

## ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO ÓLEO ESSENCIAL *CORIANDRUM SATIVUM L.* E SEU FITOCONSTITUINTE (LINALOL) SOBRE CEPAS DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*.

Jullyanne Barbosa da Cunha Batista<sup>1</sup> ; Zilmara Vieira Pedrosa <sup>2</sup>

<sup>1</sup>Graduanda em Farmácia pela Faculdade Ciências Médicas da Paraíba

<sup>2</sup>Docente e Orientadora da Faculdade Ciências Médicas da Paraíba.

Faculdade Ciências Médicas da Paraíba, Jullyanne\_27@hotmail.com

**Resumo:** As plantas são fontes de produtos naturais biologicamente ativas de onde são originados diversos fármacos. O aumento da preocupação das indústrias em encontrar insumos naturais em substituição aos sintéticos na produção de alimentos, cosméticos e medicamentos. O coentro é uma espécie vegetal pertencente à família Apiaceae/Umbelliferae, sendo muito utilizado na culinária. É rico em óleos essenciais com atividades farmacológicas que motivou esta pesquisa quanto ao estudo da ação antibacteriana do óleo essencial *Coriandrum sativum L.* e seu fitoconstituente majoritário. O *Staphylococcus aureus* é uma bactéria frequentemente envolvida em infecções e que apresenta cepas que apresentam resistência a vários antibacterianos. Logo, a busca de novos antibacterianos de origem vegetal é extremamente necessária. Desta forma, o presente estudo teve como objetivo investigar a atividade antibacteriana do óleo essencial de *Coriandrum sativum L.* (coentro) e seu fitoconstituente majoritário (linalol), *in vitro*, sobre 9 cepas de *S. aureus* (8 cepas clínicas e 1 ATCC). Inicialmente, foram determinadas a Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM), pela técnica da microdiluição. Foi encontrado para o óleo essencial *C. sativum* CIM<sub>89%</sub>= 125 µg/ml e CBM<sub>67%</sub>= 500 µg/ml, e para o fitoconstituente majoritário o linalol um CIM= 62,3µg/ml e CBM= 62,3 µg/ml. O óleo essencial e seu fitoconstituente apresentaram atividade antibacteriana contra cepas de *Staphylococcus aureus*, portanto novos estudos são promissores.

**Palavras-chave:** *C. sativum*., Óleo essencial, *S. aureus*, Linalol.

**Introdução:** O uso de produtos naturais como matéria prima para a síntese de compostos químicos com ação biológica tem sido relatado ao longo dos anos. No Brasil, devido a biodiversidade de plantas medicinais que são fontes de substâncias biologicamente ativas, vêm despertando o interesse de pesquisadores da área farmacêutica (KORDAL et al., 2008).

Grande parte dos fármacos de uso clínico, são de origem natural ou foram desenvolvidos por sínteses químicas idealizadas a partir de produtos naturais. Em toda parte da planta pode-se encontrar princípios ativos de grande importância, sintetizados pelo metabolismo secundário das plantas que dão origem a um complexo composto de substâncias e com diversas aplicações biotecnológicas (BOLZANI, 2009).

Uma classe de grande importância são as dos óleos essenciais, que é definido como material volátil, que apresentam em alguns tipos de plantas tendo como função sinalização química e comunicação entre espécies, proteção contra microrganismos e herbívoros (SILVA et al., 2012).

Logo, os óleos são promissores, tendo em vista que, a resistência bacteriana aos medicamentos já existentes, nos leva a procura de novos fármacos, uma das grandes apostas da indústria farmacêutica são os óleos essenciais (BARROSO,2011).

Os óleos essenciais estão comumente associados a importantes ações biológicas. Uma família produtora de óleo essencial e de grande importância medicinal e econômica trata-se da família *Apiaceae*.

Dentre os representantes desta família destaca-se o *Coriandrum sativum L.* Conhecido popularmente por coentro ou coendro (Figura 1), é uma espécie de vegetal aromático utilizado na culinária da região Norte e Nordeste e no tratamento estomacal, fungicida, antipiréticos, anti-helmíntico e analgésico no tratamento de dores articulares e reumatismo (CHITHRA et al. 1997; ISHIKAWA et al., 2003) com alguma ação terapêutica não comprovada cientificamente da sua eficiência e segurança.



