



CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E MODULADORA DE RESISTÊNCIA AOS AMINOGLICOSÍDEOS DE FRAÇÕES CLOROFÓRMICAS OBTIDAS DE EXTRATOS DE FOLHAS DE *Cordia verbenacea* DC .

Maria Karollyna do Nascimento Silva, mariakarollns@hotmail.com¹
Victória Regina de Alencar Carvalho, victoria_alencar1@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 pesquisa de novas substâncias antibacterianas torna-se necessária devido ao aumento da resistência de patógenos clinicamente importantes aos antibióticos (Costa et al. , 2007) , uma vez que para os pacientes com infecções , a resistência antimicrobiana aumenta a morbidade e mortalidade e ainda há um aumento considerável dos custos para as instituições de saúde (Coutinho et al. , 2005). Substâncias derivadas de plantas poderiam ser alternativas atraentes (Oliveira et al, 2007), pois, os produtos naturais dessas plantas podem alterar ou modular a ação do antibiótico , aumentando ou reduzindo a atividade desta droga (Coutinho et al. , 2008a). " Erva-baleeira " , *Cordia verbenacea* DC ., pertence à família Boraginaceae e é uma das espécies de plantas que está sendo explorada com a finalidade de produzir um produto fitoterápico extraído a partir das folhas (Barroso et al. , 2002). O extrato bruto das partes aéreas da erva (folhas e caules) é amplamente utilizado na medicina popular , na forma de extratos hidroalcoólicos , decocções e infusões , principalmente como antimicrobianos , anti-inflamatórios e analgésicos (Sertie et al . , 2005) . Diante disso, o objetivo deste estudo foi justificar , utilizando modelos



experimentais in vitro , a utilização das frações clorofórmicas, obtidas dos extratos metanólico e hexano de folhas de *C. verbenacea* DC como um agente terapêutico e uma fonte alternativa de novas substâncias agente modulador da resistência bacteriana a aminoglicosídeos.

METODOLOGIA

As folhas de *Cordia verbenacea* DC foram coletadas no município de Crato, estado do Ceará, Brasil. Foi preparada uma exsicata da espécie, a qual foi enviada para o Herbário Prisco Bezerra – UFC para identificação botânica, recebendo número de registro 044171. Primeiramente foram obtidos os extratos metanólico e hexânico e logo após foi realizada a concentração do extrato em condensador rotativo a vácuo (modelo Q - 344B - Quimis , Brasil) e banho ultrathermal (modelo Q - 214M2 - Quimis , Brasil), obtendo-se os extratos brutos. Para obtenção das frações, os extratos foram fracionados a partir de filtração à vácuo com a utilização de solventes de diferentes polaridades. Foram obtidas 4,54 g de fração clorofórmica do extrato metanólico de *Cordia verbenacea* DC. (CFMECV) e 4,85 g de fração clorofórmica do extrato hexânico de *Cordia verbenacea* DC . (CFHECV) . Os testes fitoquímicos foram realizados de acordo com o método descrito por (Matos,1997) e a quantificação de compostos por meio de HPLC –DAD foram realizadas seguindo o método proposto por (Laghari et al. , 2011), com ligeiras modificações. Para o teste de Concentração Inibitória Mínima (MIC) foram utilizadas as linhagens padrões de *E. coli* ATCC 25923, *S. aureus* ATCC 10536 e *P. aeruginosa* ATCC 15442 e as linhagens bacterianas multirresistentes de isolados clínicos *P. aeruginosa* 03, *E. coli* 27 e *S. aureus* 358. Para o teste de modulação foram usadas apenas as linhagens multirresistentes. As drogas utilizadas nos testes foram os aminoglicosídeos amicacina, neomicina e gentamicina a uma concentração inicial de 5.000 µg/mL. O método utilizado para determinação da MIC foi o da microdiluição em caldo (Javadpour et al , 1996; . NCCLS , 2003 , NCCLS , 2005) . A atividade moduladora foi determinada de acordo com os métodos propostos por Javadpour et al (1996); NCCLS (2003); NCCLS (2005) e Lorenzi et al (2003). A análise estatística foi



