

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE *Hyptis leucocephala* CULTIVADA

Girlene Souza Jesus¹; Angélica Maria Lucchese², Edna Dória Peralta³, Lenaldo Muniz Oliveira⁴, Gabriela Carinhanha Silva⁵

¹ Bolsista PIBIC/CNPq, Graduando em Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: Girlesj@hotmail.com

² Orientador, Departamento de Ciências Exatas, Laboratório de Química de Produtos Naturais e Bioativos (LAPRON), Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: angelica.lucchese@gmail.com

³ Laboratório de Química de Produtos Naturais e Bioativos (LAPRON), Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: edna.peralta@gmail.com

⁴ Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: lenaldo.uefs@gmail.com

⁵ Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: gabicarinhanha@gmail.com

PALAVRAS-CHAVE: plantas medicinais, adubação, atividade antimicrobiana.

INTRODUÇÃO

Cerca de 75% da população mundial utiliza as plantas medicinais no tratamento de enfermidades, devido a algumas características, como eficácia, baixo risco, reprodutibilidade e constância de qualidade (CARVALHO et al., 2010).

Diversas espécies do gênero *Hyptis* possuem estudos onde abordam seus aspectos químicos, etnofarmacológicos e farmacológicos (URONES, 1998). As espécies deste gênero são em sua maioria aromáticas, com grande potencial econômico devido a sua produção de óleos essenciais. Segundo Botrel et al (2010) os óleos essenciais secretados neste gênero têm importante ação farmacológica, como anestésico, antiespasmódico, anti-inflamatório, além de abortivo em doses elevadas

Mesmas espécies de plantas podem variar seus mecanismos de defesa frente a condições ambientais distintas, levando, conseqüentemente, a produção de diferentes metabólitos secundários. Fatores como condições de cultivo, tipo de solo, partes da planta analisada podem influenciar no teor e na composição química dos óleos essenciais. Todos esses aspectos são de fundamental importância quando se realiza o desenvolvimento de trabalhos de melhoramento de uma espécie medicinal visando à aplicação fitoterapêutica, uma vez que a qualidade dos óleos essenciais está ligada a sua constituição química (MARTINS et al., 2006).

Devido a essa variabilidade foi desenvolvido o projeto com o intuito de estudar o potencial antimicrobiano de *Hyptis leucocephala* cultivada observando se a variação da adubação influenciaria na atividade antimicrobiana da planta.

METODOLOGIA

Inicialmente as plantas foram cultivadas no Horto florestal em tratamentos de adubação com diferentes composições como descrito no quadro abaixo:

| Quadro de Tratamentos (T)* | | | | | |
|--|--|--|---|---|---|
| T1 - Nitrogênio 120 kg Ha-1 de N | T2 – Fósforo - 120 kg Ha-1 de P2O5 | T3 – Potássio - 120 kg Ha-1 de K20 | T4 – Fórmula NPK ¹ 10:10:10 | T5 – Fórmula NPK 13:13:13 + Micronutrientes | T6 – Controle (sem adubação suplementada) |

* Em todos os tratamentos foi realizada uma adubação básica com composto orgânico na proporção de 8 kg por m².

¹ NPK – Nitrogênio (N), Fósforo (P), Potássio (K). Sigla utilizada em estudos vegetais que designa os três nutrientes principais para as plantas, também chamados de macronutrientes.

Os extratos metanólicos foram preparados pelo processo de extração em metanol, com o auxílio do banho em ultra-som. O solvente foi removido por destilação à pressão reduzida com auxílio de um evaporador rotativo.

Para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi utilizado o ensaio de susceptibilidade por microdiluição em caldo recomendado pelo NCCLS (2002). Os testes foram realizados em caldo Müeller-Hinton frente a *Staphylococcus aureus* CCMB263; *Staphylococcus aureus* CCMB262; *Micrococcus luteus* CCMB283; *Bacillus cereus* CCMB282; *Escherichia coli* CCMB261; *Salmonella choleraesuis* CCMB281 e *Candida albicans* CCMB4386. Os extratos das amostras foram solubilizados em dimetilsulfóxido (DMSO) a 50%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tabela 1 estão apresentados os resultados de rendimentos de extratos metanólicos brutos obtidos por maceração em metanol.