**Figura 1:** Folhas e caule do *Coriandrum sativum L.* (DIAS, 1995)

Logo, o presente trabalho consiste em uma pesquisa experimental que visa utilizar cepas de *Staphylococcus aureus*, que é uma bactéria de gram positiva normalmente presente na microbiota humana. Está relacionada com vários tipos de infecção desde simples a mais graves. Além de apresentar alto nível de resistência

aos antibióticos, portanto a busca de novos produtos com ação antibacteriana é estimulada. Logo utilizou cepas de *S. aureus* com intuito de verificar a atividade antimicrobiana do óleo essencial *Coriandrum sativum L.* e seu fitoconstituintes (Linalol).

Portanto, será de extrema relevância o resultado esperado, tendo em vista que o *C. sativum L.* na forma de óleo essencial possa ter ação terapêutica antibacteriana, espera-se que os resultados deste trabalho possam contribuir cientificamente para que novos estudos sejam realizados.

**Metodologia:** Tratou-se de uma pesquisa de natureza experimental, o qual foi abordado de forma qualitativa, tratando-se de um estudo que visa analisar o perfil do óleo essencial *Coriandrum sativum L.* (coentro) diante as cepas de *Staphylococcus aureus* para que venha comprovar sua ação antibacteriana. Determinando a Concentração Inibitória Mínima (CIM) e a Concentração Bactericida Mínima (CBM).

**Local da pesquisa:** A pesquisa foi realizada nos Laboratórios de Microbiologia do Campus I da Faculdade de Ciências Médicas da Paraíba, localizado no município de João Pessoa, Paraíba.

**Matéria prima:** Óleo essencial de *C. sativum* foi adquirido na Indústria Ferquina Ind E Com LTda (Vargem Grande Paulista, São Paulo, Brasil) e seu fitoconstituente (Linalol) na Indústria Sigma.

**Microrganismo:** Os micro-organismos utilizados para a análise da atividade antibacteriana foi: cepas *Staphylococcus aureus*, ressaltando que todas as amostras fazem parte do acervo da bacterioteca do Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Ciências Médicas da Paraíba.

**Elaboração do Inoculo:** O inoculo foi preparado com água destilada estéril, contrapondo com a escala de Mc Farland 0,5, que é uma solução de sulfato de bário e ácido sulfúrico. A preparação foi homogeneizada com auxílio de um agitador Vortex, obtendo-se assim a concentração final em cerca de  $10^8$  UFC/mL para bactérias (PEREIRA et al., 2012).

**Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM):** A determinação da CIM foi realizada através da técnica de microdiluição. Foi pipetado 100µL do caldo BHI os poços da placa de microdiluição nas colunas de 1 a 9. Em seguida, distribuídos 100µL do óleo da semente nas colunas 1 e 9 sendo realizado a microdiluição. Nos poços da coluna 11, foram realizados os testes para garantir a esterilidade da

microplaca adicionando apenas o caldo de BHI sem o inóculo, a emulsão do óleo, enquanto nos poços da coluna 12, foram realizados os testes de controle da viabilidade das cepas da bactéria ensaiada. As análises foram realizadas em triplicata e incubadas a 35-37°C durante 24 horas. A CIM foi revelada pela menor concentração do óleo que promoveu a inibição do crescimento do Bacteriano, verificado por uma substância rezasurina depositada em cada um dos poços (TINTINO et al., 2015).

**Determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM):** Para determinação da CBM, alíquotas 1µL da CIM, CIM x 2 e CIM x 6 do produto, foi inoculada em placas contendo ágar Mueller- Hinton. Após 24 horas de incubação a 35-37° C, a leitura para avaliar a CBM será realizada com base no crescimento total ou que permitir o crescimento de no máximo 3 unidades formadoras de colônia, caracterizado 99,9% de atividade bactericida foi definida como a CBM. Os ensaios foram realizados em triplicata. (ERNST et al., 1996; ESPINEL-INGROFF, 2007).

