

AVALIAÇÃO IN VITRO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE OITO ESPÉCIES DE PLANTAS MEDICINAIS

Kimiyo Shimomura Haida¹
Leandro Parzianello²
Simone Werner³
Daiane Regina Garcia³
Caroline Valmórbida Inácio³

HAIDA, K. S., PARZIANELLO, L., WERNER, S., GARCIA, D. R., INÁCIO, C. V. Avaliação in vitro da atividade antimicrobiana de oito espécies de plantas medicinais. *Arq. Ciênc. Saúde Unipar, Umarama*, v. 11, n. 3, p. 185-192, set./dez. 2007.

RESUMO: A utilização de plantas medicinais, associada a processos infecciosos, tem impulsionado vários estudos químicos e farmacológicos, visando obter novos compostos com propriedades terapêuticas. Na atualidade, as bactérias que causam prejuízos à saúde humana possuem resistência à maioria dos antimicrobianos. Várias medidas tecnológicas são sugeridas para solucionar o problema da resistência das bactérias, sendo uma delas a procura de novos antimicrobianos a partir de espécies vegetais. Tendo-se em vista este contexto, com este trabalho propõe-se a avaliar a suscetibilidade das bactérias *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* aos extratos das plantas *Rosmarinus officinalis*, *Origanum majorana*, *Salvia officinalis*, *Bidens pilosa*, *Ocimum gratissimum*, *Cymbopogon citratus*, *Sida rhombifolia* e *Leonotis nepetaefolia* pelo método de difusão em discos. Os resultados mostraram que os extratos de *R. officinalis* possui atividade inibitória contra *S. aureus*, as plantas *B. pilosa* e *O. majorana* atuam sobre *E. coli* e *P. aeruginosa* e *S. officinalis* sobre *P. aeruginosa*. As outras plantas foram ineficazes para inibir as bactérias testadas. Com esses resultados pode-se verificar que *Rosmarinus*, *Bidens*, *Origanum* e *Salvia* podem ser fontes de agentes antimicrobianos.

PALAVRAS-CHAVE: *Rosmarinus officinalis*; *Bidens pilosa*; *Salvia officinalis*; *Origanum majorana*; atividade antimicrobiana.

IN VITRO ASSESSMENT OF THE ANTIMICROBIAL ACTIVITY FROM EIGHT MEDICINAL PLANT SPECIES

ABSTRACT: The use of medicinal plants, associated to infectious processes, has stimulated a number of chemical and pharmacological studies to obtain new compounds with therapeutic properties. Nowadays, microorganisms which cause damages to human health have resistance to most of the antimicrobial drugs. Many technological steps are suggested for solving the bacterial resistance matter, and one of them is the search for new antimicrobial drugs from vegetal species. Therefore, this article assesses the antibacterial activity from different extracts of *Rosmarinus officinalis*, *Origanum majorana*, *Salvia officinalis*, *Bidens pilosa*, *Ocimum gratissimum*, *Cymbopogon citratus*, *Sida rhombifolia* and *Leonotis nepetaefolia* tested against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* by using the disk diffusion method. The results of the test showed that extracts from *R. officinalis* have inhibited the activity against *S. aureus*, *B. pilosa*, and *O. majorana* plants acted upon *E. coli* and *P. aeruginosa*, and *S. officinalis* upon *P. aeruginosa*. The other plants were ineffective to inhibit the bacteria tested. From these tests, it was verified that *Rosmarinus*, *Bidens*, *Origanum* and *Salvia* may be sources of antimicrobial agents.

KEYWORDS: *Rosmarinus officinalis*; *Bidens pilosa*; *Salvia officinalis*; *Origanum majorana*; antimicrobial activity.

Introdução

Tem-se verificado um grande avanço científico envolvendo estudos químicos e farmacológicos de plantas medicinais, visando obter novos compostos com propriedades terapêuticas. As propriedades antimicrobianas de diversas espécies vegetais têm sido reconhecidas empiricamente durante séculos, mas foram cientificamente confirmadas apenas nas últimas décadas.

Até o momento, pouco se conhece sobre a composição química de 99,6% das plantas da flora brasileira, estimadas entre 40 mil a 55 mil espécies, sendo que 10 mil podem ser consideradas medicinais, aromáticas e úteis (SILVA et al., 2002). Segundo Martins et al., (2000), das espécies vegetais existentes no Brasil,

menos de 1% foi motivo de estudos adequados. Além disso, uma grande quantidade de compostos das vias metabólicas secundárias das plantas medicinais já isolados e com estruturas químicas determinadas ainda não foram estudadas quanto às suas atividades biológicas.

No Brasil, somente 20% da população consome 63% dos medicamentos disponíveis, enquanto que o restante encontra nos medicamentos de origem natural, especialmente nas plantas medicinais, a única fonte de recurso terapêutico (DI STASI, 1996).

