

**Fracionamento e análise microbiológica da *Cunila microcephala* Benth. (LAMIACEAE)**

<sup>a</sup>Marília S. Borges, <sup>b</sup>Claus T. Pich, <sup>c\*</sup>Patrícia A. Amaral

<sup>a</sup>Acadêmica do Curso de Farmácia da Universidade do Extremo Sul Catarinense (UNESC).

<sup>b</sup>Professor Dr. em Biotecnologia da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

<sup>c</sup>Professora Dra. do Curso de Farmácia da UNESC.

<sup>a,c</sup>UNESC, Av. Universitária nº 1105, Bairro: Universitário, CEP: 88806-000, Criciúma - SC,  
Brasil. [\\*paa@unesc.net](mailto:*paa@unesc.net)

<sup>b</sup>UFSC, Campus Araranguá. Rua Pedro João Pereira, nº 150, Bairro: Mato Alto, CEP 88900-000, Araranguá – SC, Brasil.

**RESUMO: Fracionamento e análise microbiológica da *Cunila microcephala* Benth.****(LAMIACEAE)**

*Cunila microcephala* Benth. é uma planta medicinal conhecida popularmente como Poejinho, sendo muito utilizada na região sul do Brasil. Dentre seus principais usos populares, destacam-se as atividades: antitussígena, estimulante, antiespasmódica e infecções respiratórias. Foram realizados testes para avaliar o extrato bruto, o infuso, o óleo essencial e as frações (diclorometano, acetato de etila e butanol) com o objetivo de analisar a atividade antimicrobiana de *Cunila microcephala* Benth. frente à quatro bactérias. Os resultados foram significantes para o extrato bruto, frações (diclorometano e acetato de etila) e o óleo essencial em relação à *Staphylococcus aureus*. A partir destes resultados, determinou-se a concentração inibitória mínima (CIM) destes extratos e constatou-se que o extrato bruto possui uma atividade antimicrobiana interessante, apresentando CIM de 12,5 mg/mL. As frações de diclorometano e acetato de etila apresentaram respectivamente CIM de 25 mg/mL e 100 mg/mL.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Cunila microcephala*, planta medicinal, atividade antimicrobiana, fitoquímica.

**ABSTRACT: Fractionation and microbiological analysis of *Cunila microcephala* Benth.**

*Cunila microcephala* Benth. is a medicinal plant popularly known as Poejinho, being really used in the South of Brazil. Among its main useful of the population, we stands out the antitussive activity, stimulant, antispasmodic and respiratory infections. Tests were conducted to assess the gross extract, the infusion, the essential oil and its fractions (dichloromethane, ethyl acetate and butanol) in order to analyze the antimicrobial activity of *Cunila microcephala* Benth. against four bacterial components. The results were relevant for the gross extract, fractions (dichloromethane and ethyl acetate) and the oil essential in relation to *Staphylococcus aureus*. From these results, we determined the minimum inhibitory concentration (MIC) of these extracts and it was found that the gross has an interesting antimicrobial activity, with MIC of 12.5 mg/mL. The fractions of dichloromethane and ethyl acetate respectively presented MIC of 25 mg/mL and 100 mg/mL.

**KEYWORDS:** *Cunila microcephala*, medicinal plant, antimicrobial activity, phytochemistry.

**RESUMEN: Fraccionamiento y análisis microbiológica de *Cunila microcephala* Benth**

**(LAMIACEAE)**

*Cunila microcephala* Benth, es una planta medicinal conocida popularmente como “Poejinho”, muy utilizada en la región del Sur de Brasil. Entre sus principales usos populares, se destacan la actividad antitusígena, estimulante, antiespasmódica e infecciones respiratorias. Fueron realizados testes para evaluar el extracto bruto, la infusión, el aceite

esencial y las fracciones (diclorometano, acetato de etilo y butanol) con el objetivo de analizar la actividad antimicrobiana de *Cunila microcephala* Benth, ante las cuatro bacterias. Los resultados fueron significativos para el extracto bruto, las fracciones (diclorometano, acetato de etilo) y aceite esencial con relación a la *Staphylococcus aureus*. Apartir de estos resultados, se determinó la concentración inhibitoria mínima (CIM) de estos extractos y se constató que el extracto bruto posee una actividad antimicrobiana interesante, presentando CIM de 12,5 mg/mL. Las fracciones de diclorometano y acetato de etilo presentan respectivamente CIM de 25 mg/mL e 100 mg/mL.

