



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE ANANINDEUA
FACULDADE DE QUÍMICA

STELLA MARTINS CASTRO

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIBACTERIANO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE
Lippia organoides* e *Piper divaricatum

Ananindeua, PA
2022

STELLA MARTINS CASTRO

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIBACTERIANO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE
Lippia origanoides e *Piper divaricatum***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Química, do Campus Universitário de Ananindeua, da Universidade Federal do Pará - UFPA, em cumprimento às exigências para a obtenção do grau de Licenciatura em Química.

Orientador: Prof. Dr. Fernando Augusto Miranda da Costa

Coorientador: Prof. Dr. Alcy Favacho Ribeiro

Ananindeua, PA

2022

STELLA MARTINS CASTRO

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIBACTERIANO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE
Lippia origanoides e *Piper divaricatum***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Química, do Campus Universitário de Ananindeua, da Universidade Federal do Pará - UFPA, em cumprimento às exigências para a obtenção do grau de Licenciatura em Química.

Data da Aprovação: ___/___/_____

Conceito: _____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Fernando Augusto Miranda da Costa
Orientador e Presidente da Banca - UFPA

Prof. Dr. Alcy Favacho Ribeiro
Coorientador - UFPA

Prof. Dra. Diandra Araújo da Luz
Docente do Curso de Farmácia da Universidade da Amazônia

Dr. Mozaniel Santana de Oliveira
Pesquisador do Programa de Capacitação Institucional no Museu Paraense Emílio
Goeldi

Ananindeua, PA

2022

Dedico este trabalho a todo esforço e dedicação durante minha trajetória acadêmica.

AGRADECIMENTOS

Inicialmente gostaria de agradecer em especial a minha mãe Rosana Martins que não mediu esforços para minha criação e me deu grandes exemplos de como ser e agir diante todas as dificuldades. Ao meu pai e aos meus tios Wilson Martins, Lucia Martins e Paulo Gonçalves que tiveram grande importância durante minha evolução pessoal e acadêmica. Além de serem grandes incentivadores do meu crescimento.

Agradeço aos meus amigos Ariane Freitas, Annanda Pires, Lucio Lima por todo apoio, segurança, brincadeiras, e confiança durante toda a minha trajetória acadêmica. Por tornarem mais leves os dias na faculdade, e pela paciência (apesar de eu ser maravilhosa) nos meus momentos de estresse, dificuldade e principalmente na hora do “desespero” - Afinal, éramos um grupo incrível, e faria sempre panelinha com vocês. Agradeço aos demais amigos Emilay Tavares, Patricia Lima, Mylla Marciel, Karen Borges, Isabela Costa, Damares Barbosa por me proporcionarem momentos de alegria e descontração.

Aos meus professores, em especial Janes Kened e Heloisy Freitas, apesar de serem extremamente exigentes (porém, maravilhosas), me deram exemplos de como ser uma grande profissional e educadora. Toda equipe da faculdade, a equipe de bolsistas, preceptores e orientadores nas quais eu pude fazer parte e aprimorar meus conhecimentos. Ao técnico e “chefe” Jhonny Ramos por toda sua paciência e dedicação perante às atividades desenvolvidas no laboratório, além de ser um ótimo educador.

Ao meu orientador Fernando Costa que teve a paciência e disponibilidade de me conduzir durante essa pesquisa, sem ao menos me conhecer. E a minha (outra) orientadora Diandra Luz por abrir minha mente sobre ideais e projetos, e me encaminhar academicamente.

Às minhas amigas Janine Brasil e Jhennyffer Barbosa por toda força e apoio em momentos de fragilidade e questionamento.

Ao meu primo Victor Martins, que foi o primeiro a me incentivar a entrar na “Federal”, talvez ele não saiba o quanto ele foi essencial nessa decisão.

E aos meus amigos e familiares que contribuíram durante minha formação.

“A natureza tem para tudo seu objetivo”

(Aristóteles)

RESUMO

Acredita-se que o Brasil, por conter uma vasta diversidade de espécies vegetais, possui grande potencial na prospecção de ativos com atividade farmacológica e aplicabilidade medicinal. Dentre as espécies que se destacam com atividade biológica, estão a *Lippia organoides* e *Piper divaricatum* que apresentam moléculas na composição dos óleos essenciais com propriedades antibacterianas. O presente artigo tem como objetivo investigar a atividades antibacterianas dos óleos essenciais das espécies *Lippia organoides* e *Piper divaricatum* frente às bactérias *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterococcus faecalis*, através de testes de Disco-difusão e Concentração Inibitória Mínima. Foi identificado um grande potencial antimicrobiano nesses óleos, favorável ao desenvolvimento de novos medicamentos de amplo espectro que podem fornecer menor grau de toxicidade e mais eficientes.

Palavras-chave: Atividade Biológica. Bioprospecção. Plantas medicinais. Antimicrobiana.

