

EVALUAREA IN VITRO A POTENȚIALULUI ANTIBACTERIAN ȘI ANTIOXIDANT AL ULEIULUI VOLATIL DE CUPRESSUS SEMPERVIRENS

Diana-Mădălina GĂBOREANU^{1,2,3}, Ioana Cristina MARINAȘ², Eliza OPREA¹, Mihaela BULEANDRA⁴, Mariana Carmen CHIFIRIUC^{1,2,5}

¹Universitatea din București, Facultatea de Biologie, Splaiul Independenței 91-95, București, 050095; ²Institutul de Cercetare al Universității din București (ICUB), B.P. Hoșdeu, Nr.7, București 050095; ³Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare pentru Științe Biologice, Nr. 296, București 060031; ⁴Universitatea din București, Facultatea de Chimie, Șoseaua Panduri 90-92, București, 050663; ⁵Secția de Științe Biologice a Academiei Române, Academia Română

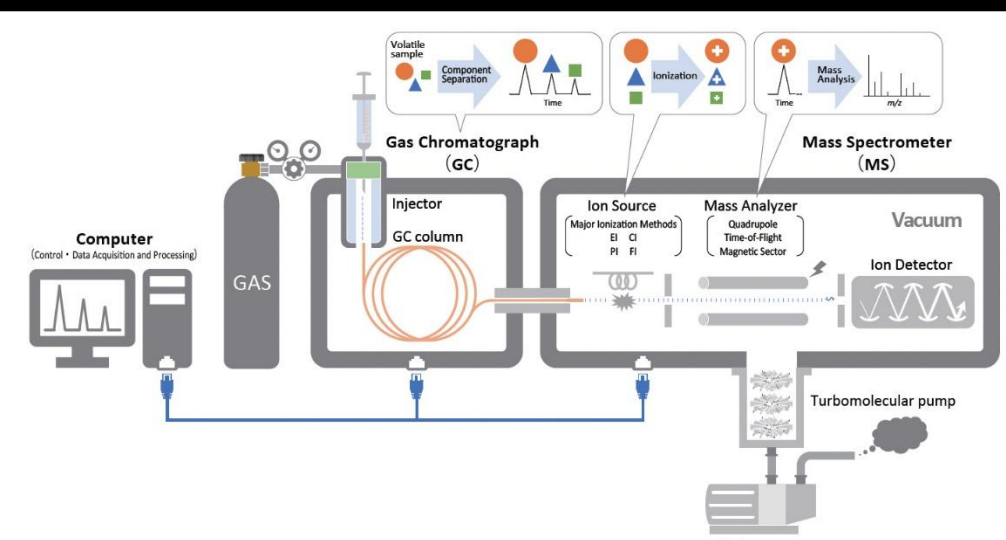
INTRODUCERE

Tratamentul plăgilor cronice, cu evoluție lentă spre vindecare, reprezintă o provocare majoră în practica medicală, în principal din cauza colonizării cu microorganisme multirezistente și a formării biofilmului microbial [1]. În acest context, se impune dezvoltarea unor strategii terapeutice alternative cu eficiență demonstrată; o opțiune promițătoare o reprezintă uleiurile volatile (UV) [2,3]. UV de *Cupressus sempervirens* este recunoscut pentru proprietățile sale antimicrobiene, antioxidante și pentru capacitatea de a stimula procesele de regenerare tisulară și de a accelera procesul de vindecare [4,5].

