

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Plectranthus amboinicus* Lamiaceae. E SEU POTENCIAL MODULATÓRIO SOBRE AMINOGLICOSÍDEOS

*José Junior dos Santos Aguiar– Email: j-junior-sucesso@hotmail.com; José Jonas Teixeira de Souza– Email: ze_jonas@hotmail.com; Maikon Menezes de Lima Silva – Email: maikonmenezesneto@gmail.com; Victória Regina de Alencar Carvalho – Email: victoria_alencar1@hotmail.com; Jeferson da Costa Lopes – Email: jefersonchaz@hotmail.com; Maria Karollyna do Nascimento Silva – ; Edinaldo Fagner Ferreira Matias – Email:ednardo@leaosampaio.edu.br

RESUMO

Plantas medicinais são recursos terapêuticos usados em meio à cultura popular de inúmeras etiologias. Plantas da família Lamiaceae, são muito usadas com fins medicinais, e dentre elas destaca-se a *Plectranthus amboinicus* Lamiaceae, detentora de excelente ação antimicrobiana. Diante do exposto o presente trabalho tem por objetivo avaliar a atividade antibacteriana e moduladora a aminoglicosídeos do óleo essencial de *Plectranthus amboinicus* Lamiaceae. Utilizou-se cepas bacterianas com linhagens de: *S. aureus*, *E.coli* e *P. Aeruginosa*. As Folhas de *Plectranthus amboinicus* L. foram hidrodestiladas e o óleo obtido foi dissolvido em DMSO e água destilada para uma concentração final de 1024µg/mL. Essa solução teste foi seriadamente diluída em meio de cultura com as cepas bacterianas em estudos e moduladas a aminoglicosídeos, pela técnica de microdiluição em placa. Os resultados obtidos evidenciaram que a CIM do óleo essencial de *Plectranthus amboinicus* Lamiaceae, apresentou efeito sinérgico a todas as linhagens moduladas aos aminoglicosídeos. Esses resultados nos impulsiona a realização novos estudos, na tentativa de isolar os compostos identificados e criar alternativas terapêuticas para o tratamento de patologias causadas por microrganismos multirresistentes.

Palavre chave: Plantas medicinais; *Plectranthus amboinicus*.; Modulação da resistência bacteriana.

INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais como recurso terapêutico popular é uma alternativa usada ao longo de toda história no tratamento de inúmeras enfermidades. Plantas da família Lamiaceae como a *Plectranthus amboinicus* Lamiaceae é um exemplo. Essa espécie apresenta excelente ação antibacteriana (MATOS 1998), frente a cepas do gênero *Staphylococcus* (COUTINHO et al., 2009), *Esherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosas* (MATOS 1998). Esses seres possuem a habilidade de desenvolver resistência a agentes antimicrobianos com distintos mecanismos de resistência tornando os estudos com plantas medicinais uma alternativa no seu combate (OLIVEIRA et al. 2007).

Nesse sentido o objetivo desse estudo visa avaliar ação antibacteriana e moduladora a aminoglicosídeos, do óleo essencial das folhas de *Plectranthus amboinicus* L.(OEPA), frente às linhagens bacterianas padrão e multirresistentes.

METODOLOGIA

Material bacteriológico e Vegetal

As cepas bacterianas utilizadas foram linhagens de: *S. aureus* (SA-ATCC25923 e SA358), *E.coli* (EC- ATCC 10536 e EC 27) e *P. aeruginosa* (PA-ATCC15442 e PA03).

As folhas de *Plectranthus amboinicus* L. foram coletadas no horto de plantas medicinais da Universidade Regional do Cariri – URCA, Crato - Ceará, Brasil. Sua exsicata foi depositada no herbário Caririense Dardano de Andrade Lima, – URCA sob o número 26433.

Extração do óleo, preparação das soluções e Caracterização fitoquímica.

As folhas de *Plectranthus amboinicus* L. foram hidrodestiladas em extrator de óleo tipo Clevenger (SILVA 2011). O óleo obtido foi, tratado com sulfato de sódio anidro, e dissolvido em DMSO e água destilada para uma concentração de 1024µg/mL (COUTINHO, 2008).

A identificação dos constituintes químicos do óleo essencial ocorreu após análise dos cromatogramas obtidos por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas, com base nos padrões da biblioteca NIST e comparações com dados da literatura Adams (2001).

