

Atividades antioxidante e antimicrobiana de *Cochlospermum regium* e *Schinus terebinthifolia*

Antioxidant and antimicrobial activities of *Cochlospermum regium* and *Schinus terebinthifolia*

RESUMO

Mariana Soares Rodrigues
mariisoares25@yahoo.com.br
Universidade Tecnológica
Federal do Paraná, Dois
Vizinhos, Paraná, Brasil

Fábio Antônio Antonelo
fabioantonelo.33@gmail.com
Universidade Tecnológica
Federal do Paraná, Dois
Vizinhos, Paraná, Brasil

Paula Fernandes Montanher
paulamontanher@utfpr.edu.br
Universidade Tecnológica
Federal do Paraná, Dois
Vizinhos, Paraná, Brasil

As cascas das espécies popularmente conhecidas como algodãozinho (*Cochlospermum regium*) e aroeira (*Schinus terebinthifolia*) são encontradas no cerrado, um dos maiores biomas brasileiros. As mesmas que possuem inúmeras propriedades tais como, anti-inflamatória, antimicrobiana e cicatrizante. Devido à grande utilização na medicina popular, mais estudos são necessários a fim de elucidar o potencial químico e biológico dos compostos bioativos encontrados nas suas cascas. Com isso, o objetivo deste trabalho é avaliar o potencial antioxidante e antimicrobiano dos extratos das cascas de *S. terebinthifolius* e *C. regium*. Os resultados obtidos demonstraram que os extratos aquosos de algodãozinho e aroeira apresentaram potencial antioxidante, para CFT variaram de 112,01 a 126,36 mg AGE.100g, as análises de DPPH foram de 1168,77 a 1515,43 $\mu\text{mol L}^{-1}$ TE.100g e ABTS de 665,75 a 1364,4 $\mu\text{mol L}^{-1}$ TE.100g, respectivamente. Além disso, as cascas possuem atividade antimicrobiana, a cepa mais sensível foi *Bacillus cereus* com uma CIM encontrada na diluição de 10^{-3} do extrato de aroeira, e na diluição de 10^{-1} para o extrato de algodãozinho. Os compostos bioativos presente nos extratos dessas plantas medicinais, são de grande importância e podem trazer novas oportunidades no controle antibacteriano e tratamento de enfermidades.

PALAVRAS-CHAVE: Extratos vegetais. Concentração inibitória mínima. Atividade antioxidante.

ABSTRACT

The bark of the species popularly marked as algodãozinho (*Cochlospermum regium*) and aroeira (*Schinus terebinthifolia*) are found in the cerrado, one of the largest Brazilian biomes. They have properties such as anti-inflammatory, antimicrobial and healing. As a result of widespread use in popular medicine, further studies are included in order to elucidate the chemical and biological potential of the bioactive compounds found in their shells. Thus, the objective of this work is to evaluate the antioxidant and antimicrobial potential of the extracts from the barks of *S. terebinthifolius* and *C. regium*. The results obtained demonstrated that the aqueous extracts of algodãozinho and aroeira dissipating potential antioxidant, for CFT ranged from 112.01 to 126.36 mg AGE.100g, DPPH analyzes were from 1168.77 to 1515.43 $\mu\text{mol L}^{-1}$ TE.100g and ABTS from 665.75 to 1364.4 $\mu\text{mol L}^{-1}$ TE.100g, respectively. In addition, the peels have antimicrobial activity, the most sensitive strain was *Bacillus cereus* with a MIC found in the 10^{-3} dilution of the aroeira extract and in the 10^{-1} for the algodãozinho extract. The bioactive compounds present in the extract of in these medicinal plants are of great importance and can bring new opportunities in antibacterial control and treatment of diseases.

KEYWORDS: Plant extracts. Minimum inhibitory concentration. Antioxidant activity

Recebido: 19 ago. 2020.

Aprovado: 01 out. 2020.

Direito autoral: Este trabalho está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional.



INTRODUÇÃO

As cascas de *Cochlospermum regium* (Mart. ex Schrank) Pilg. e *Schinus terebinthifolia* Raddi são utilizadas na medicina tradicional, sendo popularmente conhecidas como e algodãozinho, indicado para o tratamento de gastrite e infecções ginecológicas, e aroeira, indicada para o tratamento de gripes e inflamações em geral, respectivamente (USTULIN et al., 2009).