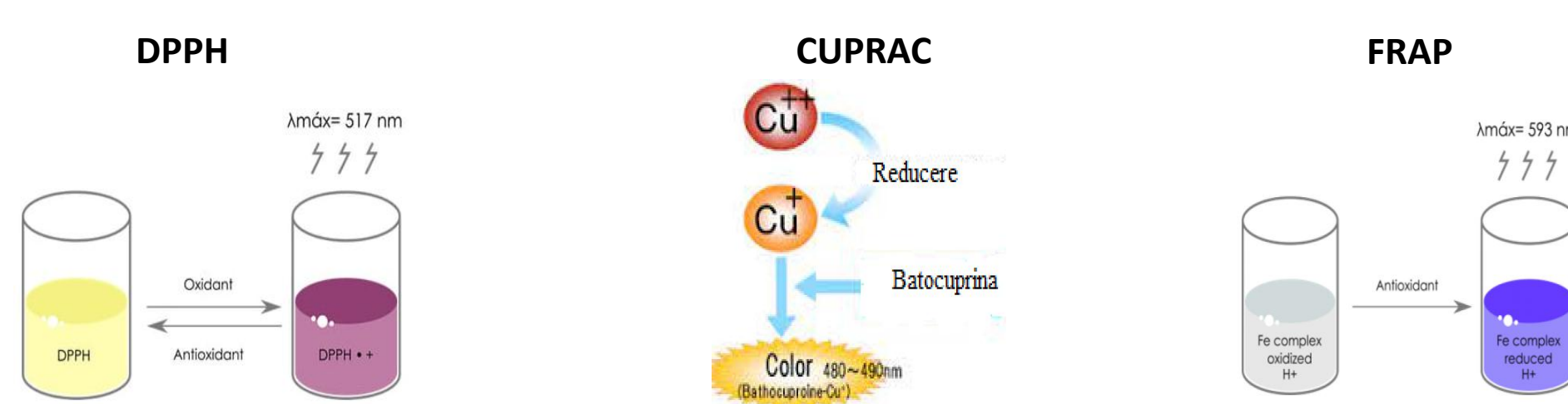
Scopul acestui studiu a fost evaluarea potențialului uleiului volatil comercial de *C. sempervirens* (UVCS) de a fi utilizat pentru dezvoltarea unor formulări topice inovatoare destinate tratamentului plăgilor infectate.

MATERIALE ȘI METODE

Analiza cromatografică (CG-SM)



Evaluarea activității antioxidante



Caracterizarea biologică a UVCS

- Evaluarea activității antimicrobiene -> Calitativ (disc-difuzimetrică adaptată) și cantitativ (microdiluții seriale binare)
- Evaluarea activității antibiofilm -> Microtitrare cu cristal violet
- Hemocompatibilitatea - metoda standardizată ISO 10993-4:2017-

REZULTATE ȘI DISCUȚII

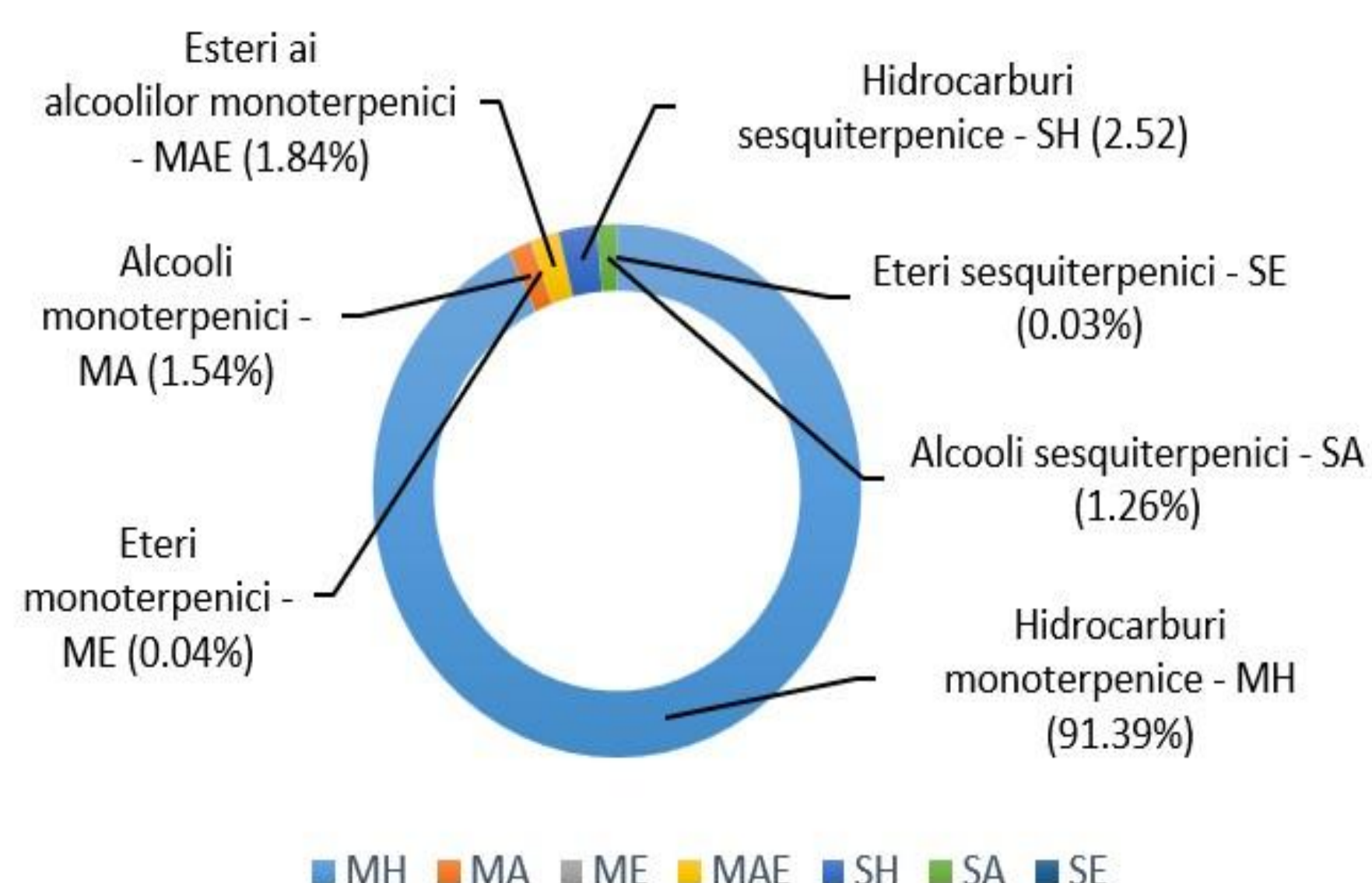
Rezultatele analizei cromatografice (CG-SM)