ABSTRACT

It is believed that Brazil, for containing a vast diversity of plant species, has great potential in the prospecting of assets with pharmacological activity and medicinal applicability. Among the species that stand out with biological activity are *Lippia origanoides* and *Piper divaricatum* that present molecules in the composition of essential oils with antibacterial properties. This paper aims to investigate the antibacterial activity of the essential oils from *Lippia origanoides* and *Piper divaricatum* species against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Enterococcus faecalis* bacteria, through Disc-diffusion and Minimum Inhibitory Concentration tests. A great antimicrobial potential was identified in these oils, favorable to the development of new broad-spectrum drugs that can provide a lower degree of toxicity and more efficiency.

Keywords: Biological activity. Bioprospecting. Medicinal plants. Antimicrobial.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Resultado das médias e desvios padrão dos halos de inibição bacteriana.....	19
Tabela 2 - Resultado da Concentração Mínima Inibitória (mg/mL).....	19

LISTA DE SIGLAS

BHI	Brain Heart Infusion
MBC	Concentração Bactericida Mínima
MHC	Caldo Müller Hinton
MIC	Concentração Inibitória Mínima
OH	Hidroxila
OMS	Organização Mundial de Saúde
TTC	Cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	11
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	12
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	15
3.1 Matéria prima.....	15
3.2 Preparação das amostras.....	15
3.3 Cepas Bacterianas.....	16
3.4 Teste de Sensibilização no Disco-difusão.....	16
3.5 Determinação da Concentração Inibitória Mínima.....	17
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	18
5 CONCLUSÃO.....	21
REFERÊNCIAS.....	22

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIBACTERIANO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Lippia organoides* e *Piper divaricatum*

Stella Martins Castró

Fernando Augusto Miranda da Costa²

Alcy Favacho Ribeiro³

RESUMO: Acredita-se que o Brasil, por conter uma vasta diversidade de espécies vegetais, possui grande potencial na prospecção de ativos com atividade farmacológica e aplicabilidade medicinal. Dentre as espécies que se destacam com atividade biológica, estão a *Lippia organoides* e *Piper divaricatum* que apresentam moléculas na composição dos óleos essenciais com propriedades antibacterianas. O presente artigo tem como objetivo investigar a atividades antibacterianas dos óleos essenciais das espécies *Lippia organoides* e *Piper divaricatum* frente às bactérias *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterococcus faecalis*, através de testes de Disco-difusão e Concentração Inibitória Mínima. Foi identificado um grande potencial antimicrobiano nesses óleos, favorável ao desenvolvimento de novos medicamentos de amplo espectro que podem fornecer menor grau de toxicidade e mais eficientes.

Palavras-chave: Atividade Biológica. Bioprospecção. Plantas medicinais. Antimicrobiana.

1 INTRODUÇÃO

As plantas medicinais apresentam grande importância para a descoberta de novos compostos com atividade biológica, sendo uma das práticas terapêuticas mais

¹*Discente de Licenciatura em Química. Universidade Federal do Pará. E-mail: stella.castro@ananindeua.ufpa.br

² Docente do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará. Doutor em Ciências Médicas (Dermatologia) pela Universidade de São Paulo. E-mail: fernandoamc@ufpa.br

³ Docente da Faculdade de Química da Universidade Federal do Pará. Doutor em Química pela Universidade Federal do Pará. E-mail: favacho@ufpa.br

antigas empregadas pelos homens (MACEDO, 2016), uma vez que possuem componentes que apresentam diversas propriedades como: antioxidante, anti-inflamatória, antiviral, antifúngica, analgésica, sedativa, espasmolíticas, antimicrobiana, dentre outras (ZAGO, 2018).

De acordo com estudos da Organização Mundial de Saúde (OMS), cerca de 80% da população se utiliza da medicina tradicional (com uso de plantas) para o tratamento de suas enfermidades. E apesar disso, mais de 85% das espécies são desconhecidas, principalmente no Brasil que comporta uma grande biodiversidade de espécies vegetais (DUTRA, 2019; ZAGO, 2018). Logo, torna-se imprescindível o estudo desses vegetais para investigação de suas propriedades medicinais e sua viabilidade comercial (ALMEIDA; ALMEIDA; GHERARDI, 2020).

As propriedades que conferem importância medicinal, estão dispostas em seus metabólitos secundários, os quais podem estar presentes nos óleos essenciais. Esses, que por sua vez, são substâncias voláteis, que fornecem proteção às plantas e são responsáveis por fornecer substâncias com variadas atividades biológicas (DE SÁ-FILHO et al., 2021; ZAGO, 2018).

Assim, espécies como *Lippia origanoides* e *Piper divaricatum*, demonstram-se bastante promissoras para a investigação farmacológica, devido sua composição ser rica em metabólitos secundários que lhe conferem, principalmente, propriedades antimicrobianas (QUEIROZ et al., 2014; RIBEIRO et al., 2021), tornando-as uma alternativa viável na prospecção de ativos com ação biocida, diante da disseminação de microrganismos resistentes como bactérias a diversos fármacos já existentes (BAPTISTA, 2017).

Este artigo tem como objetivo investigar o potencial antibacteriano dos óleos essenciais das espécies *Lippia origanoides* e *Piper divaricatum* frente às bactérias *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterococcus faecalis*.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

A utilização de plantas para fins medicinais, sejam eles profiláticos, curativos e paliativos constitui uma das práticas mais antigas adotada pela civilização (ALVES et al., 2019), principalmente, por estarem ligados ao conhecimento popular, baixo custo, facilidade na obtenção e preparo de tais produtos naturais (ZAGO, 2018).