A utilização de plantas medicinais como opção de tratamento e cura tem aumentado em todas as classes sociais das mais diversas regiões do mundo.

A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que 65-80% das pessoas nos países em desenvolvimento confiam na medicina tradicional para assistência

¹ Farmacêutica-Bioquímica, Mestre em Ciências de Alimentos, Professora Adjunta de Bioquímica da Universidade Paranaense – UNIPAR- Campus de Cascavel -PR.

² Farmacêutico-Bioquímico – Mestre em Ciências Biológicas-Laboratório Parzianello Cascavel -PR

³ Graduadas do Curso de Ciências Biológicas da UNIPAR- Campus Cascavel -PR

Endereço para Correspondência: Kimiyo Shimomura Haida, Rua 7 de setembro, 3797 – Centro –CEP 85.810-090-Cascavel – PR - E-mail: ksh@certto.com.br

primária da saúde e que 85% desta medicina envolvem o uso de extratos de plantas. A própria OMS recomenda o desenvolvimento de pesquisas visando ao uso da flora nacional para fins terapêuticos, visando diminuir o número de excluídos dos sistemas governamentais de saúde. Sendo uma importante alternativa para o tratamento de doenças, principalmente em países em desenvolvimento, em atenção aos cuidados primários com a saúde (GONÇALVES; ALVES FILHO; MENEZES, 2005). Associados a essa expansão, os fitoterápicos deixaram de ser vistos simplesmente como um recurso da medicina popular, constituindo-se matéria-prima para indústrias de produtos farmacêuticos (MELO et al., 2001)

As principais razões que impulsionaram o crescimento do mercado mundial de fitoterápicos foram: a valorização de uma vida com hábitos mais saudáveis, os efeitos colaterais dos medicamentos sintéticos, a descoberta de novos princípios ativos nas plantas, a comprovação científica dos mecanismos de ação nos tratamentos de distintas patologias e, principalmente, o preço, que, de maneira geral, é mais acessível à população com menor poder aquisitivo.

Atualmente, o principal problema que se enfrenta com as bactérias patogênicas são as que possuem resistência à maioria dos antimicrobianos.

O abuso por longos anos da utilização de compostos antimicrobianos se apresenta como fator principal para o surgimento do fenômeno de resistência (ANDREMONT, 2001). Várias medidas tecnológicas são sugeridas para resolver o problema da resistência das bactérias, sendo uma delas a procura de novos antimicrobianos a partir de espécies vegetais (CECHINEL FILHO, 2000; SOUZA et al., 2003).

Algumas espécies vegetais sintetizam substâncias de defesa, quando são agredidas por bactérias, fungos, parasitas, vírus ou outros agentes. Estes compostos são produtos dos seus metabolismos secundários, tendo composição química muito variada, mas tendo interesse de modo particular aos produtos com ação antimicrobiana como: terpenóides (monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos e saponinas), compostos fenólicos (fenóis simples, taninos, dibenzofuranos e flavonóides), compostos nitrogenados (alcalóides, polipeptídeos cíclicos, glicosídeos), cumarina e cânfora (RESCHKE et al., 2007; SIMÕES et al., 2003; YUNES; CALIXTO, 2001; LARCHER, 2000).

Muitas plantas da família Labiatae (Lamiaceae) são mencionadas em trabalhos publicados como sendo medicinais. O vegetal *Rosmarinus officinalis* L. (alecrim) é uma planta de porte subarborescente de até 1,5 m de altura. Nas folhas foram registradas a presença de óleo essencial constituído de cineol, alfa-pineno e cânfora, como componentes voláteis, e ácido caféico, diterpenos, flavonóides e triterpenóides, como componentes não voláteis (SIMÕES et al., 2003). São citadas na literatura etnofarmacológica como diurético,

colagogo, colerético, carminativo, cicatrizante e antiinflamatório (MATOS, 2002).

Ocimum gratissimum L. (alfavaca) é um subarbusto aromático com até 1 m de altura, ereto, suas folhas e ramos são aromáticos, empregada na medicina popular para problemas das vias respiratórias (gripe, resfriado, tosse, bronquite), estimulantes, carminativos, sudoríficos e diuréticos (MATOS et al., 2004). A análise fitoquímica evidenciou a presença de aminas, triterpenóides e esteróides, fenóis, flavonóides, açúcares redutores, óleo essencial rico em timol, saponinas e quinonas (GARCIA et al., 1998).

Leonotis nepetaefolia (L.) R. Br. (cordão-de-frade), considerada como planta daninha de até 1,5 m de altura, aromática, com folhas opostas oval-lanceoladas e flores alaranjadas, é utilizada como estimulante, diurética, febrífuga, sudorífica, carminativa e antiespasmódica. Análises fitoquímicas revelaram a presença de lactonas sesquiterpênicas e diterpenos, e cumarina, no seu óleo essencial (CORRÊA et al., 1998).

