

**Estudo comparativo da atividade antimicrobiana *in vitro* de extratos e óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia* D.C, Contra *Escherichia coli* E *Staphylococcus aureus***

**Comparative study of the antimicrobial activity *in vitro* of extracts and essential oil of *Baccharis dracunculifolia* D.C, AGAINST *Escherichia coli* AND *Staphylococcus aureus***

DOI:10.34117/bjdv7n1-396

Recebimento dos originais: 01/01/2021

Aceitação para publicação: 14/01/2021

**Ernesto Dambros Filho**

Formação acadêmica: Farmacêutico

Instituição de atuação atual: Curso de Farmácia do Instituto Federal do Paraná – Palmas, Paraná, Brasil.

Endereço completo: Av. Bento Munhoz da Rocha Neto S/N, Trevo da Codapar – PRT-280. CEP: 85555-000. Palmas – PR.

E-mail: ernesto\_dambros@hotmail.com

**Albimara Hey**

Formação acadêmica: Mestra em Enfermagem

Instituição de atuação atual: Curso de Farmácia do Instituto Federal do Paraná – Palmas, Paraná, Brasil.

Endereço completo: Av. Bento Munhoz da Rocha Neto S/N, Trevo da Codapar – PRT-280. CEP: 85555-000. Palmas – PR.

E-mail: albimara.hey@ifpr.edu.br

**Anayana Zago Dangui**

Formação acadêmica: Mestra em Ciências Farmacêuticas

Instituição de atuação atual: Curso de Farmácia do Instituto Federal do Paraná – Palmas, Paraná, Brasil.

Endereço completo: Av. Bento Munhoz da Rocha Neto S/N, Trevo da Codapar – PRT-280. CEP: 85555-000. Palmas – PR.

E-mail: anayana\_dangui@hotmail.com

**Camila Garcia Salvador Sanches**

Formação acadêmica: Mestra em Farmacologia

Instituição de atuação atual: Curso de Farmácia do Instituto Federal do Paraná – Palmas, Paraná, Brasil.

Endereço completo: Av. Bento Munhoz da Rocha Neto S/N, Trevo da Codapar – PRT-280. CEP: 85555-000. Palmas – PR.

E-mail: camila.salvador@ifpr.edu.br

### **Lualis Edi de David**

Formação acadêmica: Mestra em Ciências Farmacêuticas  
Instituição de atuação atual: Curso de Farmácia do Instituto Federal do Paraná – Palmas,  
Paraná, Brasil.  
Endereço completo: Av. Bento Munhoz da Rocha Neto S/N, Trevo da Codapar – PRT-  
280. CEP: 85555-000. Palmas – PR.  
E-mail: lualis.david@ifpr.edu.br

### **Emerson Carraro**

Formação acadêmica: Doutor em Infectologia  
Instituição de atuação atual: Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da  
Universidade Estadual do Centro-Oeste – Guarapuava, Paraná, Brasil.  
Endereço completo: R. Salvatore Renna, 875 - Santa Cruz, Guarapuava - PR, 85015-430  
E-mail: emersoncarraro@bol.com.br

### **Carlos Ricardo Maneck Malfatti**

Formação acadêmica:  
Instituição de atuação atual: Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da  
Universidade Estadual do Centro-Oeste – Guarapuava, Paraná, Brasil.  
Endereço completo: R. Salvatore Renna, 875 - Santa Cruz, Guarapuava - PR, 85015-430  
E-mail: crmalfatti@gmail.com

### **Ricardo Aparecido Pereira**

Formação acadêmica: Mestre em Ciências Farmacêuticas  
Instituição de atuação atual: Curso de Farmácia do Instituto Federal do Paraná – Palmas,  
Paraná, Brasil.  
Endereço completo: Av. Bento Munhoz da Rocha Neto S/N, Trevo da Codapar – PRT-  
280. CEP: 85555-000. Palmas – PR.  
E-mail: ricardo.aparecido@ifpr.edu.br

## **RESUMO**

Introdução: A “vassourinha”, ou “alecrim do campo”, conhecida cientificamente por *Baccharis dracunculifolia*, é uma planta da família *Asteraceae*, presente no Brasil, Uruguai, Argentina, Paraguai e Bolívia. Ela destaca-se pela presença de vários metabólitos secundários, produzidos como mecanismo próprio de defesa dos vegetais contra agentes externos. Com o recente aumento na incidência da resistência bacteriana aos antimicrobianos, busca-se encontrar novos protótipos antibióticos de origem natural, que sejam eficazes do ponto de vista clínico, no tratamento de enfermidades causadas por bactérias, e com isso ofertar novos métodos de tratamento que visam reduzir os casos de resistência bacteriana. Metodologia: foram realizados a partir das folhas pulverizadas os extratos aquoso, hidroalcoólico, óleo essencial e também como pesquisa colaborativa os extratos metanólicos referente às quatro estações do ano, todos estes extratos testados contra duas cepas bacterianas sendo uma gram positiva e outra gram negativa. Resultados: Foram encontrados resultados satisfatórios para *Staplylococcus aureus*, que corroboram com outros autores indicando que a planta produz metabólitos capazes de inibir o crescimento *in vitro* desta bactéria em questão. Discussões: Quando comparados os resultados com outros autores é possível perceber a importância de estudos mais completos sobre a planta, uma vez que a maioria dos resultados vieram de encontro com o que se tem na literatura. Conclusão: Analisando os resultados e comparando com outros autores, pode-se concluir que a planta testada apresentou atividade antimicrobiana à partir

dos extratos metanólicos das frações de primavera e inverno e também para seu óleo essencial.