Frente a isto, diversas pesquisas vêm sendo realizadas com o objetivo de investigar as atividades biológicas, propriedades terapêuticas e eficácia desses vegetais para que os mesmos possam ser utilizados pela indústria farmacêutica na produção de novos medicamentos (DUTRA, 2019; SILVA, et al., 2019).

Segundo Fonseca e Pereira (2013), a OMS estima que cerca de 80% da população mundial utiliza plantas medicinais ou fitoterápicos para o tratamento de suas enfermidades. Destacando a necessidade de estudos voltados à busca e comprovação desses bioativos vegetais, principalmente, por serem de primeira escolha para o tratamento durante a atenção primária à saúde (SILVA et al., 2019).

O Brasil constitui um país com uma grande biodiversidade que contempla cerca de 55 mil das 500 mil espécies vegetais catalogadas no mundo, e apenas 25% dos fitoterápicos são oriundos da América do Sul. Contudo, menos de 15% das espécies foram investigadas quanto à sua aplicação medicinal. Logo, torna-se essencial a pesquisa de novas espécies com o objetivo de buscar novas substâncias e princípios ativos para serem utilizados como medicamentos, além de, conferir novas aplicações aos já conhecidos (de SÁ-FILHO et al., 2021; DUTRA, 2019; ZAGO, 2018).

Sabe-se que as substâncias responsáveis pelas atividades biológicas dos vegetais, estão relacionadas aos seus metabólitos secundários. Estes participam do processo de resistência através de sua proteção contra herbívoros, patógenos, raios ultravioletas (UV). Ademais, eles também fornecem suporte mecânico durante o crescimento ou encolhimento das plantas (de SÁ-FILHO et al., 2021). Eles podem variar qualitativamente e quantitativamente de acordo com a necessidade do organismo, além de variações genéticas, ambientais, temperatura, cultivo, entre outros (DUTRA, 2019).

Dentre os principais metabólitos formados a partir de plantas, estão os óleos essenciais que exercem diferentes funções biológicas, sendo importantes alvos da indústria farmacêutica para a produção de novos fármacos. Os óleos essenciais são substâncias líquidas, bioativas, complexas, voláteis, lipofílicas, com forte odor oriundo de seus constituintes, conferindo-lhe também propriedades farmacológicas antivirais, antifúngicas, analgésicas, sedativas, anti-inflamatórias, espasmolíticas, e principalmente com grande potencial antibacteriano (ALMEIDA; ALMEIDA; GHERARDI, 2020; de SÁ-FILHO et al., 2021; ZAGO, 2018).

Dentre os vegetais ricos em óleos essenciais, encontrados na Região Amazônica, estão a *Lippia origanoides* e *Piper divaricatum*. A *L. origanoides*, popularmente conhecida como alecrim-pimenta, alecrim-do-nordeste e estrepa-cavalo é uma planta pertencente à família das Verbenaceae. Esta família encontra-se amplamente distribuída pelas zonas tropicais e temperadas das Américas, África e Índia. O alecrim-pimenta é uma planta nativa dos países pertencentes à América Latina, especialmente nas Regiões Amazônicas, onde seus óleos essenciais conferem atividades antimicrobianas, sendo utilizadas tradicionalmente para infecções na garganta, gastroentéricas e tópicas, além de também ser empregada para analgesia, sedação, e como expectorante (QUEIROZ et al., 2014; RIBEIRO et al., 2021).

Na pesquisa preliminar da composição fitoquímica das plantas em questão, a *L. origanoides* possui como compostos majoritários o carvacrol, timol, α -pineno, 1,8-cineol, γ -terpineno, β -cariofileno (BORGES, 2022). Como encontrado em análises realizadas no Embrapa da Amazônia Ocidental em Manaus-AM, onde a espécie apresentou cerca de 18 constituintes, principalmente, o carvacrol (49,7%), o p-cimeno (13,3%) e o timol (9,9%). Ribeiro et al. (2021), dos 28 componentes encontrados, em maioria havia o 1,8-cineol (35,04%), carvacrol (11,32%) e p-cimeno (35,04%), como classe predominante os monoterpenos oxigenados (56%,57) e hidrocarbonetos monoterpênicos (35,73%). Em Teixeira (2013), o carvacrol (39,80%), p-cimeno (19,59%) e γ -terpineno (18,08%) apresentaram destaque, dentre o dos 19 componentes investigados.

Por sua vez, a *Piper divaricatum* é pertencente à família da Piperaceae, normalmente encontrada em regiões tropicais e temperadas, apresentando alturas em torno de 1-10 metros. Ela é popularmente conhecida como pau-de-angola, sendo distribuída nos estados de Pernambuco, Bahia, Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro e amplamente encontrada na Floresta Amazônica em estados como Amazonas e Pará. Apresenta raízes aromáticas, de sabor forte que se assemelha ao gengibre, tendo como principal componente o metileugenol e eugenol em seu óleo essencial (MEIRELES, 2014). Seus óleos são comumente empregados como aromatizantes na indústria alimentícia. Porém, estudos indicam que essa planta possui um grande potencial de desempenhar atividades biológicas, tais como antioxidante e antibacteriana, tanto em bactérias Gram-negativas como Gram-positivas (CORPES et al., 2019; FERREIRA et al., 2020).

