

POTENCIAL ANTIMICROBIANO DE UM GEL A BASE EXTRATOS DE (*ALOE VERA* (L.) BURM. F.), (*STRYPHNODEDRON BARBATIMAM* MART.) E (*MENTHA CRISPA*)

POTENTIAL ANTIMICROBIAL A GEL BASED EXTRACTS (*ALOE VERA* (L.) Burm .F.) , (*Stryphnodendron BARBATIMAM* MART .) And (*Mentha*crispa)

Karina Íris de Moura Silva¹, Daniele Aparecida Galindo¹, Werika Jacyara de Almeida Silva¹ & Risonildo Pereira Cordeiro².

¹Acadêmicos do curso de Farmácia. Faculdade ASCES, 55016-901, Caruaru, Pernambuco, Brasil.

²Docente/Orientador do curso de Farmácia. Faculdade ASCES, 55016-01, Caruaru, Pernambuco, Brasil.

Correspondência: Risonildo Pereira Cordeiro: risonildopc@hotmail.com

Objetivou-se formular um gel a base de Extratos de Babosa (*Aloe vera* (L.) *Burm. f.*), Barbatimão (*Stryphnodendronbarbatimam* Mart.) e Hortelã (*Mentha crispa*), afim de analisar o seu potencial antimicrobiano incorporados com os princípios ativos. O delineamento do estudo foi do tipo laboratorial experimental – observacional, onde foi avaliada a atividade bactericida dos óleos essenciais da Babosa (*Aloe vera* (L.) *Burm. f.*), Barbatimão (*Stryphnodendronbarbatimam* Mart.) e Hortelã (*Mentha crispa*) incorporando em uma formulação de um gel os óleos essenciais. Para o referido estudo foram utilizadas cepas de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus MRSA*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli multirresistente*, *Escherichia coli* e *Candida albicans* devidamente identificadas. No meio de três plantas analisadas resultou em melhor eficácia o *Shyphnodendron barbatiman mart*. O gel mostrou, frente às cepas utilizadas, elevada atividade de inibição microbiológica sendo esta maior que 99% obtendo desta forma um resultando adequado para atividade antimicrobiana relativa a este estudo.

Palavras-chave (Keywords): Aroeira, *Mentha crispa* L, Barbatimão, Antissépticos, Plantas Medicinais.

Abstract:

The objective was to formulate a gel Aloe extracts base (*Aloe vera* (L.) Burm. F.) Barbatimão (*Stryphnodendron barbatimam* Mart.) And mint (*Mentha crispa*), in order to analyze their potential antimicrobial incorporated with the active principle. The study design was experimental laboratory type - observational, which evaluated the bactericidal activity of essential oils of Aloe (*Aloe vera* (L.) Burm f.), Barbatimão (*Stryphnodendron barbatimam* Mart.) and mint (*Mentha crispa*), incorporating in a formulation of a gel essential oils. For this study were used strains of *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus MRSA*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli multidrug-resistant Escherichia coli* and *Candida albicans* identified duly. In the middle of three plants analyzed resulted in better efficacy the *Stryphnodendron barbatiman* Mart. The gel showed, compared to strains used, high microbiological activity of this inhibition being greater than 99% thereby obtaining an appropriate result for antimicrobial activity for this study.

Introdução

O Brasil possui a maior diversidade biológica do mundo, sendo o foco de comunidades científicas internacionais para estudo, por oferecer uma rica flora que pode ser utilizada para fins terapêuticos (Souza e Felfili, 2005).

Com o avanço da tecnologia, os antimicrobianos estão sendo aperfeiçoados, através de procedimentos modernos de assistência que são voltadas para o desenvolvimento e tratamento das doenças bacterianas. Em contrapartida a invasão das bactérias multirresistentes, o acréscimo de novas formas vivas de microrganismos e o conflito contra a resistência bacteriana resulta na fragilidade ao ambiente do cuidado humano, se referindo à prevenção das infecções hospitalares. A resistência dos microrganismos aos fármacos de ultima geração aumenta a dificuldade do seu tratamento (Fontana, 2008).

