

ESTUDO QUÍMICO, TOXICIDADE E ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Ocimum gratissimum*

Vandbergue Santos Pereira, Vandbergue.vsp@live.com
Cicero Roberto Nascimento Saraiva, roberttosaraiva@hotmail.com
Janaína Esmeraldo Rocha, janainaesmeraldo@gmail.com
Jeferson da Costa Lopes, jefersonchaz@hotmail.com;
Maria Karollyna do Nascimento Silva, mariakarollns@hotmail.com
Stephanie Martins Ferreira Bandeira, stephaniemartins_13@hotmail.com
José Galberto Martins da Costa, galberto.martins@gmail.com

Curso de Biomedicina, Faculdade Leão Sampaio, AV. Leão Sampaio, Km 3, Lagoa Seca,
Juazeiro do Norte – Ceará

RESUMO

Ocimum gratissimum L. (Labiatae), conhecida popularmente como alfavaca, é uma herbácea com partes aéreas fornecedoras de óleos essenciais. Este trabalho trata da investigação da toxicidade, do estudo da variação da composição química e atividade antibacteriana do óleo essencial de *O. gratissimum*. A extração do óleo (para duas amostras) foi realizada por hidrodestilação e a caracterização química por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG/EM). Os ensaios de toxicidade ocorreram frente a larvas de *Artemia salina*. A atividade antibacteriana foi determinada pela Concentração Inibitória Mínima (CIM) usando as linhagens bacterianas gram-positivas e gram-negativas. Os resultados dos testes de CIM não apresentaram atividade clínica, mostrando concentração > 1024µg/mL para inibição do crescimento. Interpretação dos dados obtidos por CG/EM mostraram que eugenol e cineol são componentes majoritários nas duas amostras analisadas. A toxicidade foi significativa nas duas amostras, com valores de CL₅₀ de 1,4 µg/mL e de 5,6 µg/mL. Dessa forma podemos concluir que o óleo apresentou alta toxicidade frente a *A. salina* porém sem efeito antibacteriano, fazendo-se necessários mais estudos para a consolidação dos resultados.

Palavras-chave: *Ocimum gratissimum*, óleo essencial, toxicidade, atividade antibacteriana.

INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas observa-se grande interesse pelo potencial terapêutico das plantas medicinais (YUNES *et al.*, 2001). Diversos são os estudos científicos que investigam moléculas antimicrobianas naturais presentes em plantas e seus óleos essenciais, com resultados muito promissores na busca de novas substâncias bioativas, uma vez que a utilização de substâncias antimicrobianas representa um dos maiores avanços da farmacoterapia (MORAIS-BRAGA *et al.*, 2013).

Apesar do uso de plantas para fins terapêuticos ser muito difundido, as pessoas desconhecem o fato de que elas podem apresentar toxicidade tanto para o homem quanto para os animais, assim é importante avaliar seu grau toxicológico, pois mesmo possuindo atividades medicinais, sendo tóxico, seu uso se tornará inviável.

Ocimum gratissimum L., conhecida popularmente como alfavaca, é uma planta herbácea pertencente à família Labiatae, utilizado naturalmente no tratamento de diversas doenças, pois possui em sua composição química substâncias ativas, que podem ser utilizadas direta ou indiretamente como medicamentos, provocando no organismo humano, reações como a cura ou abrandamento de doenças (FRANCO *et al.*, 2007).

O presente trabalho relata a atividade antibacteriana do óleo essencial de *O. gratissimum* frente a cepas bacterianas catalogadas e isolados clínicos, visando a contribuição do óleo como agente microbiano, a avaliação da sua toxicidade frente a larvas de *A. salina*, e o perfil do óleo obtido das folhas, em diferentes horários de coleta.

METODOLOGIA

Material Vegetal

Foram coletadas 360g das folhas frescas de *O. gratissimum*, em junho de 2013 às 7h (amostra 1) e 13h (amostra 2) no horto de plantas medicinais e aromáticas do *campus* Pimenta da Universidade Regional do Cariri (URCA). Uma amostra representativa da espécie encontra-se depositada no Herbário Caririense Dárdano de Andrade-Lima (HCDAL) do Departamento de Ciências Biológicas (URCA), sob registro nº 3978.

Obtenção do óleo essencial e caracterização química

As extrações foram realizadas pelo método de hidrodestilação por 2 h, utilizando aparelho tipo Clevenger. As misturas água/óleo obtida foram separadas, tratadas com sulfato de sódio, filtradas, armazenada em frascos de vidro âmbar e refrigeradas até o momento das análises.

Através dos dados obtidos por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG/EM) foram feitas as caracterizações químicas. Os componentes foram identificados com base na interpretação dos cromatogramas, banco de dados da biblioteca e dados da literatura.