Origanum majorana L. (manjerona) é mencionada na literatura como estimulante do sistema nervoso, ação analgésica, espasmolítica, sudorífica, estimulante da digestão e expectorante (MARTINS et al., 2000). Na sua composição química foram registradas a presença de óleo essencial, monoterpenos, gama-terpineno, carvacrol, hidrato de cis-sabineno, acetato de cis-sabineno e terpinen-4-ol (NOVAK, 2002, VERA; CHANE-MING, 1999).

Salvia officinalis L. (sálvia), herbácea, perene, de 30-60 cm de altura, empregada para indigestão, bronquite crônica, infecções de pele, gengiva, garganta e boca (CASTELLUCCI, 2000). Tem como constituintes químicos ácidos rosmarínico, caféico e clorogênico, carnosol, flavonóides e óleos essenciais (NASCIMENTO et al., 2000).

O vegetal *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. (capim-limão) pertencente à família das Poaceae (Gramineae), descrito como erva perene com folhas longas, estreitas e aromáticas, empregada em medicina popular ao qual se atribui atividade antitussígena, antitérmica, anti-reumática, diurética, carminativa, analgésica e em distúrbios digestivos (SIMÕES et al., 2003). O óleo volátil é constituído de citral e mircenol (SCHUCK et al., 2001), terpenos, álcoois, cetonas, ésteres e aldeídos, alcalóides e saponinas (NEGRELLE; GOMES, 2007).

Segundo Martins et al. (2000), *Bidens pilosa* (picão-preto) é uma planta da família Compositae (Asteraceae), considerada como invasora de culturas comerciais, é uma herbácea ereta, anual, de 50-130 cm de altura, relatado como tendo propriedades diurética e depurativa, usada ainda para desintoxicação e diabetes. Os constituintes químicos principais são: ácido salicílico, taninos, limoneno, candineno, timol, a-pineno e a-felandreno.

Sida rhombifolia L. (guanxuma), família

Malvaceae, herbácea ou subarborescente, anual ou perene, ereta, fibrosa, de 30 a 80 cm de altura. Flores amarelas, solitárias ou em pequenos grupos, axilares, que se abrem somente pela manhã. Na sua composição química tem sido relatada a presença de esteróides, saponinas e mucilagem (LORENZI; MATOS, 2002).

Na literatura médica são abundantes os estudos farmacológicos e toxicológicos que se tem realizado com as plantas medicinais, entre os quais se encontram a atividade antibacteriana dos extratos aquoso, hidroalcoólico, acetona, n-hexano frente à *S. aureus*, *E. coli* e *P. aeruginosa* (MARTÍNEZ; MOLINA; BOUCORT, 1997).

Várias espécies de bactérias já foram identificadas como causadoras de infecções, o que faz com que elas sejam alvos de grandes pesquisas. *E. coli*, *S. aureus* e *P. aeruginosa* são exemplos de organismos amplamente estudados por sua patogenicidade, responsáveis por diversos tipos de infecções (BRODY, 1997).

As bactérias Gram positivas, como *S. aureus*, geralmente são mais sensíveis aos antibióticos que bactérias Gram negativas, como *E. coli* e *P. aeruginosa*, embora alguns antibióticos atuem apenas em bactérias Gram negativas (MADIGAN et al., 2004).

O uso de antimicrobianos nas infecções é uma medida muito utilizada. Entretanto, são cada vez maiores os índices de resistência das bactérias frente aos antimicrobianos testados. A alta prevalência de infecções justifica a preocupação na busca de recursos que permitam o desenvolvimento de novos métodos de controles específicos para a doença.

O objetivo desta pesquisa foi verificar a ação de diferentes extratos de oito plantas sobre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*.

Material e Método

As plantas *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. (capim-limão), *Origanum majorana* L. (manjerona), *Rosmarinus officinalis* L. (alecrim) e *Salvia officinalis* L. (sálvia), foram coletadas no Horto Medicinal da UNIPAR- Campus Cascavel, *Ocimum gratissimum* L. (alfavaca) originada do Município de Corbélia (PR) e as plantas invasoras, *Sida rhombifolia* (guanxuma), *Leonotis nepetaefolia* (l.) R. Br. (cordão-de-frade) e *Bidens pilosa* L. (picão-preto) foram coletadas no terreno baldio ao lado do Horto Medicinal da UNIPAR, no período de abril a junho de 2004 a 2006. A identificação dos materiais vegetais foi realizada pela professora Dra. Rosemari Pilati, da Universidade Paranaense. As exsiccatas foram depositadas no Herbário desta Instituição.

