

## A conduta etnofarmacológica da atividade biológica dos óleos essenciais de plantas medicinais comercializadas nos mercados e feiras ludovicenses-MA

Álvaro Itauna Schalcher Pereira (1), Crispin Humberto Garcia Cruz (2), Rejeana Márcia Santos Lima (3)

(1) Doutorando em Engenharia e Ciência de Alimentos, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Brasil. E-mail: alvaro.pereira@ifma.edu.br

(2) Prof. Dr., Orientador, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Brasil.

(3) Prof<sup>a</sup>. Dr., Coorientadora, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão, IFMA-Maracanã, Brasil

**Resumo:** Os estudos etnofarmacológicos têm como alvo de pesquisa resgatar os saberes populares relacionados ao uso de plantas medicinais, que são fontes importantes de produtos biologicamente ativos, em especial óleos essenciais para elaborar futuros modelos para síntese de produtos naturais. Esta pesquisa revisa a conduta etnofarmacológica da atividade biológica de óleos essenciais extraídos de plantas medicinais na perspectiva de descobrir novos princípios ativos de interesse para as indústrias alimentícia, cosmética e farmacêutica. Para isto, inicia-se com os saberes populares dos feirantes e raizeiros da cidade de São Luís-MA. Foram extraídos, por arraste de vapor sob vácuo, os óleos essenciais de diversas plantas comercializadas em feiras e mercados da cidade em estudo. Após a extração, foram solubilizados em etanol (70% a 90%) e determinado o índice de refração (ND 25°). Além disso, os extratos vegetais foram analisados por cromatografia gasosa e espectrometria de massas para identificar e quantificar os componentes principais, existentes nos óleos essenciais de alecrim (cânfora 27,51%), canela (cinamaldeído 86,31%) e o cravo da Índia (eugenol 75,85%). Na determinação do efeito bactericida ou bacteriostático foi utilizado o Método de Bauer-Kirby nas bactérias *Bacillus cereus*, *Serratia marcescens* e *Listeria monocytogenes*, bem como, os antibióticos da série G+ ou G- (Ampicilina, Cefotaxima, Eritromicina, Gentamicina, Tetraciclina e Vancomicina), para comparação. Os resultados obtidos mostraram que 50% das bactérias testadas eram G+ ou G-, foram mais sensíveis aos antibióticos comerciais. Entretanto, também foram afetadas pelos extratos testados. Isso, provavelmente, se deve sinergismo dos componentes minoritários associados aos majoritários, existente entre todos os componentes dos óleos essenciais das plantas medicinais. Portanto, o registro de plantas medicinais e seus respectivos usos e formas terapêuticas, realizados em especial por feirantes, raizeiros e curandeiros surge como uma alternativa para o descobrimento de novos fármacos, originadas de produtos naturais.

**Palavras-chave:** Antibióticos; Bactérias; Saberes populares; Metabolismo; Produtos naturais.

### 1. Introdução

O conhecimento das plantas empregadas na medicina popular simboliza muitas vezes um único recurso terapêutico no tratamento, na conduta etnofarmacológica e na cura de enfermidades, valorizando, sobretudo, conjuntamente os aspectos étnicos e culturais. No tratamento de algumas enfermidades a maioria das indicações são relatadas pelos feirantes, em especial na cidade de São Luís, Estado do Maranhão. Mostra que o homem utiliza recursos naturais, como por exemplo, os vegetais, para diversos fins, principalmente alimentício e medicinal (VILA VERDE et. al., 2003).

Neste contexto é importante mencionar que as plantas, além de seu uso na medicina popular com finalidades terapêuticas, têm contribuído, ao longo dos anos para a obtenção de vários fármacos amplamente utilizados em diversas clínicas (FARNSWORTH, 1980). Entretanto, isto não é novo, uma vez que foram encontrados registros desde antes da era cristiana, onde já se apresentavam estudos com cerca de oitocentas plantas de uso medicinal (ELDIN et. al., 2001).

A fitoterapia esteve, por longo período, sob o domínio popular onde o conhecimento empírico do valor medicinal das plantas prestou um serviço inestimável (MENDONÇA, 1989). Fitoterápicos são medicamentos originados exclusivamente de material botânico integral ou seus extratos usados com o propósito de tratamento médico (FERREIRA, 1998). Portanto, até que se obtenha um método adequado que relacione composição química com atividade biológica, apenas o estudo farmacológico poderá garantir a eficácia e a uniformidade de um fitoterápico (SIMÕES et. al., 2001).