Aktividade antibacteriana e moduladora da resistência à aminoglicosídeos

A CIM (concentração inibitória mínima) foi determinada em ensaio de microdiluição em caldo (NCCLS 2003) utilizando-se um inóculo de 100 µL de cada linhagem, suspensas em caldo BHI numa concentração de 10^5 UFC/mL em placas de microtitulação com 96 poços, com diluições em série $\frac{1}{2}$. Em cada poço foi adicionado 100µL da amostra cujas concentrações variaram entre 512 - 8 µg/mL. Para os controles foram utilizados os antibióticos padrões amicacina e gentamicina em concentrações finais variando entre 5.000 µg/mL – 2,4 µg/mL. As placas foram incubadas a 35°C por 24 horas e após esse período a leitura foi evidenciada pelo uso

de resazurina (SALVAT; ANTONNACCI; FORTUNATO, 2001). As CIMs foram registradas como as menores concentrações para a inibição do crescimento.

Para o teste de modulação utilizou-se o método proposto por Coutinho (2008), onde a solução do OEPA. foi testada em concentração sub-inibitórias (MIC/8). Para isso foram distribuídos 100µL da solução contendo BHI 10%, inóculo e amostra em cada poço no sentido alfabético da placa. Em seguida, 100µL da droga foi misturado ao primeiro poço, e diluído seriadamente numa proporção de 1:1 até a penúltima cavidade. As placas foram incubadas a 35°C por 24 horas e após esse período a leitura foi evidenciada pelo uso de resazurina.

Os resultados dos testes foram obtidos em triplicata e expressos como média geométrica. Para análise estatística aplicada a ANOVA seguida do Bonferroni posttests utilizando o software GraphPad Prisma 6.0 (MATIAS 2013), Considerando significância com $p < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O óleo essencial de *Plectranthus amboinicus* L. apresentou CIM ≥ 1024 µg/mL em todas as cepas testadas, com exceção aos testes frente à linhagem bacteriana EC-ATCC 10536 que apresentou melhor atividade antibacteriana com CIMs de 128 µg/mL

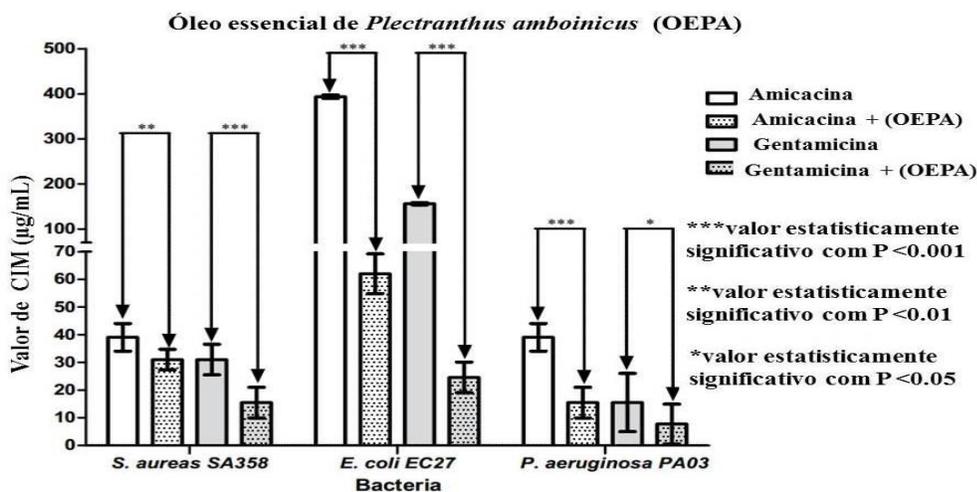


Gráfico 1 CIM do (OEPA) modulados a Amicacina e Gentamicina

O gráfico 1 representa os resultados da avaliação da atividade moduladora da amostra quando combinadas a amicacina e a gentamicina. Os resultados demonstraram que as combinações do OEPA com os aminoglicosídeos, apresentaram sinergismo frente a todas as linhagens testadas com significância $p < 0.001$. O sinergismo observado pode ser devido a constituição de metabolitos secundários terpênicos, presentes no OEPA que são sintetizados por plantas em resposta a infecções microbianas (HO *et al.*, 2001), sendo capazes de alterar a parede celular ou destruir a membrana plasmática facilitando absorção das drogas (MATIAS *et al.*, 2010). Dentre esses compostos terpênicos destaca-se o germacreno-D, constituinte majoritário do óleo essencial em estudo, com atividade antimicrobiana comprovada pelos estudos de Iacobellis *et al.*, (2005).

Os estudos de Harvey; Champe; Fischer (2008) mostra que os aminoglicosídeos são usados no tratamento de infecções causadas por microrganismos Gram-negativos entéricos e contra sepsis. Os autores afirmam que seu uso indiscriminado compreende um dos fatores de resistência bacteriana, além disso; quando usados em doses elevadas e/ou com frequência, podem causar reações adversas irreversíveis. Nesse contexto a combinação dos aminoglicosídeos com o OEPA pode ser uma alternativa medicinal natural frente a bactérias multirresistentes, já que diminui a dose necessária para que o aminoglicosídeo tenha sucesso terapêutico. Assim diminuindo a toxicidade dos antibióticos.