Tabelul 1. Compoziția chimică a UV de *C. sempervirens* determinată prin CG-SM

Nr.	Compuș	Clasa de compuși	Tempul de retenție (min)	Indici Kovats	Aria relativă (%)
1	α-Pinen	MH	6,02	931	55,58
2	Camfen	MH	6,27	945	0,57
3	Sabinen (β-Tuien)	MH	6,7	968	1,40
4	β-Pinen	MH	6,76	971	0,36
5	Mircen	MH	6,95	982	1,37
6	δ-3-Caren	MH	7,34	1003	23,82
7	α-Terpinen	MH	7,43	1008	0,16
8	Limonen	MH	7,64	1020	3,35
9	cis-β-Ocimen	MH	7,91	1036	0,02
10	δ-Terpinen	MH	8,13	1049	0,78
11	cis-Sabinen hidrat	MA	8,39	1064	0,01
12	α-Terpinolen	MH	8,62	1077	3,94
13	Linalool	MA	8,78	1087	0,31
14	trans-Sabinen hidrat	MA	9,00	1099	0,02
15	cis-p-Ment-2,8-dien-1-ol	MA	9,42	1126	0,01
16	Borneol	MA	9,92	1158	0,01
17	Terpinen-4-ol	MA	10,08	1168	0,78
18	p-Cimen-8-ol	MA	10,19	1175	0,07
19	α-Terpineol	MA	10,28	1180	0,27
20	Mirtenol	MA	10,39	1187	0,009
21	Timol metil eter	ME	11,01	1229	0,04
22	trans-Mirtanol	MA	11,33	1251	0,01
23	Bornil acetat	MAE	11,67	1274	0,10
24	α-Terpineol acetat	MAE	12,52	1334	1,73
25	α-Copaen	SH	12,94	1364	0,07
26	α-Cedren	SH	13,49	1403	0,58
27	β-Cariofilen	SH	13,56	1409	0,45
28	β-Cedren	SH	13,61	1413	0,17
29	cis-Tuiopsen	SH	13,73	1423	0,01
30	α-Humulen	SH	14,06	1450	0,02
31	Alloaromadendren	SH	14,11	1454	0,10
32	γ-Muuroolen	SH	14,34	1472	0,38
33	α-Muuroolen	SH	14,53	1488	0,22
34	γ-Cadinen	SH	14,81	1511	0,46
35	α-Cadinen	SH	15,01	1528	0,02
36	Spatulenol	SA	15,56	1574	0,009
37	Cariofilen oxid	SE	15,64	1581	0,03
38	Cedrol	SA	15,89	1602	1,26
TOTAL					98,49