Toxicidade para larvas de *Artemia salina*

Os ensaios *in vitro* para a verificação da toxicidade dos dois óleos foram feitos frente a *A. salina*, de acordo com o método proposto por Meyer *et al.* (1982). Os testes foram realizados em triplicata, com variações de concentrações entre 1000 µg/mL a 10 µg/mL. Após

24 horas foi realizada a contagem do número de larvas mortas e o resultado foi usado para o cálculo da CL₅₀ pelo método de regressão linear.

Avaliação da atividade antibacteriana

Os testes antimicrobianos, para a determinação da concentração inibitória mínima foram realizados com a amostra 1, pelo método da microdiluição em caldo, conforme descrito por Murari *et al.* (2008). Para se chegar à concentração de 1024 µg/mL a ser utilizada nos testes, obteve-se inicialmente uma concentração de 10 mg/mL do óleo em 1 mL de dimetilsulfóxido (DMSO), que em seguida foi diluída em água destilada.

Foram utilizadas bactérias gram positivas (*Staphylococcus aureus* - ATCC 12624 e a linhagem multirresistente, *S. aureus* 358) e gram negativas (*Pseudomonas vulgaris* 13315, *P. aeruginosa* ATCC - 15442, *Escherichia coli* ATCC - 25923 e a linhagem multirresistente *E. coli* 27). O inóculo foi diluído em BHI 10% chegando-se a uma concentração de 10⁵ UFC/mL. Foram distribuídos 100 µL do BHI e inóculo em cada poço de uma placa de 96 poços e em seguida procedeu-se a microdiluição seriada com a solução de 100 µL do óleo, variando nas concentrações de 512 a 8µg/mL. As placas foram incubadas por 24 horas a 35 °C em estufa bacteriológica e a revelação da CIM bacteriana foi feita utilizando-se a resazurina.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os principais componentes identificados nas amostras estão descritos na tabela 1.

Tabela 1 – Componentes identificados nas amostras.

Componentes	Amostra 1	Amostra 2
	(coleta 7:00 h)	(coleta 13:00 h)
	(%)	(%)
β-picolina	2,55	—
2-tujeno	—	0,31
Anidrido propanóico	0,16	—
α-felandreno	0,71	0,41
β-pineno	3,59	2,01
β-cimeno	10,39	6,25
1,8 - Cineol	49,87	20,86
Eugenol	28,98	62,87
(E)-cariofileno	—	2,17
γ-gurjuneno	2,44	—
β-selineno	—	3,46

Dados obtidos mostram que nas duas amostras analisadas os componentes majoritários foram o 1,8-cineol (49,87%, na amostra 1) enquanto que na amostra 2, destaca-se o eugenol com 62,87% do total do óleo.

Os resultados da composição química obtida estão de acordo com os relatos de Matos (2000) onde afirma que quando o *O. gratissimum* é coletado por volta do meio-dia, mais precisamente as folhas da planta, contém alto teor de eugenol no seu óleo essencial que confere à planta seu poder antisséptico local. Se for coletada no início da manhã e no fim da tarde o eugenol é substituído pelo cineol, princípio balsâmico, por isso essa planta é utilizada como banhos antigripais para crianças na medicina popular.

Tabela 2 – CIM das Linhagens Bacterianas.

Linhagens Bacterianas	CIM ($\mu\text{g/mL}$)
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 15442	≥ 1024
<i>S. aureus</i> ATCC 12624	≥ 1024
<i>E. Coli</i> ATCC 25923	≥ 1024
<i>S. aureus</i> 358	≥ 1024
<i>P. vulgaris</i> 13315	≥ 1024
<i>E. coli</i> 27	≥ 1024

Os ensaios de toxicidade da amostra 1 e 2 mostraram respectivamente CL_{50} de 5,62 $\mu\text{g/mL}$ e 1,4 $\mu\text{g/mL}$, indicando que há um considerado potencial tóxico para *Artemia Salina* em ambas as amostras uma vez que o método utilizado determinado por Meyer *et al.*, 1982 estabelece que valores abaixo de 1000 $\mu\text{g/mL}$ indicam alto potencial toxico.

A diferença de toxicidade apresentada entre os óleos pode se dar pela diferença nas concentrações dos componentes majoritários, uma vez que a concentração de eugenol e 1,8-cineol mostraram-se diferentes. Estudos recentes de Lima *et al.*, 2011 indicam que a presença de 1,8-cinel proporciona aos óleos essenciais um maior potencial toxicológico.