Estudos realizados por Meireles (2014), demonstram que os principais constituintes presentes na *P. divaricatum* são o metileugenol, eugenol, tendo predominância na classe dos fenilpropanóides. Estudos de Santos (2020), identificaram 26 componentes, tendo como majoritária a presença do metileugenol (38,46%), eugenol (24,29%). Assim como Ferreira et al (2020), que em diferentes estações e horários, a planta apresentou a maior média de metileugenol (54,67%) e eugenol (13,99%) dentre os 49 constituintes identificados.

As plantas medicinais são uma alternativa viável na busca de novos ativos com ação microbicida, principalmente diante da disseminação de microrganismos resistentes a diversos fármacos já existentes. Visto que, essas podem fornecer substâncias menos tóxicas e mais eficazes (BAPTISTA, 2017). Segundo Sarto e Junior (2014), o desenvolvimento de fármacos não tem conseguido acompanhar a rápida evolução dos microrganismos, com isso a pesquisa de ativos de origem vegetal são uma peça chave na investigação de agentes biocidas.

Apesar dos antibióticos representarem um grande avanço na terapia e profilaxia de doenças infecciosas, o erro no diagnóstico, falha nas prescrições, o uso irracional de medicamentos favorecem o surgimento de cepas resistentes à ação antimicrobiana (BRITO et. al, 2020; DA COSTA; JUNIOR, 2017). Isso acarreta maior dificuldade no tratamento, causando morbidade elevada (MONTEIRO, et al. 2020).

Brito e colaboradores (2020) relatam que as principais bactérias resistentes responsáveis pelas infecções hospitalares são *Staphylococcus aureus*, seguida de *Pseudomonas aeruginosa*, devido à sensibilidade reduzida de fármacos com amplo espectro. Cunha e Cohen (2017) a *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* são as grandes causadoras de bacteriúrias hospitalares. Assim como a *Enterobacter aerogenes* e *Enterococcus faecalis* representam um grande potencial incidente de resistência bacteriana (OLIVEIRA, 2019; MOTA; OLIVEIRA; SOUTO, 2018).

As bactérias em questão, como a *S. aureus* e *E. faecalis* são causadoras de diversas doenças no trato gastrointestinal e urinário, classificadas como bactérias Gram-positivas. Entre as Gram-negativas, estão a *E. coli*, *E. aerogenes*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, também responsáveis por infecções nos sistemas urinário, digestório e tegumentar (COSTA, 2009).

Logo, torna-se evidente a necessidade da busca e investigação de novas metodologias para o desenvolvimento de medicamentos que possam combater essas infecções, principalmente voltados à prospecção de compostos naturais com

atividade antimicrobiana de amplo espectro (CAVALCANTI, 2020). Visto que os compostos de natureza vegetal podem fornecer substâncias menos tóxicas e mais eficazes contra a resistência microbiana (BAPTISTA, 2017).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Matéria prima

As amostras de *Lippia origanoides* e *Piper divaricatum* foram adquiridas no Laboratório de Química do Campus Universitário de Ananindeua da Universidade Federal do Pará. *L. origanoides* foi coletada em na Flora de Carajás, Parauapebas - PA. *P. divaricatum* foi coletada na Cidade Universitária José Silveira Netto na Universidade Federal do Pará.

Os registros de coletas e composição química das amostras desses óleos estão no banco de dados do Museu Emílio Goeldi.

3.2 Preparação das amostras

A concentração dos óleos foram obtidas através da relação entre a massa e volume, onde foi incorporado uma solução de Tween 80 a 2% em cada óleo na proporção de 1/1. Onde obtivemos as concentrações de 410 mg/mL e 490 mg/mL, respectivamente de *L. origanoides* e *P. divaricatum*.

3.3 Cepas Bacterianas

As cepas de referência utilizadas no estudo foram *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterococcus faecalis*, obtidas no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Ophir Loyola, localizado em Belém-PA e semeadas em Ágar Müller Hinton (KASVI, EUA) e Brain Heart Infusion (BHI) (KASVI, EUA) no Laboratório de Bacteriologia - Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará.

3.4 Teste de Sensibilização no Disco-difusão

Para avaliação inicial da atividade antibacteriana dos óleos essenciais, realizou-se o método de difusão em ágar. As suspensões bacterianas foram

semeadas em placas de Ágar Müller Hinton, contendo discos de papel filtro com 6 mm de diâmetro. Os discos foram sensibilizados com 10µL de solução de óleo essencial de *L.origanoides* e *P. divaricatum* em triplicata para cada bactéria, com o controle positivo (antibiótico respectivo) e controle negativo (branco). As placas foram incubadas em estufa bacteriológica, a 37°C, por 24 horas. Os extratos foram avaliados de forma separada. As zonas de inibição foram medidas em milímetros (mm) com auxílio de uma régua.

Para o controle foram utilizados antibióticos com eficácia comprovada, as quais as bactérias não apresentavam resistência. Logo, o Imipenem foi adotado como controle da *E. coli*, o Cloranfenicol para o *S. aureus*, Cefepime para a *E. aerogenes*, o Ciprofloxacino para a *K. pneumoniae* e *P. aeruginosa* e a Amoxicilina + clavulanato para a *E. faecalis*.