**Resultados e Discursão:** Os resultados encontrados na avaliação da atividade antibacteriana do óleo essencial *Coriandrum sativum L.* e seu fitoconstituintes (Linalol) frente às cepas clínicas e padrões de *Staphylococcus aureus*, foram obtidas pela Concentração Inibitória Mínima (CIM) e a Concentração Bactericida Mínima (CBM) através do método de microdiluição. Para avaliar o resultado da CIM, foi relevada pela menor concentração do óleo e seu fitoconstituintes majoritário, que promoveu a inibição do crescimento da bactéria, verificado por um corante rezasurina identificando a coloração final, após a sua incubação de 30 min. Já para a analisar a CBM foi incubado as placas de microdiluição e feito o semeio em placas contendo ágar Mueller- Hinton, analisada após 24 horas de sua incubação.

O método de microdiluição, utilizando a este trabalho, é considerado um dos mais utilizados e melhores para determinação de CIM in vitro, por apresentar características peculiares, tais como boa reprodutibilidade, sensibilidade 30 vezes maior que outros métodos descritos nas literaturas, logo o método requer uma pequena quantidade de amostra, podendo ser utilizado em grandes números de cepas e deixar um registro permanente (ELOFF, 1998).

**Determinação do CIM e CBM do óleo essencial *Coriandrum sativum L.***

A tabela 1 apresenta os valores médios encontrados para a CIM e CBM do óleo essencial *Coriandrum sativum L.* sobre as diferentes cepas de *S. aureus*. O CIM do óleo essencial variou de 125,0 µg/ml a 250,0 µg/ml, onde a concentração de maior prevalência foi de 125,0 µg/ml. O CBM neste micro-organismo variou de 500,0 µg/ml a 250,µg/ml (considerando esses valores capazes de inibir 100% das cepas, exceto as cepas SA-07 e SA-08), além disso concentrações menores foram encontradas inibindo uma boa porcentagem das bactérias analisadas.

CEPAS	Óleo essencial <i>Coriandrum sativum L.</i> (µg/ml)		CONTROLE	
	CIM	CBM	M.O	EST.
SA-01	125	500	+	-
SA-02	125	500	+	-
SA-03	125	250	+	-
SA-04	125	500	+	-
SA-05	125	500	+	-
SA-06	250	500	+	-
SA-07	125	1000	+	--
SA-08	125	1000	+	-
SA-ATCC	125	500	+	-

+: crescimento de microrganismo; - : ausência de microrganismo; M.O: Microrganismo; Est. : -esterilidade.

**Tabela 1:** Média de CIM e CBM do óleo essencial *Coriandrum sativum L.* sobre as cepas de *Staphylococcus aureus*.

De acordo com Holetz et al. (2002), que expõe de uma escala para classificar as Concentrações Inibitórias Mínimas (CIM), para os produtos naturais testados que apresentar um CIM inferior 100 µg/ml têm atividade antimicrobiana considerada boa, entre 100 µg/ml e 500 µg/ml considera moderada, entre 500 µg/ml e 1000 µg/ml fraca, e acima de 1000 µg/ml inativa.

Tomando como base a escala de Holetz et al.(2002), o óleo essencial de *Coriandrum sativum L.* apresentou uma atividade antimicrobiana moderada tendo como um CIM de 89,0% estabelecida em 125 µg/ml e 11,1% de 250 µg/ml, logo nota-se que houve uma atividade moderada em toda sua CIM.

De acordo com Sartoratto et al. (2004), fala que todos os óleos estudados por ele, apresentaram

ação moderada para atividade antimicrobiana contra *S. aureus* e *Subtilis cohn*, exceto *M. spicata L.* inativa. No entanto, a classificação do CIM de sartoratto et al. (2004), confirma a classificação deste experimento, onde o mesmo apresentou um CIM= 125µg/ml, classificando em ação antibacteriana moderada para cepas *S. aureus*.