CONCLUSÃO

Pode ser concluído, com os resultados, que o OEPA quando associado aos aminoglicosídeos apresentou sinergismo frente às linhagens bacterianas testadas. Contudo, outros estudos devem ser realizados na tentativa de isolar os compostos e criar novas alternativas terapêuticas para o tratamento de patologias causadas por microrganismos multirresistentes.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao apoio e cooperação recebida das Faculdades Leão Sampaio FALS-CE, URCA/ LPPN / LMBM / LFQM Universidade Regional do Cariri-CE/Laboratory de Produtos Naturais Regional Pesquisa / Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular .

REFERÊNCIAS

ADAMS, R.P.. Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy. **Allured Publishing Corporation**, Carol Stream. p. 455, 2001.

COUTINHO, H.D.M.; COSTA, J.G.M.; LIMA, E.O.; FALCÃO-SILVA, V.S.; SIQUEIRA, JR. J.P. Herbal therapy associated with antibiotic therapy: potentiation of the antibiotic activity against methicillin – resistant *Staphylococcus aureus* by *Turnera ulmifolia* L. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 9, p. 13, 2009.

COUTINHO, H.D.M.; COSTA, J.G.M.; SIQUEIRA-JÚNIOR, J.P.; LIMA, E.O. In vitro anti-staphylococcal activity of *Hyptis martiusii* Benth against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*-MRSA strains. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, p. 670-675, 2008.

HARVEY, R. A.; CHAMPE, P. C.; FISHER, B. D.; **Microbiologia ilustrada**, 2ª Ed. Editora Artmed. 2008

HO, K.Y., TSAI, C.C., HUANG, J.S., CHEN, C.P., LIN, T.C. & LIN, C.C. Antimicrobial activity of tannin components from *Vaccinium vitisidaea* L. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**., v.53, p. 187–91, 2001.

IACOBELLIS, N.S.; CANTORE, P.L.; CAPASSO F.; SENATORE, F. Antibacterial activity of *Cuminum cyminum* L. and *Carum carvi* L. essential oils. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 53, n. 1, p. 57-61, 2005.

MATIAS, E.F.F, ALVES E.F, SANTOS B.S, SOUZA CES, FERREIRA JVA, LAVOR AKLS, FIGUEREDO FG, LIMA LF, SANTOS FAV, PEIXOTO FSN, COLARES AV, BOLIGON AA, SARAIVA RA, ATHAYDE ML, ROCHA JBT, MENEZES IRA, COUTINHO HDM, COSTA JGM. 2013. Biological Activities and Chemical Characterization of *Cordiaverbenacea* DC.as Tool to Validate the Ethnobiological Usage. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine** p.1-7, 2013.

MATIAS, E.F.F. **Avaliação da atividade antibacteriana e moduladora da resistência bacteriana à aminoglicosídeos de extratos polares e apolares de *Croton campestris* A. (velame), *Ocimum gratissimum* L. (alfavaca) e *Cordia verbanacea* DC. (erva-baleeira).** Dissertação de Mestrado em Bioprospecção Molecular, PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOPROSPECÇÃO MOLECULAR. URCA- Universidade Regional do Cariri. 2010.

MATOS, FJA, *Farmácias vivas* 3ª edição rev. E atual. Fortaleza: ed. UFC 1998.

NATTINAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS – NCCLS. **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that grow aerobically**, 6 ed. Wayne, PA: NCCLS Approved Standart M7-A6, 2003.

OLIVEIRA, F.Q.; GOBIRA, B.; GUIMARÃES, C.; BATISTA, J.; BARRETO, M.; SOUZA, M. Espécies vegetais indicadas na odontologia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, p. 17, p. 466-476, 2007.

SALVAT A.A.; ANTONNACCI, L.; FORTUNATO, R.H.; SUAREZ, E.Y. Screenng of some plants from northern Argentina for their antimicrobial activty. *Letters in Applied Microbiology*, v. 32 p. 293-297, 2001.

SILVA, M. G. F.; **Atividade antioxidante e antimicrobiana in vitro de óleos essenciais e extrato shidroalcóolicos de manjerona (*Origanum majorana* L.) e manjeriçãõ (*Ocimum basilicum* L.). 2011. 70 f. Trabalho de Conclusão de Curso – Curso Superior de Química – Bacharelado em Química Industrial/Licenciatura em Química, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2011.**