



Modalidade do trabalho: Ensaio teórico

Evento: XVII Jornada de Pesquisa

CONSTITUINTES VOLÁTEIS E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO ÓLEO E SUAS FRAÇÕES DE SCHINUS LENTISCIFOLIUS (ANACARDIACEAE) DA REGIÃO NOROESTE DO RS¹

Ilaine Teresinha Seibel Gehrke², Ademir Farias Morel³.

¹ 1. Tese de Doutorado parte do trabalho desenvolvido no Laboratório de Pesquisa em Química - LAPEQ - UNIJUI.

² 2. Professora do Departamento de Ciências da Vida – DCVida da UNIJUI. E-mail: ilaine@unijui.edu.br

³ 3. Professor Orientador do Departamento de Química da UFSM - Núcleo de Pesquisa de Produtos Naturais – NPPN. E-mail: afmorel@base.ufsm.br

Resumo:

Os óleos essenciais de folhas e frutos de *Schinus lentiscifolius*, coletadas em diferentes estações do ano foram obtidos por hidrodestilação, e sua composição foi investigada por cromatografia gasosa com detector de ionização de chama CG-DIC e cromatografia gasosa com detector de massas CG-EM. O rendimento do óleo essencial das partes aéreas de *S. lentiscifolius* variou entre 0,15 a 0,6 % folhas, e de 1,19 a 1,56% para frutos dependendo do estágio de desenvolvimento. Foram identificados cento e trinta e cinco compostos, que representam cerca de 90% dos constituintes presentes nos óleos das folhas, coletados entre a primavera e o verão de 2010. Os principais constituintes dos óleos foram: limoneno (3,80%), δ -careno (6,68%), β -cariofileno (7,90%), germacreno D (9,20%), biciclogermacreno (8,45%), δ -guaiano (5,69), espaulenos (óxido de cariofileno (10,64%) no óleo de folhas, δ -2-careno (12,23%), limoneno (6,14%) e β -cariofileno (8,0%), D germacreno (5,9%), biciclogermacreno (5,36%), óxido de cariofileno (5,47%) no óleo de flores, α -pineno (5,65%), mirceno (5,89%), epi-cubenol (9,18%), cubenol (6,5%), espatulenol (7,2%) no óleo dos frutos. Observou-se que, todos os óleos e frações analisadas mostraram-se ativos frente a algumas bactérias e fungos testados, obtendo melhores resultados para o óleo de folhas.

Palavras-chave: óleo essencial, *S. lentiscifolius*, atividade antimicrobiana

Introdução

O Reino vegetal com sua diversidade e variabilidade de espécies tem sido a melhor fonte de remédios. Os produtos do metabolismo secundário ainda são os principais componentes utilizados para uma série de enfermidades, como câncer, infecções causadas por microorganismos, doenças do coração, doenças denominadas de negligenciáveis, como malária etc. Neste arsenal químico podem-se citar os óleos essenciais, compostos por isoprenóides, como os monoterpenos e sesquiterpenos, estes têm sido utilizados para muitos propósitos: como alternativa terapêutica na medicina popular, como aromatizantes de alimentos e bebidas, como aditivos de aromas de cosméticos e produtos de uso doméstico e, nos últimos anos de grande interesse da indústria farmacêutica pelo seu potencial





Modalidade do trabalho: Ensaio teórico

Evento: XVII Jornada de Pesquisa

antimicrobiano, antifúngico, antioxidante, antiinflamatório e antitumorais e, mais recentemente tem apresentando várias aplicações de uso veterinário (BURT, S, 2004; BAKKALI, et al., 2008).

À atividade antimicrobiana (DORMAN, et al.; 2000; BRUNI, et al.; 2004) apresentada pelos óleos essenciais, tem ampliado seu uso em vários produtos farmacêuticos, bem como na medicina alternativa e em terapias naturais. Os óleos essenciais são considerados potenciais fontes de estruturas com ação antimicrobiana, especialmente frente a bactérias patogênicas (BAYATI, F.A, 2008). Estudos, relacionados à atividade antimicrobiana demonstraram que monoterpenos hidrocarbonetos e oxigenados, são capazes de destruir a integridade celular, inibir a capacidade respiratória e atrapalhar o transporte iônico através das membranas celulares de bactérias (DEBA, et al. ; 2008). Fármacos que promovem a destruição da membrana celular são muito importantes para o uso médico, pois possuem menor probabilidade de selecionar bactérias resistentes (Devi, et. al.; 2010).