De acordo com a literatura, a fruta da aroeira e o óleo essencial de algodãozinho, são fontes naturais de compostos bioativos (OLIVEIRA de et al., 2020). Contudo, pouco se sabe sobre os efeitos antioxidantes e antimicrobianos das cascas dos mesmos.

Atualmente há uma grande preocupação com os níveis de resistência microbiana e estudos indicam que se nenhum antimicrobiano eficaz for desenvolvido até o ano de 2050, haverá um aumento considerável no número de mortes causadas por bactérias (LÓPEZ-JÁCOME et al., 2019).

Diante dos fatos supracitados, há um grande interesse em investigar plantas com potencial medicinal, buscando compostos antioxidantes capazes de neutralizar ou sequestrar os radicais livres e também que sejam uma alternativa para o controle de bactérias visando o desenvolvimento de novos fármacos. Com isso, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial antioxidante in vitro e o potencial antimicrobiano dos extratos aquosos das cascas de *S. terebinthifolius* e *C. regium*.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas as cepas fornecidas pelo laboratório de Microbiologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Dois Vizinhos, *Bacillus cereus* (ATCC 14579), *Salmonella enterica* (LMB05), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Aeromonas hydrophila* (IOC/FDA 110-36).

As amostras vegetais das cascas dos caules *C. regium* e *S. terebinthifolius*, foram adquiridas já secas no Mercado Municipal um comércio local em Campo Grande - MS, no dia 20 julho de 2019, sendo as mesmas posteriormente trituradas em liquidificador e peneiradas a 20 mesh.

Os extratos foram preparados de forma branda utilizando água destilada como solvente na proporção 1:10 (planta:solvente, m/v), empregando aparelho de ultrassom da marca Cristofoli, potência constante de 160 watts e uma frequência de 42KH, em temperatura ambiente, por 10 minutos, a fim de extrair os compostos majoritários. Os extratos assim obtidos foram filtrados, utilizando papel filtro e armazenados sob congelamento até o momento das análises subsequentes. As amostras foram lidas em espectrofotômetro visível - GENESYS™ 10S - Thermo Scientific.

Para a avaliação do potencial antioxidante dos extratos vegetais, foram realizadas as análises de quantificação de Compostos Fenólicos Totais (CFT) (SWAIN; HILLS, 1959) e testes de captura dos radicais DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil) (RUFINO et al., 2007b) e ABTS (2,2-azino-bis (3-etilbenzotiazolin)-6-sulfônico) (RUFINO et al., 2007a).

O cálculo para CFT foi realizado por meio de curva de calibração utilizando ácido gálico como padrão sendo expressa por $y = 19.966x - 0.0151$, os resultados foram apresentados em miligramas de ácido gálico equivalente (mg AGE/100g de amostra). Para cálculo das análises de DPPH e ABTS foi utilizado Trolox como reagente padrão onde a equação da curva é dado por $y = -12.192x + 0.5988$ para DPPH e $y = -10,401x + 0,4884$ para ABTS. Os resultados obtidos foram expressos em $\mu\text{mol L}^{-1}$ de Trolox equivalente ($\mu\text{mol L}^{-1}$ TE/100g de amostra).

Os testes de concentração inibitória mínima (CIM), foram realizados segundo padronização estabelecida pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI M7-A6, 2003). As células foram semeadas em meio Ágar Mueller Hinton (MH) 48 h antes do experimento. Após 24 h de crescimento, foi realizado um inóculo em caldo MH e incubado em shaker por 16 h a 35 °C. Após o período de incubação, as células bacterianas foram ajustadas de acordo com a escala 0,5 Mc Farland em caldo MH. Em microplacas de 96 poços, foram adicionados 200 μL do extrato no primeiro poço e distribuído seguindo uma diluição seriada em 12 poços da microplaca, posteriormente foram distribuídos 20 μL dos inóculos padronizados. Foi realizado um controle negativo somente com o caldo MH e um controle positivo contendo extrato e água destilada.