Tabela 1 - Rendimento de extratos metanólicos obtidos a partir de 5 g de amostra

| Partes da planta | Rendimentos em gramas/em porcentagem | | | | | |
|------------------|--------------------------------------|------------------|-------------------|-------------------|------------------|------------------|
| | T1 | T2 | T3 | T4 | T5 | T6 |
| Folhas | 0,48 g / 9,6% | 0,44 g / 8,8% | 0,53 g / 10,6% | 0,53 g / 10,6% | 0,46 g / 9,2% | 0,46 g / 9,2% |
| Inflorescências | 0,24 g / 4,8% | 0,16 g / 3,2% | 0,31 g / 6,2% | 0,19 g / 3,8% | 0,25 g / 5,0% | 0,21 g / 4,2% |
| Caules | 0,43 g / 8,6% | 0,41 g / 8,2% | 0,56 g / 11,2% | 0,49 g / 9,8% | 0,47 g / 9,4% | 0,48 g / 9,6% |

Todos os extratos preparados foram submetidos aos ensaios de atividade antimicrobiana com determinação da concentração inibitória mínima e concentração bactericida mínima, conforme resultados apresentados nas Tabelas 2 e 3. Como no ensaio de determinação da CIM os extratos foram solubilizados com sulfóxido de dimetila (DMSO) a 50%, a atividade antimicrobiana deste solvente também foi separadamente avaliada, pois segundo Ribeiro et al. (2001) este solvente por penetrar rapidamente através das membranas biológicas pode atuar como agente antimicrobiano ou potencializar esta atividade. Desta forma a CIM do DMSO e a CBM foram também determinadas e estão inclusos na tabela 3.

Os extratos metanólicos HLFT1, HLFT2 e HLFT6 foram ativos frente a todas as bactérias avaliadas, possuindo assim, em comparação com as demais amostras, o maior espectro de atuação. A atividade antibacteriana desenvolvida pela *H. leucocephala* exposta a adubação do tratamento 1 se assemelha bastante a atividade desenvolvida pela *H. leucocephala* que não foi exposta a nenhum tipo especial de adubação, ou seja, a planta controle. Os resultados obtidos indicam que a adubação com nitrogênio (HLFT1) e a orgânica do controle (HTFL6) se mostraram como as mais efetivas para cultivo pelo amplo espectro de ação antibacteriana.

O HLCT2 apresentou resultados superiores ao tratamento controle (HLCT6) frente à bactéria *E. coli* e a levedura *C. albicans* evidenciando a interferência positiva da adubação diferencial com fósforo indicando que está adubação propiciou a produção de metabolitos pela *Hyptis leucocephala* que tornaram a *E. coli* e a *C. albicans* mais

sensíveis a ação deste extrato. Os extratos de caule de todos os tratamentos se apresentam com caráter bacteriostático frente à bactéria *M. luteus*.

Tabela 2. Concentrações Inibitórias Mínimas dos extratos metanólicos de folhas *H. leucocephala*

| Concentrações Inibitórias Mínimas (CIM em mg.mL ⁻¹) / Concentração Bactericida Mínima (CBM em mg.mL ⁻¹) e Concentração Fungicida Mínima (CFM em mg.mL ⁻¹) | | | | | | |
|---|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | HLF T1 | HLF T2 | HLF T3 | HLF T4 | HLF T5 | HLF T6 |
| <i>E. coli</i> CCMB 261 | | | | | | |
| CIM | 4,995 | 4,995 | 9,99 | 9,99 | 9,99 | 4,995 |
| CBM | 4,995 | 4,995 | 9,99 | 9,99 | 9,99 | 4,995 |
| <i>S. aureus</i> CCMB 262 | | | | | | |
| CIM | 1,249 | 2,498 | 4,995 | 2,498 | 2,498 | 2,498 |
| CBM | 2,498 | 2,498 | 4,995 | 4,995 | 4,995 | 2,498 |
| <i>S. aureus</i> CCMB 263 | | | | | | |
| CIM | 1,249 | 2,498 | 4,995 | 2,498 | 2,498 | 2,498 |
| CBM | 1,249 | 2,498 | 4,995 | 2,498 | 2,498 | 2,498 |
| <i>S. choleraesuis</i> CCMB 281 | | | | | | |
| CIM | 4,995 | 4,995 | 4,995 | 2,498 | 4,995 | 2,498 |
| CBM | 4,995 | 4,995 | 4,995 | 2,498 | 4,995 | 2,498 |
| <i>B. cereus</i> CCMB 282 | | | | | | |
| CIM | 2,498 | 4,995 | 2,498 | 1,249 | 0,624 | 0,624 |
| CBM | 2,498 | 4,995 | 2,498 | 1,249 | 0,624 | 0,624 |
| <i>M. luteus</i> CCMB 283 | | | | | | |
| CIM | 4,995 | 4,995 | 9,99 | 9,99 | 2,498 | 4,995 |
| CBM | 4,995 | * | * | * | * | * |
| <i>C. albicans</i> CCMB 286 | | | | | | |
| CIM | 19,98 | 19,98 | 19,98 | 19,98 | 19,98 | 19,98 |
| CFM | * | * | * | * | * | * |

