

ESTUDO ETNOFARMACOLÓGICO DE PLANTAS MEDICINAIS: ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE *Sambucus australis* (Sabugueiro) e *Cymbopogon citratus* (DC). Stapf. (Capim santo)

Priscilla de Lucena Nogueira (1); Thúlio Antunes de Arruda (1); Raíssa Mayer Ramalho Catão (2);
Beatriz Dantas Guimarães (3); Thamires Lacerda Dantas (4).

(1) Universidade Estadual da Paraíba, priscillaln@hotmail.com; (1) Universidade Estadual da Paraíba,
thulioantunes@gmail.com (2) Universidade Estadual da Paraíba, raissacatao@uol.com.br (3) Universidade Estadual
da Paraíba, beatrizdantasg@gmail.com (4) Universidade Estadual da Paraíba, thamires.lacerda.dantas@gmail.com.

Resumo: O estudo etnobotânico e etnofarmacológico é fundamental no desenvolvimento da fitoterapia, pois possibilita ao pesquisador testar e validar as propriedades terapêuticas transmitidas pela população. Pode-se observar que espécies vegetais como *Sambucus australis* (Sabugueiro) e *Cymbopogon citratus* (DC). Stapf. (Capim santo) utilizados na medicina tradicional, apresentam resultados como antimicrobiano e antifúngico. Diante desses potenciais efeitos terapêuticos, a pesquisa objetivou uma visão etnofarmacológica dessas plantas, dando ênfase à atividade antimicrobiana. O estudo foi desenvolvido em três etapas: na primeira, coletou-se material na comunidade Caiana dos Mares, no município de Alagoa Grande; na segunda, obteve-se os extratos etanólicos vegetais, seguindo a Farmacopéia Brasileira 2ª edição (1959) e Matos (1988); e na terceira, os procedimentos microbiológicos, para a determinação da atividade antimicrobiana dos extratos vegetais. O screening foi realizado através do método de difusão em meio sólido, processo cavidade-placa e técnica de *pour plate*. Os microrganismos utilizados foram: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 e a levedura *Candida albicans* ATCC 76643. Com relação à atividade antimicrobiana, os microrganismos não apresentaram halos de inibição frente aos extratos testados. Os resultados obtidos podem ser explicados pelas diferentes origens da espécie vegetal, da utilização do extrato ou óleo essencial no teste, bem como por se tratar de cepas bacterianas diferentes. Não é possível afirmar que as mesmas não poderiam apresentar atividade para outras cepas. Acredita-se que estudos semelhantes contribuam para um maior conhecimento de toda a população e comunidade científica a respeito das várias utilidades medicinais das especiarias, principalmente como antimicrobianas.

Palavras chave: Etnofarmacologia. *Sambucus australis*. *Cymbopogon citratus* (DC). Stapf., Atividade antimicrobiana.

A utilização de plantas para fins terapêuticos, é parte da história da humanidade, possuindo referências nas épocas mais antigas. Na China, por exemplo, datado de 3.000 a.C., já existiam farmacopeias que compilavam as ervas e as

suas indicações terapêuticas (REZENDE; COCCO, 2002).

No Brasil, a medicina popular com uso de plantas iniciou-se com a cultura indígena, com contribuições ao longo dos séculos dos negros e europeus. O processo de miscigenação de raças e culturas no Brasil

enriqueceu o conhecimento popular sobre o uso de plantas medicinais, conhecimento este repassado através das gerações até a atualidade.

A fitoterapia, ou seja, a utilização de plantas para fins terapêuticos, utiliza todas as partes das plantas, a depender de suas características morfológicas, como raízes, casca, folhas, frutos, sementes, tendo cada parte suas devidas utilizações terapêuticas.

Várias abordagens são utilizadas para selecionar as espécies vegetais que serão alvos das investigações: Abordagem randômica (escolha da planta sem qualquer critério, sendo a disponibilidade o fator determinante para escolha); Abordagem quimiotaxonômica ou filogenética (seleção de uma espécie relacionando a ocorrência de determinadas classes químicas num gênero ou família); Abordagem etnofarmacológica (escolha da planta baseando-se no uso terapêutico desta por um grupo étnico).