**Palavras-chaves:** Baccharis, Fitoterapia, Compostos Antibacterianos.

## ABSTRACT

**Introduction:** The “broom”, or “rosemary of the field”, scientifically known as *Baccharis dracunculifolia*, is a plant of the *Asteraceae* family, present in Brazil, Uruguay, Argentina, Paraguay and Bolivia. It stands out for the presence of several secondary metabolites, produced as a defense mechanism of plants against external agents. With the recent increase in the incidence of bacterial resistance to antimicrobials, it is sought to find new antibiotic prototypes of natural origin, which are clinically effective, in the treatment of diseases caused by bacteria, and thereby offer new treatment methods aimed at reduce cases of bacterial resistance. **Methodology:** aqueous, hydroalcoholic, essential oil extracts were made from the sprayed leaves and also methanol extracts for the four seasons of the year as collaborative research, all of these extracts tested against two bacterial strains, one gram positive and one gram negative. **Results:** Satisfactory results were found for *Staphylococcus aureus*, which corroborate with other authors indicating that the plant produces metabolites capable of inhibiting the *in vitro* growth of this bacterium in question. **Discussions:** When comparing the results with other authors, it is possible to perceive the importance of more complete studies on the plant, since most of the results came up with what is found in the literature. **Conclusion:** Analyzing the results and comparing with other authors, it can be concluded that the tested plant showed antimicrobial activity from the methanolic extracts of the spring and winter fractions and also for its essential oil.

**Keywords:** Baccharis, Phytotherapy, Antibacterial Compounds.

## 1 INTRODUÇÃO

A *Baccharis dracunculifolia*, amplamente conhecida no Brasil principalmente na região sul estendendo-se até a Argentina, Paraguai, Uruguai e Bolívia, popularmente chamada de “Alecrim do Campo” ou “Vassourinha”, é um importante gênero pertencente à família *Asteraceae*. (BUDEL *et al*, 2004). Este gênero é conhecido por produzir vários metabólitos secundários tendo muitas espécies estudadas do ponto de vista fitoquímico, porém, poucas possuem estudos completos (AZEVEDO; SILVA, 2006; PARK, *et al.*, 2004; REFLORA, 2019).

As plantas da família *Asteraceae*, possui cerca de 23 mil espécies, que destacam-se pela sua enorme diversidade na produção de metabólitos secundários, caracterizada pela presença de terpenoides e flavonoides principalmente. O gênero *Baccharis*, possui em torno de 500 espécies (HEIDEN, BAUMGRATZ, ESTEVES, 2012; HEIDEN, DE SOUZA LEONI, NAKAJIMA, 2014).

Uma grande quantidade destas espécies são encontradas entre os estados de São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande Do Sul, apresentando importância socioeconômica sendo utilizadas na medicina popular no tratamento e controle de várias doenças (DE SOUSA, *et al.*, 2011). Segundo Verdi (2005) espécies do gênero *Baccharis* em geral apresentam-se na forma de arbustos, com medidas aproximadas de 0,5 até 40 metros de altura. Na medicina popular a infusão de suas folhas é amplamente utilizada para problemas estomacais, feridas, problemas hepáticos, como anti-inflamatório e, também, em cerimônias religiosas (AZEVEDO; SILVA, 2006; PARK, *et al.*, 2004).

Do ponto de vista fitoquímico foram estudadas cerca de 15% das espécies do gênero *Baccharis* quanto a sua composição micromolecular indicando a presença de sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos, flavonoides, com maior acúmulo de flavonas, flavonóis e de diterpenos labdanos, como também a presença de kauranos, germacrenos, ácidos cumarínicos, tricotecenos e fenilpropanóides. Quanto sua atividade biológica destacam-se os efeitos alelopáticos, antimicrobianos, citotóxicos e anti-inflamatório (ABREU; ONOFRE, 2010; SFORCIN, *et al.*, 2012; RESENDE, *et al.*, 2012; FIGUEIREDO-RINHEL, *et al.*, 2013;).

Muitos dos metabólicos secundários encontrados no *Baccharis dracunculifolia* são de grande valor agregado, especialmente os utilizados nas indústrias de alimentos, agrícola, farmacêutica e de cosméticos. Sendo seu cultivo considerado viável e com interessante potencial comercial (GONÇALVES, *et al.*, 2005; GOBBO-NETO; LOPES, 2007; DE SOUSA, *et al.*, 2011; SIMIONI, *et al.*, 2013). Diferentes estudos demonstraram a atividade biológica desses metabólicos frente a experimentos de citotoxicidade contra células tumorais, ensaios antivirais, diabetes, ações imunomoduladoras, atividade antioxidante, analgesia, atividade anti-inflamatória, ensaios antiúlcera e antimicrobianos (PEREIRA, 2014; FIGUEIREDO-RINHEL, *et al.*, 2017; CAZELLA *et al.*, 2019; COSTA, 2019).

Os antibióticos podem ser compostos de origem natural ou sintéticos, compostos estes capazes de inibir o crescimento ou causar a morte dos microrganismos caracterizando-os como bactericidas ou bacteriostáticos. Depois da descoberta da penicilina e sua industrialização, nos anos de 1940 até 1960, foram descobertos diversas substâncias naturais com atividade antimicrobiana (CALIXTO, CAVALHEIRO, 2012). Até o final do século passado ocorreu uma redução na identificação de novos protótipos antibióticos, e na mesma pegada houve aumento no número de bactérias resistentes aos antibióticos. A partir daí as indústrias farmacêuticas vem buscando mais produtos de

origem natural para combater as infecções causadas por microrganismos (GUIMARÃES, D. *et al.* 2010; LIMA, BENJAMIM, SANTOS, 2017).

A resistência bacteriana pode dar-se de origem natural onde os genes da bactéria são capazes de inativar o mecanismo de ação do fármaco, ou adquirida quando acontece por meio de mutação em seus genes de defesa contra um fármaco sensível (DA SILVA DUARTE, *et al.*, 2019). Malvezzi (2010) obteve resultados, que sugere a associação entre extratos vegetais juntamente com o xilitol onde promovem um efeito adicional quanto à inibição do crescimento bacteriano em relação aos extratos estudados separadamente. Estes resultados possibilitam e contribuem para a busca de novas alternativas como o uso sinérgico de extratos de plantas com outras substâncias antimicrobianas já conhecidas na busca de potencializar o efeito antimicrobiano sem aumentar o efeito tóxico das substâncias no homem.