Aloe vera detém uma ampla utilização, baseado em culturas e medicina popular, com variados benefícios, cientificamente comprovado, como cicatrizantes, hipoglicemiantes, hipolipidêmicos e anti-inflamatório, esta planta tem sido empregada mundialmente devido as suas propriedades terapêuticas (Alcântara, Bezerra e Carvalho, 2014).

O *Stryphnodendron adstringens* conhecido como Barbatimão, apresenta constituintes químicos como taninos, alcaloides, flavonoides, terpenos, estilbenos, esteroides, inibidores de proteases (como a tripsina) que podem ser considerada responsável pela sua atividade anti-inflamatória e supostamente antimicrobiana (Ferreira, Silva e Souza, 2013).

A *Mentha crispera* L. pertencente à Família Lamiaceae, sendo possível ser encontrada em diversas regiões do Brasil, alvo de suas propriedades estomáticas, antiespasmódicas, carminativas, estimulantes e tônicas (Lima, 2012).

Um grande desafio para pesquisadores e clínicos são as terapias para infecções bacterianas e fúngicas, especialmente os pacientes imunocomprometidos. Com o uso indevido dos medicamentos convencionais, resultou na resistência dos microrganismos, e a busca de terapias alternativas com plantas com propriedades farmacológicas. Diversos estudos com plantas medicinais estão contribuindo para obtenção de novos fármacos naturais, com estabilidade, seguros e eficientes, que servirão como modelos para desenvolvimento de moléculas sintéticas apropriadas, resultando na produção de antimicrobianos efetivos e mais específicos contra bactérias, helmintos, protozoários, fungos, vírus ou até mesmo antitumorais (Sartori, 2005).

Diante do exposto, propôs-se a produção de um gel com potencial antimicrobiano a base dos extratos de babosa (*Aloe vera* (L.) burm. f.), barbatimão (*Stryphnodendron barbatimammart.*) e hortelã (*Mentha crispera*).

Metodologia

O delineamento do estudo foi do tipo laboratorial experimental – observacional, onde foi avaliada a atividade bactericida dos óleos essenciais de Babosa (*Aloe vera* (L.) *Burm. f.*) e Hortelã (*Mentha crispera*) e extrato bruto seco de Barbatimão (*Stryphnodendron barbatimam Mart.*) incorporando em uma formulação de um gel. Como vantagens do estudo, temos a objetividade na coleta dos dados, baixo custo, fácil execução e o cuidado com preservação da flora regional.

O presente estudo foi realizado nos laboratórios da Associação Caruaruense de Ensino Superior e Técnico.

Os vegetais que foram utilizados são: óleo essencial de Babosa (*Aloe vera* (L.) *Burm. f.*), e óleo essencial de Hortelã (*Mentha crispera*), também foi produzido o extrato bruto seco de Barbatimão (*Stryphnodendron barbatimam Mart.*) todos foram obtidos de fornecedores idôneos conforme laudo número 1508319. O Barbatimão foi macerado e posteriormente foi retirado o extrato bruto úmido esse foi levado à secura em estufa BOD da marca SP Labor na temperatura de 60 °C até total secura, obtendo-se assim o extrato bruto seco.