No metabolismo vegetal, são produzidos metabólitos primários ou macromoléculas, produtos químicos que, através de rotas biossintéticas elaboradas, diversas e frequentemente desconhecidas, originam os metabólitos secundários ou micromoléculas, geralmente de estrutura complexa, de baixo peso molecular, marcantes atividades biológicas e, diferentemente dos metabólitos primários, encontrados em baixas concentrações em determinados grupos de plantas (SIMÕES, et. al., 2004).

Assim, os compostos orgânicos originados no metabolismo secundário, em especial os óleos essenciais, são extraídos das plantas medicinais através da técnica de arraste a vapor, e apresentam uma aplicação significativa nas indústrias alimentícia, cosmética e farmacêutica. Estão compostos, principalmente, de mono e sesquiterpenos e de fenilpropanoides, que conferem suas características organolépticas e têm aplicação na elaboração de diversos produtos inclusive medicamentos (BIZZO et al.,). Em geral, as observações populares sobre o uso e a eficácia de plantas medicinais contribuem de forma relevante para a divulgação das virtudes terapêuticas dos vegetais (VEIGA JÚNIOR; PINTO; MACIEL, 2002).

Dentre os agentes terapêuticos provenientes das plantas com uso medicinal popular e científico, destacam-se os óleos essenciais (COSTA et. al., 2008). Sabe-se que, óleos essenciais são compostos químicos voláteis, menos densos e mais viscosos que a água à temperatura ambiente, podendo ser extraídos a partir de uma grande variedade de plantas. Estes são encontrados normalmente, em baixas concentrações nas glândulas especiais da planta, denominadas tricomas (NAVARRETE et. al., 2011).

Este estudo focaliza a conduta etnofarmacológica da atividade biológica dos óleos essenciais de plantas medicinais na perspectiva de descobrir novos princípios ativos de interesse para a indústria alimentícia, cosmética e farmacêutica, iniciando-se com os saberes populares dos feirantes e raizeiros da cidade de São Luís-MA.

## **2. Materiais e Métodos**

Esta pesquisa foi realizada com a utilização de vários equipamentos e contou com a parceria dos seguintes Laboratórios e Instituições: Laboratório Multidisciplinar do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão, IFMA-Campus Codó e Laboratório de Pesquisa em Química Analítica (LPQA), Central Analítica, Laboratório de Físico-Química e Microbiologia do Pavilhão Tecnológico da Universidade Federal do Maranhão, UFMA-Campus Bacanga.

Para extração dos óleos essenciais das plantas medicinais estudadas, utilizou-se o Sistema de Clevenger acoplado a um balão de fundo redondo de 1000 mL e uma manta elétrica como fonte geradora de energia (Figura 1).



**Figura 1.** Sistema de Clevenger.

A cada extração dos óleos essenciais, pesaram-se 10g das plantas medicinais e adicionou-se 300 mL de água destilada. Em seguida, destilava-se por 3 horas e meia. Os óleos eram secos por meio de percolação em  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro. Estas etapas foram realizadas em triplicatas e as amostras eram armazenadas em recipientes de vidro sobre refrigeração para evitar possíveis perdas de constituintes voláteis.

A caracterização das propriedades físico-químicas dos óleos essenciais extraídos das plantas medicinais estudadas na literatura foi realizada pelo emprego de um picnômetro de 1,0 mL previamente seco, tarado e aferido. As amostras dos óleos essenciais extraídos foram colocados na temperatura de 25°C e solubilizados em etanol (70% e 90%) em balões volumétricos de 10 mL para cada amostra. A mistura de álcool/água destilada a 70% (v/v) foi adicionada proporcionalmente em volume crescente até a sua completa solubilização.

A determinação do índice de refração foi visual e as leituras foram feitas a 25°C colocando os óleos diretamente no prisma de Flint do refratômetro com uma micropipeta.

A análise por cromatografia gasosa acoplada à espectroscopia de massas QP 5000, coluna capilar – 1 de metil silicone entrecruzada (30m x 0,25mm i.d.; 0,25 $\mu\text{m}$  de espessura de filme), acoplado a um detector seletivo de massas HP 5MS de impacto eletrônico, com uma energia de 70 eV, temperatura de transferência de 280°C.