As partes aéreas das plantas foram secas à temperatura de 50°C em estufa. Após a secagem, foram trituradas e submetidas ao processo extrativo, realizado com os solventes de polaridade crescente, n-hexano,

clorofórmio, acetona, e etanol a 80%, aquoso (infusão), obtendo-se cinco diferentes extratos brutos de cada planta.

Para o preparo do inóculo microbiano foram utilizadas as três cepas de bactérias patogênicas, derivadas das cepas padrão ATCC (*American Type Culture Collection*): *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922 e *P. aeruginosa* ATCC 27853. As bactérias foram ativadas em tubo com caldo de infusão de cérebro e coração (BHI), incubados a 37°C por 18 horas, diluída em solução salina até uma turvação correspondente à escala 0,5 de Mac Farland.

Os ensaios da atividade antibacteriana foram realizados em duplicata, pelo método de difusão em disco de papel de filtro, através da adaptação do método de Kirby-Bauer. As concentrações dos extratos foram preparadas a partir do extrato bruto a 50% (500 mg/mL) e diluídas a 10% (100 mg/mL), 5% (50 mg/mL), 2,5% (25 mg/mL), 1% (10 mg/mL) e 0,1% (1 mg/mL). Foram utilizados discos de 6 mm de diâmetro, embebidos com 10 µL de cada extrato em estudo e, como controles negativos, os solventes e água destilada; como controle positivo, a oxacilina (1 µg), para bactérias Gram positivas e amicacina (30 µg), para bactérias Gram negativas. Em placas de Petri, contendo meio de cultura Mueller-Hinton, foram semeadas individualmente as três espécies de bactérias: *S. aureus*, *E. coli* e *P. aeruginosa* onde foram acrescentados os discos com extratos e os controles. Após 24 horas de incubação em estufa a 36° C, foi realizada a leitura dos resultados, que consistiu na medição do diâmetro dos halos de inibição, incluindo o próprio disco. Os resultados foram expressos em termos do diâmetro (mm) da zona de inibição do crescimento bacteriano.

Resultados e Discussões

Os resultados das médias dos halos de inibição (em mm) do potencial antimicrobiano de extratos etanólico, cetônico, clorofórmico, hexânico e aquoso de oito (8) plantas medicinais (*Rosmarinus officinalis*, *Bidens pilosa*, *Cymbopogon citratus*, *Origanum majorana*, *Ocimum gratissimum*, *Salvia officinalis*, *Sida rhombifolia* e *Leonotis nepetaefolia*) contra *S. aureus*, *E. coli* e *P. aeruginosa* estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Atividade antibacteriana de extratos vegetais a 50% sobre diferentes bactérias.

Bactérias	Extratos	<i>Rosmarinus</i>	<i>Bidens</i>	<i>Cymbopogon</i>	<i>Ocimum</i>	<i>Leonotis</i>	<i>Origanum</i>	<i>Salvia</i>	<i>Sida</i>
<i>S. aureus</i>	Aquoso	-	-	-	-	-	-	-	-
	Etanólico	+	-	-	-	-	-	-	-
	Cetônico	++	-	-	-	-	-	-	-
	Clorofórmico	+++	-	-	-	-	-	-	-
	Hexânico	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i>	Aquoso	-	++	-	-	-	-	-	-
	Etanólico	-	++	-	-	-	-	-	-
	Cetônico	-	-	-	-	-	-	-	-
	Clorofórmico	-	-	-	-	-	-	-	-
	Hexânico	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P. aeruginosa</i>	Aquoso	-	-	-	-	-	+++	-	-
	Etanólico	-	++	-	-	-	+++	+++	-
	Cetônico	-	-	-	-	-	-	-	-
	Clorofórmico	-	-	-	-	-	+++	-	-
	Hexânico	-	-	-	-	-	+	+	-

Diâmetro médio dos halos de inibição (mm): -= <7 mm, +=7-11 mm, ++=12-16 mm, +++= ≥17mm.

Os extratos na concentração de 50% que apresentaram maiores ações inibitórias (+++ ou halo ≥17mm) foram: clorofórmico de *R. officinalis* contra *S. aureus*, sendo comparável com o halo de inibição do controle positivo, a oxacilina, que apresentou halo de 18 mm; o extrato etanólico de *S. officinalis*, contra *P. aeruginosa* e os extratos clorofórmico, etanólico e aquoso de *O. majorana*, contra *P. aeruginosa*, apresentaram halo de inibição maior que o controle positivo, amicacina, que apresentou halo de 17 mm.

Os resultados indicaram que apenas os extratos de *R. officinalis* apresentam sensibilidade contra as bactérias Gram positivas como *S. aureus*. Estes resultados estão de acordo com o trabalho de Abu-Shanab et al. (2004), que relatam que a resistência das bactérias Gram negativas, como *E. coli* e *P. aeruginosa*, não é rara, considerando que esta classe de bactérias

pode oferecer barreira na permeabilidade, devido à composição química da parede celular.