Foi-se utilizado um gel a base de carbopol, a este produto, foram acrescentados os óleos essenciais de Babosa (*Aloe vera* (L.) *Burm. F.*) e de Hortelã (*Mentha crispera*) e extrato bruto seco de Barbatimão (*Stryphnodendronbarbatimam Mart.*) (em concentrações 2 vezes maiores que a CIM). A formulação G1 terá apenas a base do gel com o óleo essencial de Aloe Vera; a G2 foi formada apenas pela base de gel com extrato bruto seco de Barbatimão; a G3 foi constituída pela base de gel com o óleo essencial de Mentha Crispa; e a G4 foi constituída pela base de gel com os dois óleos

essenciais de Aloe Vera e de Mentha Crispa e o extrato bruto seco do Barbatimão, conforme a tabela a seguir:

Desenvolvimento farmacotécnico do gel

Componentes	G1	G2	G3	G4
Carbopol 940	1%	1%	1 %	1 %
<i>Aloe vera (L.) Burm. f. + Stryphnodendronbarbatimam mart.</i>	Qs	-	-	-
<i>Aloe vera (L.) Burm. f. + Mentha crispa</i>	-	Qs	-	-
<i>Stryphnodendronbarbatimam mart. + Mentha crispa</i>	-	-	Qs	-
<i>Aloe vera (L.) Burm. f. + Stryphnodendronbarbatimammart. + Mentha crispa</i>	-	-	-	Qs
Propilenoglicol	0,05%	0,05%	0,05%	0,05%
Sistema conservante	0,2%	0,2%	0,2%	0,2%

. qs = quantidade suficiente (2vezes a CIM).

Para os referidos trabalhos foram utilizadas cepas de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus MRSA*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli multirresistente*, *Escherichia coli* e *Candida albicans* devidamente identificadas e ATCC.

Para os estoques das cepas foram preparados em Agar Muller Hington (AMH) e para fungos Agar Saboround. As culturas incubadas a 37°C para bactérias e 25°C para fungos por 18 horas foram convenientemente seladas e mantidas sobre refrigeração a 4°C.

Este ensaio foi realizado conforme recomendações do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI 2014).

As cepas foram inoculadas em Caldo BHI – brain heart infusion por 18 horas a 37°C, posteriormente as culturas, foram ajustadas a escala 0,5 de Mc Farland (10^8 UFC/ml). A suspensão bacteriana obtida foi semeada de forma homogênea com auxílio de Swab estéril, sobre a superfície de placas de Petri contendo Ágar Mueller Hinton (AMH). Logo após foi utilizada a técnica de poços por difusão em ágar, onde foi disposto o extrato bruto da Aroeira em concentrações crescentes. As placas foram incubadas a 35° C por 18 horas e lidos os respectivos halos de inibição. As placas foram levadas a incubação a 35°C por 24 horas e posteriormente realizadas as leituras.

Foi considerada como CMB a menor concentração que não evidenciar o crescimento microbiano. O ensaio foi realizado em duplicatas, usando *Staphylococcus aureus* ATCC, *Staphylococcus MRSA* e *Escherichia Coli* da ATCC.

A Concentração mínima inibitória (CMI) das cepas em estudo foi determinada pelo método de diluição em Caldo BHI – brain heart infusion (CLSI). A partir das culturas crescidas em placas de AMH incubadas a 37°C por 18 horas, foram repicadas de 2 a 3 colônias em tubos de ensaio, ajustadas à turbidez com a escala de 0,5 Mac Farland. As culturas foram assim inoculadas sobre a superfície de placas de Ágar Mueller Hinton contendo concentrações crescentes dos extratos e formulações.

Para a realização dos testes, foram utilizados softwares estatísticos, *Statistica* 9.0, e planilhas eletrônicas, Excel 2013. As informações extraídas consistirão em gráficos e tabelas de visualização rápida.

Resultados e Discussão

As plantas medicinais desempenham, portanto, papel muito importante na medicina moderna. Primeiramente porque podem fornecer fármacos extremamente importantes, os quais dificilmente seriam obtidos via síntese química (Turolla e Nascimento, 2006).

Estima-se que cerca de 60% dos fármacos com atividades antimicrobianas, já comercializadas ou em fase de pesquisa clínica, sejam de origem natural (Turolla e Nascimento, 2006).