*MH, hidrocarburi monoterpene; MA, alcooli monoterpene; ME, eteri monoterpene; MAE, esterii ai alcoolilor monoterpene; SH, hidrocarburi sesquiterpene; SA, alcooli sesquiterpene; SE, eteri sesquiterpene;

Ponderea claselor de compuși în uleiul volatil



Rezultatele evaluării activității antioxidante

Tabelul 2. Determinarea activității antioxidante a UVCS prin metodele CUPRAC și FRAP

Nr.	Probă	CUPRAC (μM Trolox/mg)	FRAP (μM Trolox/mg)
1	UVCS	0.37±0.007	4.10±0.70

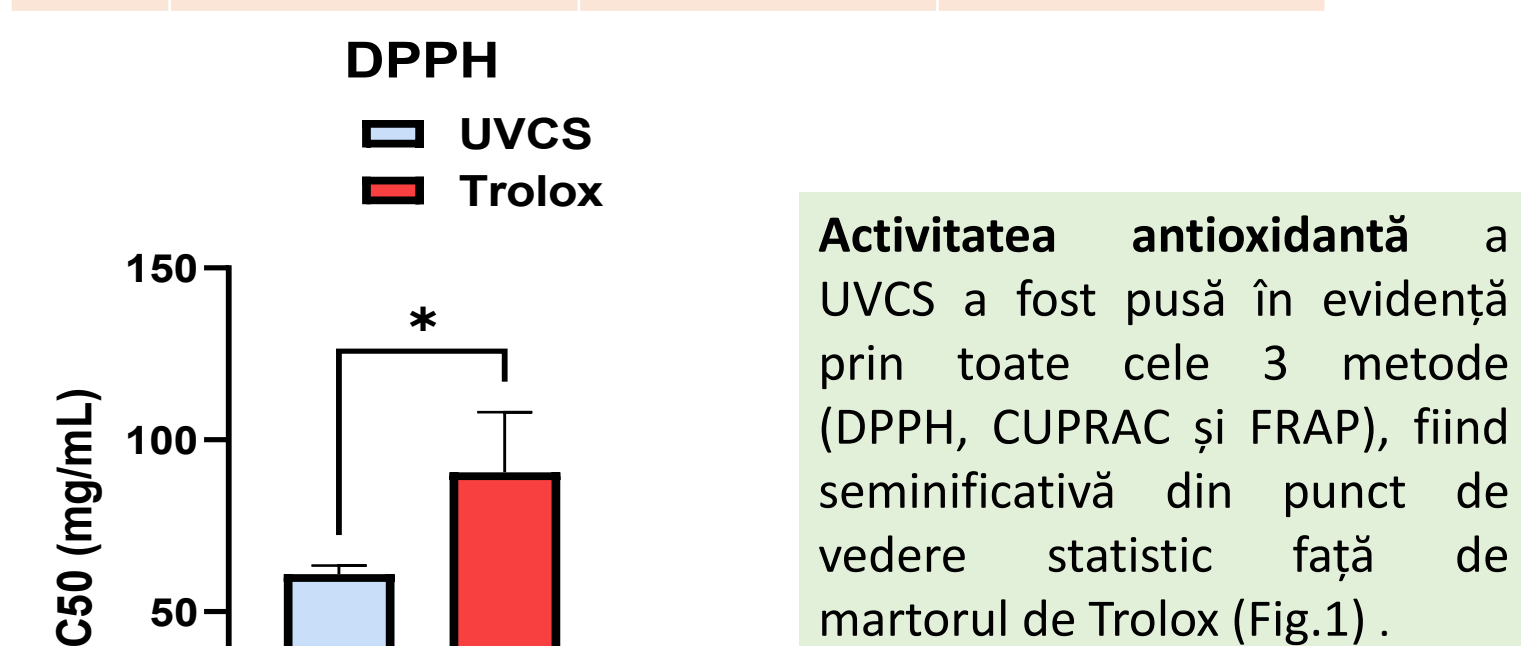


Fig. 1 Reprezentarea grafică a activității antioxidante a UVCS prin metoda DPPH, semnificația statistică a datelor: *p < 0.05

Activitatea antioxidantă a UVCS a fost pusă în evidență prin toate cele 3 metode (DPPH, CUPRAC și FRAP), fiind semnificativă din punct de vedere statistic față de mărtoșul de Trolox (Fig.1).