A etnofarmacologia trata do conhecimento popular empregado por determinado grupo social associado a utilização de plantas como fins medicinais, buscando a exploração científica de princípios ativos. A diversidade da flora brasileira, especialmente na região Nordeste, onde o uso de plantas para cura de doenças é comum, favorece o desenvolvimento destes medicamentos naturais (OMENA, 2007).

O estudo etnobotânico e etnofarmacológico é fundamental para o desenvolvimento da fitoterapia, uma vez que possibilita o pesquisador a testar e validar as propriedades terapêuticas que foram transmitidas pela população. A seleção etnofarmacológica de plantas e o estudo de plantas empregadas tradicionalmente com finalidades medicinais fornece subsídios para posteriores análises farmacológicas, fitoquímicas e agronômicas, tornando-se potenciais fontes para descobertas de novos fármacos.

Pesquisas comprovam que algumas especiarias apresentam atividade antimicrobiana, atuando principalmente na epidemiologia e tratamento de surtos toxinfeciosos. Pode-se observar, através de estudos etnofarmacológicos, que especiarias como *Sambucus australis* e *Cymbopogon citratus* (DC). Stapf., utilizados na medicina tradicional, apresentam propriedades medicinais, dentre elas seu uso como antimicrobiano.

Diante dos potenciais efeitos terapêuticos das especiarias, a pesquisa objetivou selecionar e analisar espécies vegetais através de uma visão etnofarmacológica sobre a utilização destas plantas com fins medicinais, dando ênfase à atividade antimicrobiana.

Local de realização da parte experimental

A manipulação dos extratos obtidos a partir das espécies vegetais foi realizada no Laboratório de Farmacotécnica Fitoterápica do Curso de Farmácia da Universidade Estadual da Paraíba – UEPB.

Os ensaios de atividade antimicrobiana foram realizados no laboratório de microbiologia da Universidade Estadual da Paraíba.

As espécies foram coletadas na comunidade Caiana dos Mares, localizada na zona rural do município de Alagoa Grande, microrregião do brejo paraibano.

Foi realizada a exsiccata das respectivas espécies, depositadas posteriormente no herbário Lauro Xavier na Universidade Federal da Paraíba – UFPB, João pessoa, sendo descritas e identificadas, recebendo o número de voucher no sistema do Herbário.

Para o estudo, utilizou-se as flores do *Sambucus australis*, e as folhas do *Cymbopogon citratus* (DC). Stapf.

O solvente utilizado na pesquisa foi o álcool etílico absoluto P.A, devido a sua baixa toxicidade (não inibindo os bioensaios), bom desempenho no processo extrativo e boa viabilidade econômica.

Os extratos etanólicos foram obtidos segundo a Farmacopéia Brasileira 2ª edição (1959) e Matos (1988).

O procedimento constituiu-se das etapas apresentadas na figura abaixo:

Figura 1: Fluxograma dos procedimentos técnicos para preparação dos extratos



Procedimentos microbiológicos

Foram utilizadas as cepas padrão – American Type Culture Collection (ATCC) das bactérias *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 e do fungo leveduriforme *Candida albicans* ATCC 76643. Em relação aos meios de cultura, foram utilizados os meios Ágar Müeller-Hinton, caldo Brain Heart Infusion (BHI) e Caldo Müeller-Hinton (CMH), para as espécies bacterianas, e Ágar Sabouraud Dextrose (ASD) para a levedura. Os meios foram preparados conforme as instruções do fabricante.

Durante a realização do ensaio, as cepas bacterianas foram mantidas em meio Ágar Müeller-Hinton, replicadas para caldo Brain Heart Infusion – BHI e incubadas a 37 C/24 horas. Após esse período, foram realizados semeios pela técnica de estrias (para obtenção de colônias isoladas) em placas de Ágar Sangue, que também foram incubadas a 37 C/24 horas. Para obtenção do inóculo serão selecionados 3 a 5 colônias semelhantes as quais serão transferidas para 5,0 ml de caldo BHI e incubadas a 37 C durante 24 horas. Após este período foram feitos subcultivos, transferindo 50 µL do inóculo inicial para 30mL de caldo Müeller-Hinton, incubando-o à 37 C/1 h de modo a produzir uma leve turvação, de densidade visualmente equivalente ao tubo 0,5 da escala de McFarland, obtendo-se assim um inóculo de concentração aproximada de 10^6 UFC/mL.