O eugenol é o princípio ativo responsável pela atividade antimicrobiana do óleo essencial do *Ocimum gratissimum* (SILVA *et al.*, 1999). Entretanto os testes de Concentração Inibitória Mínima (CIM) não demonstraram atividade de relevância clínica, sendo necessária uma concentração maior que a testada para inibir o crescimento bacteriano como pode ser visto na tabela 2.

Os resultados negativos podem ser explicados pelo fato que a amostra 1, usada no teste de CIM bacteriana, ter maior concentração de 1,8-cineol e menor concentração de eugenol como componente majoritário, embora não se deve descartar a possibilidade de sinergismo entre os demais componentes do óleo essencial, mesmo que presentes em menores concentrações eles podem ter inibido a atividade do eugenol presente no óleo (Silva *et al.*, 2011).

É valido ressaltar que o óleo essencial de *Ocimum gratissimum* já foi referenciado na literatura com poder antimicrobiano elevado, ou seja, possui poder inibitório de crescimento de microrganismos, sendo assim, mesmo que não tenha inibido o crescimento das bactérias testadas, ele pode ter poder inibitório contra fungos, vírus e outras bactérias não testadas.

CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos, percebe-se que o óleo essencial de *Ocimum gratissimum* sofre variação em sua composição química e toxicidade de acordo com seu horários de coleta e que o óleo essencial de *O. gratissimum* contendo com o 1,8-cinol como componente majoritário necessita de uma concentração maior ou igual a 1024 $\mu\text{g/mL}$ para inibir o crescimento bacteriano, sendo necessário testes com óleos de *O. Gratissimum* com eugenol como componente majoritário. São necessários mais estudos e testes detalhados para que a eficácia da toxicidade e a atividade antibacteriana sejam utilizadas de forma mais específica.

REFERÊNCIAS

FRANCO, A. L. P.; OLIVEIRA, T. B.; FERRI, P. H.; BARA, M. T. F.; DE PAULA, J. R. Avaliação da composição química e atividade antibacteriana dos óleos essenciais de *Aloysia gratissima* (Gillies & Hook) Tronc. (ALFAZEMA), *Ocimum gratissimum* L. (ALFAVACA-CRAVO) E *Curcuma longa* L. (AÇAFRÃO). **Revista Eletrônica de Farmácia**, v.4, n.2. Goiás, 2007;

LIMA, R. K.; CARDOSO, M. G.; MORAES, J. C.; CARVALHO, S. M.; RODRIGUES, V. G.; GUIMARÃES, L. G. L. Composição química e efeito fumigante do óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham. e monoterpenos sobre *Tenebrio molitor* L. **Revista Ciências e agrotecnologia**, v.35 n.4. Lavras, 2011;

MATOS, F. J. A. Plantas medicinais: guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil. **Imprensa universitária UFC**. Fortaleza, 2000;

MEYER, B. N.; FERRIGNI, N. R.; PUTNAM, J. E.; JACOBSEN, L. B.; NICHOLS DE, M. J. L. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. **Medicinal Plant Journal**, v.45 n.31. Alemanha, 1982;

MORAIS-BRAGA, M. F. B.; SOUZA, T. M.; SANTOS, K. K. A.; GUEDES, G. M. M.; ANDRADE, J. C.; TINTINO, S. R.; COSTA, J. G. M.; MENEZES, I. R. A.; SARAIVA, A. Á. F.; COUTINHO, H. D. M. Atividade antibacteriana, antifúngica e moduladora da atividade antimicrobiana de frações obtidas de *Lygodium venustum* SW. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, v.12, n.1. Chile, 2013;

MURARI, A. L.; CARVALHO, F. H.; HEINZMANN, B. M.; MICHELOT, T. M.; HÖRNER, R.; MALLMANN, C. A. Composição e atividade antibacteriana dos óleos essenciais de *Senecio crassiflorus* var *crassiflorus*. **Revista Química Nova**, v.31 n.1. São Paulo, 2008;

SILVA, M. G. V.; CRAVEIRO, A. A.; MATOS, F. J. A.; MACHADO, M. I. L.; ALENCAR, J. W. Chemical variation during daytime of constituents of the essential oil of *Ocimum gratissimum* leaves. **Journal Fitoterapia**, v.70, n.1. Philadelphia, 1999;

SILVA, T. C.; SOUZA, S. J. O.; OLIVEIRA, J. R. Extração de eugenol a partir do Cravo-da-índia e produção de sabonetes aromatizados. **Revista Crase**, v.1, n.1. Rio de Janeiro, 2011;

YUNES, R. A.; PEDROSA, R. C.; CECHINEL FILHO, V., Fármacos e fitoterápicos: A necessidade do desenvolvimento de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Revista Química Nova**, v.24, n.1. São Paulo, 2001.