Em estudo realizado por Abreu e Onofre (2010), os extratos de *Baccharis dracunculifolia* contra bactérias patogênicas mostraram-se eficiente na inibição do crescimento microbiano sugerindo assim novos estudos posteriores visando caracterizar quimicamente e identificar os componentes dos extratos que apresentam atividade sobre microrganismos.

## 2 OBJETIVOS

Avaliar a atividade antimicrobiana de extratos das folhas de *Baccharis dracunculifolia*. Avaliar a atividade antimicrobiana *in vitro* dos extratos aquoso, hidroalcoólico, metanólico e óleo essencial das folhas de *Baccharis dracunculifolia* contra as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.

## 3 METODOLOGIA

### 3.1 COLETA E IDENTIFICAÇÃO DO MATERIAL VEGETAL

A planta foi colhida no interior da cidade de Abelardo Luz no estado de Santa Catarina no mês de dezembro. Com as seguintes coordenadas geográficas: Latitude Sul 26°30'14.7" e Longitude Oeste 52°06'23.9" onde as mesmas foram acondicionadas sob temperatura ambiente e em local arejado. Após a secagem da planta foi retirada as suas folhas e em seguida acondicionadas em sacos plásticos e guardados sob proteção de luz, umidade e calor até a data de realização dos testes. A extração aquosa, hidroalcoólica, óleo essencial e os testes para a avaliação microbiológica foram realizados nos laboratórios do Instituto Federal do Paraná (IFPR) no município de Palmas no estado do Paraná. A planta

foi depositada no Museu Botânico Municipal de Curitiba (MBM – 398145), onde foi identificada como *Baccharis dracunculifolia* De Candolle (DC).

### 3.2 EXTRAÇÃO AQUOSA

A metodologia de extração procedeu-se conforme o método de infusão, que consiste pela permanência durante certo período de tempo do material vegetal em água quente em recipiente fechado. O aquecimento torna o processo de extração mais rápido e mais eficiente, pois aumenta a solubilidade de alguns ativos. O extrato aquoso de *Baccharis dracunculifolia* foi preparado para uso imediato devido à susceptibilidade de degradação e contaminação.

O extrato aquoso foi realizado seguindo a metodologia de Castro *et. al* (2012) adaptada, onde foi colocado 50 gramas das folhas trituradas de *B. dracunculifolia* em 250 mL de água destilada à 90° Celsius de temperatura durante 15 minutos onde obteve-se uma proporção de 1:5 respectivamente.

Após resfriamento o conteúdo foi filtrado em papel filtro e levado para realização dos testes microbiológicos.

### 3.3 EXTRAÇÃO HIDROALCOÓLICA

A metodologia de extração hidroalcoólica foi utilizada de maneira adaptada por maceração conforme descrita na quinta edição da farmacopeia brasileira (2010).

Para realizar a extração hidroalcoólica foram utilizadas as folhas secas de *Baccharis dracunculifolia* trituradas em mixer, e colocadas em 3 (três) frascos âmbar juntamente com álcool 60% volume por volume (v/v) na proporção de 1:7, sendo uma parte as folhas trituradas da planta e 6 partes de álcool à 60% (v/v), durante 15 (quinze) dias, os frascos foram mantidos ao abrigo da luz sendo agitados por 30 (trinta) minutos uma vez ao dia

Após a extração o material foi filtrado e, em seguida foi levado ao evaporador rotativo, onde permaneceu por cerca de 12 horas sob temperatura que iniciou-se com 60° C e 20 rotações por minuto (RPM) e após, para a remoção do solvente orgânico a temperatura do sistema e a velocidade de rotação foram aumentadas para 80° C e 99 RPM, respectivamente.

### 3.4 ÓLEO ESSENCIAL

O óleo essencial foi obtido por hidro destilação por aparelho tipo Clevenger (Santos *et.al* 2011 *apud* Craveiro *et.al* 1981). Para tanto foram utilizadas as folhas da planta testada.

As folhas da planta foram trituradas em mixer e colocadas em aparelho tipo Clevenger junto com água destilada (líquido extrator) e manta de aquecimento com temperatura entre 80 – 90° Celsius, a extração levou em torno de 12 horas para obter uma alíquota suficiente para a execução do teste microbiológico.

### 3.5 EXTRATO METANÓLICO DAS QUATRO ESTAÇÕES DO ANO

As amostras para essa avaliação foram colhidas nos meses de dezembro, abril, julho e setembro. Os extratos metanólico foram feitos conforme metodologia de Soares (2015). O processo de extração foi realizado por agitação utilizando 50 gramas (g) das folhas moídas a cada 220 mililitros (mL) de metanol que permaneceram durante uma semana sob agitador magnético.

Para a retirada do solvente, o filtrado foi levado ao evaporador rotativo (20 – 25 RPM) em temperatura controlada de 60° C e, em seguida deixou em banho Maria por 3 dias seguidos sob temperatura de 40° (SOARES, 2015).

### 3.6 DOSAGENS DE POLIFENÓIS TOTAIS

Para realização da dosagem de polifenóis totais foi utilizada a metodologia empregando o reativo de Folin Denis, citada na Farmacopéia Brasileira (2000 e 2004), em monografias de plantas como o barbatimão, espinheira santa e hamamélis e utilizando o pirogalol (ácido pirogálico) como substância de referência. As análises foram realizadas em triplicata.

A porcentagem de polifenóis totais foi calculada de acordo com a equação abaixo:

$$\% \text{ polifenóis totais} = \frac{AA \times CP \times 100}{AP \times m(g)}$$

Onde: AA: Absorbância da amostra

CP: Concentração do padrão

AP: Absorbância do padrão

M(g): Massa em gramas



### 3.7 MICRORGANISMOS E MEIO DE CULTURA

Para o presente estudo foram utilizadas cepas padronizadas de microrganismos, sendo uma gram – positiva e outra gram – negativas, ambas catalogadas no *American type culture collection* (ATCC), sendo uma cepa gram – positiva a bactéria *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e a outra cepa gram – negativa a bactéria *Escherichia coli* (ATCC 25922).

O meio de cultura para crescimento microbiano utilizado é o Ágar Müller – Hinton, preparado no laboratório de microbiologia do IFPR campus Palmas-PR.

