

MATHEUS ANDRADE VENÂNCIO

MATHEUS ANDRADE VENÂNCIO

**AVALIAÇÃO DO EXTRATO ETANÓLICO DE *Eremanthus erythropappus*
(DC.) MacLeish E DO COMPOSTO α - BISABOLOL SOBRE ISOLADOS DE
Staphylococcus aureus CAUSADORES DE MASTITE BOVINA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Aplicada, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientadora: Marisa Alves Nogueira Diaz

Coorientadora: Virgínia Ramos Pizziolo

VIÇOSA - MINAS GERAIS

2020

RESUMO

VENÂNCIO, Matheus Andrade, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2020. **Avaliação do extrato etanólico de *Eremanthus erythropappus* (DC.) MacLeish e do composto α -bisabolol sobre isolados de *Staphylococcus aureus* causadores de mastite bovina.** Orientadora: Marisa Alves Nogueira Diaz. Coorientadora: Virgínia Ramos Pizziolo.

A candeia-da-serra (*Eremanthus erythropappus* (DC.) MacLeish) é uma espécie vegetal de elevado valor econômico. A maioria dos estudos sobre a espécie está relacionado ao óleo essencial extraído do caule da árvore, cujo componente majoritário é o α -bisabolol, e ao seu manejo sustentável para evitar o desmatamento. O presente trabalho objetivou avaliar a atividade antimicrobiana do extrato etanólico obtido de folhas de *E. erythropappus* (DC.) MacLeish e do composto α -bisabolol sobre *Staphylococcus aureus* causadoras de mastite bovina. A concentração inibitória mínima (CIM) do composto α -bisabolol (0,156 mg/mL e 0,078 mg/mL) apresentou melhores resultados em comparação ao extrato etanólico das folhas (0,625 mg/mL e 0,312 mg/mL) sobre as cepas de *S. aureus* isolados de mastite bovina. Ambos, extrato etanólico e o α -bisabolol apresentaram inibição sobre a formação do biofilme bacteriano, na concentração correspondente ao CIM. O extrato etanólico e o α -bisabolol não apresentaram diferença significativa em relação ao controle. Ambos apresentaram efeito sinérgico ($\sum \text{CIF} < 0,5$) sobre a maioria das cepas, variando de 0,62 mg/mL até 0,15 mg/mL. No teste de citotoxicidade frente a células MAC-T o extrato etanólico apresentou IC_{50} $0,115 \pm 4,20$ mg/mL sendo considerado tóxico para as células e o composto α -bisabolol apresentou IC_{50} $0,646 \pm 3,19$ mg/mL sendo considerado atóxico para as células testadas. Avaliando o sinergismo e o teste de citotoxicidade observou-se que o extrato etanólico apresentou toxicidade frente às células mamárias bovinas na concentração correspondente a concentração inibitória mínima, não sendo, portanto, ideal para o tratamento tópico e intramamário da mastite bovina. O composto α -bisabolol por outro lado, não é tóxico para as células mamárias e não estimula a proliferação celular na concentração correspondente à concentração inibitória mínima, sendo considerado como um possível princípio ativo a uma formulação pós-dipping para uso na doença mastite bovina.

Palavras-chave: *Eremanthus erythropappus* (DC) MacLeish. α -bisabolol. *Staphylococcus aureus*. Mastite bovina.

VENÂNCIO, Matheus Andrade, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2020. Evaluation of the ethanolic extract of *Eremanthus erythropappus* (DC.) MacLeish and the compound α -bisabolol on *Staphylococcus aureus* isolates that cause bovine mastitis. Adviser: Marisa Alves Nogueira Diaz. Co-Adviser: Virginia Ramos Pizzolo.