Quanto à levedura, as culturas foram mantidas em Ágar Sabouraud Dextrose (ASD) a 35 C durante 24-72 horas. A suspensão de levedura foi preparada e padronizada em solução de cloreto de sódio a 0,85% estéril. Foi obtida uma suspensão com turvação compatível com a turvação 0,5 da escala de McFarland.

Técnica de disco-difusão

Para realização da técnica de disco-difusão foi preparado o inóculo bacteriano,

através da suspensão direta das colônias em solução salina, obtendo-se uma turvação correspondente a 0,5 da escala de McFarland.

Os discos utilizados para a técnica foram embebidos com os extratos e um disco foi utilizado como controle negativo, o mesmo sendo embebido com álcool PA, solvente utilizado na preparação dos extratos. Um disco do antibiótico Gentamicina foi utilizado como controle positivo para as bactérias e para a levedura foi utilizado um disco de Flucosamina.

Com auxílio de “swabs” estéreis mergulhados na suspensão, o inóculo foi semeado em toda a superfície do meio, de modo a se obter um crescimento uniforme e semi-confluyente. Os discos de papel foram colocados e a placa foi incubada a 37 C durante 24 horas (bactérias) e 35 C por 24-72 horas (leveduras), quando foi feita a leitura dos halos de inibição de crescimento. Halos maiores ou iguais a 8 mm foram indicativos de sensibilidade ao extrato testado.

Técnica de difusão em meio sólido

Para realização do teste de difusão, foram utilizadas placas de Petri descartáveis, estéreis, contendo 20 mL do meio de cultura Ágar Müller-Hinton, inoculadas pela técnica pour plate. As placas foram colocadas para secar, durante 3 a 5 minutos, antes de se fazer as cavidades de 6 mm cada, com auxílio de

perfuradores descartáveis estéreis. Em cada cavidade foram adicionados 50 µL dos extratos em suas concentrações iniciais, para verificar a presença ou não de atividade antimicrobiana. Todo o sistema de ensaio foi incubado a 37 C durante 24 horas (bactérias) e 35 C por 24-72 horas (leveduras). Após período de incubação, foram feitas as leituras e interpretação dos resultados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 1 – *Screening* de atividade antimicrobiana a partir da técnica de disco-difusão e difusão em meio sólido

Produtos	Microorganismos			
	<i>S. aureus</i> (ATC C 2592 3)	<i>E. coli</i> (ATC C 2592 2)	<i>P. aeruginosa</i> (ATCC 27853)	<i>C. albicans</i> (ATC C 76643)
<i>Sambucus australis</i> (flores)	–	–	–	–
<i>Cymbopogon citratus</i> (DC). Stapf. (folhas)	–	–	–	–

Álcool PA	–	–	–	–
Gentamicina (10mg)	+	+	+	–

(-) Ausência de atividade – halo ausente ou menor que 8 mm

(+) Presença de atividade – halo ≥ 8mm

Os estudos etnofarmacológicos investigam a atividade farmacológica de algumas plantas tradicionalmente empregadas por populações com fins terapêuticos, tendo-se encontrado resultados favoráveis a partir deste tipo de pesquisa. O presente trabalho traz resultados com enfoque àquelas que foram citadas como antimicrobianas.

Com relação à atividade antimicrobiana, pôde-se observar que nenhuma das especiarias testadas apresentaram halos de inibição frente as cepas bacterianas testadas (Tabela 1).

Estudos realizados por NASCIMENTO (2014) demonstraram divergência ao do presente estudo em relação ao extrato alcoólico das partes aéreas de *Sambucus australis*, apresentando atividade antimicrobiana contra *E. coli*.

Em relação ao *Cymbopogon citratus* (DC). Stapf., poucos estudos com teste de atividade antimicrobiana foram realizados,

sabe-se que seu óleo essencial apresenta dois componentes responsáveis por essa atividade, mas não foi encontrado testes com o extrato etanólico para as cepas utilizadas.

Os resultados obtidos neste estudo podem ser explicados pelas diferentes origens da espécie vegetal, da utilização do extrato ou óleo essencial no teste, bem como por se tratar de cepas bacterianas diferentes em cada estudo específico. Fatores como local e período da coleta, idade do vegetal, cepa e/ou modelo de ensaio, podem interferir nos resultados da atividade antimicrobiana, pela possibilidade de variação de extração de princípios ativos, assim como suas concentrações no extrato.