Diversas atividades biológicas da *Aloe Vera* são apresentadas em vários estudos, fundamentados em culturas e medicina popular, observando-se a importância do uso dessas plantas para aquisição de diversos benefícios, cientificamente comprovados, como hipoglicemiantes, cicatrizantes, hipolipidêmicos e anti-inflamatórios. E o respaldo da organização nacional de saúde (ANVISA) para a utilização de produtos a base de *Aloe vera*, tanto como medicamentos para fins cicatrizantes, como em bebidas a base dessa planta, acoberta o profissional de saúde para o uso racional desses produtos (Alcantara, Bezerra e Carvalho, 2014).

O *Stryphnodendron adstringens* é rico em taninos e ainda outros constituintes químicos, como alcaloides, flavonoides, terpenos, estilbenos, esteroides, inibidores de proteases (como a tripsina) sendo responsáveis pela sua atividade anti-inflamatória e provavelmente antimicrobiana. (Ferreira, Silva e Souza, 2013).

A *Mentha crispa* L., é cultivada e difundida em todas as regiões do Brasil sendo utilizada pelas suas propriedades antiespasmódicas, carminativas, estomáticas, estimulantes e tônicas. Devido as suas propriedades comprovadamente amebicida (*Entamoeba histolytica*) e giardicida

(*Giardia lamblia*) passou a ser mais estudada. O Giamebil plus® (extrato seco e hidroalcoólico de *Mentha crispera*) do Hebron Indústrias Químicas e Farmacêuticas já existentes no mercado. (Lima, 2012).

Para avaliar a atividade antimicrobiana de extratos de plantas é utilizado um grande número de bioensaios. Com o objetivo de encontrar o melhor agente antimicrobiano (Araújo, 2011).

Para os referido testes foram utilizadas cascas do *Shyphnodendron barbatiman mart*, folhas da *Mentha crispera*, e óleo essencial da seiva das folhas da *Aloe vera L.* sendo estas respectivamente indicadas popularmente como cicatrização de ferida, antiparasitário e bactericida (Tabela I).

Tabela I – Perfil das plantas medicinais *Shyphnodendron barbatiman Mart*, *Mentha crispera* e *Aloe vera L.*

Nome Científico	Nome popular	Parte vegetal Utilizada	Uso Popular
<i>Shyphnodendron barbatiman Mart.</i>	Barbatimão	Cascas	Cicatrização de Cortes e feridas
<i>Mentha crispera</i>	Hortelã-da-folha-miúda	Folhas	Atividade antiparasitária
<i>Aloe vera L.</i>	Babosa	Folhas	Anti-inflamatória e cicatrizante

No experimento o barbatimão (*Shyphnodendronbarbatimanmart*) demonstrou melhor eficácia entre as três plantas estudadas em relação ao *Staphylococcus aureus* ATCC chegando a 28mm de alo em todas concentrações (Tabela II), entretanto não demonstrou atividade frente a *Candida albicans* e *Escherichia coli*.

A *Mentha crispera* e *Aloe vera L.* não obteve resultado, pois não apresentou resultado frente as cepa de *Staphylococcus aureus* resistentes (MRSA), *Candida albicans* e *Escherichia coli* usadas nos experimentos.

Tabela II – Resultados dos halos de inibição bacteriana dos extratos frente aos microrganismos, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Candida Albicans* e *Escherichia coli*

Nome Científico	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Candida albicans</i>
<i>Shyphnodendron barbatiman mart</i> 100%	00mm	26mm	00mm
<i>Shyphnodendron barbatiman mart</i> 50%	00mm	23mm	00mm
<i>Shyphnodendron barbatiman mart</i> 25%	00mm	19mm	00mm
<i>Shyphnodendron barbatiman mart</i> 12,5%	00mm	16mm	0
<i>Mentha crispera</i> 100%	00mm	00mm	00mm
<i>Mentha crispera</i> 50%	00mm	00mm	0
<i>Mentha crispera</i> 25%	00mm	00mm	00mm
<i>Mentha crispera</i> 12,5%	0mm	00mm	0
<i>Escherichia coli</i> 100%	-	-	00mm
<i>Escherichia coli</i> 50%	0	0	0
<i>Escherichia coli</i> 25%	0	0mm	-
<i>Escherichia coli</i> 12,5%			

