

UNILEÃO
CENTRO UNIVERSITÁRIO LEÃO SAMPAIO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

LUCIELY LEITE PINTO

AÇÃO ANTIBACTERIANA E MODULADORA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Ruta graveolens* L. E *Plectranthus amboinicus* L.

JUAZEIRO DO NORTE – CE
2018

LUCIELY LEITE PINTO

AÇÃO ANTIBACTERIANA E MODULADORA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Ruta graveolens* L. E *Plectranthus amboinicus* L.

Artigo Científico apresentado à Coordenação do Curso de Graduação em Biomedicina do Centro Universitário Leão Sampaio, em cumprimento às exigências para a obtenção do grau de bacharel em Biomedicina.

Orientador: Esp. Rakel Olinda Macedo da Silva.

LUCIELY LEITE PINTO

AÇÃO ANTIBACTERIANA E MODULADORA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Ruta graveolens* L. E *Plectranthus amboinicus* L.

Artigo Científico apresentado à Coordenação do Curso de Graduação em Biomedicina do Centro Universitário Leão Sampaio, em cumprimento às exigências para a obtenção do grau de bacharel em Biomedicina.

Orientador: Prof^ª. Esp. Raquel Olinda Macedo da Silva.

Data de aprovação: ___/___/___

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Esp. Raket Olinda Macedo da Silva
Orientadora

Prof^ª. Msc. Tassia Thaís Al Yafawi
Examinador 1

Prof^ª. Msc. Maria Karollyna do Nascimento Silva Leandro
Examinador

ACÇÃO ANTIBACTERIANA E MODULADORA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Ruta graveolens* L. E *Plectranthus amboinicus* L.

Luciely Leite Pinto¹; Rakel Olinda Macedo da Silva²

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo avaliar a atividade antibacteriana e moduladora dos óleos essenciais de *Ruta graveolens* e *Plectranthus amboinicus*, individualmente e associados, os quais foram obtidos de folhas frescas e extraídos por meio de hidrodestilação. A avaliação da atividade antibacteriana, foi realizada através da metodologia de contato gasoso, na qual foram utilizadas linhagens padrões de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, assim como as linhagens multirresistentes das mesmas. O método de contato gasoso, também foi utilizado para avaliar a ação moduladora dos óleos essenciais, os quais foram testados separados e em conjunto, na proporção de 1:1, para este teste foram usados os antibióticos amicacina e gentamicina, ambos aminoglicosídeos. Os resultados obtidos demonstram a ausência de ação antibacteriana dos óleos testados frente às linhagens de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Bem como não apresentaram ação moduladora quando associados aos antibióticos amicacina e gentamicina, por meio do método de contato gasoso. No entanto, isto não exclui a possibilidade dos mesmos, apresentarem ação antibacteriana e moduladora frente a outras bactérias e utilizando metodologias diferentes, demonstrando assim a importância de novos ensaios que abordem as demais possibilidades destes óleos.

Palavras-chave: *Ruta graveolens*. *Plectranthus amboinicus*. Modulação. Resistência bacteriana.

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the antibacterial and modulatory activity of the essential oils of *Ruta graveolens* and *Plectranthus amboinicus*, individually and together, which they were obtained from fresh leaves and extracted through hydrodistillation. The evaluation of the antibacterial activity was realized using the gaseous contact method, in which were used standard strains of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, as well as the multiresistant strains of them. The gaseous contact method was also used to evaluate the modulating action of the essential oils, which were tested separately and together, in a ratio of 1: 1, the antibiotics amicacin and gentamicin, both aminoglycosides, were used for this test. The results obtained demonstrate the absence of antibacterial action of the oils tested against the strains of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. As well as did not present modulating action when associated with the antibiotics amicacin and gentamicin, through the gaseous contact method. However, this does not exclude the possibility of them present antibacterial and modulating action against other bacteria and using other methodologies, demonstrating this way the importance of new trials that address the other possibilities of these oils.

Keywords: *Ruta graveolens*. *Plectranthus amboinicus*. Modulation. Bacterial resistance.

1 INTRODUÇÃO

As infecções bacterianas representaram um alto risco, principalmente para pacientes hospitalizados, no entanto, atualmente estes riscos estão exponencialmente maiores, devido à velocidade com a qual estes microrganismos estão adquirindo resistência aos medicamentos utilizados no tratamento (FRANCO et al., 2015).