Candeia-da-serra (*Eremanthus erythropappus* (DC.) MacLeish) is a plant species of high economic value. Most studies on the species are related to the essential oil extracted from the tree stem, whose major component is α -bisabolol, and its sustainable management to avoid deforestation. The present study aimed to evaluate the antimicrobial activity of the ethanolic extract obtained from *E. erythropappus* (DC.) MacLeish leaves and the α -bisabolol compound on *Staphylococcus aureus* that cause bovine mastitis. The minimum inhibitory concentration (MIC) of the compound α -bisabolol (0.166 mg / mL and 0.076 mg / mL) showed better results compared to the ethanolic extract of the leaves (0.625 mg / mL and 0.312 mg / mL) on the strains of *S. aureus* isolated from bovine mastitis. Both ethanolic extract and α -bisabolol showed inhibition on the formation of bacterial biofilm in concentration corresponding to MIC. The ethanolic extract and α -bisabolol showed no significant difference in relation to the control. Both had a synergistic effect (Σ Cif < 0.5) on most strains, ranging from 0.62 mg / mL to 0.15 mg / mL. In the cytotoxicity test against MAC-T cells, the ethanolic extract showed IC₅₀ 0.115 ± 4.20 mg / mL, being considered toxic to the cells and the α -bisabolol compound showed IC₅₀ 0.646 ± 3.19 mg / mL, being considered nontoxic to the cells. Evaluating the synergism and the cytotoxicity test, it was observed that the ethanolic extract showed toxicity against bovine mammary cells in the concentration corresponding to the minimum inhibitory concentration, therefore not being ideal for topical and intramammary treatment of bovine mastitis. The α -bisabolol compound, on the other hand, is not toxic to mammary cells and does not stimulate cell proliferation at the concentration corresponding to the minimum inhibitory concentration, being considered as a possible active ingredient in a post-dipping formulation for use in bovine mastitis disease.

ABSTRACT

VENÂNCIO, Matheus Andrade, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2020. **Evaluation of the ethanolic extract of *Eremanthus erythropappus* (DC.) MacLeish and the compound α -bisabolol on *Staphylococcus aureus* isolates that cause bovine mastitis.** Adviser: Marisa Alves Nogueira Diaz. Co-Adviser: Virgínia Ramos Pizziolo.

Candeia-da-serra (*Eremanthus erythropappus* (DC.) MacLeish) is a plant species of high economic value. Most studies on the species are related to the essential oil extracted from the tree stem, whose major component is α -bisabolol, and its sustainable management to avoid deforestation. The present study aimed to evaluate the antimicrobial activity of the ethanolic extract obtained from *E. erythropappus* (DC.) MacLeish leaves and the α -bisabolol compound on *Staphylococcus aureus* that cause bovine mastitis. The minimum inhibitory concentration (MIC) of the compound α -bisabolol (0.156 mg / mL and 0.078 mg / mL) showed better results compared to the ethanolic extract of the leaves (0.625 mg / mL and 0.312 mg / mL) on the strains of *S. aureus* isolated from bovine mastitis. Both ethanolic extract and α -bisabolol showed inhibition on the formation of bacterial biofilm in concentration corresponding to MIC. The ethanolic extract and α -bisabolol showed no significant difference in relation to the control. Both had a synergistic effect (Σ CIF <0.5) on most strains, ranging from 0.62 mg / mL to 0.15 mg / mL. In the cytotoxicity test against MAC-T cells, the ethanolic extract showed IC₅₀ 0.115 ± 4.20 mg / mL, being considered toxic to the cells and the α -bisabolol compound showed IC₅₀ 0.646 ± 3.19 mg / mL, being considered nontoxic to the cells. Evaluating the synergism and the cytotoxicity test, it was observed that the ethanolic extract showed toxicity against bovine mammary cells in the concentration corresponding to the minimum inhibitory concentration, therefore not being ideal for topical and intramammary treatment of bovine mastitis. The α -bisabolol compound, on the other hand, is not toxic to mammary cells and does not stimulate cell proliferation at the concentration corresponding to the minimum inhibitory concentration, being considered as a possible active ingredient in a post-dipping formulation for use in bovine mastitis disease.

Keywords: *Eremanthus erythropappus* (DC) MacLeish. α -bisabolol. *Staphylococcus aureus*. Mastite bovina.

Figura 1. Partes aéreas da planta *E.erythropeppus*.....19

Figura 2. Ocorrência natural de *E. erythropappus*.21

Figura 3. Estrutura química do α -Bisabolol.....23

Figura 4. Esterediscômeros do α -Bisabolol.....24

Figura 5. As células vivas ativas causam redução da resazurina (azul púrpura) para resorufina (rosa).....27

Figura 6. Princípio do ensaio de MTT.....30

Figura 7. Esquema das concentrações finais do extrato e do composto controlal combinados.....31

Figura 8. Taxa de viabilidade celular em função da concentração de α -bisabolol.....35

Figura 9. Taxa de viabilidade celular em função da concentração do extrato.....39