A interpretação dos halos de inibição, seguiu os parâmetros empregados pela CLSI (2020), onde o resultado dos diâmetros indica: não sensíveis quando ≤ 8 mm; sensíveis quando $9\text{mm} \leq e \leq 12\text{mm}$; muito sensível $15\text{mm} \leq e 19\text{mm}$; extremamente sensível quando $\leq 20\text{mm}$.

3.5 Determinação da Concentração Inibitória Mínima

As Concentrações inibitórias mínimas (MIC's) foram determinadas através do método de microdiluição de 96 poços. Para cada teste, foram utilizadas colunas de 1 a 12 e fileiras de A a C para a testagem de cada óleo essencial nas respectivas cepas bacterianas. Sendo a coluna 1 utilizada para o controle positivo (meio com adição de inóculo), a coluna 11 como branco contendo somente solução de tween 2% e a coluna 12 para o controle negativo (meio sem adição de inóculo).

Inicialmente, houve a adição de 20 µL de Tween 80 a 2% nos poços 2 a 10, e em seguida ocorreu a diluição seriada dos óleos essenciais tendo como volume inicial 20 µL, sendo obtidas as concentrações de 205 mg/mL até 0,80 mg/mL do óleo essencial de *L.origanoides* e 245 mg/mL até 0,96 mg/mL do óleo essencial de *P. divaricatum*, descritas no quadro 1. Posteriormente, foram adicionados 100 µL de caldo Müller Hinton (MHC) em cada poço das placas de microdiluição. Em seguida, 30 µL de inóculo bacteriano das cepas estudadas. As placas foram acondicionadas na estufa bacteriológica a 37°C durante 24 horas. Após o período de 24 horas foi empregado, como indicador de presença bacteriana, o Cloreto de

2,3,5-trifeniltetrazólio (TTC) a 0,5%. Por fim, as placas foram novamente incubadas a 37 °C durante 2 horas. E após esse período foi realizada a leitura das placas.

Quadro 1 - Concentração obtidas nas diluições dos óleos essenciais de *L. origanoides* e *P. divaricatum*

Colunas	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Diluições	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512
<i>L. origanoides</i> (mg/mL)	205	102,5	51,25	25,63	12,81	6,41	3,20	1,60	0,80
<i>P. divaricatum</i> (mg/mL)	245	22,5	61,25	30,63	15,31	7,66	3,83	1,91	0,96

Fonte: A autora da pesquisa, 2022.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A tabela 1 apresenta os resultados obtidos dos testes de disco-difusão, onde a espécie que apresentou maior atividade frente às bactérias foi a *Piper divaricatum*, em comparação com a *Lippia origanoides*. Em contrapartida, de acordo com o critério utilizado por Oliveira (2021), apenas a *E. coli* apresentou sensibilidade (tamanho do halo entre 9 e 12) à *L. origanoides*, assim como *S. aureus* diante do óleo de *P. divaricatum*.

Tabela 1 - Resultado das médias e desvios padrão dos halos de inibição bacteriana

Cepas bacterianas	<i>Lippia origanoides</i>	<i>Piper divaricatum</i>	Controle
<i>E. coli</i>	10,67 ± 0,58	8,0 ± 0,00	27,5
<i>S. aureus</i>	8,0 ± 0,00	9,0 ± 0,00	20,5
<i>E. aerogenes</i>	0 ± 0,00	7,0 ± 0,00	28,5
<i>K. pneumoniae</i>	0 ± 0,00	7,0 ± 0,00	22,0
<i>P. aeruginosa</i>	0 ± 0,00	7,0 ± 0,00	34
<i>E. faecalis</i>	8,0 ± 0,00	7,0 ± 0,00	35

*Dados de média (mm) e desvio padrão

Fonte: A autora da pesquisa, 2022

Diante dos resultados obtidos na tabela 2, nota-se que há semelhança nas diluições de 1/8 inibitórias em ambos os óleos. No óleo de *L. origanoides*, houve a variação das concentrações mínimas inibitórias entre 51,25 mg/mL - 205 mg/mL. Sendo a *E.coli*, *S.aureus* e a *E. faecalis* com maior suscetibilidade ao óleo.

Tabela 2 - Resultado da Concentração Mínima Inibitória (mg/mL)

Cepas bacterianas	<i>Lippia origanoides</i>	<i>Piper divaricatum</i>
<i>E. coli</i>	51,25 ± 0,00	30,63 ± 0,00
<i>S. aureus</i>	51,25 ± 0,00	61,25 ± 0,00
<i>E. aerogenes</i>	205,00 ± 0,00	61,25 ± 0,00
<i>K. pneumoniae</i>	0 ± 0,00	61,25 ± 0,00
<i>P. aeruginosa</i>	68,33 ± 29,59	30,63 ± 0,00
<i>E. faecalis</i>	51,25 ± 0,00	81,67 ± 35,36