Segundo (Murari et al. 2008), a atividade bactericida pode ser explicada pela elevada quantidade de álcoois como o epi- β -muurulol e β -cadinol, que apresentam atividade frente a células vegetativas, agindo como agentes desnaturantes de proteínas, solventes ou agentes desidratantes.

O estudo dos constituintes químicos dos óleos essenciais de plantas medicinais tem levado à descoberta de compostos bioativos de aplicação no desenvolvimento de novos fármacos, o que justifica o crescente interesse dos químicos orgânicos em identificar os constituintes voláteis, o estudo de processos de isolamento e o desenvolvimento de metodologias de síntese e derivatizações de metabólitos isolados com a finalidade de incrementar a atividade encontrada ou com a finalidade de diminuir a toxicidade.

No entanto, considerando-se, o grande número de espécies presentes, principalmente em florestas tropicais e subtropicais do planeta, pouco se sabe acerca dos constituintes químicos destes vegetais e do seu potencial terapêutico.

Devido à falta de informações sobre os componentes químicos da espécie *S. lenticifolius* (LORENZI, H., 2002) e considerando a perspectiva de aplicação sob o ponto de vista social, econômico e terapêutico, no presente estudo, descrevemos a composição química e a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais obtidos de diferentes partes da planta e em diferentes períodos 2005-2011.

Metodologia

As partes aéreas da mesma população de *S.lenticifolius* foram coletadas entre 2005-2011, em diferentes estações do ano, no campus da UNIJUI-Ijuí, RS.

O material vegetal fresco (100,0 g), coletado foi submetido a hidrodestilação utilizando um aparelho tipo Clevenger modificado.

Os óleos essenciais foram submetidos a análise por cromatografia GC-DIC e por por CG-EM. A identificação dos componentes dos óleos foi feita baseada na análise dos espectros de massas obtidos experimentalmente e na comparação com dados da literatura e a partir do banco espectral de dados da biblioteca (NIST 98), na comparação dos tempos de retenção e índices de Kovats em ambas as colunas.

A investigação da atividade antimicrobiana (AAM) foi realizada pelo método de microdiluição em caldo, obtendo-se a CIM (Concentração Inibitória Mínima) e a CBM/CFM (Concentração Bactericida/Fungicida Mínima). Uma coleção de oito microrganismos foram usadas, incluindo quatro



Modalidade do trabalho: Ensaio teórico

Evento: XVII Jornada de Pesquisa

bactérias Gram-positivas: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis*; *Streptococcus pyogenes*, duas bactérias Gram-negativas: *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, e duas leveduras: *Saccharomyces cerevisiae* e *Cândida albicans*. Linhagens padrão de microorganismos foram obtidos a partir de American Type Culture Collection, e antibióticos padrão cloranfenicol e nistatina foram utilizados a fim de controlar a sensibilidade do teste microbiano. As amostras foram testadas em triplicatas, efetuando-se a análise do padrão cloranfenicol ou nistatina, simultaneamente.

Resultados e discussão

Os rendimentos dos óleos essenciais das partes aéreas de *S. lentiscifolius* coletados em diferentes períodos do ano variou de 0,15 a 0,60 % folhas (a reprodutibilidade é $\pm 0,02\%$ n = 3). Os óleos apresentaram diferenças qualitativas e quantitativas quanto sua composição. Os dados apresentados na Figura 1 mostram que, os óleos das folhas são compostos principalmente (> 50%) de sesquiterpenos oxigenados, o mesmo foi observado para os frutos sendo constituídos principalmente de espatulenol (7-9%) e de óxido de cariofileno (4-12,5%), e α -cadinol (11-40%).