O resultado do produto final, um gel com potencial antimicrobiano, conforme a metodologia descrita no trabalho apresentou-se propicia considerando que houve eficácia quanto ao poder de inibição, ou seja, potencial antimicrobiano do gel na ordem de 99% quando correlacionado com os níveis de microrganismos padronizados e inseridos na amostra testada (Tabela III). Visto que o *Staphylococcus aureus* ATCC apresentou elevada sensibilidade frente ao gel com uma contagem absoluta de 72 UFC/ml, frente ao inóculo com concentração de 10^5 UFC/ml evidencia-se um relevante potencial antimicrobiano para o gel produzido.

Tabela III – Resultados da contagem de colônias ref. inibição bacteriana dos seguintes microrganismos *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Candida Albicans* e *Escherichia coli*

Gel	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Candida Albicans</i>
<i>Shyphnodendron barbatiman mart e Mentha crispa</i>	15	Incontáveis colônias	Incontáveis colônias
<i>Shyphnodendron barbatiman mart e aloe vera L.</i>	Incontáveis colônias	Incontáveis colônias	Incontáveis colônias
<i>Shyphnodendron barbatiman mart e Mentha crispa</i>	20	14	Incontáveis colônias
<i>Aloe vera L. e Mentha crispa</i>	13	Incontáveis colônias	Incontáveis colônias
Controle positivo	*Incontáveis colônias	Incontáveis colônias	Incontáveis colônias

Obs. As colônias dos microrganismos foram produzidas de acordo com a escala de Mac Farland: bactérias $0,1$ que corresponde a $3,0 \times 10^8$ UFC/ml e fungo $0,5$ que corresponde a $1,5 \times 10^9$ UFC/ml e diluídas até a concentração de 10^5 UFC/ml. * É considerado como incontáveis crescimentos bacterianos acima de 10^3 UFC/placa.

O barbatimão é amplamente utilizado e eficaz como antisséptico, anti-inflamatório, hemostático, antiedematogênico, antioxidante, antidiabético, adstringente, anti-hipertensivo, analgésico, cicatrizante e antimicrobiano e no tratamento de várias infecções cutâneas. Tem sido relatado o seu uso no tratamento de gonorréia, leucorréia, hérnia, malária, afecções hepáticas, feridas hemorrágicas, queimaduras, diarreias, gastrite, úlceras, reumatismo, problemas renais, entre outros. (Pereira, Moreno e Carvalho, 2013)

A menta passou a ser estudada visando uso contra parasitas intestinais. Estudos mostraram que esse gênero apresenta atividade antiparasitária contra *Giardia lamblia* e *Entamoeba histolytica*.

O óleo essencial (OE) de *Mentha crisper* onde o componente majoritário óxido de piperitenona é considerado o provável responsável pela ação antiparasitária. (Lima, 2012).

Aos compostos da *Aloe vera* têm sido atribuídos diversas atividades biológicas, tais como antisséptica [saponinas e antraquinonas], antitumoral [mucopolissacarídeos], anti-inflamatória [esteróides e ácido salicílico], antioxidante [vitaminas], imuno-reguladora e detoxificante [glucomananas].(Brito, 2007).

Conclusão

A produção do gel apresentou boa atividade frente às cepas utilizadas, além do baixo impacto ambiental, devido à utilização dos óleos essenciais e extrato bruto das plantas. Se expressa que os géis com adição de extratos vegetais apresentam potencial de ação frente á patologias epidérmicas associadas a processos infecciosos de microrganismos aos quais eles tem atividade antimicrobiana podendo ser essa utilizada em processos causados pelo *Staphylococcus aureus*, *Candida Albicans* e *Escherichia coli* entre outros microrganismos. Entretanto são necessários estudos complementares de atividade antimicrobiana para confirmação de eficácia deste produto frente a cepas resistentes para que possa ser delineado seu espectro de ação.