### 3.8 MÉTODO DE DISCO – DIFUSÃO EM AGAR

Os microrganismos utilizados foram preparados de acordo com a escala MacFarland e semeados de maneira uniforme sobre o meio de cultura Ágar Müller – Hinton, em placas de pétri.

Utilizaram-se discos de papel filtro com um padrão de diâmetro de 6 mm, onde posteriormente foram acrescidos as diluições dos extratos metanólico, aquoso, hidroalcoólico e o óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia*, espalhados e respectivamente marcados sobre as placas de pétri, em uma determinada distância em que o possível halo de inibição formado não tenha interferência sobre os outros discos e suas diluições.

Sobre as placas de petri foram colocados os discos impregnados com antibióticos como controle positivo, um controle negativo e os extratos em diferentes concentrações conforme a tabela 1.

Para realização dos testes, colocou-se os discos de papel filtro embebidos no óleo essencial de *B. dracunculifolia* sendo 10 µL do óleo puro e 10 µL (microlitros) do óleo na diluição de 1:2 e colocados juntamente com os antibióticos como controle positivo e salina como controle negativo sobre os meios de cultura contendo os micro-organismos semeados e levou-se à estufa com temperatura controlada de 35 – 37° Celsius para posterior leitura dos resultados após 24 horas.

Foram realizados testes com o extrato metanólico de *B. dracunculifolia* das diferentes estações do ano com o objetivo de avaliar se há produção de componentes que inibem o crescimento microbiano durante todo o período sazonal e se há diferença no tamanho do halo de inibição entre elas sobre as cepas bacterianas *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* (*S. aureus* e *E. coli*).



Para realização dos testes com os extratos metanólicos, foram utilizados discos de papel filtro esterilizados contendo um volume de 10 µl (microlitros) do extrato puro e 10 µl do extrato diluído na proporção 1:2, sendo uma parte o extrato e a outra parte salina esterilizada. Os discos embebidos com o extrato foram colocados sobre o meio de cultura Ágar Muller – Hinton previamente semeados com as cepas bacterianas, e seguindo um padrão de distância entre os discos foram então adicionados os antibióticos como controle positivo e um controle negativo, em seguida foram levadas à estufa com controle de temperatura entre 35 – 37° Celsius por período de 24 horas para posterior leitura.

Tabela 1: Extrato hidroalcoólico de alecrim do campo

Amostra	Concentração
<i>B. dracunculifolia</i>	1° 1:5
	2° 1:10
	3° 10 µl
	4° 20 µl

Os antibióticos utilizados para todos os experimentos do estudo foram selecionados conforme seu espectro de ação e grupo para cada tipo de bactéria escolhida como mostra a tabela 2.

Tabela 2: Antimicrobianos utilizados como controle positivo

Grupo	Antimicrobiano	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
Cefalosporina	Cefalotina	Sim	Sim
Inibidores do ácido fólico	Sulfazotrim	Sim	Sim
Fluoroquinolona	Ciprofloxacina	Sim	Sim
<b>Derivados do Bacillus Polimixa</b>	Polimixina B	Não	Sim
Aminoglicosídeo	Gentamicina	Sim	Sim
Controle negativo	Salina+Dimetilsulfóxido (DMSO) 10%	Sim	Sim

Em seguida levaram-se as placas em estufa com temperatura controlada de 37° Celsius durante um período de 24 horas para posteriormente realizar a leitura dos resultados.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 EXTRATO HIDROALCOÓLICO

No primeiro teste realizado neste estudo com a planta foi dado com o extrato hidroalcoólico nas proporções supracitadas, onde as cepas bacterianas mostraram-se resistentes ao extrato não formando assim nenhum halo de inibição quando comparado aos controles positivos.

### 4.2 EXTRATO AQUOSO

Nos testes realizados com o extrato aquoso de *B. dracunculifolia* também não foi possível detectar qualquer halo de inibição frente às bactérias testadas, onde foram utilizados o extrato puro com 10 µl/disco e uma diluição 1:10 no segundo disco.

### 4.3 ÓLEO ESSENCIAL

Os resultados obtidos neste estudo com o uso do óleo essencial de *B. dracunculifolia* mostraram-se positivos para *S. aureus* e negativo contra *E. coli*, onde é possível observar a formação do halo de inibição e, os resultados com as médias conforme a tabela 3 nos testes realizados em triplicata.

Tabela 3: Óleo essencial de *B. dracunculifolia* contra *S. aureus*

Amostra	Halo de inibição em (mm)
<i>B. dracunculifolia</i> 1:1	13 mm
<i>B. dracunculifolia</i> 1:2	08 mm
Cefoxitina	28 mm
Gentamicina	25 mm
Sulfazotrim	38 mm
Ciprofloxacina	36 mm
Controle Negativo (salina)	00 mm

### 4.4 EXTRATOS METANÓLICOS

Os antibiogramas contendo os extratos metanólico das quatro estações do ano mostrou uma ligeira inibição do crescimento de *S. aureus* para o extrato metanólico referente à estação de inverno, no teste realizado em triplicata, o extrato apresentou uma média no tamanho do halo de inibição de 9,3 mm para o extrato puro e 6,6 mm para o extrato diluído na proporção 1:2, ambos contendo 10 µl/disco (tabela 4). Entretanto, não observou qualquer sinal de inibição do extrato frente *E. coli* sendo considerada resistente ao extrato nestas condições de testes e para a metodologia utilizada.