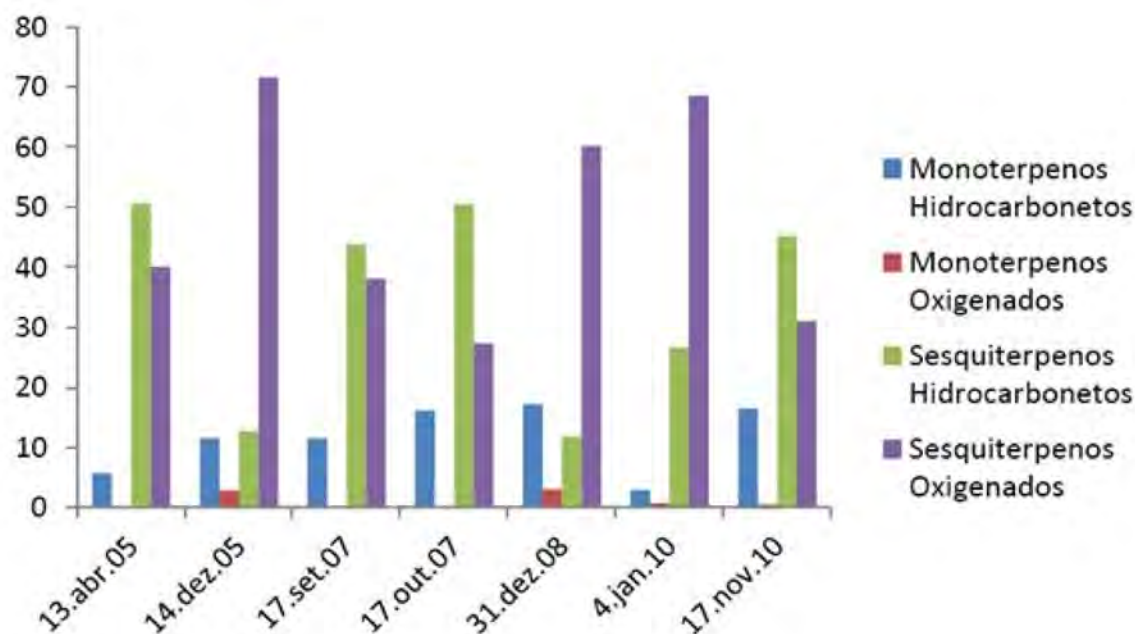


Figura 1- Representação gráfica da variação sazonal das principais classes de terpenos das folhas da coleta (Ijuí, 2005-2010).

Os constituintes menos predominantes nos óleos foram δ -2-careno, limoneno, β -cariofileno, germacreno D e biciclogermacreno. O óleo das flores apresentou um teor elevado de hidrocarbonetos monoterpenos (36,84%) em comparação com os óleos de folhas e frutos, sendo o δ -2-careno (12,3%) e o limoneno (6,14%) identificados com os componentes principais.



Modalidade do trabalho: Ensaio teórico

Evento: XVII Jornada de Pesquisa

A análise sazonal das diferentes amostras das folhas e dos frutos mostrou uma composição química bastante complexa e diferenciada. Foram identificados entre 92,13% a 99,29% dos seus constituintes químicos. Todos mostraram algumas semelhanças na composição qualitativa, mas, diferiram do ponto de vista quantitativo mostrando variações nos seus principais constituintes. Os constituintes majoritários do óleo das folhas das diferentes amostras analisadas no período (2005-2010) podem ser visualizados na Figura 2.