Com o considerável aumento de cepas bacterianas multirresistentes aos antibióticos existentes no mercado, a busca por novas substâncias capazes de inibir e ou destruir estes microrganismos potencialmente fatais, torna-se indispensável na tentativa de minimizar a mortalidade, bem como as possíveis complicações decorrentes destas infecções (PINHEIRO; MENEGUELLI, 2016).

Inúmeras substâncias estão sendo pesquisadas, com a finalidade de amenizar a resistência a antibióticos, abordando principalmente o possível sinergismo existente na associação com os mesmos. Neste contexto, os óleos essenciais de produtos naturais apresentam-se bastante promissores, devido ao seu alto potencial antibacteriano e modulador da resistência bacteriana (CIRINO, 2014).

Famílias como Rutaceae e Lamaceae apresentam uma grande quantidade de espécies de cunho medicinal, logo possuem grande relevância científica, como exemplo, *Ruta graveolens* (Arruda) e *Plectranthus amboinicus* (Malva do reino) respectivamente. Estas duas plantas são amplamente utilizadas pela população brasileira, com as mais diversas finalidades (MESSIAS et al., 2015).

Ruta graveolens é utilizada contra dores de dente e ouvido, inflamações na pele, para regular o ciclo menstrual, além do uso em rituais religiosos para proteção espiritual. Esta planta é frequentemente usada na forma de infuso ou macerada, contra amenorreia, nevralgias e conjuntivite, além do uso como anti-inflamatório tópico, vermífugo, antiespasmódico e como carminativo (MESSIAS et al., 2015; ORLANDA, 2011).

Plectranthus amboinicus possui ampla utilização na forma de chá, lambedor e banho, cujos principais finalidades são contra dores de cabeça, inflamações e febre, também como antigripal e no auxílio ao tratamento de diabetes, colesterolemias e até anemia. Outra forma bastante corriqueira de seu uso é na forma de infusão de suas folhas para o tratamento de doenças de cunho respiratório, como bronquite e asma (FREITAS et al., 2012; VÁSQUEZ; MENDONÇA; NODA, 2014).

Segundo a literatura pesquisada e as utilizações relatadas, estas duas plantas possuem um enorme potencial antimicrobiano, sendo esta ação atribuída a grande quantidade de metabólitos secundários presentes na composição de ambas as plantas em questão. Desta forma objetiva-se avaliar a atividade antibacteriana e moduladora dos óleos essenciais de *Ruta graveolens* e *Plectranthus amboinicus* isolados e em associação (MESSIAS et al., 2015).

2 METODOLOGIA

2.1 TIPO DE ESTUDO E COLETA DO MATERIAL VEGETAL

Este trabalho trata-se de um estudo experimental de caráter quantitativo, no qual, as folhas de *Ruta graveolens* e *Plectranthus amboinicus* foram coletadas no município de Porteiras, Ceará, Brasil, município com clima Tropical Quente Semi-árido Brando, com latitude de 7° 32' 05'' e longitude de 39° 07' 06'', respectivamente as 18 h e 15 min da noite e 05 h e 30 min da manhã, e uma exsicata de cada espécie foi depositada no Herbário Dárdano Andrade de Lima, na Universidade Regional do Cariri, Crato-Ceará (IPECE, 2015).

2.2 EXTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE *Ruta graveolens* E *Plectranthus amboinicus*.

A extração do óleo essencial das folhas frescas de *Ruta graveolens* e *Plectranthus amboinicus* foi realizada pelo método de hidrodestilação utilizando o aparelho tipo *Clevenger*, onde as folhas foram trituradas e colocadas em um balão de vidro de 5,0 L juntamente com 2,5 L de água destilada, permanecendo em ebulição por 2 horas. Foi adicionado sulfato de sódio anidro (Na₂SO₄) ao óleo essencial obtido e este foi armazenado sob refrigeração (-4 °C) para conservação da amostra até a realização das análises.