*Dados de média (mg/mL) e desvio padrão

Fonte: A autora da pesquisa, 2022

Esse resultado pode estar relacionado à presença majoritária de carvacrol e timol na estrutura composicional da *L. origanoides* (RIBEIRO et al., 2021), onde, ambos possuem propriedades antimicrobianas ligadas à presença do grupo hidroxila

(OH), a qual é altamente reativo e pró-oxidante. Este composto se dissolve entre as membranas bacterianas e favorece sua ruptura, através do aumento de sua permeabilidade. Além disso, ele pode causar o rompimento no fluxo de elétrons, perturbação no transporte ativo, inativação da bomba de sódio e potássio e levar a coagulação do conteúdo citoplasmático (OLIVEIRA, 2010; ALMEIDA, 2015). Outro mecanismo está relacionado à capacidade dos núcleos aromáticos polares, presentes nesses compostos, em realizar ligações de hidrogênio com as enzimas microbianas e inativa-las (LIMA et al., 2017). Ademais, outros componentes como o γ -terpineno p-cimeno, também encontrados na *L. origanoides*, podem contribuir de forma sinérgica na atividade antibacteriana, nos quais estudos indicam atividades bacteriostáticas contra alguns microrganismos (VALERIANO et al., 2021).

Klebsiella pneumoniae demonstrou crescimento em todas concentrações aplicadas, ou seja, o óleo de *L. origanoides* não apresentou nenhuma atividade antimicrobiana, ressaltando o resultado obtido no disco-difusão. Uma hipótese dessa inatividade frente à *K. pneumoniae*, é a presença de uma cápsula em sua estrutura (TAVARES, 2019). Segundo pesquisas, as cápsulas proporcionam maior resistência diante a várias situações, inclusive contra agentes antimicrobianos (MAYO, 2009).

Piper divaricatum apresentou atividades antimicrobiana diante das cepas, tanto nas Gram-positivas quanto nas Gram-negativas, caracterizando um amplo espectro de ação, que pode estar relacionada à presença de eugenol em sua composição (FERREIRA et al., 2020). Conforme a literatura, o composto eugenol possui propriedades antimicrobianas de forma isolada, principalmente em bactérias Gram-positivas (SANTANA et al., 2021), apesar de, no presente estudo não haver diferenças significativas entre as bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Sendo as bactérias com maior suscetibilidade a *E. coli* e a *P. aeruginosa*, que mesmo com a utilização de menores concentrações, mostrou-se eficiente em sua atividade antibacteriana.

Conforme Resende (2016) e Santana et al. (2021) atividade do eugenol está atribuída à sua estrutura fenólica. Essa estrutura possui mecanismos que danificam a parede celular e a membrana bacteriana, causando vazamento proteico e lipídico favorecendo a lise bacteriana. Além de levar a granulação e hiperacidez do citoplasma, induzindo o esgotamento de ATP intracelular (SILVA, 2014).

Ao relacionar os resultados obtidos na tabela 1 e 2, nota-se algumas divergências entre os halos de inibição e as concentrações mínimas encontradas,

como exemplo o óleo de *L. origanoides* apresentou-se não-sensível diante as cepas de *E. aerogenes*, porém demonstrou atividade antibacteriana no MIC. Laviniki (2013) explica que há uma série de fatores que contribuem para a discordância estatística entre as técnicas. A primeira se dá pela falta de padronização nas testagens desses óleos, outra pela dificuldade de difusão dos óleos no meio de cultura devido sua propriedade lipofílica, a precipitação dos microrganismos, assim como a suspensão dos mesmos.

5 CONCLUSÃO

Os óleos essenciais de *Lippia origanoides* e *Piper divaricatum* apresentam uma fonte rica de componentes com potencial farmacológico, devido apresentarem atividades antimicrobianas em bactérias tanto Gram-positivos quanto em Gram-negativas. Isso torna essas plantas medicinais grandes aliadas no desenvolvimento de novos medicamentos com atividade antibacteriana de amplo espectro podendo fornecer ativos com um menor grau de toxicidade e mais eficientes.