Os antibiogramas foram realizados pelo método de multidiscos de Bauer-Kirby onde as cepas foram submetidas ao teste de suscetibilidade aos óleos essenciais. Este é um método de difusão e usa discos de papel de filtro embebidos em diferentes concentrações das soluções contendo os óleos essenciais e os antibióticos e, subsequentemente, secos. Os discos utilizados para os testes foram adquiridos prontos junto ao comércio especializado (BAUER, et. al., 1966).

No preparo do inóculo, as culturas bacterianas foram inoculadas em BHI (Brain and Heart Infusion) e após 24 horas de incubação a 37°C foram diluídas até obtenção de uma suspensão padronizada grau de 0,5 da escala de McFarland ( $10^8$  microorganismos/mL). A seguir, colocou-se um swab na suspensão obtida, removendo o excesso de inóculo, e semeou-se na placa de Ágar Mueller-Hinton, utilizando a alça de platina estéril, fazendo estrias na superfície.

Os antibióticos comerciais foram usados como padrão de comparação dos halos de inibição de acordo com a tabela CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2008)<sup>13</sup>. Os antibióticos utilizados devidamente impregnados em discos já prontos foram os seguintes: Ampicilina, 10mg/L (AMP 10), Eritromicina, 15mg/L (ERI 15), Gentamicina, 15mg/L (GEN 15), Cefotaxima, 30mg/L (CTX), Tetraciclina, 30mg/L (TET 30) e Vancomicina, 30mg/L (VAN 30). As cepas das bactérias utilizadas foram: *Bacillus cereus*, *Serratia marcescens* e *Listeria monocytogenes*.

As placas foram incubadas a 37°C por 24 horas, o inóculo de cada cultura bacteriana (0,10mL) foi semeado com swab estéril na superfície das placas contendo Ágar Mueller Hinton solidificado, e a leitura dos halos de inibição foram realizadas utilizando uma régua milimetrada certificada pelo INMETRO (Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia).

### Resultados e Discussão

O registro de plantas medicinais e seus respectivos usos e formas terapêuticas por grupos humanos, em especial os raizeiros e curandeiros da cidade de São Luís-MA têm oferecido a base para diversos estudos etnofarmacológicos, especialmente no campo da fitoterapia e farmacologia, inclusive como ferramenta para o descobrimento de novos fármacos originados de produtos naturais, em especial dos óleos essenciais.

Neste trabalho pretendeu-se compreender a conduta etnofarmacológica de algumas plantas medicinais utilizadas na medicina popular e, em especial, da atividade dos extratos dos óleos essenciais contidos nestas. A Tabela 1 mostra o efeito destes extratos sobre bactérias testadas.

**Tabela 1.** Efeito dos extratos dos óleos essenciais extraídos de plantas medicinais recolhidas de feirantes em São Luís, Maranhão.

Óleos Essenciais das Plantas Mediciniais		Bactérias Testadas			Uso Etnofarmacológico
		Halos de inibição (mm)			
Nome Popular	Nome Científico	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Serratia marcescens</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	
Alegrim	<i>R. officinalis</i>	0	0	0	Antioxidante; Analgésico; Antiinflamatório.
Canela	<i>C. zeylanicum</i>	17	15	20	Antioxidante; Antibacterianas; Antifúngicas.
Cominho	<i>C. cyminum</i>	15	0	0	Antisséptico; Antifúngico; Antimicrobico.

Cravo da Índia	<i>E. caryophyllata</i>	22	18	25	Antisséptico; Bactericido; Parasiticido.
Coentro	<i>C. sativum</i>	16	0	0	Antiinflamatório; Antidiabético; Antibacteriano.
Erva Doce	<i>P. anisum</i>	0	0	13	Antiinflamatório; Antiespasmódica; Antidispéptica.
Gengibre	<i>Z. officinalis</i>	0	0	0	Antioxidante; Antimicrobiano; Antiinflamatória.
Hortelã-Pimenta	<i>M. piperita</i>	16	0	0	Antiespasmódica; Antiemética; Antisséptica.
Manjerição de folha larga	<i>O. basilicum</i>	0	0	0	Antiespasmódica; Antibacteriana; Antiinflamatório.
Pimenta do Reino	<i>P. nigrum</i>	0	0	0	Antiinflamatório; Antisséptica; Analgésica.

Fonte: Elaborada pelo Schalcher

### 2.1. Paginação

A Tabela 2 mostra os resultados obtidos por cromatografia gasosa e espectrometria de massas, devido aos halos de inibição (mm) dos três óleos de plantas medicinais com perfis distintos, sendo que o cravo da Índia apresentou os maiores halos de inibição para as bactérias testadas; a canela obteve o segundo maior e o alecrim foi escolhido por não apresentar halo de inibição.