2.3 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA POR CONTATO GASOSO

Para realização deste teste foram utilizadas as linhagens bacterianas padrão de *Escherichia coli* ATCC 10536 e *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 cedidas pelo Instituto Oswaldo Cruz e as linhagens multirresistentes de isolados clínicos *Escherichia coli* 27 e *Staphylococcus aureus* 358. Todas as linhagens foram mantidas em *Agar infusão de coração* (HIA). Para os testes disco-difusão em ágar, as linhagens foram suspendidas em tubo de ensaio com solução salina para obter uma suspensão com turvação equivalente a 0,5 da escala de McFarland (1 x 10⁸ UFC/mL). Os meios de cultura para realização dos testes foram adquiridos de HIMEDIA, India. Em placas de *Petri* contendo o meio *Mueller Hinton* ágar, foi realizada a semeadura em tapete dos microrganismos. O óleo essencial de *Ruta graveolens* e *Plectranthus amboinicus* foi utilizado na concentração de 100%, e para avaliar interação dos mesmos foi feita uma solução na proporção de 1:1. Um disco de papel absorvente semelhante

aos discos para os testes de antibiograma foi colocado por cima do semeio e na tampa de cada placa foi acrescentado 10µL do óleo. As placas foram incubadas em estufa por 24h a 37°C. Para determinação dos halos de inibição foi utilizada uma régua milimetrada. Todos os testes foram realizados em triplicata (SILVA; CARVALHO; MATIAS, 2016).

2.4 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE MODULADORA POR CONTATO GASOSO

O ensaio para avaliação da atividade moduladora ocorreu de acordo com o método do contato gasoso modificado por Inouye, Takizawa e Yamaguchi (2001). Em placas de *Petri* contendo *Mueller Hinton* ágar foi realizada a semeadura em tapete dos microrganismos. Na base das placas inoculadas com bactérias foram adicionados os discos de antibióticos amicacina 30µg e gentamicina 10µg, os quais, foram obtidos de LaborClin, Brasil. Na tampa de cada placa foi acrescentado 10µL do óleo essencial, de forma que através da volatilização, possa ocorrer interação com os discos de antibióticos. Outras placas contendo os discos de fármacos, mas sem o óleo, foram também preparadas e após essa etapa, todas as placas foram incubadas por 24h a 37°C. Com uma régua milimetrada foram medidos os halos de inibição dos antibióticos na presença e na ausência dos óleos testados, para determinação de sinergismo ou antagonismo. Todos os testes foram realizados em triplicata.

2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS TESTES MICROBIOLÓGICOS

Os resultados foram expressos em média \pm desvio padrão, avaliados estatisticamente através da análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey, utilizando o programa Microcal Origin 6,0 para Windows, onde as diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após realização dos testes foi observado que os óleos essenciais de *Ruta graveolens* e *Plectranthus amboinicus*, não apresentaram atividade antibacteriana por meio do método de contato gasoso, ocasionando a ausência de resultados significativos na análise estatística. Estes óleos não apresentaram qualquer inibição do crescimento bacteriano, de forma a não possibilitar a formação de halos de inibição.

A ausência de atividade antimicrobiana pode ser atribuída a diversos fatores, como o período o qual as folhas foram coletadas, onde as concentrações de princípios ativos sofrem variações ao decorrer do dia e das estações do ano, podendo ser atribuídas a características fisiológicas e genéticas das espécies (RANDÜS, 2004).

Estas variações na composição dos óleos essenciais, tanto de caráter qualitativo como quantitativo, podem explicar a ausência de ação antibacteriana, neste estudo. Outro fator importante é a idade das folhas coletadas, haja vista, que foi constatada uma maior quantidade de cumarinas, substância que apresenta ação antibacteriana, em folhas novas em detrimento de folhas mais antigas, em estudo realizado com *Mikania glomerata*. A metodologia, o tempo de extração e a temperatura da mesma, também apresentam-se como fatores determinantes para identificação dos COV's (compostos orgânicos voláteis), devido sua grande sensibilidade (LIMA, 2013; PEREIRA et al., 2000).

Segundo Oliveira et al. (2011), em estudo que avaliou os constituintes voláteis de *Mentha pulegium* L. e *Plectranthus amboinicus* L. os compostos químicos do óleo essencial de *Plectranthus amboinicus* sofreram uma considerável variação por decorrência da estação do ano. Os experimentos foram realizados no inverno e na primavera, sendo o timol o composto majoritário em ambas as estações, no entanto, este apresentou uma variação de aproximadamente 6,8%, devido à redução de 75,39% na primavera para 70,28% no inverno.

Enquanto que no estudo de Bandeira et al. (2011), o componente majoritário do óleo essencial de *Plectranthus amboinicus*, foi o trans-cariofileno, representando aproximadamente 25,5% de sua composição.