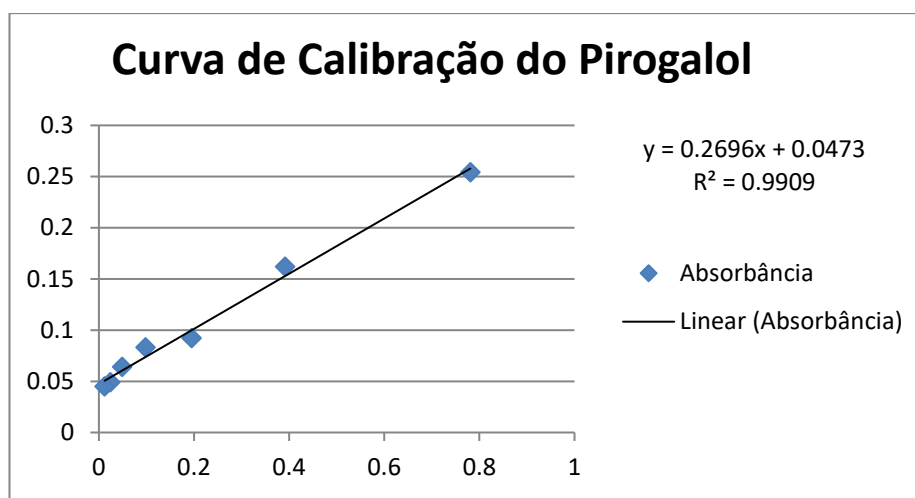
Tabela 4: Extrato metanólico (inverno e primavera) frente *S. aureus*

Amostra	Inverno	Primavera
<i>B. dracunculifolia</i> puro	9,3 mm	17,3 mm
<i>B. dracunculifolia</i> 1:2	6,6 mm	12 mm
Cefoxitina	35 mm	35 mm
Sulfazotrim	41 mm	41 mm
Gentamicina	22 mm	22 mm
Ciprofloxacina	36 mm	36 mm

O extrato metanólico referente à estação de primavera apresentou poder de inibição frente ao *S. aureus* formando halos de inibição com médias de 17,3 mm e 12 mm, com o extrato puro e diluído 1:2 respectivamente (tabela 4). Para *E. coli* não foi observado sensibilidade do micro-organismo frente ao extrato neste teste.

As cepas bacterianas mostraram-se resistentes ao extrato metanólico de *B. dracunculifolia* DC em relação aos extratos de outono e de verão sob as condições de análise e a metodologia utilizada. Corroborando com o resultado do extrato aquoso e hidroalcoólico descrito acima, uma vez que a coleta do material deste extrato foi realizada no período de verão.

#### 4.5 DOSAGENS DE POLIFENÓIS



Na dosagem de polifenóis total a vassourinha apresentou um teor com média de  $9,77 \pm 0,04\%$  de polifenóis, representando 7,33mg de um total de 75mg de planta pulverizada.

## 5 DISCUSSÕES

A vassourinha, considerada como principal fonte botânica da própolis verde, como um produto de grande valor em formulações farmacêuticas para comercialização como comprimidos, pastilhas, loções e cremes faciais, também é alvo de muitos estudos que

mostram atividade antitumoral, anti-inflamatória e antimicrobiana (RINHEL, 2015 & BANKOVA *et. al.* 1999. SIMÕES *et. al.* 2004, FISHER *et. al.* 2007, JORGE *et. al.* 2008, BUFALO *et. al.* 2010, FONSECA *et. al.* 2011 e OLIVEIRA *et. al.* 2014).

Verdi, Brighente e pizzolatti (2005) caracterizaram os flavonoides e os diterpenos como compostos de maior ocorrência no gênero *Baccharis*. Os testes de reação biológica realizados com extratos brutos e frações de plantas deste gênero mostraram em seu estudo que a maioria não está relacionada aos flavonoides, mas sim aos terpenos e tricotecenos. Contudo os flavonoides despertam grande interesse na medicina para sua aplicação devido ao seu comportamento antioxidante observado em várias plantas do gênero com destaque para *B. trinervis* e *B. coridifolia* em inibir a peroxidação lipídica e o sequestro de radicais hidroxilas, onde tais atividades estão associadas à presença de flavonoides.

A vassourinha, considerada como fonte da chamada própolis verde por ter forte interação com as abelhas, onde essas procuram a planta para extrair seus componentes para a produção do mel de onde a própolis é extraída, uma das características da própolis verde e da vassourinha é na alta concentração de artepilina C e de outros derivados do ácido cinâmico (SIMIONI, 2013 & ALENCAR *et. al.* 2005).

Abreu e Onofre (2010) em estudo semelhante com extrato hidroalcoólico de *B. dracunculifolia* testados com frações polar e apolar frente às bactérias *S. aureus* e *E. coli*, onde estas mostraram-se sensíveis ao extrato na fração polar e apenas *S. aureus* mostrou-se sensível ao extrato na fração apolar, neste estudo o álcool utilizado para extração possuía uma concentração de 70%. Pedrazzi e colaboradores (2014), em estudo com alecrim do campo obteve resultados satisfatórios com o extrato da planta contra *Streptococcus mutans* impedindo a formação do biofilme sobre a superfície dos dentes e assim evitando a cárie dentária. Uma das explicações neste estudo é a inibição por parte do extrato da enzima glicosiltransferase produzida pela bactéria como uma forma de explicar a ação do extrato para evitar a formação do biofilme, possibilitando sua incorporação em produtos de higiene bucal. A ciclodextrina glicosiltransferase é uma enzima capaz de converter o amido em ciclodextrinas, é uma enzima geralmente extracelular produzida por vários tipos de micro – organismos (MORIWAKI, 2009).

Sales *et. al.* (2014) em estudo realizado com o óleo essencial de *Hymenaea coubaril* L. Onde observaram a presença de 23 compostos, todos pertencentes à classe dos sesquiterpenos, o seu óleo essencial apresentou ótima atividade inibitória para *S. aureus*, considerando que o óleo essencial pode modular a atividade de antimicrobianos por efeito

antagônico ou por sinergismo, verificando a importância de novos estudos neste seguimento.

Em teste com os mesmos tipos de micro – organismos, porém com outra planta pertencente à família Asteraceae, Castro e colaboradores (2015), avaliaram o potencial efeito antimicrobiano de *Acanthospermum australe* com efeito inibitório dos extratos aquoso e etanólico para *S. aureus* e observaram um efeito maior com o extrato etanólico quando confrontado com a bactéria *E. coli* na sua maior concentração, comparando os resultados obtidos em relação à atividade antimicrobiana aos polifenóis que podem apresentar atividade antimicrobiana por combinar-se com as adesinas bacterianas e, em relação aos taninos que podem afetar a formação da parede celular ao formar complexos junto as proteínas (CASTRO, 2015 & CHUSRI; VORAVUTHIKUNCHAI, 2009; COWAN,1999).