As placas foram incubadas a 35 °C por 24 horas e posteriormente foi inserido em cada poço 20 μL de uma solução aquosa de cloreto de trifeniltetrazolio (TTC) a 0,5% e as microplacas incubadas novamente a 35 °C por mais 3 horas. A leitura para a determinação da CIM do extrato testado foi realizada visualmente através da presença de um “botão” avermelhado no fundo de cada poço, indicando células viáveis não inibidas pelo extrato.

Para a determinação da concentração bactericida mínima (CBM) por *Spot-Test*, foi observado no teste da CIM em qual poço não houve crescimento bacteriano visível, utilizou-se papel milimetrado para marcar os pontos e posteriormente foi retirado uma alíquota de 5 μL e inoculada na superfície de Ágar MH. As placas foram incubadas por 24 horas e a CBM foi definida como a menor concentração do extrato capaz de causar morte do inóculo em 99,9%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tabela 1 são apresentados os dados referentes a atividade antioxidante dos extratos de aroeira e algodãozinho, de acordo com as metodologias descritas.

Tabela 1 – Atividade Antioxidante dos extratos de aroeira e algodãozinho

	Aroeira	Algodãozinho
CFT (mg AGE.100g)	126,36 \pm 0,002	112,01 \pm 0,002
DPPH ($\mu\text{mol L}^{-1}$ TE.100g)	1515,43 \pm 0,006	1168,76 \pm 0,006
ABTS ($\mu\text{mol L}^{-1}$ TE.100g)	1364,39 \pm 0,01	665,74 \pm 0,01

Para as análises de antioxidantes, os resultados obtidos para a quantificação de CFT variaram de 112,01 (mg AGE.100g) a 126,36 (mg AGE.100g) para o

algodãozinho e aroeira, respectivamente. Os resultados são uma estimativa do teor de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante.

Para as análises de DPPH e ABTS, os valores obtidos para aroeira foram de 1515,43 e 1364,4 $\mu\text{mol L}^{-1}$ TE.100g, respectivamente. Para algodãozinho, esses valores foram de 1168,77 e 665,75, respectivamente.

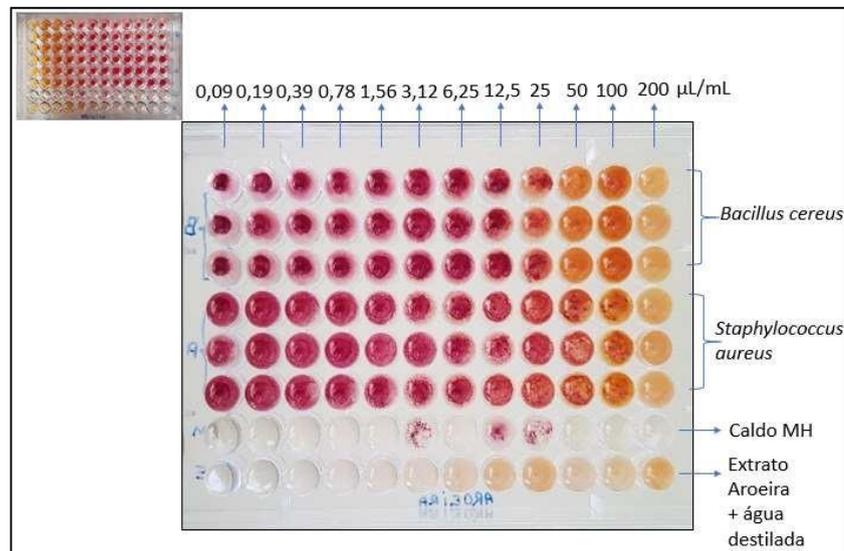
De acordo com a literatura estudos feitos com o rizoma e galho da *C. regium* apresentaram os resultados de 9770 (mg AGE 100g⁻¹) e 6520 (mg AGE 100g⁻¹) respectivamente, para as análises de compostos fenólicos e também 58,85% para o rizoma e 82,11 % análises de DPPH (MENEZES FILHO; CASTRO, 2020).

Em estudo realizado por Oliveira et al. (2020) avaliou-se a atividade antioxidante pela análise de compostos fenólicos e DPPH, onde obtiveram 13,66 mg GAE/g e 42,68 %, respectivamente, de extratos da fruta da aroeira preparados por diferentes métodos.