Todavia, não é possível afirmar que as mesmas não poderiam apresentar alguma atividade para outras cepas, pois estes fatores podem interferir nos resultados, não invalidando estudos futuros.

CONCLUSÃO

As especiarias *Sambucus australis* e *Cymbopogon citratus* (DC). Stapf não apresentaram halo de inibição frente aos microrganismos testados.

Apesar de estudos comprovarem a existência de atividade antimicrobiana do *Sambucus australis*, fatores metodológicos, fatores ambientais e de coleta, assim como as cepas bacterianas, podem ter interferido na

ação do extrato contra os microrganismos testados.

A escassez de estudos testando a eficácia do extrato de *Cymbopogon citratus* (DC). Stapf. contra microrganismos revela a necessidade de novos testes futuros.

Acredita-se que estudos como este contribua para um maior conhecimento de toda a população e comunidade científica a respeito das várias utilidades medicinais das especiarias, principalmente como antimicrobianas, além da comprovação de que o saber popular transmitido de geração em geração pode ser utilizado para estudos mais aprofundados a respeito da atividade farmacológica e da elucidação de princípios ativos vegetais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKISUE G, AKISUE MK, SILVA JR, ANDALUZ MI 1996. Padronização da droga e do extrato fluido de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. *Lecta Rev Farm Biol* 14: 109-119.

ALBUQUERQUE, U.P.; ANDRADE, L.H.C. Conhecimento botânico tradicional e conservação em uma área de Caatinga no Estado de Pernambuco, Nordeste do Brasil. *Acta Botânica Brasílica*, Porto Alegre, v.16, n.3, p.273-85, 2002.

ALVARADO, L. "Medical anthropology and the health professions: selected literature review". **In: Bauwens, E.E.** (Ed.). *The anthropology of health*. S.Louis: C.V.Mosby, 1978.

Barbosa WLR et al. **Manual para análise fitoquímica e cromatográfica de extratos vegetais**. 2. ed. revisada. Belém, (PA): Ed. UFPA; 2004. p.19.

Bent S, Ko R. **Commonly used herbal medicines in the United States: a review**. *Am J Med* 2004; 116:478-85.

BRASILEIRO, B.G. et al. Plantas medicinais utilizadas pela população atendida no "Programa de Saúde da Família", Governador Valadares, MG, Brasil. *Revista Brasileira de Ciências Farmaceuticas*, São Paulo, v. 44, n. 4, dez. 2008.

Cañigüeral, S. (2002). **La Fitoterapia: una terapéutica para el tercer milenio?** *Revista de Fitoterapia*, 2(2): pp. 101-121

Cañigüeral, S. Las monografías de calidad, seguridad y eficacia en el uso racional de los preparados a base de plantas medicinales. *Revista de Fitoterapia*, 6(S1): pp. 25-29.

Elisabetsky, E. e Setzer, R. "Caboclo concepts of disease, diagnosis and therapy: implications for Ethnopharmacology and health systems in Amazonia". **In: The amazon caboclo: historical and contemporary perspectives**. Williamsburgh: *Studies On Third World Societies* Publication Series, 32, 243, 1985.

Elisabetsky, E. "Traditional medicines and the new paradigm of psychotropic drug ation". **In: Ethnomedicine and drug development, advances phytomedicine**, vol 1, 2002.

ELISABETSKY, Elaine. *Etnofarmacologia. Cienc. Cult.*, São Paulo, v. 55, n. 3, Sept. 2003 . Available from <http://cienciaecultura.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0009-67252003000300021&lng=en&nrm=iso>. access on 02 Sept. 2015.

Elvin-Lewis M. **Should we be concerned about herbal remedies**. *J Ethnopharmacol* 2001; 75:141-64.

Ferreira, V. F., Pinto, A. C. (2010). A Fitoterapia no mundo atual. *Química Nova*, 33(9), p. 1829.

FERREIRA, V.F; PINTO, A.C. A fitoterapia no mundo atual . *Quím. Nova* vol.33 no.9 São

Paulo 2010. Disponível em <
http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-40422010000900001&script=sci_arttext&tlng=es>. Acesso em 26 de agosto de 2015.