Compostos fenólicos comumente encontrados na própolis verde e na vassourinha desempenham importante papel quanto à atividade antimicrobiana destes compostos, que em geral são atribuídas aos efeitos sinérgicos e aditivos dos compostos fenólicos (Del Lama 2013 *apud* Parque *et. al.* 2004). Del Lama (2013) avaliou a possibilidade de incorporar extratos da vassourinha em desinfetantes no ambiente hospitalar para limpeza e desinfecção de superfícies e, mostra assim, a vantagem em ter um produto de limpeza com extrato vegetal tornando-o bactericida e bacteriostático frente bactérias de suma importância em ambiente hospitalar e ainda não ser irritante para o usuário, mostrando ser totalmente possível revolucionar o mercado de saneantes com adição de extratos vegetais e evitar o grande problema que é a infecção hospitalar por bactérias.

A planta apresenta variações durante o período sazonal e, ao apresentar essas alterações implica diretamente na concentração de princípios ativos ao longo das estações e os fatores extrínsecos interferem na produção dos seus componentes (SANTOS 2011 & PINTO E BERTOLUCCI, 2002).

Analisando os resultados encontrados neste estudo e comparando com os resultados de outros autores, nota-se que um dos principais fatores que influenciam os resultados encontrados em geral, é a sazonalidade, onde se sugere que está diretamente ligado ao período de maior produção de compostos fenólicos com atividade sobre micro-organismos.

Em estudo sobre o efeito da adubação orgânica na produtividade do óleo essencial de *B. dracunculifolia*, Santos (2011) concluiu que aumentando a aplicação de compostos orgânicos proporciona um melhor rendimento do óleo essencial, pois com

maior fornecimento de nutrientes torna a planta mais resistente contra pragas e doenças encontrando neste estudo um rendimento de 0,38% de óleo essencial.

Utilizando o óleo essencial da vassourinha contra microrganismos na metodologia de disco difusão em Agar, Gelinski *et. al* (2007), observou que as bactérias mais sensíveis ao óleo foram: *Proteus sp.*, *Staphylococcus sp.*, *E. coli* e *L. monocytogenes*. Entretanto as cepas de *Salmonella Typhimurium*, *S. Panama* e *Staphylococcus aureus ATCC 25923* mostraram-se resistentes ao óleo.

Dentre os metabólitos presentes no óleo essencial da vassourinha, o espatulenol é um sesquiterpeno que apresenta importante atividade biológica com propriedades antibacterianas e moderada atividade citotóxica (BELINI, 2015 *apud* LIMBERGER *et al.*, 2004).

Gelinski (2007), em estudo semelhante utilizando óleo essencial de alecrim do campo verificou que o óleo não inibiu o crescimento de *S. aureus ATCC 25923*, porém, encontrou como resultado no teste de difusão em disco, *Staphylococcus sp* como micro – organismo que apresentou maior sensibilidade ao óleo essencial da planta, com um halo de 17 mm, seguida de *Proteus sp.* com halo de 16mm e *E. coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella panamá* e *S. aureus* com média de halos de 12, 13, 5, 4 e 0 mm, respectivamente. As bactérias gram positivas foram inibidas de maneira mais significativa frente ao óleo essencial puro da planta. Ele explica que esse resultado deve-se ao sinergismo entre as várias substâncias presentes no óleo essencial da vassourinha e que estas substâncias quando atuam em sinergismo podem obter efeito antimicrobiano melhor do que as substâncias isoladas. Seu estudo também mostrou o poder de inibição do nerolidol (composto isolado) onde inibiu *Staphylococcus sp* e *Listeria monocytogenes*. Na forma combinada com EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético) inibiu *Proteus sp.* E em combinação com a lisozima, inibiu *S. aureus ATCC 25923* e *L. monocytogenes*. Onde a lisozima isolada não inibiu nenhuma das cepas, isso porque se sugere que essa apenas deixa a célula bacteriana fragilizada, porém não a impede de se multiplicar.

Ferronato e colaboradores (2007) apresentaram resultados positivos para as análises com o óleo essencial de alecrim do campo, demonstrando halos de inibição para *E. coli* com média de 9,25 mm para 1 µl do óleo puro e média de 13,62 mm para 10 µl do óleo puro. Já para *S. aureus* os halos de inibição variaram em 8,35 mm e 14,63 mm para 1 µl e 10 µl/disco de óleo puro respectivamente. Sendo considerado com baixa atividade antimicrobiana frente *Pseudomonas aeruginosa* verificando uma pequena sensibilidade quando testada com 10 µl do óleo puro formando um halo de inibição de 8,32 mm. No

mesmo estudo, Ferronato e colaboradores (2007) encontraram resultados positivos contra bactérias utilizando o óleo essencial de *Baccharis uncinella* onde o óleo inibiu o crescimento de *E. coli* com 3, 5 e 10 µl/disco de óleo puro formando halos de inibição com 8,32, 8,31 e 9,12 mm respectivamente, e para *S. aureus* nos mesmos volumes por disco apresentaram halos de 9,46, 10,83 e 12,40 mm respectivamente e para *P. aeruginosa* apresentou halo de inibição de 7,32 mm, porém somente com volume de 10 µl por disco. Vindo de encontro com os resultados encontrados neste estudo em relação à atividade do óleo encontrada sobre a bactéria gram positiva.

Soares e colaboradores (2013) em estudo com extratos brutos de alecrim do campo observaram atividade antimicrobiana principalmente sobre algumas cepas gram positivas em geral do que as cepas gram negativas, onde sugere que a diferença na estrutura da parede celular bacteriana pode interferir nos resultados com o extrato testado.

