindo o potencial antibacteriano do aminoglicosídeo. Ao considerar a existência das diferenças de polaridade entre metabólitos secundários que estão relacionados com afinidades



para muitas ações biológicas, os produtos naturais demonstraram uma atividade antibacteriana e modificadora de resistência (Matias *et al.* , 2010a, b).

CONCLUSÃO

Os resultados expõem que os extratos e as frações obtidas a partir das folhas de *C. verbenacea* DC possuem atividade antibacteriana moderada clinicamente relevante, mas quando combinada com um antibiótico para avaliar sua influência sobre a resistência bacteriana aos aminoglicosídeos, as frações (AFMECV e AFHECV) demonstraram atividade sinérgica significativa. Portanto é recomendável o desenvolvimento de planos de gestão para o uso racional e sustentável das espécies, para que mais estudos possam ser realizados com as frações no tratamento de outras patologias.

REFERÊNCIAS

Barroso ICE, Oliveira F, Branco LHZ, Kato ETM, Dias TCO. (2002). O Gênero Cordia L.: Botânica, química e farmacologia. *Acta Bot Bras*, 20, 15-34.

CLSI (2005). *Clinical and laboratory standards institute performance. Normas para teste a susceptibilidade antimicrobiana: XV Suplemento informativos*. Aprovado padrão M100 – S15. CLSI, Wayne, PA, EUA.

Coutinho HDM, Cordeiro LN, Bringel KP. (2005). Resistência antibiótica de bactérias patogênicas isoladas da população de Juazeiro do Norte - Ceará. *Rev. Bras Ciênc. Saúde*, 9, 127-138.

Javadpour MM, Juban MM, Lo WC, Bispo SM, Alberty JB, Cowell MS, Becker CL, ML McLaughlin. (1996). De Novo peptídeos antimicrobianos com a toxicidade em células de mamíferos baixo. *J Med Chem*, 39, 3107-3113.

Laghari AH, Memon S, Nelofar A, Yasmin A. (2011). Determinação de ácidos fenólicos livres e atividade antioxidante dos extratos obtidos a partir de frutos e folhas de *Chenopodium album*. *Food Chem*, 126, 1850-1855.



Lorenzi H, Souza HM, Torres MAV, Bacher LB. (2003). Árvores exóticas no Brasil: Madeiras, Ornamentais e aromáticas. Nova Odessa: Instituto Plantarum, pp.384.

Matias EFF, Alves EF, Santos BS, Sobral - CE Souza, Ferreira JVA, Lavor AKLS, Figueredo FG, Lima LF, Santos FAV, Peixoto FSN, Colares AV, Bolifon AA, Saraiva RA, Athayde ML, Rocha JBT, Menezes IRA, Coutinho HDM, Costa JGM. (2013). Atividades biológicas e químicas *Cordia* *verbenacea* Caracterização da DC como ferramenta para validar o uso etnobiológico. Evid Based Complement Alternat Med, de 2013, 1-7.

Matias EFF, Santos KKA, Almeida TS, Costa JGM, Coutinho HDM. (2010a). Atividade antibacteriana in vitro de *Croton campestris* A., *Ocimum gratissimum* L., *Cordia verbenacea* DC. Ver. Bras. Biocienc. 8, 294-298.

Matias EFF, Santos KKA, Almeida TS, Costa JGM, Coutinho HDM. (2010b). Valorização do antibiótico por atividade da *Cordia verbenacea* DC. Acta. Farm. Bonaer. 29, 1049-1052.

Matos FJA. (1997). Introdução à Fitoquímica Experimental. 2ª ed. - Fortaleza: UFC.

Michelin DC, Moreschi PE, Lima AC, Nascimento GGF, Paganelli MO, Chaud MV. (2005). Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos vegetais. Rev. Bras. Farmacogn. 15, 316-320.

NCCLS. (2003). Committee Nacional for Clinical Laboratory Standards. Métodos de diluição testes de susceptibilidade aos antimicrobianos de bactérias que crescem aerobicamente. 6ª ed. Aprovado padrão M7- A6. NCCLS, Wayne, PA, EUA.

Santos SC, Mello JCP. (2004). Taninos. In: Simões CMO, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR. Ed. Farmacognosia: Da Planta AO Medicamento. Porto Alegre: Editora da UFRGS / Editora da UFSC. 527-554.

Sertie JA, Woisky RG, Wiezel G, Rodrigues M. (2005). Ensaio farmacológico da *Cordia verbenacea* V: atividade anti-inflamatória oral e tópica, efeito analgésico e toxicidade feto de um extrato de folha cru. Phytomedicine, 12, 338-344.