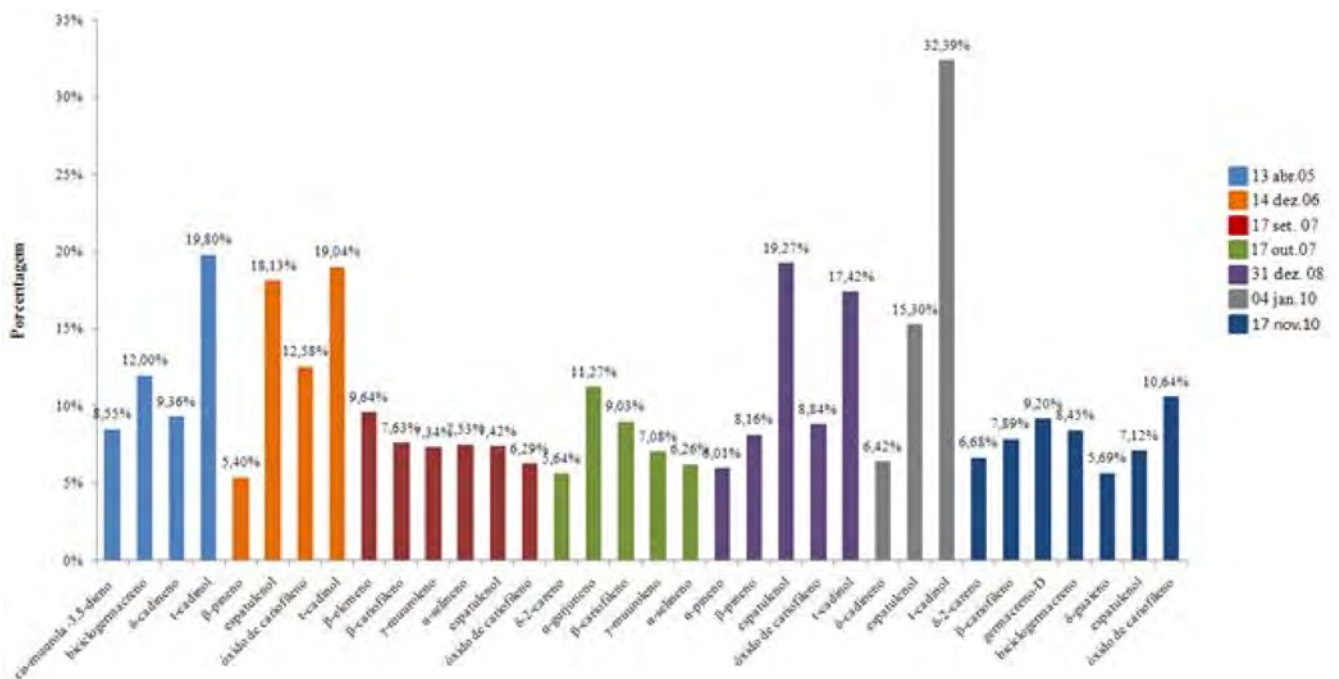


Figura 2 - Constituintes majoritários do óleo das folhas das diferentes amostras analisadas no período (Ijuí, 2005-2010).

Os principais constituintes identificados nas amostras de frutos podem ser visualizados na Figura 3. O espatulenol foi o constituinte presente nas quatro amostras do óleo dos frutos analisados (7,20-17,53%).

SALÃO DO CONHECIMENTO

XX Seminário de Iniciação Científica II Mostra de Iniciação Científica Júnior
XVII Jornada de Pesquisa II Seminário de Inovação e Tecnologia
XIII Jornada de Extensão