**PALABRAS CLAVES:** *Cunila microcephala* Benth, planta medicinal, actividad anti microbiana, fitoquímica.

## INTRODUÇÃO

A utilização de plantas como medicamentos e alimentos pela humanidade é tão antiga quanto a história do homem. O processo de evolução da chamada “arte da cura” deu-se de forma empírica, em processos de descobertas por tentativas, erros e acertos. Desta forma, os povos primitivos propiciaram a identificação de espécies e de gêneros vegetais, bem como das partes dos vegetais que se adequavam ao uso medicinal <sup>(1)</sup>.

Estudos recentes indicam um aumento na utilização de plantas como fonte alternativa ou complementar ao uso de medicamentos sintéticos <sup>(2)</sup>. Este é um avanço positivo, pois as potencialidades de uso das plantas medicinais encontram-se longe de estar esgotadas, devido ao desenvolvimento social e econômico baseados nos recursos renováveis <sup>(3)</sup>.

Estes recursos renováveis são amplamente utilizados na região de Criciúma-SC, onde a extração de carvão é umas das principais atividades econômicas da região, a qual tornou-se destaque no cenário brasileiro <sup>(4)</sup>. Toda esta extração, acarretam em resíduos no ambiente, o que acaba resultando em doenças respiratórias ocupacionais tais como, pneumoconiose, bronquite, fibrose pulmonar, interferindo relativamente na qualidade de vida das pessoas <sup>(5)</sup>. Todos estes fatores contribuem para que a população recorra às plantas medicinais para o tratamento de suas enfermidades e assim, podendo usufruir dos inúmeros recursos que a natureza disponibiliza. Albuquerque et al (2007) <sup>(6)</sup> afirma que o Brasil não só tem um dos níveis mais altos do mundo em biodiversidade, mas também tem uma enorme diversidade cultural e um repertório ainda sub-utilizado de plantas com valor econômico potencial.

Entre toda esta diversidade, encontra-se a planta medicinal *Cunila microcephala* Benth., pertencente à família Lamiaceae. É uma erva rasteira, conhecida popularmente como Poejinho, nativa da região sul do Brasil, Argentina e Uruguai. O Poejinho possui cheiro aromático, sabor quente e fracamente amargo. O óleo essencial apresenta composição química bastante diversificada. As folhas e flores são usadas popularmente na forma de chá como estimulante, antiespasmódico, no tratamento de tosse crônicas e infecção respiratória <sup>(7)</sup>.

Atualmente existem poucos estudos referentes a atividade antimicrobiana de *C. Microcephala*. Com base neste contexto regional o presente trabalho realizou o fracionamento do extrato bruto com solventes de polaridades diferentes com o objetivo de analisar a atividade antimicrobiana. O infuso e o óleo essencial também foram avaliados.

## **METODOLOGIA**

### **Material vegetal**

Foram utilizadas as folhas jovens de *Cunila microcephala*, para análise. O material foi coletado no município de Grão-Pará/SC (28° 13' 58,7" S e 49° 17' 58,9" W) e uma exsicata da planta, previamente identificada pela botânica Dra. Vanilde Citadini Zanette, encontra-se armazenada no Herbário Pe. Dr. Raulino Reitz da UNESC, com registro CRI 7620.

### **Preparação dos extratos**

As folhas foram lavadas em água corrente, dessecadas em estufa a 60°C e trituradas com auxílio de um moedor de facas.

O extrato para fracionamento líquido-líquido foi preparado por maceração através de solvente hidroalcoólico com álcool 70% na proporção de 1:5 (p/v). Este permaneceu em repouso por 15 dias, foi filtrado, obtido a tintura e posteriormente o solvente foi eliminado com auxílio do rota-evaporador formando o extrato bruto <sup>(1)</sup>.

Para a realização do fracionamento líquido-líquido foram colocados em uma pêra de separação 4,2 g de extrato mole dissolvidos em 100 mL de água. Particionou-se a mistura com 3 solventes diferentes (acetato de etila, butanol e diclorometano). As frações foram evaporadas em rota-evaporador <sup>(8)</sup>.

A extração do óleo essencial foi executada empregando a técnica de hidrodestilação utilizando o aparelho Clevenger <sup>(9)</sup>. A preparação da infusão foi realizada na proporção de 1g para 10 mL de água destilada fervente <sup>(1)</sup>.

Todos estes procedimentos foram realizados no Laboratório de Plantas Medicinais (LaPlaM) da UNESC.