Vale ressaltar a necessidade de estudos voltados à avaliação de suas toxicidades, assim como análises *in vivo* para confirmação da viabilidade desses óleos.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, J.C.; ALMEIDA, P.P.; GHERARDI, S.R.M. Potencial antimicrobiano de óleos essenciais: uma revisão de literatura de 2005 a 2018. *Nutritime*, v.17, n. 1, p. 8623-8633, 2020.
- ALMEIDA, Regiamara Ribeiro. **Mecanismos de ação dos monoterpenos aromáticos: Timol e Carvacrol**. 2015. 26f. Monografia (Bacharelado em Química) - Coordenadoria do Curso de Química, Universidade de São João del-Rei, São João del-Rei, 2015.
- ALVES, V.F.; FIGUEIREDO, R.D.; CAVALCANTI, Y.W.; PADILHA, W.W. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais indicadas para uso no Sistema Único de Saúde. *Revista Cubana de Estomatología*, v.56, n.4, p. 1-6, 2019.
- BAPTISTA, A.B. As bactérias multirresistentes hospitalares e as plantas medicinais. *Desafios-Revista Interdisciplinar da Universidade Federal do Tocantins*, v.4, n.4, p. 1-2, 2017.
- BORGES, K.M. **Óleos essenciais de verbenáceas com potencial uso em doenças negligenciadas na Amazônia: uma revisão**. 2022. 73f. Trabalho de conclusão de curso (Licenciatura em Química) - Faculdade de Química, Universidade Federal do Pará, Ananindeua, 2022.
- BRITO, C.B.S.; CORREIA, K.G.; BEZERRA, J.L.; SOUSA, J.C.; ANDRADE, S.M.; CUNHA, M.A.; TAMINATO, R.L.; OLIVEIRA, E.H. O uso de antibióticos e sua relação com as bactérias multirresistentes em hospitais. *Research, Society and Development*, v.9, n. 11, p. 1-12, 2020.
- CAVALCANTI, D.R. Prospecção biológica de plantas medicinais no Brasil: Riscos e oportunidades. *Temas em Saúde*, v.20, n.6, p.292-317, 2020.
- CLSI. **Performace Standards for Antimicrobial Susceptibility Testins**. 30th Ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2020
- CORPES, R.; MONTEIRO, L.; ANDRADE, E.H.; MAIA, J.G. MENEZES, I.; SETZER, W.N.; RAMOSG, A.R.; SILVA, J.K.R. Comparison of volatile profile and antioxidant activity of Piper divaricatum G. Meyer (Piperaceae) using cuttings and cell tissue. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 30, p. 2291-2298, 2019.
- COSTA, Adalberto Coelho. **Atividade antibacteriana dos óleos essenciais de *Origanum vulgare* L. E *Cinnamomum zeylanicum* B. Contra bactérias multirresistentes**. 98f. Tese (Doutorado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) - Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2009.
- CUNHA, E.B.; COHEN, J.V.F.B. Aspectos relevantes da prevenção e controle de infecções hospitalares. *Saber científico*, v.6, n.2, p. 64-77, 2017.

DA COSTA, A.L.P.; JUNIOR, A.C.S.S. Resistência bacteriana aos antibióticos e saúde pública: uma breve revisão de literatura. **Estação Científica - UNIFAP**, v.7, n.2, p.45-57, 2017.

DE SÁ-FILHO, G.F.; DA SILVA, A.I.B.; DA COSTA, E.M.; NUNES, L.E.; RIBEIRO, L.H.; CAVALCANTI, J.R.L.P.; GUZEN, F.P.; OLIVEIRA, L.C.; CAVALCANTE, J.S. Plantas medicinais utilizadas na caatinga brasileira e o potencial terapêutico dos metabólitos secundários: uma revisão. **Research, society and development**, v. 10, n. 13, p.1-15, 2021.

DE SÁ-FILHO, G.F.; MONTEIRO, L.D.; SILVA, P.C.; SANTOS, E.S.; VASCONCELOS, V.R.M.; VIEIRA, R.B.; SOUSA, J.D.L.; NASCIMENTO, A.L.L.; SILVA, L.F. Geniol, um componente dos óleos essenciais de plantas - um mapeamento científico de suas propriedades farmacológicas. **Research, society and development**, v.10, n.12, p.1-8, 2021.

DUTRA, Jean Carlos Vencioneck. **Caracterização fisiológica, fitoquímica e de atividades biológicas de plantas medicinais com potencial para produção de fitoterápicos**. 2019. 194f. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) - Centro de Ciências Humanas e Naturais da Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2019.

FERREIRA, G.K.S.; MARGALHO, J.F.; ALMEIDA, L.Q.; ANJOS, T.O.; CASCAES, M.M.; NASCIMENTO, L.D.; ANDRADE, E.H.A. Avaliação sazonal e circadiana do óleo essencial das folhas de *Piper divaricatum* G. Mey. (Piperaceae). **Brazilian Journal of Development**, v.6, n.6, p.41356-41369, 2020.

FONSECA, C. A.; PEREIRA, D. G. Aplicação da genética toxicológica em planta com atividade medicinal. **Infarma-Ciências Farmacêuticas**, v. 16, n. 7/8, p. 51–54, 2013.

LAVINIKI, Vanessa. **Atividade antimicrobiana in vitro dos óleos essenciais de canela da china (*Cinnamomun cassia*), orégano (*Origanum vulgare*), pimenta negra (*Piper nigrum*) e tomilho (*Thymus vulgaris*) branco frente à amostras de *Salmonella enterica* isoladas de aves**. 2013. 51f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

LIMA, D.S.; LIMA, J.C.; CALVACANTI, R.M.C.B.; SANTOS, B.H.C.; LIMA, I.O. Estudo da atividade antibacteriana dos monoterpenos timol e carvacrol contra cepas de *Escherichia coli* produtoras de β -lactamases de amplo espectro. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 8, n. 1, p. 5-5, 2017.

MACEDO, Jussara Alice Beleza. **Plantas medicinais e fitoterápicos na atenção primária à saúde: contribuição para profissionais prescritores**. 2016. 49 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização) - Instituto de Tecnologia em Fármacos/Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2016.

MAJOLO, C.; CHAGAS, E.C.; CHAVEZ, F.C.M.; BIZZO, H.R.; ROCHA, S.I.B.; OLIVEIRA, S.R.N. **Composição Química e atividade antibacteriana de óleos essenciais**. Embrapa Amazônia Ocidental: Manaus, 2016.