**Tabela 2.** Técnica utilizando à cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (CG-EM).

Oleos essenciais das plantas medicinais	Compostos identificados e quantificados (%)
Alecrim ( <i>R. officinalis</i> )	cânfora (27,51), limoneno (21,01), mirceno (11,19), $\alpha$ -pineno (10,37), % - $\beta$ -pineno (5,27), $\beta$ -cariofileno (4,60), canfeno (3,64), verbenona (3,0), isoborneol (2,10), $\gamma$ -terpineno (1,71), linalol (1,15), $\alpha$ -felandreno (0,21) .
Canela ( <i>C. zeylanicum</i> )	cinamaldeído (86,31), acetato de cinamila (4,83), eucaliptol (1,19), $\alpha$ -terpineol (0,75), terpinen-4-ol (0,58), $\alpha$ -pineno (0,38), limoneno (0,33), borneol (0,23), eugenol (0,23), $\beta$ -pineno (0,21), canfeno (0,18).
Cravo da Índia ( <i>C. aromaticus</i> )	eugenol (75,85), acetato de eugenila (16,38), $\beta$ -cariofileno (4,84), $\alpha$ -humuleno (2,10).

**Fonte:** Adaptada por Schalcher (2015).

A Tabela 3 mostra o perfil de inibição dos antibióticos testados. Esta tabela 3 foi construída de acordo com os parâmetros estabelecidos na tabela padrão do CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) e serviu para comparação de antibiogramas contra os extratos dos óleos testados. Após comparação, as bactérias foram classificadas como bactérias resistentes (R), moderadamente sensíveis (MS) ou sensíveis (S), pelo método de Bauer-Kirby.

**Tabela 3.** Perfil das zonas de inibição dos antibióticos testados, utilizados como padrão de comparação, contra os extratos das plantas medicinais selecionadas.

ANTIBIÓTICOS COMERCIAIS	CONCENTRAÇÃO µg/L	HALO DE INIBIÇÃO (mm)		
		R	MS	S
Ampicilina (AMP)	10	≤13	14-16	≥17
Eritromicina (ERI)	15	≤13	14-22	≥23
Gentamicina (GEN)	15	≤12	13-14	≥15
Cefotaxima (CTX)	30	≤14	15-22	≥23
Tetraciclina (TET)	30	≤14	15-18	≥19
Vancomicina (VAN)	30	≤9	10-11	≥12

A Figura 2 ilustra os resultados obtidos no teste de difusão em discos para *Bacillus cereus*. Nestes percebe-se que esta bactéria é sensível aos antibióticos Eritromicina, Ampicilina e Tetraciclina, pois, de acordo com os dados da tabela do CLSI, considera-se que são sensíveis a esses antibióticos os microorganismos que apresentarem um halo 23 mm, para eritromicina, para ampicilina halo ≥17 mm, e para tetraciclina halo ≥19 mm.



**Figura 2.** Antibiograma *Bacillus cereus* (ERI;TET, AMP).

Os antibiogramas da *Serratia marcescens*, representados mostraram que a bactéria é sensível em relação aos antibióticos Ampicilina e Cefotaxima, apresentando halo de inibição de 17 e 30 mm, respectivamente, tornando-se resistente com relação à Tetraciclina, que apresentou halo de 0 mm.

Notou-se na tabela 4 que a inexistência de halo de inibição no teste de disco da *Listeria monocytogenes* para os antibióticos da série G<sup>+</sup> ou G<sup>-</sup> comerciais testados Tetraciclina, Eritromicina e Vancomicina, o que representa a resistência das bactérias G<sup>+</sup> ou G<sup>-</sup> a esses medicamentos.

Analisaram-se os tamanhos das zonas de inibição de crescimento (ZIC), em milímetros, obtidos pelo método de difusão em disco de Bauer-Kirby, os óleos essenciais podem ser classificados quanto à atividade bactericida como: ZIC ≤15, muito ativo; 10 < ZIC < 15, moderadamente ativo; ZIC < 10, inativo (Cimanga K. et. al.,). Conforme a Tabela 4.