Hemocompatibilitatea

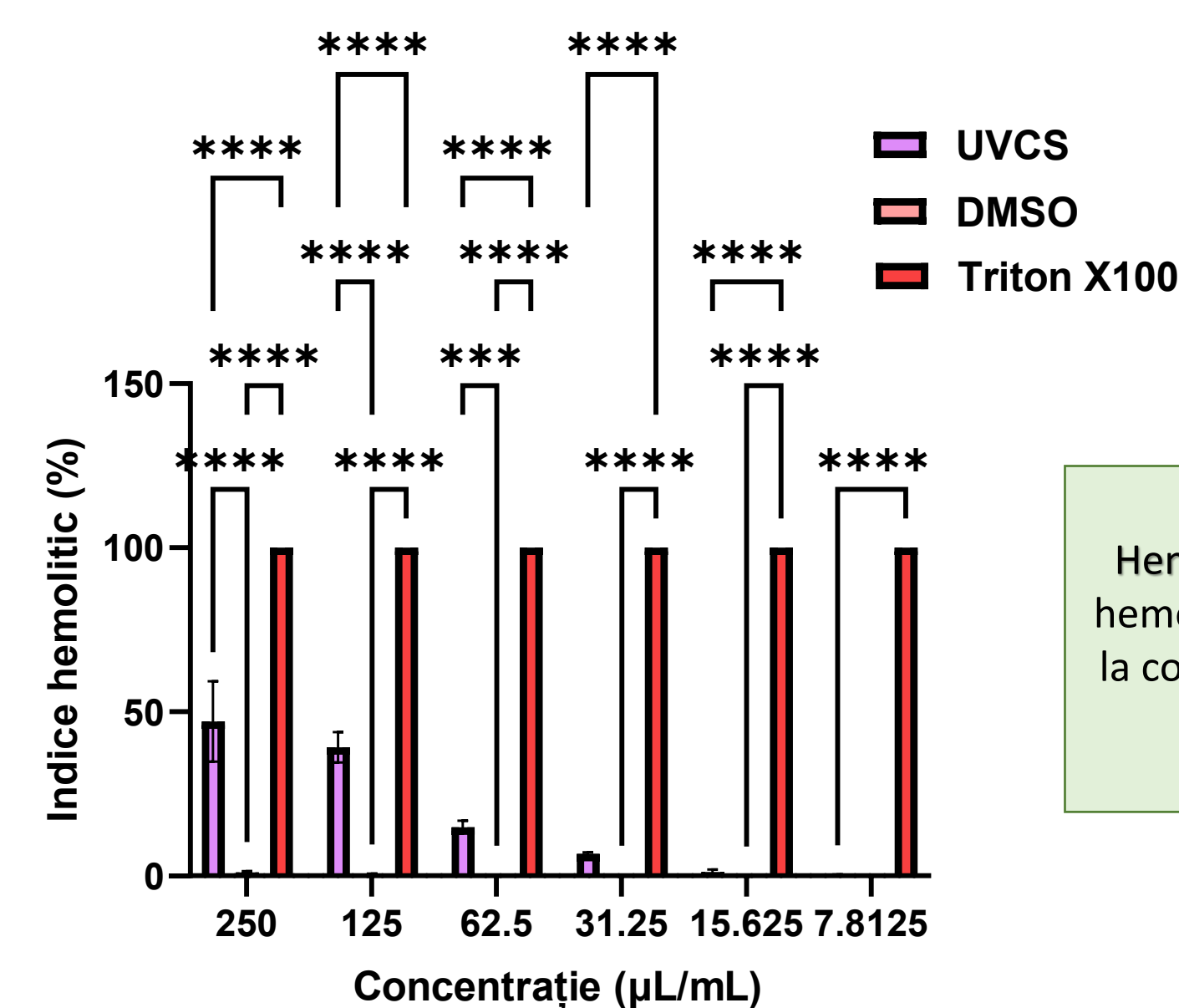


Fig. 2 Hemoliza (%) suspensiei de eritrocite indusă de diferite concentrații de UVCS (250 – 7,8125 μL/mL) și solventul DMSO. Semnificația statistică a datelor: *p < 0.05, *** p < 0.001, **** p < 0.0001

Hemocompatibilitatea – hemoliza <5% a fost atinsă la concentrații sub 15.625 μL/mL de UVCS.