Em outro estudo realizado com gênero *Baccharis*, avaliando extratos aquosos e etanólico de *B. trimera* e *B. articulata*, onde estas espécies apresentaram *in vitro* atividade antimicrobiana sobre *Helicobacter pylori* principalmente nos extratos etanólico. Dos extratos aquosos, apenas um apresentou poder de inibição bacteriana e apenas na concentração de 2500 µg/mL, porém não causando morte microbiana. Todos os extratos etanólico apresentaram a capacidade de causar morte bacteriana de *Helicobacter pylori*. Devido ao fato de todos os extratos constarem a presença de flavonoides e os extratos etanólico apresentarem atividade inibitória sobre a bactéria testada, entende-se que a atividade antimicrobiana deste gênero seja resultado da presença desses flavonoides e de outros grupos de metabólitos como taninos e saponinas (TASCHETTO, 2010).

Nader (2010), observou em seu estudo a atividade bacteriostática com o extrato hexânico de *B. dracunculifolia*, com extratos preparados com 200 mg/mL ensaiados sobre 20 estirpes de *S. aureus*, constatou que com uma concentração inibitória mínima (CIM) de 10 mg/mL, o extrato hexânico de *B. dracunculifolia* inibiu o crescimento de 9 das 20 estirpes testadas, ou seja, 45% das estirpes testadas, onde o antibiótico gentamicina em seu estudo sugeriu concluir que apenas 25% das espécies apresentaram sensibilidade ao antibiótico, sendo evidente a superioridade do extrato em relação ao antibiótico, sugerindo a sua aplicação para o controle da mastite bovina causada por *S. aureus*.

Castro e colaboradores (2005) concluem em seu trabalho comparando a atividade antibacteriana e a composição fenólica que a sazonalidade influenciou diretamente na atividade antibacteriana da própolis na região nordeste e sudoeste sugerindo assim a interferência nos compostos bioativos oriundos da fonte vegetal da própolis. Seu estudo



mostra uma estreita relação entre atividade antibacteriana e compostos fenólicos onde os menores resultados de atividade antibacteriana estão associados às menores concentrações de flavonoides.

Sartor (2013) avalia o potencial antimicrobiano de *Baccharis dentata* e o potencial antioxidante em relação aos compostos fenólicos presentes na planta e conclui que os níveis de compostos fenólicos incluindo os flavonoides sofrem variação em quantidade e qualidade dependendo da época do ano juntamente com a sua atividade antimicrobiana. Os flavonoides e compostos fenólicos são conhecidos por serem antioxidantes eficientes *in vitro*, e que podem ser indicados para novos estudos sobre seu potencial efeito contra patologias relacionadas ao estresse – oxidativo.

A atividade dos flavonoides está relacionada ao dano causado na membrana citoplasmática causada por perfuração ou redução da fluidez da membrana, inibição da síntese de ácidos nucleicos causado pela inibição da topoisomerase e inibição do metabolismo energético (ROZATTO, 2012 *apud* CUSHINIE; LAMB, 2011). Paiva (2015), em estudo com extrato hidroalcoólico de *Baccharis trimera*, realizou a dosagem de polifenóis pelo método de Folin – Ciocalteu, e encontrou um resultado de 0,085 miligramas equivalentes de ácido gálico (mEq).

Nakamura *et. al* (2013) realizaram um estudo para determinar o teor de polifenol em chás comercializados em *sachets* e encontraram valores de polifenóis totais para *Baccharis genisteioides* (Lamarck) Person, *Baccharis genisteioides* e *Baccharis genisteioides* (Lamarck) Person de 15,2; 9,17 e 12,0, respectivamente, com presença de catequinas e flavonoides. Sendo o teor total de polifenol para a carqueja uma média de  $12,1 \pm 3$  mg ácido gálico/g de material seco, indicando atividade antioxidante que, quando usados adequadamente possibilitam benefícios aos consumidores.

Analisando os resultados obtidos neste estudo e comparando com outras referências, sugere-se que a mesma possui em sua composição substâncias que atuam em sinergismo e, que por sua vez foram capazes de inibir de maneira satisfatória o crescimento microbiano da cepa gram positiva *Staphylococcus aureus* para óleo essencial e para os extratos metanólico nas frações de inverno e primavera, sugerindo assim seu potencial antimicrobiano estando atrelado à presença de polifenóis, principalmente nas estações de primavera e inverno, onde a planta evidenciou ser capaz de produzir compostos ativos contra micro-organismos, mostrando a possibilidade de utilização de extratos de alecrim do campo em outros produtos como, por exemplo, produtos de higiene bucal e saneantes, agindo como bactericida ou bacteriostático. Sendo necessários estudos

mais aprofundados quanto aos seus componentes, sazonalidade e clima para a produção destes e, desta forma buscar isolar substâncias e combina-las com outras que atuem melhor, com finalidade de inibir o crescimento de micro-organismos patogênicos e auxiliando assim na descoberta de novas substâncias antibióticas.

## REFERÊNCIAS

Abreu PAP, Onofre SB. Atividade antimicrobiana dos extratos de *Baccharis dracunculifolia* D. C. (Asteraceae). *Revista de saúde e biologia*. 2010; 5(2): 1-6.

Agostini F. *et al.* Estudo do óleo essencial de algumas espécies do gênero *Baccharis* (Asteraceae) do sul do Brasil. *Revista brasileira de farmacognosia*. 2005; 15(3): 215-220.

AZEVEDO, S.K.S.; SILVA, I.M. Plantas medicinais e de uso religioso comercializadas em mercados e feiras livres no Rio de Janeiro, RJ, Brasil. *Acta bot. bras.* 20(1): 185-194, 2006.

Belini CMB. *Baccharis dracunculifolia* DC. (Asteraceae): Composição do óleo essencial, diversidade e parâmetros genéticos. Tese de doutorado. Botucatu – SP. Universidade Estadual Paulista “Julio Mesquita Filho” Unesp. 2015.

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Farmacopéia Brasileira*. 5ª edição. Brasília (DF); 2010; 2(5): 698.

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Farmacopéia Brasileira*. 5ª edição. Brasília (DF); 2010; 2(5): 672-673.

Budel JM, Duarte MR, Santos CAM, Farago PV. Morfoanatomia Foliar e Caulinar de *Baccharis dracunculifolia* DC., Asteraceae, Departamento de Farmácia, Universidade Federal do Paraná. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2005; 15(3): 477-83.