### **Avaliação da atividade antimicrobiana**

Foram semeados os microorganismos *Staphylococcus aureus* (ATCC25923), *Escherichia coli* (ATCC25922), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC700603) e *Salmonella typhimurium* (ATCC14028) em ágar PCA em placas de petri. Foram testados o extrato bruto, o óleo essencial, o infuso e as frações (diclorometano, butanol e acetato de etila) na concentração de aproximadamente 100 mg/mL. Deixou-se na estufa por 24 horas a 37° C <sup>(10)</sup>.

A concentração inibitória mínima (CIM) foi determinada através de testes de diluição seriada em caldo. Pesou-se o extrato bruto e as frações (diclorometano e acetato de etila) na concentração de 100 mg/mL <sup>(10)</sup>. Foram testadas as amostras em duplicata nas concentrações de 100 mg/mL; 50 mg/mL; 25 mg/mL; 12,5 mg/mL; 6,25 mg/mL e 3,125 mg/mL. O meio utilizado para incubação foi Agar LB 10x, água estéril e a bactéria *Staphylococcus aureus* (ATCC25923). Colocou-se em agitação por 24 horas a 37°C em estufa. Todas as concentrações foram diluídas e testou-se em placa de ágar PCA, onde permaneceu por 24 horas a 37°C em estufa <sup>(11)</sup>.

Estas análises foram realizadas no Laboratório de Biomateriais e Materiais Antimicrobianos (LADEBIMA) no I-Parque/UNESC com a colaboração do professor Dr. Claus Troger Pich.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

O extrato bruto, o infuso, as frações e o óleo essencial foram inoculados em ágar PCA. Foram selecionadas quatro bactérias, sendo uma delas gram positiva e três gram negativas. Os resultados produziram pequenas zonas de inibição, que estão dispostos em milímetros (mm) de diâmetro na tabela 1.

Foi possível observar que os extratos com caráter mais polar como butanol e água, não tiveram resultados tão significantes. A infusão teve uma leve inibição sobre

*Staphylococcus aureus*, e a fração butanólica não inibiu o crescimento de nenhuma das bactérias em questão. As frações obtidas com solvente de polaridade intermediária e solvente mais apolar representados respectivamente pelo acetato de etila e diclorometano, formaram um pequeno halo de inibição em relação ao crescimento de *Staphylococcus aureus*. Apesar desta inibição não ser tão significativa, é interessante ressaltar e comparar com a fração polar obtidas com o butanol e a infusão. Outros trabalhos já demonstraram que os mecanismos de ação das moléculas antimicrobianas provavelmente estão relacionados ao caráter lipofílico dos compostos, devido a maior capacidade de transpor a membrana celular da bactéria pelo processo de difusão passiva, assim penetram na membrana da bactéria e acabam destruindo-a (12, 13).

Além disso, já foi constatado que solventes menos polares como diclorometano e acetato de etila possibilitam a extração de grupos esteróides como lipídios, cumarínicos, lactonas sesquiterpênicas e terpenóides (14,15), bem como tem sido demonstrado que os terpenos são ativos contra diversos microorganismos. No entanto, seu mecanismo de ação não está completamente elucidado, porém acredita-se que envolve a ruptura da membrana celular da bactéria por estes compostos lipofílicos (16).

Portanto a fração diclorometânica e de acetato de etila são responsáveis pela extração de compostos apolares fenólicos como: flavonóides, cumarinas, cromenos, benzofuranos, xantonas, quinonas e taninos, o que justificaria a formação do halo de inibição no teste frente à bactéria *Staphylococcus aureus*, convergendo com a literatura (17, 18).

Outra consideração importante é em relação ao resultado de 6 mm de inibição sobre *Staphylococcus aureus* do extrato bruto de *C. microcephala*, obtido com 19,87% de rendimento. Neste caso podemos sugerir uma atividade sinérgica dos compostos. Segundo Kalluf (1), as moléculas das plantas medicinais formam um complexo e produzem um grupo de substâncias quimicamente afins cuja atividade conjunta explica as ações farmacológicas de

uma planta medicinal, sendo esta ação necessariamente diferente em termos qualitativos e quantitativos, da ação farmacológica dos princípios ativos separadamente. Esta consideração pode explicar o fato de que ao separar do extrato bruto com o solvente butanol, as substâncias polares ao serem testadas não tiveram nenhum resultado significativo em nenhuma das bactérias.