Os valores diferem da literatura, devido a alguns fatores como, utilização de padrões diferentes, métodos de extração, tipo de amostra, tempo de extração, diferença de solventes, entre outros que podem interferir nos resultados.

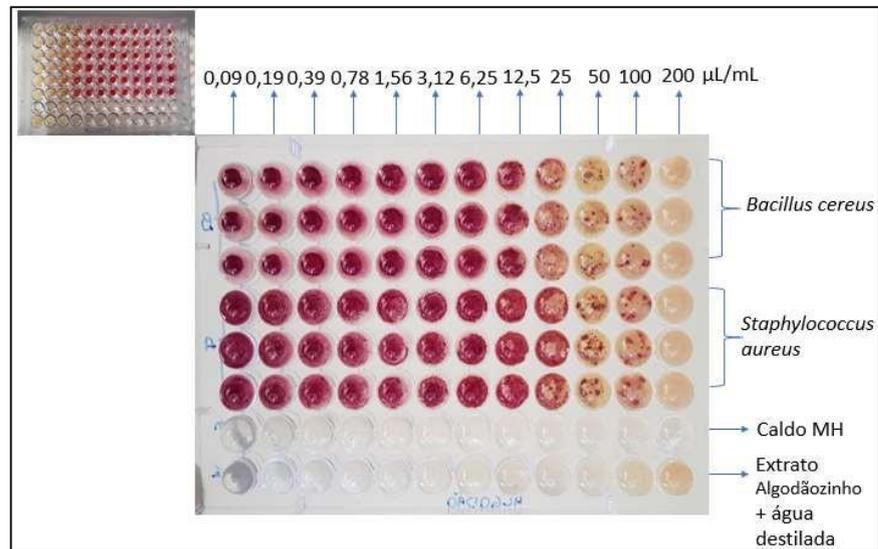
Nas figuras 1 e 2 é possível visualizar os resultados do teste da determinação da CIM das bactérias para o extrato de aroeira e algodãozinho. Os pontos vermelhos representam a revelação do cloreto de trifeniltetrazolio, que converteu o TTC em formazana, indicando que as células ainda estão viáveis.

Figura 1- CIM do extrato de aroeira sob as bactérias *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*. O grupo controle corresponde ao caldo MH; extrato de aroeira+ água destilada.



Fonte: Autoria Própria (2020)

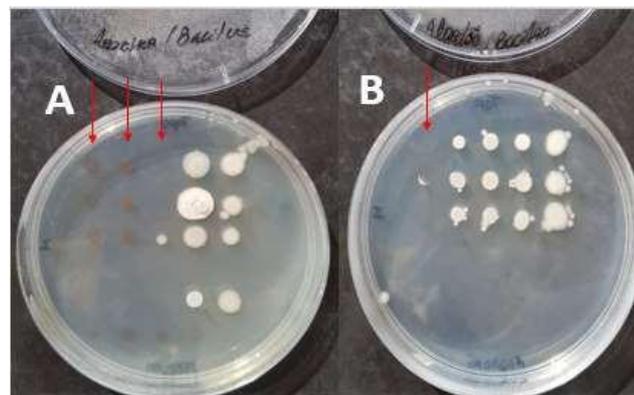
Figura 2- CIM do extrato de algodãozinho sob as bactérias *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*. O grupo controle corresponde ao caldo MH; extrato de algodãozinho + água destilada.



Fonte: Autoria Própria (2020)

Ademais, na figura 3 é possível observar a concentração bactericida mínima, que foi retirado dos poços 1 ao 5 que não apresentaram crescimento bacteriano visível na CIM, sendo indubitável a ação antimicrobiana para o extrato de aroeira frente a bactéria *B. cereus* até a diluição 10^{-3} e de maneira análoga para o extrato de algodãozinho, em que houve inibição para a bactéria *B. cereus* no primeiro poço onde havia extrato bruto. Já para os demais microorganismos testados *Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus* e *Aeromonas hydrophila*, os extratos não apresentaram atividade antimicrobiana.