Logo, nota-se justificativa, da ação antimicrobiana frente aos os óleos essenciais por serem substância de compostos hidrofóbicas, poderiam desempenhar sua ação antimicrobiana desorganizando ou até mesmo rompendo a membrana do microrganismo. Entretanto, há outras ações envolvendo granulação citoplasmática e a intra e extracelular (Queiroz, 2012).Portanto, há possibilidade do óleo essencial e seu fitoconstituente possam ter atuado por alguns desses mecanismos de ação, pois o mesmo sem quer promoverem alteração na cápsula, foram capaz de exercer efeitos bactericida e/ou bacteriostático sobre *S. aureus* .

#### **Determinação da CIM e CBM do fitoconstituente (Linalol).**

O Linalol, 3,7-dimetilocta-1,6-dient-ol, é um composto monoterpene alcoólico terciário de cadeia aberta encontrado em várias espécies de vegetais aromáticos. É constituinte majoritário do óleo essencial *Coriandrum sativum L.* Estudos demonstraram que este composto monoterpene apresenta diversas atividades farmacológicas tais como: antitumoral; anti-inflamatória; analgésico; anticoesterolemico e antimicrobiana (ISHIKAWA et al., 2003; CHITHRA et al., 1997). Os resultados dos experimentos do presente estudo das atividades antimicrobiana do fitoconstituente estão apresentados na tabela 2. Como pode observar o Linalol inibiu os crescimentos de 100% das cepas ensaiadas, tendo sua CIM= 67% estabelecida em 62,3 µg/ml. Já a CBM foi estabelecida para CBM= 66% das cepas e foi de 62,3 µg/ml (44%) e 125µg/ml (22%).

No teste de controle de crescimento do microrganismo, analisou que todas as cepas testadas foram capazes de crescer em caldo Mueller Hinton, foi realizado um controle de esterilidade certificando que o caldo Mueller Hinton não estava contaminado com microrganismo.

CEPAS	Óleo essencial <i>Coriandrum sativum</i> L. (µg/ml)		CONTROLE	
	CIM	CBM	M.O	EST.
SA-01	125	250	+	-
SA-02	62,3	62,3	+	-
SA-03	31,2	62,3	+	-
SA-04	62,3	125	+	-
SA-05	62,3	62,3	+	-
SA-06	125	250	+	-
SA-07	62,3	125	+	--
SA-08	62,3	500	+	-
SA-ATCC	62,3	62,3	+	-

+: crescimento de microrganismo; - : ausência de microrganismo; M.O: Microrganismo; Est. : -esterilidade.

**Tabela 2:** Média de CIM e CBM do fitoconstituintes Linalol sobre as cepas de *Staphylococcus aureus*.

De acordo com Camargo e Vasconcelos (2014), o Linalol apresenta bons efeitos antimicrobianos, por mecanismo que pode ser atribuído a desnaturação das proteínas ou desidratação sobre células vegetativas. Onde o efeito inibitório é mais potente em bactérias Gram-positivas do que em Gram-negativas. Portanto, corroborando com os achados deste estudo.

Logo observa que os valores do CIM e CBM comparados ao do óleo essencial do *C. sativum*, foram mais satisfatórios, contado que, este fitoconstituintes é composto majoritário no óleo essencial de *C. sativum*. Tomando como base Holetz et al (2002), o Linalol apresentou uma atividade antimicrobiana boa, exceto para cepas SA-01 e SA-06, tendo um CIM= 78% estabelecido em 31,2 µg/ml a 62,3 µg/ml, entretanto as cepas SA-01 e SA-06 apresentaram atividade antimicrobiana moderada.

O óleo essencial e seu fitoconstituintes (Linalol) representam, portanto, uma nova alternativa promissora para pesquisadores que visam descobrir substâncias com potencial antibacteriano, realizando estudos mais detalhados sobre o mecanismo de ação e de toxicidade.