S. aureus não foi inibido com extratos preparados com solventes hexânico e aquoso das plantas. *E. coli* não foi inibido com extratos hexânico, clorofórmico e cetônico. *P. aeruginosa* não foi inibido com extrato cetônico. Provavelmente, esses resultados sejam devidos à ausência ou à pequena quantidade de compostos das plantas, com ação antibacteriana, com afinidade com esses solventes.

Na tabela 2 estão apresentados os extratos de *R. officinalis* com as concentrações que foram positivas, e médias dos halos de inibição (mm) ± desvio padrão sobre *S. aureus*.

B. pilosa apresentou atividade antimicrobiana sobre *E. coli* no extrato etanólico a 50% (halo médio

Tabela 2. Atividade dos extratos de *R. officinalis* sobre *S. aureus*

Extratos	Concentração	Halos de inibição (mm) Média ± desvio padrão
Etanólico	50%	10,0 ± 1,4
	10%	7,0 ± 0,0
Cetônico	50%	12,0 ± 1,4
	10%	12,0 ± 0,0
	5%	10,0 ± 1,4
Clorofórmico	50%	20,0 ± 1,4
	10%	17,0 ± 1,4
	5%	15,0 ± 0,0

As amostras de *S. aureus* foram positivas isto é, apresentaram sensibilidade frente às diferentes concentrações dos extratos etanólico, cetônico e clorofórmico de *R. officinalis*. No extrato etanólico apresentou atividade inibitória nas concentrações de 50% e 10%, com médias de halo de $10 \pm 1,4$ mm e $7 \pm 0,0$ mm, respectivamente. No extrato cetônico, nas concentrações de 50%, 10% e 5%, desenvolveram halos médios de $12 \pm 1,4$ mm, $12,0 \pm 0,0$ mm e $10,0 \pm 1,4$ mm, respectivamente. O extrato clorofórmico a 50% apresentou o maior halo de inibição ($20,0 \pm 1,4$ mm), maior do que o halo de inibição do antibiótico oxacilina (18,0 mm). Na concentração a 10% foi de $17,0 \pm 1,4$ mm e a 5% de $15,0 \pm 0,0$ mm.

Neste estudo observou-se que, à medida que aumentava a diluição do extrato, diminuía a sensibilidade bacteriana. De modo que no extrato etanólico não apresentaram atividades inibitórias nas concentrações de 5%, 2,5%, 1% e 0,1%; no extrato cetônico e também no clorofórmico não exibiram halos de inibição nas

concentrações de 2,5%, 1% e 0,1%.

Os resultados obtidos confirmam os dados obtidos na literatura (BARA; VANETTI, 1997/1998; LORENZI; MATOS, 2002; DULGER; GONUZ, 2004), sugerindo a ausência de metabólitos ou grupos de substâncias que atuem em conjunto e/ou que os compostos com atividade inibitória não são dissolvidos ou são pouco dissolvidos nestes solventes.

A Tabela 3 apresenta os extratos, as concentrações e médias \pm desvio padrão dos halos de inibição (mm) de *Bidens pilosa*, *Origanum majorana* e *Salvia officinalis* sobre bactérias Gram negativas, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*. Não foram inclusos na tabela os extratos cetônico e hexânico contra *E. coli* e, cetônico contra *P. aeruginosa*, bem como as concentrações subsequentes até 0,1% que não apresentaram atividade inibitória.

Tabela 3. Atividade dos extratos de *B. pilosa*, *O. majorana* e *S. officinalis* sobre Bactérias Gram negativas (*E. coli* e *P. aeruginosa*)

Bactérias	Extratos	Concentração	<i>Bidens</i>	<i>Origanum</i>	<i>Salvia</i>	
<i>E. coli</i>	Etanólico	50%	$15,0 \pm 0,0$	--	--	
	Clorofórmico	50%	--	$22,0 \pm 0,0$	--	
		10%	--	$17,5 \pm 1,4$	--	
<i>P. aeruginosa</i>	Aquoso	50%	$12,0 \pm 1,4$	--	--	
	Etanólico	50%	$14,0 \pm 1,4$	$21,0 \pm 1,4$	$38,5 \pm 1,4$	
		10%	$12,0 \pm 0,0$	$18,5 \pm 2,2$	$11,0 \pm 0,0$	
		5%	$12,0 \pm 0,0$	--	--	
	Clorofórmico	50%	--	$22,0 \pm 1,8$	--	
		10%	--	$17,5 \pm 1,8$	--	
	Hexânico	50%	--	$11,0 \pm 1,4$	$11,0 \pm 0,0$	
		Aquoso	50%	--	$21,5 \pm 2,2$	--
			10%	--	$16,5 \pm 1,0$	--
			5%	--	$11,0 \pm 1,4$	--
			2,5%	--	$10,0 \pm 0,0$	--
			1%	--	$9,0 \pm 1,4$	--
	0,1%	--	$7,0 \pm 1,4$	--		