*Ação bacteriostática

Tabela 3. Concentrações Inibitórias Mínimas dos extratos metanólicos de caule *H. leucocephala* e do DMSO

| Concentrações Inibitórias Mínimas (CIM em mg.mL ⁻¹) / Concentração Bactericida Mínima (CBM em mg.mL ⁻¹) e Concentração Fungicida Mínima (CFM em mg.mL ⁻¹) | | | | | | | |
|---|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------------|
| | HLC T1 | HLC T2 | HLC T3 | HLC T4 | HLC T5 | HCF T6 | DMSO a 50% |
| <i>E. coli</i> CCMB 261 | | | | | | | |
| CIM | 9,99 | 4,995 | 9,99 | 4,995 | 4,995 | 9,99 | 9,99 (12,5%) |
| CBM | 9,99 | 4,995 | 9,99 | 4,995 | 4,995 | 9,99 | 9,99 (12,5%) |
| <i>S. aureus</i> CCMB 262 | | | | | | | |
| CIM | 4,995 | 4,995 | 4,995 | 4,995 | 4,995 | 4,995 | 19,98 (25%) |
| CBM | 4,995 | 4,995 | 4,995 | 4,995 | 4,995 | 4,995 | 19,98(25%) |
| <i>S. aureus</i> CCMB 263 | | | | | | | |
| CIM | 9,99 | 9,99 | 9,99 | 9,99 | 9,99 | 9,99 | 9,99 (12,5%) |
| CBM | * | * | * | * | * | * | 9,99 (12,5%) |
| <i>S. choleraesuis</i> CCMB 281 | | | | | | | |
| CIM | 4,995 | 4,995 | 4,995 | 4,995 | 4,995 | 4,995 | 9,99 (12,5%) |
| CBM | 4,995 | 4,995 | 4,995 | 4,995 | 4,995 | 4,995 | 19,98(25%) |
| <i>B. cereus</i> CCMB 282 | | | | | | | |
| CIM | 4,995 | 4,995 | 4,995 | 2,498 | 2,498 | 4,995 | 9,99 (12,5%) |
| CBM | 4,995 | 4,995 | 4,995 | 2,498 | 2,498 | 4,995 | 19,98 (25%) |
| <i>M. luteus</i> CCMB 283 | | | | | | | |
| CIM | 9,99 | 9,99 | 9,99 | 9,99 | 9,99 | 9,99 | 9,99 (12,5%) |
| CBM | * | * | * | * | * | * | * |

| <i>C. albicans</i> CCMB 286 | | | | | | | |
|-----------------------------|-------|-------|---|-------|-------|---|-------------|
| CIM | 19,98 | 19,98 | - | 19,98 | 19,98 | - | 19,98 (25%) |
| CFM | * | 19,98 | # | 19,98 | * | # | * |

*Ação bacteriostática. # teste não realizado. - sem inibição do crescimento bacteriano.

Analisando-se os resultados de avaliação da atividade antimicrobiana observa-se uma variação entre os valores de concentração inibitória mínima dos extratos obtidos da espécie *Hyptis leucocephala* cultivada em diferentes adubações.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Dessa forma pode-se concluir que a espécie *H. leucocephala* apresenta atividade antimicrobiana em todos os seus diferentes cultivos, com melhores resultados frente as bactérias Gram positivas que frente as Gram negativas. Entre os extratos testados, os extratos das folhas foram os mais ativos frente a um número maior de bactérias. Os menores valores de CIM foram obtidos pelos extratos de folhas e caule de *Hyptis leucocephala* frente a *B. cereus*. A *H. leucocephala* não apresenta boa atividade antifúngica frente à levedura *Candida albicans*, mesmo cultivada em diferentes adubações.

Estudos posteriores de determinação da composição química destes extratos devem ser realizados, pois se a adubação diferenciada modificou a atividade antimicrobiana, também alterou a produção de metabolitos secundários. Assim conhecer quais os compostos que estão presentes e quais são majoritários ou minoritários desta planta cultivada favorece a obtenção de informações que garantam a reprodutibilidade e justifiquem os resultados obtidos.

REFERÊNCIAS

- BOTREL, P. P. et al. Teor e composição química do óleo essencial de *Hyptis marrubioides* Epl., Lamiaceae em função da sazonalidade. Acta Scientiarum. Agronomy: Maringá, v. 32, n. 3, p. 533-538, 2010.
- CARVALHO, L. M. et al. Qualidade em Plantas medicinais. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2010.
- CORRÊA, A. D.; SIQUEIRA-BATISTA, R.; QUINTAS, L. E. M. Plantas Mediciniais: do cultivo à terapêutica. Petrópolis: Vozes, 2008. v.1. 247 p.
- MARTINS, F. T. et al. Variação Química do Óleo Essencial de *Hyptis suaveolens* (L.) Poit., sob condições de cultivo. Química Nova. v. 29, n. 6, 1203-1209, 2006.
- NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test. Sixth ed. Approved Standart M2-A6, Wayne, PA, 2002.
- RIBEIRO, M.G. et al. Dimetilsulfóxido - DMSO no teste de sensibilidade microbiana *in vitro* em cepas de *Rhodococcus equi* isoladas de afecções pulmonares em potros.
- URONES, J. G. et al. Triclicic diterpenes from *Hyptis dilatata*. Phytochemistry, v. 48, n. 6, p.1035-1038, 1998.