Em estudo realizado por Orlanda (2011), os principais componentes do óleo essencial de *Ruta graveolens* foram da classe dos monoterpenos, 2-nanona, 2-decanona, 2-undecanona e 2-dodecanona, além dos ésteres como o acetato de octila e acetato de pentadecanila.

No estudo de Aguiar et al. (2014), que avaliou a atividade antibacteriana e moduladora a aminoglicosídeos do óleo essencial de *Plectranthus amboinicus*, frente a linhagens padrão e multirresistentes de bactérias Gram positiva e Gram negativas, observou-se que o óleo não apresentou ação antibacteriana nas cepas testadas, exceto contra ATCC 10536 de *Escherichia coli*.

De acordo com De Bona e colaboradores (2013), em estudo que avaliou a atividade antimicrobiana de extratos vegetais frente à sorovares de *Salmonella* spp. de origem avícola, o extrato de *Plectranthus barbatus*, espécie do mesmo gênero de *Plectranthus amboinicus*, não apresentou ação bactericida nem bacteriostática, enquanto o extrato de *Ruta graveolens*, apresentou apenas ação bacteriostática frente a um único sorovar, *Salmonella lexington*.

Em ensaio que avaliou a atividade antimicrobiana de *Plectranthus ornatus*, foi verificada a ausência de ação antibacteriana frente a cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, no entanto quando testado frente a bactérias como *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus pyogenes* e *Bacillus cereus* o extrato apresentou ação bactericida (SANTOS et al., 2014).

Segundo Mendes (2007), em estudo que avaliou a ação antimicrobiana da tintura e pomada de *Ruta graveolens* por contato direto, estas apresentaram atividade antibacteriana, quando usadas na concentração de 1:1, já quando utilizadas em concentrações menores não inibiram a multiplicação das bactérias, dentre as quais *Staphylococcus* sp e *Escherichia coli*.

No presente estudo, após realização dos testes que avaliaram o potencial modulador da resistência bacteriana, foi observado que nenhum dos óleos testados, tanto separados quanto associados, apresentou qualquer efeito sobre os antibióticos amicacina e gentamicina, não alterando os halos de inibição, indicando a ausência de efeito sinérgico e ou antagônico.

Segundo Aguiar e colaboradores (2014) em estudo anteriormente mencionado, o óleo essencial de *Plectranthus amboinicus*, quando associado aos mesmos antibióticos utilizados no presente estudo, apresentou efeito sinérgico, frente às linhagens testadas, diminuindo consideravelmente a CIM (concentração inibitória mínima).

Em estudo que avaliou a atividade antimicrobiana do cravacol por contato gasoso, este se mostrou eficiente na modulação da resistência bacteriana frente a *S. aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*. No entanto este composto foi testado isoladamente, não sofrendo possíveis interferências de outros constituintes de um óleo essencial, por exemplo, (FREITAS et al., 2013).

Segundo Cirino (2014), em estudo que avaliou a modulação da resistência bacteriana por óleos essenciais e seus componentes majoritários, frente a linhagens de *Staphylococcus aureus*, o potencial modulador dos óleos essenciais pode sofrer variação devido sua composição química, pois ao realizar testes com óleo essencial e com seu composto majoritário, observou-se variações de até 50% no potencial modulador.

As interações existentes entre os compostos dos óleos essenciais são de grande relevância, pois estas podem ser responsáveis pelo aumento ou diminuição da ação moduladora destes compostos vegetais (CIRINO, 2014).

Alterações nos COV's podem explicar a ausência de efeito sinérgico e ou antagônico na avaliação do potencial modulador dos mesmos, pois assim como na avaliação da ação antibacteriana, na modulação é necessário que haja uma interação por volatilização dos óleos com os discos de antibióticos.