(--) ausência de halos

de $15,0 \pm 0,0$ mm) e extrato aquoso a 50% (halo médio de $12,0 \pm 1,4$ mm). Também desenvolveu atividade antimicrobiana sobre *P. aeruginosa* no extrato etanólico a 50%, 10% e 5% com halo de inibição médio de $14,0 \pm 1,4$ mm, $12,0 \pm 0,0$ mm e $12,0 \pm 0,0$ mm, respectivamente. Esta planta não inibiu o crescimento de *S. aureus*.

De acordo com as literaturas consultadas, Boorherm et al. (1999), não relatam atividade antibacteriana para esta planta. No entanto, Machado et al. (1988), narram atividade antibacteriana a *S. aureus*

de extratos desta planta, principalmente no extrato clorofórmico. Esta diversidade de informações é muito natural no que se refere às plantas, já que os constituintes variam, conforme a época e horário da coleta e técnicas utilizadas.

O. majorana apresentou ação inibitória sobre *E. coli* no extrato clorofórmico com halos médios de $22,0 \pm 0,0$ mm na concentração de 50% e $17,5 \pm 1,4$ mm na concentração de 10% e no extrato aquoso a 50% apresentou halos de $12,0 \pm 1,4$ mm.

Dentre as plantas estudadas, *O. majorana* obteve

maior eficiência contra *Pseudomonas aeruginosa*, atuando nos extratos etanólico, clorofórmico, hexânico e aquoso. O extrato etanólico apresentou positividade na concentração de 50 % com halos médios de $21,0 \pm 1,4$ mm e a 10% com halos de $18,5 \pm 2,2$ mm. No extrato clorofórmico mostrou halos de inibição de $22,0 \pm 1,8$ mm e $17,5 \pm 1,8$ mm, respectivamente nas concentrações de 50 % e de 10%. No extrato hexânico a 50% desenvolveu halos de inibição de $11,0 \pm 1,4$ mm. O extrato aquoso foi o mais eficiente contra *P. aeruginosa*, desenvolvendo halos de inibição em todas as concentrações estudadas. Na concentração de 50% apresentou halos médios de $21,5 \pm 2,2$ mm; a 10% o halo foi de $16,5 \pm 1,0$ mm; a 5% o halo foi de $11,0 \pm 1,4$ mm; a 2,5% o halo foi de $10,0 \pm 0,0$ mm; a 1% o halo foi de $9,0 \pm 1,4$ mm e a 0,1% o halo foi de $7,0 \pm 1,4$ mm.

O trabalho publicado por Bara e Vanetti (1997/1998), utilizando extrato etanólico de *O. majorana*, mostrou pouca ou nenhuma atividade antibacteriana para *E. coli* e *S. aureus* e não foi testado com *P. aeruginosa*.

S. officinalis não apresentou sensibilidade a *E. coli*, todavia, apresentou atividade contra *P. aeruginosa* no extrato etanólico e hexânico, apresentando o maior halo de inibição com extrato etanólico com $38,5 \pm 1,4$ mm de diâmetro médio a 50% e de $11,0 \pm 0,0$ mm a 10%. No extrato hexânico a 50% apresentou halo de $11,0 \pm 0,0$ mm.

Há diversos trabalhos publicados a respeito da *S. officinalis* como antimicrobiano, atuando em bactérias diferentes. A pesquisa realizada por Pereira et al. (2004), com óleo essencial de *S. officinalis*, mostrou atividade contra *E. coli* e não contra *P. aeruginosa*. Note-se que a pesquisa não foi realizada com extrato. Bara e Vanetti (1997/1998) observaram, no extrato etanólico, a formação de halos de inibição do crescimento de *S. aureus* de 4,9 mm, considerado insignificante. Na pesquisa relatada por Nascimento et al. (2000), os resultados da atuação dos extratos sobre as bactérias *S. aureus*, *P. aeruginosa* e *E. coli* foram negativas. Segundo Abu-Shanab et al. (2004), os extratos aquosos e etanólicos de *S. officinalis* possuem atividade inibitória sobre *E. coli*. Já na pesquisa de Velickovic et al. (2003), o extrato etanólico das folhas de *S. officinalis* não apresentou zona de inibição para cepas puras de *E. coli* e de *P. aeruginosa*. Essas diversidades de resultados podem ser causadas por fatores como clima, solo, nutrição e diferentes métodos empregados.