CALIXTO, Carolina Maria Fioramonti; CAVALHEIRO, É. T. G. Penicilina: efeito do acaso e momento histórico no desenvolvimento científico. **Química Nova na escola**, v. 34, n. 3, p. 118-123, 2012.

Castro ML. *et. al.* Própolis do sudeste e nordeste do brasil: influência da sazonalidade na atividade antibacteriana e composição fenólica. *Química Nova* 2007; 30(7): 1512-1516.

Castro LC. *et.al.* Avaliação da atividade antimicrobiana de extrato aquoso e etanólico de *Acanthospermum australe*. *Caderno Pedagógico*. Lajeado. Univates. 2012; 9(2): 153-161.

CAZELLA, L. N. et al. Antimicrobial activity of essential oil of *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae) aerial parts at flowering period. **Frontiers in plant science**, v. 10, 2019.

COSTA, P. et al. Hydroalcoholic extract from *Baccharis dracunculifolia* recovers the gastric ulcerated tissue, and p-coumaric acid is a pivotal bioactive compound to this action. **BioFactors**, 2019.

DA SILVA DUARTE, Suzane Meriely et al. Revisão Sistemática da Resistência e Farmacodinâmica de Antibióticos/Systematic Review of Resistance and Pharmacodynamics of Antibiotics. **Brazilian Journal of Development**, v. 5, n. 10, p. 21476-21489, 2019.

DE SOUSA, J. P. B. et al. Seasonality role on the phenolics from cultivated *Baccharis dracunculifolia*. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2011, 2011.

Del Lama DSA. Naturalidade da desinfecção origem, processo produtivo e eficácia da *Baccharis dracunculifolia* D.C. Revista Científica ANAP Brasil. Piracicaba – SP. 2013; 6(8): 29-40.

Ferronato R. et. Al. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais produzidos por *Baccharis dracunculifolia* D.C. e *Baccharis uncinella* D.C. (Asteraceae). Revista Brasileira de Farmacognosia. 2007; 17(2): 224-230.

FIGUEIREDO-RINHEL, A. S. G. et al. Inhibition of the human neutrophil oxidative metabolism by *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae) is influenced by seasonality and the ratio of caffeic acid to other phenolic compounds. **Journal of ethnopharmacology**, v. 150, n. 2, p. 655-664, 2013.

FIGUEIREDO-RINHEL, A. S. G. et al. *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae) selectively modulates the effector functions of human neutrophils. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 69, n. 12, p. 1829-1845, 2017.

Gelinski JMLN. et. al. Atividade antibacteriana do óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae) e de seu composto ativo nerolidol em combinação ao EDTA ou lisozima. Evidência. Joaçaba(SC). 2007; 7(2): 131-144.

Gobbo-Neto L, Lope NP. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. Química nova. 2007; 30(2): 374-381.

Gonçalves AL, Alves Filho A, Meneses H. Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas. Instituto de Biologia. São Paulo (SP). 2005; 72(3): 353-368.

Guimarães DO, Momesso LS, Pupo MTN. Antibióticos: Importância terapêutica e perspectiva para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. Química Nova. Ribeirão Preto (SP). 2010; 33(3) 667-679.

HEIDEN, G.; BAUMGRATZ, J. F. A.; ESTEVES, R. L. *Baccharis* subgen. Molina (Asteraceae) in Rio de Janeiro state, Southeast Brazil. **Rodriguésia**, v. 63, n. 3, p. 649-687, 2012.

HEIDEN, G.; DE SOUZA LEONI, L.; NAKAJIMA, J. N.. *Baccharis magnifica* (Asteraceae, Astereae): a striking new species endemic to the summits of Serra do Caparaó, southeastern Brazil. **Phytotaxa**, v. 162, n. 4, p. 211-216, 2014.

LIMA, Camila Correa; BENJAMIM, Sandra Cristina Calixto; SANTOS, Rosana Francisco Siqueira dos. Mecanismo de resistência bacteriana frente aos fármacos: uma revisão. **CuidArte, Enferm**, p. 105-113, 2017.

Moriwaki C. *et. al.* Produção, purificação e aumento da performance de ciclodextrina glicosiltransferases para produção de ciclodextrinas. Maringá (PR). *Química Nova*. 2009; 32(9): 2360-2366.

Nader TT. Potencial de atividade antimicrobiana in vitro de extratos vegetais do cerrado frente estirpes de staphylococcus aureus. [Dissertação de mestrado]. Jaboticabal (SP). Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”. 2010.

Nakamura T. Determinação da atividade antioxidante e do teor total de polifenol em amostras de chá de ervas comercializadas em *sachets*. Santo André (SP) ABCS Health Sciences. 2013; 38(1): 8-16.

Paiva FA. *Baccharis trimera* protege contra o estresse oxidativo e toxicidade induzida pelo peptídeo  $\beta$ -amilóide no *Caenorhabditis elegans*. [Tese]. Ouro Preto (SP). 2015.

PARK, Y. K. et al. Chemical constituents in *Baccharis dracunculifolia* as the main botanical origin of southeastern Brazilian propolis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 5, p. 1100-1103, 2004.

Pedrazzi V, Leite MF, Tavares RC, Sato S, Do Nascimento GC, Issa JPM. Herbal mouthwash containing extracts of *baccharis dracunculifolia* as agent for the controlo f biofilm: clinical evaluation in humans. *The ScientificWorld Journal*. 2014.

PEREIRA, R. A. **Efeitos do tratamento do extrato metanólico de *Baccharis dracunculifolia* sobre alterações bioquímicas e histológicas de um modelo animal de diabetes**. Dissertação (Mestrado) em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual do Centro–Oeste, Guarapuava, PR, 2014.

REFLORA. *Baccharis* in **Flora do Brasil 2020 em construção**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB5151>>. Acesso em: 15 Mai. 2019

RESENDE, F. A. et al. Comparative studies of the (anti) mutagenicity of *Baccharis dracunculifolia* and artemisinin C by the bacterial reverse mutation test. **Molecules**, v. 17, n. 3, p. 2335-2350, 2012.