aplicada à análise de variância de duas vias seguido pelo pós-teste de Bonferroni utilizando GraphPad Prism método software 5.0 descrito por (Matias et al. , 2013).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os testes fitoquímicos para CFMECV mostraram a presença de taninos flobatenics, flavonóides (flavonas, flavonóis, xantonas, flavonons, leucoantocyanidins, catehins, flavonones) e terpenos. Os resultados para CFHECV mostraram a presença de taninos flobatenics, flavonóides (flavonas, flavonóis, xantonas, flavonons) e terpenos . Os compostos fenólicos, incluindo os taninos e flavonóides, têm demonstrado seu potencial terapêutico como antiinflamatórios , antifúngicos , antimicrobianos , antioxidantes e agentes de cicatrização de feridas (Santos & Mello , 2004). A quantificação de compostos por meio de HPLC –DAD de CFMECV e CFHECV revelou a presença de ácido gálico, ácido clorogénico e ácido caféico. No teste de Concentração Inibitória Mínima (MIC), foi obtido um resultado 1024 µg / mL para todas as linhagens de bactérias testadas , mas CFMECV contra *S. aureus* multirresistente (SA358) mostrou MIC de 128 µg/ mL e CFHECV contra *P. aeruginosa* resistente (PA03) mostrou MIC de 512 µg/ mL. Foram considerados como atividade de relevância clínica, valores 256 µg/ mL. Nos testes de modulação da resistência bacteriana aos aminoglicosídeos, CFMECV e CFHECV potencializaram o efeito antibacteriano dos antibióticos testados contra todas as estirpes de bactérias utilizadas, exceto CFHECV quando combinado com neomicina e testado contra a estirpe SA358 e quando combinado com gentamicina e testado contra a estirpe de PA03, onde não houve sinergismo. O uso de extratos como agentes antimicrobianos apresenta um baixo risco de aumento da resistência microbiana a sua ação, porque eles são misturas complexas, proporcionando maiores dificuldades para adaptação microbiana (Daferera et al. , 2003).

CONCLUSÃO

Os resultados indicam que as frações obtidas a partir de folhas de *C. verbenacea* possuem atividade antibacteriana moderada que é clinicamente relevante, mas quando combinadas com um antibiótico para avaliar a sua influência



sobre a resistência bacteriana aos aminoglicosídeos , demonstraram significativa atividade sinérgica . Diante disso, o uso das folhas dessa planta pode constituir-se numa alternativa viável e acessível para tratamento antibacteriano, tornando-se necessário o desenvolvimento de políticas de gestão para o uso racional da espécie e para o aumento dos estudos do uso de frações no tratamento de outras enfermidades.

REFERÊNCIAS

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

Costa JGM , Rodrigues FFG , Angélico CE , Pereira CKB , Souza EO, Caldas GFR , Silva MR , Santos NKA . (2007) . Composição química e Avaliação da Atividade antibacteriana e Toxicidade do Óleo essencial de Croton zehntneri (variedade estragol) . Rev Bras Farmacogn , 18, 583-586 .

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 .

Coutinho HDM , Costa JGM , Lima EO, Falcão -Silva VS , Siqueira -Junior JP . (2008a) . Valorização do antibiótico Atividade contra um multirresistente Escherichia coli por Mentha arvensis L. e clorpromazina . Quimioterapia , 54, 328-330 .

Daferera DJ, Ziogas BN , Polissiou MG . (2003) . A eficácia dos óleos essenciais de plantas em crescimento do Botrytis cinerea , Fusarium sp . e Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis . Cortar Prot , 22, 39-44 .

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 : Madeireiras , 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 Complemento Alternat Med, de 2013, 1-7 .

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

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

Oliveira FQ , Gobira B , Guimarães C , Batista J , Barreto M, Souza M. (2007) . Espécies Vegetais indicadas nd odontologia , Rev Bras Farmacogn , 17, 466-476 .

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 verbenaceae* V: atividade anti-inflamatória oral e tópica , efeito analgésico e toxicidade feto de um extrato de folha cru. Phytomedicine , 12 , 338-344 .