Referencia

ALCANTARA, J.R; BEZERRA, A.N; CARVALHO, N.S; **APLICAÇÕES CLÍNICAS DO USO DE ALOE VERA E RELATOS DE TOXICIDADE**. Nutrivisa – Revista de Nutrição e Vigilância em Saúde, Vol1, núm3. (2014).

ARAUJO, I.S; **ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE PLANTAS AROMÁTICAS QUE OCORREM NO ESTADO DO PARÁ**. Universidade Estadual de Feira de Santana, 2011. p.103. (Dissertação de Mestrado em Biotecnologia).

BRITO, C.F; **MICROPROPAGAÇÃO DE BABOSA (*Aloe vera* L.)** (Dissertação de Mestrado em Ciências Agrárias, Área de Concentração: Fitotecnia). Universidade Federal de Recôncavo da Bahia. 2007

FERREIRA, E.C; SILVA, J.L.L; SOUZA, R.F. **AS PROPRIEDADES MEDICINAIS E BÍOQUÍMICAS DA PLANTA STRYPHODENDRON ADSTRINGENT “BARBATIMÃO”**. (Dissertação de Mestrado em Neurociências/Laboratório de Fisiologia das interações Neuroquímicas/ Instituto Biomédico Universidade Federal Fluminense UFF). Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, 2013. 32p.

FONTANA, R.T; AS MICOBACTÉRIAS DE CRESCIMENTO RÁPIDO E A INFECÇÃO HOSPITALAR: UM PROBLEMA DE SAÚDE PÚBLICA. Rev. Bras. Enferm. Brasília 2008 maio-junho: 61 (3): 371-6.

LIMA, J.R. 2012. DESENVOLVIMENTO DE COMPROMIDO CONTENDO ASSOCIAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE MENTHA CRISPA L. E ABENDAZOL PARA TRATAMENTO DE POLIOARASITOSE. (Dissertação de Mestrado em Produção e Controle de Medicamentos). Universidade Federal de Pernambuco –UFPE,. 98p.

SARTORI, M.R.K. 2005. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE FRAÇÕES DE EXTRATOS E COMPOSTOS PUROS OBTIDOS DAS FLORES DA ACMELA BRASILIENSIS SPRENG (WEDELIA PALUDOSA) (ASTERCEAE).(Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas, Área de Concentração Microbiológica). Universidade do Vale do Itajaí. 81p.

SOUZA, C.D; FELFILI, J.M; USO DE PLANTAS MEDICINAIS NA REGIÃO DE ALTO PARAÍSO DE GOIÁS, GO, BRASIL. Acta bot. Bras. 20 (1): 135-142. 2006.

OLIVEIRA, A.K.M; PEREIRA, KCL; MULLER, J.A.I; MATIAS, R; ANÁLISE FITOQUÍMICA E PONTENCIAL ALELOPÁTICO DAS CASCAS DE POUTERIA RAMIFLORA NA GERMINAÇÃO DE ALFACE. Horticultura brasileira, v.32, n.1, 2014.

PEREIRA, C; MORENO, C.S; DE CARVALHO, C; USOS FARMACOLÓGICOS DO STRYPHNOENDRON (MAR.) – BARBATIMÃO. Revista Panorâmica On-Line. Barra do Garças –MT, vol 15, p.127-137, dez 2013. ISSN-2238-921-0.

TUROLLA, M.S.R; NASCIMENTO, E.S; INFORMAÇÕES TOXICOLÓGICAS DE ALGUNS FITOTERÁPICOS UTILIZADOS NO BRASIL. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas. Vol. 42, n. 2, abr./jun., 2006.