Nos extratos etanólico, cetônico, clorofórmico, hexânico e aquoso de *C. citratus*, *O. gratissimum*, *L. nepetaefolia* e *S. rhombifolia* não foram observados atividade antimicrobiana sobre as três espécies de bactérias testadas.

Os diferentes pesquisadores, Boorherm et al. (1999), Martins et al. (2003), Pereira et al. (2004) e Matos (2004) relatam atividade antibacteriana de *C.*

citratus apenas do óleo essencial, que contém geraniol e citral, sem especificar as espécies bacterianas. No trabalho de Schuck et al. (2001), os extratos aquosos de infuso e decocto de folhas frescas de *C. citratus* também foram negativas para *S. aureus* e *E. coli*. Os testes não foram realizados com *P. aeruginosa*. Segundo Negrelle e Gomes (2007), o óleo essencial obtido de *C. citratus* possui atividade antibacterina em cerca de 20 espécies de bactérias testadas.

O. gratissimum não apresentou atividade antibacteriana neste estudo, resultado condizente com a pesquisa realizada por Adebolu e Oladimeji (2005), com extratos aquosos a frio e a quente, com folhas frescas.

Conforme Matos (2002), o óleo essencial de *O. gratissimum* possui atividade anti-séptica local contra *S. aureus*, mas não o extrato. Também Nakamura et al. (1999) demonstraram que o óleo essencial desta planta possui atividade antimicrobiana contra *S. aureus* e *E. coli*, mas não contra *P. aeruginosa*. Matos et al. (2004) relatam que o óleo essencial é bactericida utilizado em odontologia. Os resultados diferentes encontrados nesses trabalhos provavelmente se deve à pequena quantidade de óleo presente nos extratos e à metodologia empregada para a extração do óleo essencial.

As outras plantas que não apresentaram atividade antibacteriana em nenhum dos extratos foram *L. nepetaefolia* e *S. rhombifolia*. Lorenzi e Matos (2002) mencionam a atividade bacteriostática da *L. nepetaefolia*, sem especificar as espécies bacterianas e Martins et al. (2003) não relatam indicações para finalidade antibacteriana. Segundo Lorenzi e Matos (2002), *S. rhombifolia* apresenta ação antimicrobiana contra *S. aureus* e *E. coli*, o que não foi verificada neste trabalho. Essas diferenças entre os diversos trabalhos podem ser causadas por fatores ambientais (climáticos, solo, nutrição), diferentes métodos empregados, diferentes formas de obtenção dos extratos e mesmo diferentes linhagens genéticas.

Conclusões

Os resultados encontrados permitem verificar que as plantas *R. officinalis*, *B. pilosa*, *O. majorana* e *S. officinalis* possuem a capacidade de inibir as bactérias patogênicas, comprovando que possuem atividade antimicrobiana e constituem perspectivas para a obtenção de antibióticos naturais. Os estudos devem ser aprofundados quanto à caracterização química, farmacológica e toxicológica para obtenção de fármacos naturais, seguros, estáveis e eficientes, que poderão servir como modelos para o desenvolvimento de moléculas sintéticas apropriadas para a produção de antimicrobianos específicos.