Analiza activității antimicrobiene

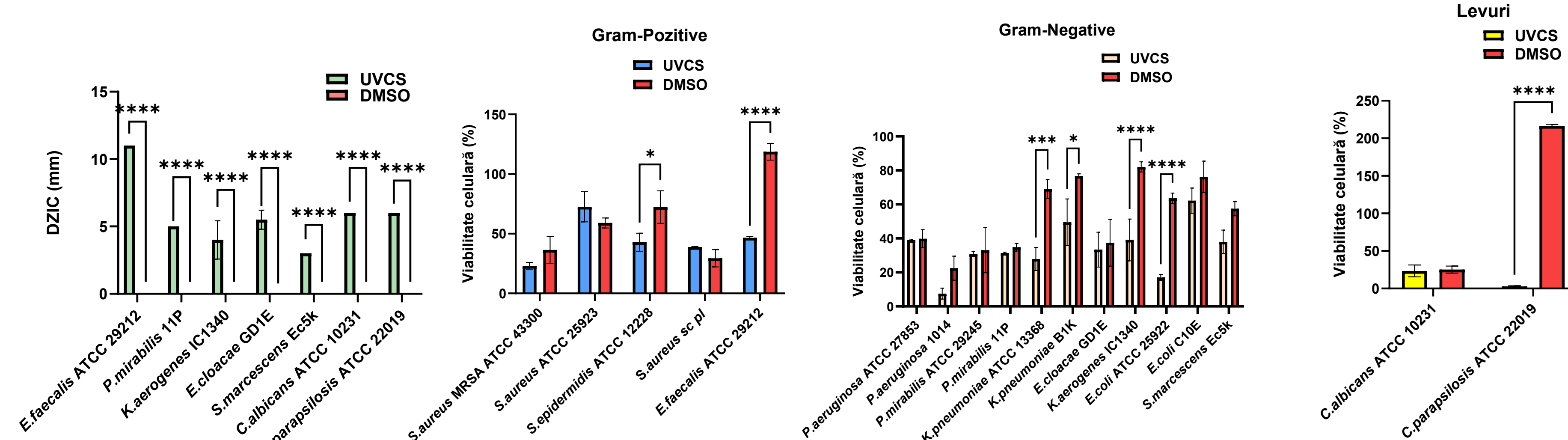


Fig. 3 Evaluarea calitativă (diametrele zonelor de inhibare ale creșterii (DZIC, mm) și cantitativă (viabilitatea celulară, %) a activității antimicrobiene a uleiului volatil/solvent asupra tulpinilor microbiene Gram-pozitive, Gram-negative și levurice. Semnificația statistică a datelor: *p < 0.05, *** p < 0.001, **** p < 0.0001

