

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE NANOCÁPSULAS CONTENDO ÓLEO ESSENCIAL DE *LIPPIA SIDOIDES* CHAM.

LOUCHARD, Bianca Oliveira¹; BATISTA, Andressa H. de Moraes²; SILVA, Ângelo Roncalli Alves³; NOGUEIRA, Nádia A. Pinto⁴; LEAL, Luzia Kalyne A. Moreira⁵

¹ Estudante de Pós-Doutorado, Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas – Departamento de Farmácia – Universidade Federal do Ceará. biancafarma2@gmail.com; ² Co-autor, Departamento de Farmácia – Universidade Federal do Ceará; ³ Co-orientador, Departamento de Farmácia – UNIFOR; ⁴ Co-autor Departamento de Farmácia – Universidade Federal do Ceará; ⁵ Orientador – Centro de Estudos Farmacêuticos e Cosméticos – CEFAC, Departamento de Farmácia – Universidade Federal do Ceará. kalyneleal@gmail.com.br.

RESUMO: A veiculação de fármacos em forma de nanopartículas têm atraído grande interesse nos últimos anos, pois esses sistemas são capazes de conferir proteção a substância ativa, aumentando a eficácia terapêutica e diminuindo efeitos adversos. A espécie *Lippia sidoides* cham., conhecida popularmente como alecrim-pimenta, é uma planta aromática de cujas folhas se extrai óleo essencial com grande potencial antimicrobiano. O objetivo deste trabalho foi avaliar a concentração inibitória mínima (CIM), e a concentração bactericida mínima (CBM) do óleo essencial e de nanocápsulas contendo óleo essencial de *L. sidoides* (OELS) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P. A CIM tanto para o OELS quanto para as NCLS apresentaram o mesmo valor (70 µg/ml). Em relação a CBM, o valor encontrado para as NCLS (140 µg/ml) foi o dobro em relação ao OELS (280 µg/ml). Portanto a nanoencapsulação manteve a ação antimicrobiana do óleo essencial, e criou possibilidade de vantagens terapêuticas.

Palavras-chave: óleo essencial, *Lippia sidoides*, alecrim-pimenta, nanocápsulas, antimicrobiano, timol.

Linha de pesquisa: Biologia para Saúde

INTRODUÇÃO

A espécie *Lippia sidoides* Cham., conhecida popularmente como alecrim-pimenta, é uma planta aromática do Nordeste brasileiro cujas pesquisas apontam promissoras atividades antimicrobiana e anti-inflamatória. Das folhas de *L. sidoides* extrai-se óleo essencial constituído principalmente de timol, componente de pronunciada ação antimicrobiana (FONTENELLE et al., 2007), mas que pode apresentar toxicidade em doses elevadas. A veiculação de fármacos em forma de nanopartículas têm atraído grande interesse nos últimos anos, pois esses sistemas são capazes de conferir proteção a substância ativa, aumentando a eficácia terapêutica e diminuindo efeitos adversos (MORA-HUERTAS et al., 2010). O objetivo deste trabalho foi avaliar a concentração inibitória mínima, e a concentração bactericida mínima do óleo essencial e de nanocápsulas contendo óleo essencial de *L. sidoides* (OELS) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P.

MATERIAL E MÉTODOS

As nanocápsulas foram preparadas através do método de deposição interfacial do polímero pré-formado, descrito por Fessi et al. (1989). Os

ingredientes utilizados para o preparo das nanocápsulas foram: poloxamer 407, fosfatidilcolina, acetona, água ultrapura, ácido poli(lático-co-glicólico) PLGA 50:50, e óleo essencial de *L. sidoides*. O ensaio de avaliação antimicrobiana consistiu em determinar a concentração inibitória mínima (CIM) das amostras para a cepa de *S. aureus* ATCC 6538P pelo método de microdiluição em caldo (metodologia descrita CLSI/2009), como também determinar a concentração bactericida mínima (CBM), utilizando ágar *Plate-Count* (Romeiro, 2001). A determinação da população microbiana presente no inóculo inicial foi realizada por contagem de colônias em Ágar *Plate-Count* e a concentração de substância capaz de determinar uma redução no crescimento microbiano > 99,9% foi considerada a CBM. As diluições de OELS e de NCLS foram preparadas de forma correspondentes, a fim de avaliar o impacto da nanoencapsulação do óleo na atividade antimicrobiana. Foram avaliadas amostras de NCLS, OELS e de NCB (nanocápsulas branco - sem adição do OELS), nas concentrações de 0,1367; 0,2734; 0,5468; 1,0937; 2,1875; 4,375; 8,75; 17,5; 35; 70; 140 e 280 µg/mL. O antibiótico amicacina foi utilizado como padrão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi investigado se a encapsulação do OELS causava interferência no seu potencial antibacteriano. Para tanto, foi utilizado como modelo para este ensaio o microrganismo *S. aureus*, devido ao seu histórico de sensibilidade ao OELS. Na tabela 1 pode ser observado que as CIMs das NCLS e do OELS foram iguais (70 µg/mL), e bem superior ao fármaco padrão (amicacina: 4,3 µg/mL); enquanto a encapsulação aumentou (2x) a CBM (280 µg/mL) do OELS em relação a este livre (140 µg/mL). As NCB foram avaliadas nas mesmas concentrações das NCLS, e não produziram nenhum efeito sobre o crescimento microbiano, demonstrando que não há influência dos componentes da formulação sobre o efeito antimicrobiano das NCLS.