4 CONCLUSÃO

Os resultados deste trabalho mostram que os óleos essenciais de *Plectranthus amboinicus* e *Ruta graveolens*, tanto separados quanto associados, não apresentaram atividade antibacteriana frente às cepas bacterianas testadas. Bem como não apresentaram ação moduladora a resistência bacteriana quando associados aos antibióticos aminoglicosídeos amicacina e gentamicina, por meio do método de contato gasoso. No entanto, isto não exclui a possibilidade dos mesmos, apresentem ação antibacteriana e moduladora frente a outras bactérias e utilizando metodologias diferentes, demonstrando assim a importância de novos ensaios que abordem as demais possibilidades destes óleos.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, J. J. S. et al. Avaliação da atividade antibacteriana do óleo essencial de *Plectranthus amboinicus* Lamiaceae. E seu potencial modulatório sobre aminoglicosídeos. **Revista Interfaces: Saúde, Humanas e Tecnologia**. v. 2, n. 4, 2014.
- BANDEIRA, J. M. et al. Composição do óleo essencial de quatro espécies do gênero *Plectranthus*. **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**. v.13, n.2, 2011.
- CIRINO, I. C. S. **Modulação da resistência a drogas por óleos essenciais em linhagens de *Staphylococcus aureus***. 2014. Dissertação (Mestrado em Biologia celular e molecular) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2014.
- DE BONA, E. de A. M. et al. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos vegetais frente a sorovares de *Salmonella* spp. de origem avícola. **UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da Saúde**. v. 15, n. 1, 2013.
- FRANCO, J. M. P. L. et al. O papel do farmacêutico frente a resistência bacteriana ocasionada pelo uso irracional de antimicrobianos. **Semana Acadêmica, Fortaleza**. v. 1, n. 72, 2015.
- FREITAS, A. V. L. et al. Plantas medicinais: um estudo etnobotânico nos quintais do Sítio Cruz, São Miguel, Rio Grande do Norte, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**. v. 10, n. 1, 2012.
- FREITAS, M. A. et al. Avaliação in vitro da atividade antimicrobiana do carvacrol através dos métodos de contato direto e gasoso. **Bioscience Journal**. v. 29, n. 3, 2013.
- INOUE, S.; TAKIZAWA, T.; YAMAGUCHI, H. Antibacterial activity of essential oils and their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**. v. 47, n. 1, 2001.
- IPECE- Instituto de Pesquisa e Estratégia Econômica do Ceará. **Perfil Básico Municipal 2015**. 2015.
- LIMA, R. G. Identificação dos compostos da arruda através de cromatografia e uso do amostrador Headspace. **Revista Pindorama**. v. 4, n. 4, 2013.
- MESSIAS, M. C.T.B. et al. Uso popular de plantas medicinais e perfil socioeconômico dos usuários: um estudo em área urbana em Ouro Preto, MG, Brasil. **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**. v.17, n.1, 2015.
- MENDES, Z. F. **Avaliação da atividade antimicrobiana de tintura e pomada da *Ruta graveolens* sobre bactérias isoladas de feridas cutâneas em cães**. 2007. Dissertação (Mestrado em Ciência Veterinária) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2007.
- OLIVEIRA, R. A et al. Constituintes voláteis de *Mentha pulegium* L. e *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng. **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**. v. 13, n.2, 2011.

ORLANDA, J. F. F. **Estudo da composição química e atividade biológica do óleo essencial de *Ruta graveolens* Linneau (Rutaceae)**. 2011. Tese (Doutorado em Química analítica) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2011.

PEREIRA, A. M. S. et al. Seasonal variation in coumarin content of *Mikania glomerata*. **Journal of Herbs, Spices e Medicinal Plants**. v. 7, n. 2, 2000.

PINHEIRO, J. L.; MENEGUELLI, A.Z. *Staphylococcus lugdunensis* e seu potencial para antibioticoterapia. **Revista Enfermagem e Saúde Coletiva**. v. 1, n. 2, 2016.

RANDÜS, L. L. **Efeito da temperatura do ar de secagem no teor e na composição dos óleos essenciais de guaco (*Mikania glomerata* Sprengel) e hortelã-comum (*Mentha x villosa* Huds)**. 2004. Tese (Doutorado em Engenharia agrícola) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2004.

SANTOS, L. A. et al. Determinação da atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico da planta *Plectranthus ornatos* CODD (boldo chinês). **Revista da universidade Vale do Rio Verde, Três Corações**. v. 12, n. 1, 2014.

SILVA, M. K. do N.; CARVALHO, V. R. de A.; MATIAS, E. F. F. Chemical Profile of Essential oil of *Ocimum gratissimum* L. and Evaluation of Antibacterial and Drug Resistancemodifying Activity by Gaseous Contact Method. **Pharmacognosy Journal**. v. 8, n.1, 2016.

VÁSQUEZ, S. P. F.; MENDONÇA, M. S.; NODA, S. N. Etnobotânica de plantas medicinais em comunidades ribeirinhas do Município de Manacapuru, Amazonas, Brasil. **Acta Amazônica**. v.44, n.4, 2014.