MAYO, Nicolás Navasa. **Polímeros capsulares bacterianos en E. coli K92: ácido colánico y ácido polisialico**. 2009. 234f. Tesis (Doctorado en Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Veterinaria, Univerdidad de León, España, 2009.

MEIRELES, E. N. **Influência dos metabólitos secundários de *Piper divaricatum* da Região Amazônica no controle do *Fusarium solani* f. sp. *piperis* causador da fusariose em pimenta do reino**. 2014. 83f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará, Belém, 2014.

MONTEIRO, R.F.S.; SANTOS, V.R.R.; FERREIRA, A.A.C.T.; ABREU, J.R.G. O uso indiscriminado de antimicrobianos para o desenvolvimento de microrganismos resistentes. **Revista eletrônica Acervo Saúde**, n.53, p.1-10, 2020.

MOTA, F.A.; OLIVEIRA, H.A.; SOUTO, R.C.F. Perfil e prevalência de resistência aos antimicrobianos de bactérias Gram-negativas isoladas de pacientes de unidade de terapia intensiva. **RBAC**, v.40, n.3, p. 270-277, 2018.

OLIVEIRA, Carlos Eduardo Vasconcelos. **Influência do Timol e Carvacrol sobre o crescimento, características metabólicas e potencial enterotoxigênico de cepas de *Staphylococcus aureus* isoladas de alimentos**. 2010. 116f. Dissertação (Mestrado em Nutrição) - Programa de Pós-Graduação em Nutrição, em concentração em Ciências dos Alimentos, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2010.

OLIVEIRA, Emilia Sousa de. **Emergência de enterococcus sp. resistentes à vancomicina na cidade de Natal-RN**. 2019. 98f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Centro de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2019.

QUEIROZ, M.R.A.; ALMEIDA, A.C.; ANDRADE, V.A.; LIMA, T.S.; MARTINS, E.R.; FIGUEIREDO, L.S.; CARELI, R.T. Avaliação da atividade antibacteriana do óleo essencial de *Lippia organoides* frente à *Staphylococcus* sp. isolados de alimentos de origem animal. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.16, n.3, p. 737-743, 2014.

RESENDE, D. B. **Síntese de glicosídeos de eugenol e análogos e avaliação da atividade antibacteriana in vitro e em embalagens ativas**. 2016. 69 p. Tese (Doutorado em Microbiologia Agrícola) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2016.

RIBEIRO, F.O.; OLIVEIRA, M.S.; FEITOSA, A.O.; MARINHO, P.S.B.; MARINHO, A.M.R.; ANDRADE, EL.H.A.; RIBEIRO, A.F. Chemical Composition and Antibacterial Activity of the *Lippia organoides* Kunth Essential oil from the Carajás National Forest, Brazil. **Evidence- Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2021, p. 1-8, 2021.

SANTANA, M.S.; DE LIMA MACHADO, E.C.; STAMFORD, T.C.M.; STAMFORD, T.L. M. **Propriedades funcionais do eugenol e sua aplicação em alimentos.** In: VERRUCK, Silvani. *Avanços em Ciências e Tecnologia de Alimentos - Volume 4.* Editora Científica, 2021. p. 59-73.

SANTOS, Gilmar Xavier. **Óleo essencial das espécies *Piper divaricatum* e *Piper callosum* e estimativa de propriedades físicas dos constituintes majoritários usando métodos de contribuição de grupos.** 2020. 67f. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Química) - Faculdade de Química, Universidade Federal do Pará, Ananindeua, 2020.

SARTO, M.P.M.; JUNIOR, G.Z. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais. ***Revista Uningá Review***, v.20, n.1, p. 98-102, 2014

SILVA, A.C.M.; LEITE, R.S.; YOSHIDA, E.H.; CARNEIRO, H.F.P.; SANTOS, N.S. O uso de três plantas medicinais populares no Brasil: Uma revisão da literatura. ***Revista Saúde em Foco***, ed. 11, 2019.

SILVA, Maria José Arbulú. **Lipozyme tl im como catalisador na síntese de acetato de eugenila via acetilação do óleo essencial de cravo-da-índia (*eugenia caryophyllata*) em sistema livre de solvente.** 2014. 87f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Florianópolis, 2014.

TAVARES, Celisa Patricia Moreira. ***Klebsiella pneumoniae* e fatores associados que contribuem para a resistência antimicrobiana: uma Revisão de Literatura.** 45f. Monografia (Bacharelado em Biomedicina) - Centro de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2019.

TEIXEIRA, Maria Luisa. **Óleos essenciais de *Lippia origanoides* Kunth. E *Mentha spicata* L.: Composição química, potencialidades biológicas e caracterização das estruturas secretoras.** 2013. 128f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.

VALERIANO, C.; PICCOLI, R.H.; CARDOSO, M.G.; ALVES, E. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais em bactérias patogênicas de origem alimentar. ***Revista brasileira de plantas medicinais***, v. 14, p. 57-67, 2012.

ZAGO, Leciana de Menezes Souza. Vinte e dois anos de pesquisa sobre plantas medicinais: uma análise cienciométrica. ***Tecnia***, v. 3, n.1, p. 157-173, 2018.