Felisbino <sup>(19)</sup> realizou um estudo com *C. microcephala*, onde através de reações de precipitação e coloração constatou a presença de substâncias fenólicas como taninos, cumarinas e flavonóides. Neste estudo foi determinado o doseamento de polifenóis totais, sendo o teor encontrado de 0,65%. Estas moléculas têm recebido uma grande atenção nos últimos anos devido às suas funções biológicas <sup>(20)</sup>, incluindo a atividade antioxidante, antiinflamatória, anticarcinogênica, antialérgica <sup>(21)</sup>, imunomoduladora e antimicrobiana <sup>(22, 23)</sup>. Estudos afirmam que dentre os compostos fenólicos que correm nas plantas, já são conhecidos 8000 compostos diferentes desta classe <sup>(24)</sup>, e que estes quando testados isoladamente apresentam inibição sobre muitas espécies de bactérias gram positivas e gram negativas <sup>(25)</sup>.

Sobre o óleo essencial, obtido com 0,19% de rendimento, este apresentou melhor atividade microbiológica. O óleo atuou sobre a bactéria *Staphylococcus aureus* com halo de 12 mm de diâmetro, como também atuou sobre *Escherichia coli*, a bactéria gram negativa testada, apresentando 4 mm de halo de inibição. É interessante ressaltar que o óleo de *C. microcephala* inibiu uma das bactérias gram negativas, sendo que *Klebsiela pneumoniae* e *Salmonella typhimurium* não foram inibidas por nenhum dos extratos testados neste trabalho.

Segundo Bertini et al <sup>(26)</sup> os óleos essenciais de plantas apresentam uma atividade antimicrobiana contra um grande número de bactérias incluindo espécies resistentes a antibióticos. A composição química de óleos essenciais depende do clima, da estação do ano, condições geográficas e o período de colheita.



Um estudo realizado por Sandri et al <sup>(10)</sup> avaliou a atividade antimicrobiana do óleo essencial de seis espécies do gênero *Cunila*, inclusive *C. microcephala*. Foram testadas bactérias gram positivas e gram negativas totalizando um número de 15 microorganismos, incluindo *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* e *Escherichia coli*. Os resultados deste estudo indicaram que dentre o gênero *Cunila*, a espécie *Cunila galioides* foi a que apresentou os resultados mais interessantes em relação ao halo de inibição, com resultados superiores a 50 mm de diâmetro frente a oito bactérias. Já o óleo da *C. microcephala* inibiu com 6 mm de halo quatro espécies de bactérias, e não apresentou atividade sobre *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, o que diverge do resultado deste presente estudo.

Uma possível explicação para estes resultados pode ser em relação à idade da planta e a qualidade do óleo. No estudo realizado por Sandri et al <sup>(10)</sup> a planta foi colhida em seu período de floração, já neste estudo a planta foi colhida ainda jovem. Segundo a literatura folhas jovens contêm mais monoterpenos em alto estado de oxidação, como por exemplo, a mentona, e as folhas que já são mais velhas apresentam monoterpenos com baixo estado de oxidação, como o acetato de mentila e o mentol <sup>(27,28)</sup>.

Portanto, seria interessante realizar mais estudos para avaliar o óleo de *C. microcephala* em seus diversos estágios de crescimento, e assim determinar a melhor fase de da planta para extrair o óleo e testar sua atividade microbiológica.

Em relação à concentração inibitória mínima (CIM) foram analisados os extratos que apresentaram os resultados mais efetivos no teste de difusão em ágar, foram estes: o extrato bruto e as frações de acetato de etila e diclorometano. A CIM foi determinada através da observação visual <sup>(29)</sup>. O gráfico 1 mostra os resultados.

Como se observa no gráfico 1 todos os extratos apresentaram diferentes valores de inibição. As frações de diclorometano e acetato de etila exibiram concentrações inibitórias

mínimas de respectivamente 25 mg/mL e 100 mg/mL. Já sobre o extrato bruto, foi determinada a sua concentração inibitória mínima de 12,5 mg/mL.

Ao comparar as curvas de inibição, pode-se observar que o extrato bruto foi o mais efetivo na inibição da bactéria, pois mesmo na concentração de 12,5 mg/mL o extrato foi capaz de inibir totalmente o crescimento. Estes resultados indicam que talvez não seja somente um composto ativo o responsável pela atividade microbiológica observada de *C. microcephala*. Mais uma vez a sinergia pode ser a explicação para o resultado obtido<sup>(30)</sup>.

A medicina fitoterápica contém centenas de compostos, que inclusive variam consideravelmente em suas concentrações. A atividade farmacológica dessas misturas permanece em grande parte obscura, e é fundamental que a eficácia e segurança sejam conhecidos para serem aplicados com finalidades terapêuticas<sup>(18)</sup>.