**Tabela 4.** Diâmetros dos halos de inibição de crescimento dos microorganismos testados pelos antibióticos escolhidos.

ANTIBIÓTICOS COMERCIAIS	DIÂMETRO DOS HALOS DE INIBIÇÃO (mm)		
	<i>Bacillus Cereus</i>	<i>Listeria Monocytogenes</i>	<i>Serratia marcescens</i>
Ampicilina	22	0	21
Eritromicina	23	0	-

Gentamicina	-	-	-
Cefotaxina	-	-	30
Tetraciclina	27	0	0
Vancomicina	-	0	-

Os óleos essenciais extraídos das plantas medicinais comercializadas nas feiras e mercados ludovicenses são agentes antimicrobianos que apresentam duas características importantes: a primeira é sua origem natural que proporciona menor perigo para as pessoas e para o ambiente, e a segunda é que os mesmos são considerados de baixo risco para o desenvolvimento de resistência por partes dos microrganismos patogênicos. Acredita-se que é difícil para os patógenos desenvolverem resistência por se tratarem de misturas complexas de componentes com, aparentemente, diferentes mecanismos de atividade (DAFERERA et al, 2003).

### 3. Considerações finais

A similaridade encontrada entre os parâmetros físico-químicos de cada espécie de plantas medicinais comercializadas nas feiras ludovicenses garantiu uma legitimidade da pesquisa. As técnicas espectrométricas de UV-Vis usadas para a caracterização dos respectivos óleos apresentaram resultados similares, quando comparados aos seus padrões, no que diz respeito às suas absorbâncias. Com isso, o método de Bauer- Kirby verificou que 50% das bactérias testadas foram mais sensíveis aos antibióticos comerciais testados. Este comportamento se deve ao sinergismo da contribuição dos componentes minoritários associados aos majoritários, existente entre todos os componentes das plantas medicinais e seus respectivos óleos essenciais.

Este estudo oferece uma alternativa natural e de baixo custo no combate às doenças causadas pelas bactérias patogênicas selecionadas o que poderia evita o uso indiscriminado dos antibióticos comerciais.

### Referências bibliográficas

Bauer A. W. et. al., Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. ,**Am. J. Clin. Pathol.**, v.45, p.493-496, 1966.

Bauer A. W. et al. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. ,**Am. J. Clin. Pathol.**, v.45, p.493-496, 1966.

BIZZO, H.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. *Química Nova*, São Paulo. v. 32, n. 3, p. 588-594, 2009.

CLSI – CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals**; approved standard. 3º ed. Wayne, Pennsylvania: CLSI, 99p. 2008.

COSTA, C. M. G. R.; SANTOS, M. S.; BARROS, H. M. M.; AGRA, P. F. M. e FARIAS, M. A. A. Óleo essencial de citronela no controle da bactéria fitopatogênica *Erwinia carotovora*. **Tecnol. & Ciên. Agropec.**, 2(2): 11, 2008.

Cimanga K. et al. 2002. Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. **J Ethnopharmacol** 79: 213-220.

DAFERERA, D.J.; ZIOGAS, B.N.; POLISSIOU, M.G. The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp., and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. **Journal of Crop Protection**, v.22, p.39-44, 2003.

Eldin S, Dunford AA. **Fitoterapia na atenção primária a saúde**. Editora Malone Ltda. São Paulo: 162p. 2001.

Farnsworth NR, J. **Ethnopharmacol**. 1980, 2, 173.

FERREIRA, S. H. **Medicamentos a partir de plantas medicinais no Brasil**. Rio de Janeiro. Academia Brasileira de Ciências, 1998.

MENDONÇA, V.L. M. **Estudo Farmacológico e Toxicológico de *Alpinia speciosa Schum.*** Dissertação (Mestrado em Química Orgânica), Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Universidade Federal do Ceará, 1989.

NAVARRETE, A.; WALLRAF, S.; MATO, R. B.; COCERO, M. J. Improvement of Essential Oil Steam Distillation by Microwave Pretreatment. **I&EC Research**, v. 50, p. 4667-4671, 2011.

SIMÕES, C. M. O. et al (org.) **Farmacognosia – da Planta ao Medicamento**. 5ª ED. VER. AMPL. primeira reimpressão- Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/ UFSC, 2004.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre, Editora de UFSC, 3ª edição. 833p. 2001.

VILA VERDE, G. M.; Paula, J. R.; Carneiro, D. M. Levantamento etnobotânico das plantas medicinais do cerrado utilizadas pela população de Mossâmedes (GO). **Rev. Bras. de Farm.** v. 13, supl., p. 64-66, 2003.

VEIGA JÚNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas Medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v. 25, n. 3, 2002, p. 429-438.