2012



Modalidade do trabalho: Ensaio teórico

Evento: XVII Jornada de Pesquisa

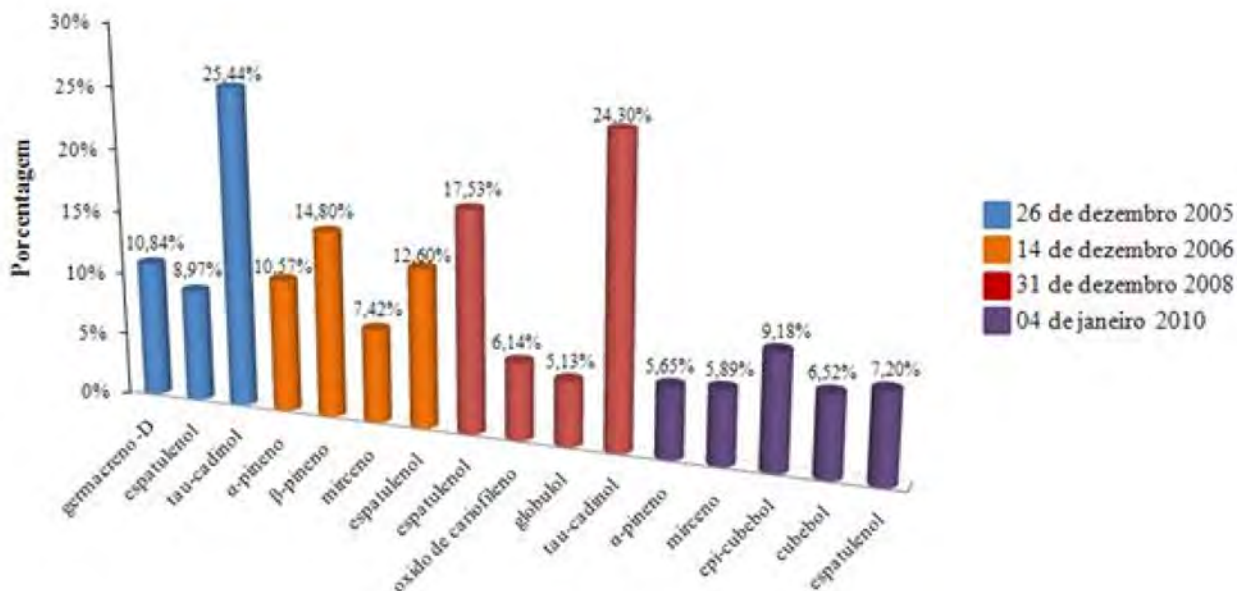


Figura 3 - Representação gráfica dos principais constituintes do óleo dados frutos de *S. lentiscifolius*.

A atividade antimicrobiana do óleo essencial das folhas SLFol B2, e dos frutos SLFruB1 de *Schinus lentiscifolius* avaliadas pelo método de microdiluição em caldo não mostrou um perfil antibacteriano e antifúngico considerável. A melhor atividade foi encontrada para o óleo das folhas SLFol B2, contra a *C. albicans* fungo (MIC 1,25 mg / mL). Os valores de CLM para este último também demonstraram uma maior tendência à inibição de crescimento antimicrobiano do que de morte celular nas concentrações testadas. Os resultados apresentados na Tabela 1 expressam a atividade antimicrobiana relativa ao fracionamento do óleo volátil de *S. lentiscifolius*. Essas frações, de modo geral, mostraram-se ativas frente a todos os microorganismos avaliados com destaque maior para o microorganismo *S. epidermidis*. Para este, obteve-se valores de CIM de 2,5 mg/mL para todas as frações avaliadas e de CLM variando entre 2,5 e 5 mg/mL, demonstrando um bom potencial de atividade destas frações frente a este agente patogênico. Em relação ao microorganismo *E. coli*, as frações do óleo volátil de *S. lentiscifolius* também apresentaram um bom potencial de atividade, mostrando valores tanto de CIM quanto de CLM de 5 mg/mL-1.

SALÃO DO CONHECIMENTO

XX Seminário de Iniciação Científica
XVII Jornada de Pesquisa
XIII Jornada de Extensão

II Mostra de Iniciação Científica Júnior
II Seminário de Inovação e Tecnologia

2012



Modalidade do trabalho: Ensaio teórico

Evento: XVII Jornada de Pesquisa

Tabela 2 – Resultados da concentração inibitória mínima (CIM) de frações do óleo das folhas de *S.lentiscifolius*