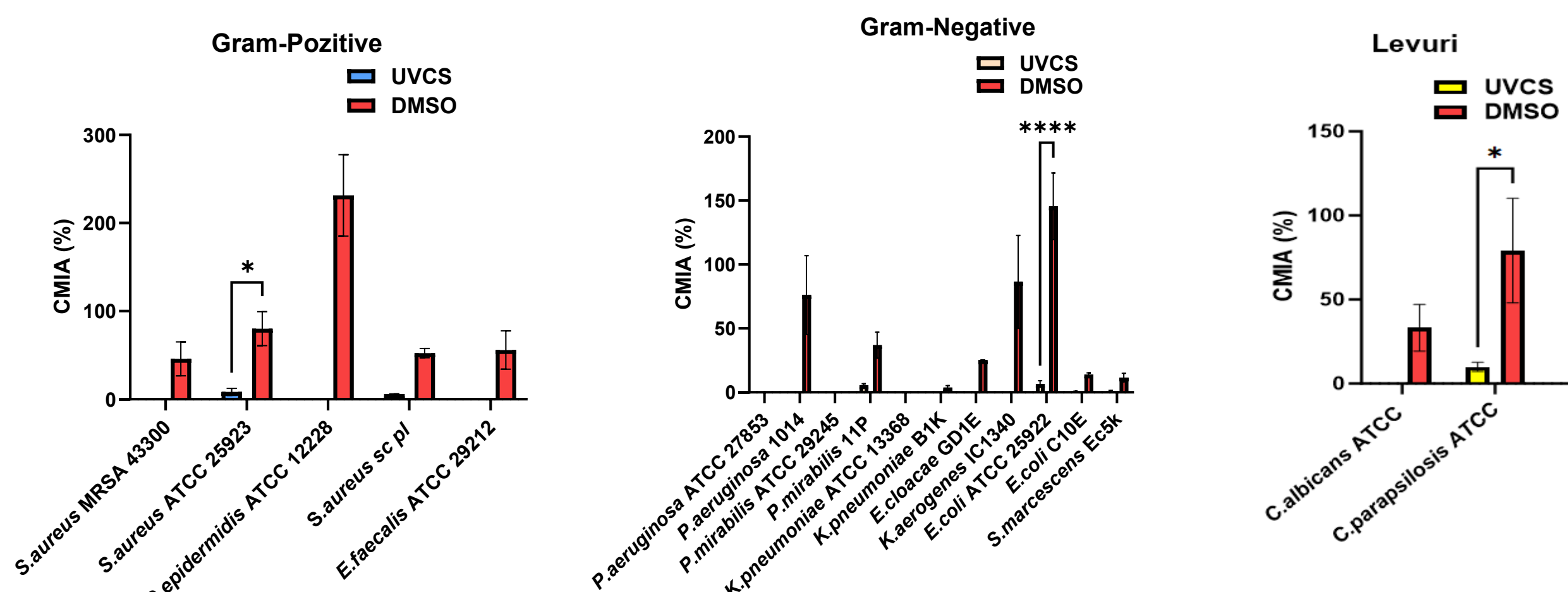


Fig. 4 Reprezentarea grafică a inhibării aderenței la substrat inert (CMIA). Semnificația statistică a datelor: *p < 0.05, *** p < 0.001, **** p < 0.0001

Fig.3 și Fig.4
 • **Calitativ** - cele mai mari zone de inhibare ale creșterii au fost obținute în cazul tulpinii Gram-pozitive standardizate de *E.faecalis* și de *Candida spp.*
 • **Cantitativ** - cele mai mici valori IC50 au fost obținute în cazul tulpinii standardizate de *S.aureus* MRSA, tulpinilor Gram-negative de *E.coli* ATCC și *Paeruginosa* 1014, precum și tulpina levurică de *C.parapsilosis*.
 • **Inhibarea aderenței la substrat inert** - a fost realizată complet în cazul tulpinilor Gram-pozitive de *E.faecalis*, *S.aureus* și *S.epidermidis*, Gram-negative de *Paeruginosa* 1014, *E.cloacae* GD1E, și *K.aerogenes* IC1340, dar și levurice de *C.albicans* raportat la mărtoșul de solvent. Modularea inhibării aderenței la substrat inert poate fi observată în cazul tulpinilor Gram-negative de *P.mirabilis* 11P și *E.coli* ATCC, comparativ cu mărtoșul de solvent.

MULȚUMIRI

This work was supported by a grant of the Romanian National Authority for Scientific Research, CNCS – UEFISCDI, project PN-IV-P7-7.1-PED-2024-2232. (43PED/08.01.2025)

Referințe: 1. DOI: 10.1038/s41598-024-52424-6; 2. DOI: 10.3390/ma15196923; 3. DOI: 10.3390/polym14183772; 4. DOI: 10.1155/2012/728281. 5. DOI: https://doi.org/10.1016/j.jcol.2018.07.002

CONCLUZII

Principalii compuși din UVCS sunt: α-pinen (55,58%), δ-3-caren (23,82%), limonen (3,36%), α-terpinolen (3,95%), α-terpineol acetat (1,74%) și cedrol (1,26%). UVCS prezintă un spectru larg de acțiune antimicrobiană, cele mai sensibile tulpini fiind cele Gram-pozitive standardizate (în special *E. faecalis* și *S. aureus* MRSA), Gram-negative (*E. coli*, *P. aeruginosa*) și levurice (*Candida spp.*). Activitatea antioxidantă a UVCS a fost evidențiată prin toate metodele abordate (DPPH, CUPRAC, FRAP), iar hemocompatibilitatea a fost stabilită la concentrații mai mici de 15,625 μL/mL (hemoliză <5%). Aceste rezultate preliminare confirmă proprietățile antimicrobiene, antibiofilm și antioxidante ale UV de *C. sempervirens* și sugerează posibilitatea utilizării ca principiu activ pentru dezvoltarea unor emulsii topice destinate tratamentului plăgilor cronice infectate.