Figura 3- Determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM) por Spot-Test, para o extrato de aroeira e algodãozinho



Fonte: Autoria Própria (2020)

Os resultados demonstraram que os extratos de *C. regium* e *S. terebinthifolius* possuem ação bactericida, contra a cepa de *B. cereus*, causadora de intoxicações alimentares. Em um estudo desenvolvido por Fabri et al. (2011), em que foram avaliados os potenciais antimicrobianos de espécies da Família Asteraceae, foi constatada a inibição do crescimento de *B. cereus* ao serem testados os extratos

aquosos de *Achillea millefolium* (mil-folhas), *Baccharis dracunculifolia* (alecrim-do-campo), *Taraxacum officinale* (dente-de-leão), dentre outras.

Em geral, um dos problemas encontrados na produção de novos antibióticos é que muitas moléculas ativas contra bactérias não são seletivas e danificam o hospedeiro (LÓPEZ-JÁCOME; ESAÚ, 2019). Com isso, faz-se necessário a descoberta de novos compostos com atividade inibidora destas bactérias, e a pesquisa com cascas com propriedades medicinais pode trazer novas oportunidades no controle antibacteriano.

CONCLUSÃO

Em suma, os extratos aquosos da aroeira e do algodãozinho apresentaram ação antimicrobiana e antioxidante, o que demonstra seu potencial e os tornam uma ótima alternativa para o desenvolvimento de novos produtos e fármacos.

AGRADECIMENTOS

Registro meu agradecimento à professora Dra. Paula Fernandes Montanher pela oportunidade de trabalho, além disso, agradecemos enormemente a Fundação Araucária pelo financiamento do projeto de iniciação científica. Também somos gratos ao Fábio Antônio Antonelo pelo auxílio na execução das análises.

REFERÊNCIAS

FABRI, R. L. et al. Potencial antioxidante e antimicrobiano de espécies da família Asteraceae. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, v. 13, n. 2, p. 183-189, 2011. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-05722011000200009&script=sci_arttext&tlng=pt. Acesso em: 02 de ago. 2020.

LÓPEZ-JÁCOME, E. et al. The race between drug introduction and appearance of microbial resistance. Current balance and alternative approaches. **Current Opinion In Pharmacology**, v. 48, p. 48-56, out.2019. Elsevier. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1471489218301723?via%3Dihub>. Acesso em: 22 ag. 2020.

MENEZES FILHO, A. C. P.; CASTRO, C. F. S. AVALIAÇÃO DOS EXTRATOS VEGETAIS DE *Cochlospermum regium* EM UM CERRADO RALO. **Gst - Global Science and Technology**, Rio Verde, v. 13, n. 1, p. 1-17, jan. 2020. Disponível em: <https://rv.ifgoiano.edu.br/periodicos/index.php/gst/article/view/1144/691#>. Acesso em: 28 ago. 2020.

NCCLS. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Sixth Edition. NCCLS document M7-A6 (ISBN 1-56238-486-4). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2003.

OLIVEIRA, S. V. et al. Aroeira fruit (*Schinus terebinthifolius* Raddi) as a natural antioxidant: chemical constituents, bioactive compounds and in vitro and in vivo antioxidant capacity. **Food Chemistry**, v. 315, p. 126274, jun. 2020. Elsevier BV. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814620301229?via%3Dihub>. Acesso em: 17 jun.2020

RUFINO, M. S. M. et al. **Metodologia científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS•+**. Fortaleza, CE: Embrapa – Comunicado Técnico 128, 2007. 4p. Disponível em: https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPAT/10225/1/Cot_128.pdf. Acesso: 23 jun.2020.

RUFINO, M. S. M. et al. **Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH**. Fortaleza, CE: Embrapa – Comunicado Técnico 127, 2007. 4p. Disponível em: https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPAT/10224/1/Cot_127.pdf. Acesso: 21 jun.2020.

SWAIN, T.; HILLIS, W. E. The phenolic constituents of *Prunus domestica* L.- The quantitative analysis of phenolic constituents. **Journal of Science and Food Agriculture**. Washington, v. 10, p. 63-68, 1959. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jsfa.2740100110>. Acesso: 20 jun.2020

USTULIN, M. et al. Plantas medicinais comercializadas no Mercado Municipal de Campo Grande-MS. **Revista Brasileira de Farmacologia**, João Pessoa, v. 19, n. 3, p.805-813, Set 2009. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-695X2009000500026&lng=en&nrm=iso . Acesso em: 18 ago. 2020.