| Frações | F01_S.L | | F02_S.L | | F03_S.L | | F04_S.L | | F05_S.L | | Padrão ^c (mg/mL) |
|-----------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|--------------------------------|
| | CIM ^b | CLM ^b | CIM ^b | CLM ^b | CIM ^b | CLM ^b | CIM ^b | CLM ^b | CIM ^b | CLM ^b | |
| <i>S. aureus</i> | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 3,12 x 10 ⁻³ |
| <i>S. epidermidis</i> | 2,5 | 5 | 2,5 | 5 | 2,5 | 2,5 | 2,5 | 2,5 | 2,5 | 2,5 | 3,12 x 10 ⁻³ |
| <i>B. subtilis</i> | 5 | >20 | 5 | 10 | 5 | >20 | 5 | >20 | 5 | >20 | 3,12 x 10 ⁻³ |
| <i>E. coli</i> | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 1,56 x 10 ⁻³ |
| <i>P. aeruginosa</i> | 5 | >20 | 10 | >20 | 10 | >20 | 10 | >20 | 10 | >20 | 3,12 x 10 ⁻³ |
| <i>K. pneumoniae</i> | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 3,12 x 10 ⁻³ |

^a ATCC (American Type Culture Collection); ^b em g/mL; ^c antibióticos cloranfenicol e nistatina mg/mL F01 S.L; F02 S.L; F03 S.L; F04 S.L; F05 S.L - Frações do óleo coleta 21.01.10 de *S. lentiscifolius*.

Tabela 1 – Resultados da concentração inibitória mínima (CIM) de frações do óleo das folhas de *S.lentiscifolius*

Conclusões

Observando os resultados das análises cromatográficas (CG e CG-EM), pode-se concluir que a composição de óleos essenciais a partir de diferentes partes aéreas de *S.lentiscifolius* é muito dependente da sazonalidade. Observa-se que há uma variação na constituição dos componentes assim como em sua concentração, dependendo da estação em que o material foi coletado. Como o Rio Grande do Sul é um estado onde o fator sazonalidade é expressivo, com variações na temperatura com épocas de mais ou menos frio e períodos de mais ou menos luz, esta variabilidade em rendimento e composição química é compreensível.

Observou-se atividade antimicrobiana das frações frente a todos os microorganismos avaliados com destaque para o microorganismo *Staphylococcus epidermidis* com CIM de 2,5 mg/mL.

Agradecimentos

À UNIJUI pela infra-estrutura do Laboratório de Pesquisa em Química-LAPEQ e ao Núcleo de Pesquisa de Produtos Naturais – NPPN da UFSM pela concessão do material de consumo.

Referências Bibliográficas

- BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *Int. J. Food Microbiol.*, 2004, v. 94. p. 223-253.
- BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – a review. *Food Chem. Toxicol.*, 2008, v. 46. p. 446-475.
- BRUNI, R.; MEDICI, A.; ANDREOTTI, E.; FANTIN, C.; MUZZOLI, M.; DEHESA, M.; ROMAGNOLI, C.; SACCHETTI, G. Composição química e atividade biológica de *Isphingo* óleo



Para uma vida de CONQUISTAS



Modalidade do trabalho: Ensaio teórico

Evento: XVII Jornada de Pesquisa

essencial, uma especiaria tradicional equatoriana de quixos *Ocotea* (Lam.) Kosterm. (Lauraceae) cálices de flores. *Food Chem.*, 2004, v. 85. p. 415-421.

BAYATI, F.A. Synergistic antibacterial activity between *Thymus vulgaris* and *Pimpinella anisum* essential oils and methanol extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, 2008, v.116, p. 403–406.

DEBA, F.; XUAN, T.D.; YASUDA, M.; TAWATA, S. Chemical composition and antioxidant, antibacterial and antifungal activities of the essential oils from *Bidens pilosa* Linn. var. *Radiata*. *Food Control.*, 2008, v. 19, p. 346–352.

MURARI, A; CARVALHO, F; HEINZMANN, B; MICHELOT, T; HÖRNER, R; MALLMANN, C. Composição e Atividade antibacteriana dos óleos essenciais de *Senecio crassiflorus* var. *crassiflorus*. In: *Química Nova*, 2008, v.31, n .5, p. 1081-1084.

LORENZI, H. *Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil*. 4. ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2002, v. 1. p. 49-59

HAMMER, K.A., CARSSON, C.F., RILEY, T.V. Antimicrobial activity of essential oils and plant extracts. *Journal of Applied Microbiology*, 1999, v. 86, p. 985-990.