**Conclusões:** Diante dos resultados obtidos no presente estudos pode -se concluir que:

- O óleo inibiu os crescimentos de todas as cepas ensaiadas, tendo CIM estabelecidas 125µg/ml. E CBM foi estabelecida em 500µg/ml;

- O Linalol inibiu todas as cepas ensaiadas, tendo CIM estabelecida com uma variação de 125  $\mu\text{g/ml}$  a 31,2 $\mu\text{g/ml}$ . E a CBM foi estabelecida com variação de 62,3  $\mu\text{g/ml}$  a 500 $\mu\text{g/ml}$ ;
- As concentrações Inibitórias Mínima (CIMs e CBMs) do óleo essencial e seu fitoconstituintes foram consideradas boas e moderadas, respectivamente;
- O óleo essencial e o fitoconstituintes estudados demonstraram possuir ação antimicrobiana, podendo ser utilizados para estudos posteriores mais aprofundados já que se apresentam como prováveis aliados no tratamento de infecções provocadas por *S. aureus*.

## Referências

BARROSO M.T. **Estudo sobre processo de obtenção de extrato de Achyrocline satureioides (LAM) DC e sua potencialidade na perfumaria** [Dissertação]. Porto Alegre: Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, 2011.

BAZILONI E.M.F. **Estudo Farmacológico e comportamentais do óleo essencial da *coriandrum sativum* L. em camundongos.**[Tese] São Paulo: Universidade Federal de São Paulo; 2009.

CAMARGO S.B.; VASCONCELOS D.F.S.A. **Revista ciências médicas e Biológicas** , Salvador, V13:3, p.381-87, set - dez, 2014.

CHITHRA V.; LEELAMMA S. **Hypolipidemic effect of coriander seeds (*Coriandrum sativum*): mechanism of action.** Plant Foods for Human Nutrition, 38, 167-72, 1997.

DIAS T.A. **Medicinal plants in Brazil.** In: Newsletter-G-15 Gene Banks for Medicinal & Aromatic Plants, 1995; 4: 7-8.

ELOFF J.N.A. **A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts fr bactéria.** planta medica. V 64; p.711-713; 1998.

ERNST M.E.; KLEPSEK M.E.; WOLFE E.J.; PFALLER M.A. **Antifungal dynamics of LY 303366, an investigational echinocandin B analog, against *Candida* ssp.** Diagn Microbiol Infec Dis. 1996; 26(3): 25-31.

ESPINEL-INGROFF A. **Standardized disk diffusion method for yeasts.** Clin Microbiol Newsl. 2007; 29(13): 97-100

HOLETZ, F.B. et al. **Screening of some in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases.** Memórias do instituto Oswaldo Cruz. V97, 7, p1027-31, 2002.

ISHIOKAWA T.; KONDO K.; KITAJIMA J. **Water-soluble constituents of coriander.** **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, V51, p.32-39, 2003.

KORDAL S.; CARKIR A.; OZER M.; CARMAKCI R.; KESDEK M.; METE E. **Antifungal, phytotoxic and insecticidal properties of essential oil isolated from Turkish Origanum acutidens and its three components, carvacrol, thymol and p-cymene.** Bioresour technol 99 (18):8788-95; Dez.2008.

PEREIRA C.B.; MARIN A.; DALMORA S.L.; NECCHI R.M.M.; ROSSATO L.; ALVES S.H.; MANFRON M.P. **Atividade Antimicrobiana e Citotoxicidade do extrato bruto obtido de Morus alba L. (Moraceae).** Rev Ciênc Farm Básica Apl. 2012; 33(1): 133-7

SARTORATTO A; MACHADO A.L.M.; RELARMELINA C.; FIGUEIRA G.M.; DUARTE M.C.T.; REAHDER V.L.G. **Composition and antimicrobial activity of essential oils aromatic plants used in Brazil.** Braziliam Journal of Microbiology, 35; 2075-80,2004.

SILVA M.A.; COELHO JÚNIOR L.F.; SANTOS A.P. **Vigor de sementes de coentro (*Coriandrum sativum* L.) proveniente de sistemas orgânico e convencional.** Bras.2012-mar; V.14: 192-96.

TINTINO R.S.; NETO A.A.; MENEZES I.R.A.; OLIVEIRA C.D.M.; COUTINHO H.D.M. **Atividade antimicrobiana e efeito combinado sobre drogas antifúngicas e antibacterianas do fruto de Morinda citrifolia L.** Acta biol. Colomb. 2015 set-dez; 20(3): 193-200.