Tabela 1 - Resultados referentes ao ensaio de CIM e CBM de NCLS e OELS frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P

Amostras	CIM (µg/mL)	CBM (µg/mL)
NCLS	70	280
NCB	-	-
OELS	70	140
Amicacina	4,3	4,3

* - sem atividade antimicrobiana na faixa de concentração utilizada

A veiculação de óleos essenciais com potencial antimicrobiano em nanocarreadores tem despertado o interesse de vários grupos de pesquisa, em virtude dos benefícios que a nanotecnologia pode agregar, como controle da liberação do ativo, possibilidade de direcionamento ao alvo e diminuição da toxicidade (BOTELHO et al, 2016). No presente estudo foi observado que o encapsulamento do OELS não interferiu na atividade antimicrobiana do OELS, que apresentou a mesma CIM tanto para o OELS quanto para as NCLS (tabela 1). Em trabalho semelhante Montagu et al., (2014) também não encontrou diferença entre a CIM de nanocápsulas lipídicas contendo os terpenos carvacrol, eugenol e cinamaldeído e a mistura dos componentes livres, ambas apresentaram CIM de 310 µg/mL.

CONCLUSÃO

O nanoencapsulamento do OELS não interferiu na sua inerente atividade antimicrobiana, que apresentou a mesma CIM

tanto para o OELS quanto para as NCLS. Em relação a CBM, o valor encontrado para as NCLS foi o dobro do encontrado para o OELS. Esta diferença pode estar relacionada à taxa de liberação do ativo, ou a própria interação entre a nanopartícula e a célula bacteriana. Dessa forma, a nanoencapsulação manteve a ação antimicrobiana do óleo essencial, e criou possibilidade de vantagens terapêuticas.

AGRADECIMENTOS

CAPES, FUNCAP, CNPq

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BOTELHO, M. A., BARROS, G., QUEIROZ, D. B., CARVALHO, C. F., GOUVEA, J., PATRUS, L., REGO, A.; SILVA, I.; CAMPUS, G. , ARAUJO-FILHO, I. Nanotechnology in Phytotherapy: Antiinflammatory Effect of a Nanostructured Thymol Gel from *Lippia sidoides* in Acute Periodontitis in Rats. **Phytotherapy Research**, 30(1), 152-159, 2016.
- FESSI, H., PUISIEUX, F., DEVISSAGUET, J. P., AMMOURY, N., & BENITA, S. Nanocapsule formation by interfacial polymer deposition following solvent displacement. **International journal of pharmaceutics**, 55(1), R1-R4, 1989.
- FONTENELLE, R. O. S.; MORAIS, S. M.; BRITO, E. H. S.; KERNTOPF, M. R.; BRILHANTE, R. S. N.; CORDEIRO, R. A.; TOMÉ, A. R.; QUEIROZ, M. G. R., MASCIMENTO, N. R. F.; SIDRIM, J. J. C., ROCHA, M. F. G. Chemical composition, toxicological aspects and antifungal activity of essential oil from *Lippia sidoides* Cham. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 59, p. 934-940, 2007.
- MONTAGU, A., SAULNIER, P., CASSISSA, V., ROSSINES, E., EVEILLARD, M., & JOLY-GUILLOU, M. L. (2014). Aromatic and terpenic compounds loaded in lipidic nanocapsules: activity against multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* assessed in vitro and in a murine model of sepsis. **Journal of Nanomedicine & Nanotechnology**, 2014.
- MORA-HUERTAS, C. E.; FESSI, H.; ELAISSARI, A. Polymer-based nanocapsules for drug delivery. **International journal of pharmaceutics**, v. 385, n. 1, p. 113-142, 2010.
- ROMEIRO, R. da S. **Métodos em bacteriologia de plantas**. Viçosa: UFV, v. 279, 2001.