Referências

- ABU-SHANAB, B. et al. Antibacterial activities of some lant extracts utilized in popular medicine in Palestine. **Turkish Journal of Biology**, v. 28, p. 99-102, 2004.
- ADEBOLU, T. T.; OLADIMEJI, S. A. Antimicrobial activity of leaf extracts of *Ocimum gratissimum* on selected diarrhoea causing bacteria in southwestern Nigeria. **African Journal of Biotechnology**, v. 4, n.7, p. 682-684, July, 2005.
- ANDREMONT, A. The future control of bacterial resistance to antimicrobial agents. **American Journal of Infect Control**, v. 29, p. 256-225, 2001.
- BARA, M. T. F.; VANETTI, M. C. D. Estudo da atividade antibacteriana de plantas medicinais, aromáticas e corantes naturais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 7-8 n.1-2, p. 22-34, 1997/1998.
- BOORHEM, R. L. et al. **Segredos e virtudes das plantas medicinais**. Rio de Janeiro: Reader's Digest Brasil. 1999.
- BRODY, T. M. et al. **Farmacologia humana: da molecular a clinica**. 2. ed. Rio de Janeiro: 1997.
- CASTELLUCCI, S. et al. Plantas medicinais relatadas pela comunidade residente na Estação Ecológica de Jataí, município de Luís Antonio/SP: uma abordagem etnobotânica. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.3. n.1, p. 51-60, 2000.
- CECHINEL FILHO, V. Principais avanços e perspectivas na área de produtos naturais ativos: estudos desenvolvidos no NIQFAR/Univali. **Química Nova**, v. 23, p. 680, 2000.
- CORRÊA, A. D.; SIQUEIRA-BATISTA, R.; QUINTAS, L. E. M. **Plantas medicinais: do cultivo à terapêutica**. 2. ed. Petrópolis: Vozes, 1998.
- DI STASI, L. C. (Org.). **Plantas medicinais, arte e ciência um guia de estudo interdisciplinar**. São Paulo: UNESP. 1996. 230 p.
- DULGER, B.; GONUZ, A. Antimicrobial activity of certain plants used in Turkish traditional medicine. **Asian Journal of Plant Sciences**, v.3, n.1, p. 104-107, 2004.
- GARCIA, D. et al. Estudio farmacognóstico de *Ocimum gratissimum* L. (orégano cimarrón). **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 3, n.1, p.31-36, 1998.
- GONÇALVES, A. L.; ALVES FILHO, A.; MENEZES, H. Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas. **Arquivos Instituto Biológico**, v. 72, n.3, p. 353-358, 2005.
- LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: Rima, 2000.
- LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002.
- MACHADO, J. O.; SANTOS, E.; LEFÈVRE, A. F. V. Atividade antibacteriana de extratos de *Bidens pilosa* L. **Revista Ciências Farmacêuticas**, v.10, p. 55-62, 1988.
- MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. **Microbiologia de Brock**. 10. ed. São Paulo: Prentice Hall, 2004.
- MARTÍNEZ, M. J.; MOLINA, N.; BOUCORT, E. Evaluación de la actividad antimicrobiana del *Psidium guajava* L. (guayaba). **Revista Cubana de Plantas Medicinais**, v. 2, n.1, p. 12-14, 1997.
- MARTINS, E. R. et al. **Plantas medicinais**. 5. ed. Viçosa: UFV, 2000.
- MATOS, F. J. de A. **Farmácias vivas: sistema de utilização de plantas medicinais projetado para pequenas comunidades**. Fortaleza: UFC, 2002.
- _____. **Constituintes químicos ativos e propriedades biológicas de plantas medicinais brasileiras**. Fortaleza: UFC, 2004.
- MELO, G. B. de et al. Efeitos do extrato aquoso da *Hyptis pectinata* sobre a regeneração hepática após hepatectomia parcial de 70%. Resultados preliminares. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v.16 Suppl.1 São Paulo, 2001.
- NAKAMURA, C. V. et al. Antibacterial activity of *Ocimum gratissimum* L. essential oil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 94, n. 5, Sept. 1999.
- NASCIMENTO, G. G. F. et al. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 31, p. 247-256, 2000.
- NEGRELLE, R. R. B.; GOMES, E. C. *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf: chemical composition and biological activities. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 9, n.1, p. 80-92, 2007.

NOVAK, J. et al. Essential oil compounds in a historical sample marjoram (*Origanum majorana* L. (Lamiaceae)). **Flavour and Fragrance Journal**, v.17, n. 3, p. 175-180, 2002.

PEREIRA, R. S. et al. Atividade antibacteriana de óleos essenciais em cepas isoladas de infecção urinária. **Revista Saúde Pública**, v. 38, n. 2, abr. 2004.

RESCHKE, A.; MARQUES, L. M.; MAYWORM, M. A. S. Atividade antibacteriana de *Ficus benjamina* L. (Moraceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 9, n. 2, p. 67-70, 2007.

SCHUCK, V. J. A. et al. Avaliação da atividade antimicrobiana de *Cymbopogon citrates*. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 37, n.1, jan./abr. p. 45-49, 2001.

SILVA, P. **Farmacologia**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

SILVA, R. L. et al. Efeito do extrato aquoso da *Hyptis pectinata* sobre a proliferação de hepatócitos após hepatectomia parcial. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.17. Suplemento 3, p.101-105, 2002.

SIMÔES, O. M. C. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre; Florianópolis: UFRGS/UFSC, 2003. p. 14-15.

SOUZA, E. L.; LIMA, E. O.; NARAIN, N. Especiarias: uma alternativa para o controle de qualidade sanitária e de vida útil de alimentos, frente às novas perspectivas da indústria alimentícia. **Higiene alimentar**, v.17, p. 28-42, 2003.

VELICKOVIC, D. T. et al. Chemical constituents and antimicrobial activity of the ethanol extracts obtained from the flower, leaf and stem of *Salvia officinalis* L. **Journal of the Serbian Chemical Society**, v. 68, n. 1, p. 17-24, 2003.

VERA, R. R.; CHANE-MING, J. Chemical composition of the essential oil of marjoram (*Origanum majorana* L.) from Reunion Island. **Food Chemistry**, v. 66, n. 2, p. 143-145, 1999.

YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. (Orgs.). **Plantas medicinais sob a ótica da moderna química medicinal**. Chapecó: Argos, 2001.

Recebido em: 18/07/2007

Aceito em: 07/04/2008

Received on: 18/07/2007

Accepted on: 07/04/2008