KATE, K. T. & LAIRD, S. A. - Natural products and the pharmaceutical industry. In: KATE, K.T. & LAIRD, S.A., orgs. - The commercial use of biodiversity: access to genetic resources and benefit-sharing. Kew, Royal Botanic Gardens, pp. 34-77, 1999.

LORENZI, H. E.; MATOS, F.J. DE A. Plantas medicinais no Brasil/ Nativas e exóticas. Nova Odessa: Instituto Plantarum. 2002. 512 p

Mansoor GA. **Herbs and alternative therapies in the hypertension clinic.** Am J Hypertens 2001; 14:971-75.

MARTINAZZO, A.P. et al . Modelagem matemática e parâmetros qualitativos da secagem de folhas de capim-limão [Cymbopogon citratus (DC.) Stapf]. **Rev. bras. plantas med.**, Botucatu , v. 12, n. 4, p. 488-498, Dec. 2010.

MATOS JR. DIRCEU et al. CITROS: principais informações e recomendações de cultivo, versão eletrônica do Boletim Técnico 200 (IAC). 2005.

NAIK, Mohd Irfan et al, Antibacterial activity of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) oil against some selected pathogenic bacterias. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, 2010.

NASCIMENTO, Patrícia G G do, et al. Antibacterial and Antioxidant Activities of Ursolic Acid and Derivatives. Molecules 2014, 19, 1317-1327, 2014.

NEGRELLE, R.R.B.1; GOMES, E.C.2. *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf : chemical composition and biological activities. (review). Revista Brasileira de Plantas Medicinais, v.9, n.1.p. 80-92, 2007.

NUNES, Eliana et al . Caracterização farmacobotânica das espécies de *Sambucus* (Caprifoliaceae) utilizadas como medicinais no Brasil: Parte II. *Sambucus australis* Cham. & Schldtl. Rev. bras. farmacogn., João Pessoa , v. 17, n. 3, p. 414-425, Sept. 2007 .

OMENA, M.L.R.A. Ensaio etnofarmacológico de espécies vegetais com ação no sistema nervoso central, originárias do bioma caatinga. **Saúde & Ambiente em Revista**, v.2, p.92-107, 2007.

Organização Mundial da Saúde (OMS). *Alma-Ata 1978 - Cuidados primários*

de saúde. Relatório da conferência internacional sobre cuidados primários de saúde. Brasília: Organização Mundial da Saúde/Fundo das Nações Unidas para a Infância; 1979.

PEREIRA, V. Maria do Socorro Vieira et al. Atividade antimicrobiana de extratos de plantas no Semi-Árido Paraibano. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v. 2, n. 1, 2010.

Rao VS, Melo CL, Queiroz MG, Lemos TL, Menezes DB, et al. (2011) Ursolic Acid, A Pentacyclic Triterpene from *Sambucus australis*, Prevents Abdominal Adiposity in Mice Fed a High-Fat Diet. *Journal of medicinal food*, 2011.

REZENDE, H.A., COCCO, M.I.M. A utilização de fitoterapia no cotidiano de uma população rural. *Revista Escola Enfermagem USP*, São Paulo, v. 36, n. 3, p. 282-8, 2002.

RODRIGUES, Eliana & CARLINI, Elisaldo Luiz de Araújo. Levantamento etnofarmacológico realizado entre um grupo de quilombolas do Brasil. *Arquivos Brasileiros de Fitomedicina Científica* v.1, n.2, p. 80-87, 2003.

Roger, S. **French trajectories: shaping modern times in rural aveyron**. Princeton: Princeton Univ., 1990.

NASCIMENTO, Patrícia G G do, et al. Antibacterial and Antioxidant Activities of Ursolic Acid and Derivatives. *Molecules* 2014, 19, 1317-1327, 2014.

SOUZA, C.D.; FELFILI, J.M. **Uso de plantas medicinais na região de Alto Paraíso de Goiás, GO, Brasil**. *Acta Botânica Brasileira*, v. 20, p. 135-142, 2006.

SOUZA, C.M.P et al . Utilização de plantas medicinais com atividade antimicrobiana por usuários do serviço público de saúde em Campina Grande - Paraíba. **Rev. bras. plantas med.**, Botucatu , v. 15, n. 2, p. 188-193, 2013 .