## CONCLUSÃO

Neste estudo alguns dos extratos de *Cunila microcephala* apresentaram resultados significantes em relação ao halo de inibição sobre *Staphylococcus aureus* no teste de difusão em ágar: extrato bruto (6 mm), frações diclorometano (4 mm), fração acetato de etila (4 mm) e o óleo essencial (12 mm). Já em relação ao teste de concentração inibitória mínima (CIM), foi possível determinar as concentrações que inibiram 100% do crescimento: extrato bruto 12,5 mg/mL, fração diclorometano 25 mg/mL e fração acetato de etila 100 mg/mL. Seria importante determinar também a CIM do óleo essencial de *C. microcephala*. Mais estudos sobre esta espécie devem ser realizados, bem como analisar a aplicação em misturas tradicionais, uma vez que isso pode permitir elucidar no futuro o desenvolvimento de novas moléculas antimicrobianas.

## REFERÊNCIAS

1. Kalluf LJH. Fitoterapia funcional, parte 1: dos princípios ativos à prescrição de fitoterápicos. São Paulo: VP, 2008.
2. Melo Junior EJM, Raposo MJ, Lisboa Neto JA, Diniz MF, Marcelino Júnior CA, Sant'Ana AE. Medicinal plants in the healing of dry socket in rats: Microbiological and microscopic analysis. *Phytomedicine* 2002; 2: 109–116.
3. Schenkel EP, Gosmann G, Petrovick PR. Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos. In: Simões, C.M.O (Org.), Schenkel EP, Gosmam G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 5. ed. rev. ampl. pp 371-400. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/ Editora da UFSC, 2003.
4. Mafra Júnior A, Madeira MS. A segurança do trabalho em minas de carvão agindo na prevenção da pneumoconiose - Região carbonífera de Santa Catarina. Monografia (Especialização em Engenharia de Segurança do Trabalho) – Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, 2005.
5. Lopes MA. Os problemas de saúde causados pela deposição de cinzas de carvão na população de Vila Princesa Isabel no município de São Jerônimo, RS Brasil. *Ciência e conhecimento- Revista eletrônica da Ulbra São Jerônimo* vol. 3, Gestão ambiental, 2008.
6. Albuquerque UP, Medeiros PM, Almeida ALS, Monteiro JM, Lins Neto EMF, Melo JG, et al. Medicinal plants of the caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil: A quantitative approach. *Journal of Ethnopharmacology* 2007; 114: 325-354.
7. Toledo MGT, Alquini Y, Nakashima T. Caracterização anatômica das folhas de *Cunila microcephala* Benth. (Lamiaceae). *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas* 2004; 40: 487-494.
8. Cechinel-Filho V, Yunes RA. Estratégias para obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. *Química Nova* 1998; 21: 99-105.
9. Simões CMO, Spitzer V. Óleos Voláteis. In: Simões, CMO (Org.), Schenkel EP, Gosmam G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 5. ed. rev. ampl. pp 467-4951. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/ Editora da UFSC, 2003.
10. Sandri IG, Zacaria J, Fracaro F, Delamare APL, Echeverrigaray S. Antimicrobial activity of the essential oils of Brazilian species of the genus *Cunila* against foodborne pathogens and spoiling bacteria. *Food Chemistry* 2007; 103: 823–828.
11. Bussmann RW, Malca-García G, Glenn A, Sharon D, Chait G, Díaz D, et al. Minimum inhibitory concentrations of medicinal plants used in Northern Peru as antibacterial remedies. *Journal of Ethnopharmacology* 2010; 132: 101–108.

12. Pereira-Maia EC, Silva PP, Almeida WB. Tetraciclina e gliciliclinas: uma visão geral. *Química Nova* 2010; 33: 700-706.
13. Santos JC, Oliveira CAN, Varella L, Matos AP, Terezan AP, Leite AC, et al. Constituintes químicos e atividade antimicrobiana dos extratos de *Dilodendron bipinnatum* (SAPINDACEAE). *Química Nova* 2010; 33: 2080-2082.
14. Carvalho GJA, Carvalho ME. Diterpenos, triterpenos e esteróides das flores da *Wedelia paludosa*. *Química Nova* 2001; 24: 24-26.
15. Simões CMO, Schenkel EP, Gosmam G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR. *Farmacognosia da planta ao medicamento*. 5. ed. Santa Catarina: UFSC, 2001.
16. Cowan MM. Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Microbiol.* 1999; 12: 564-582
17. Cechinel-Filho V, Yunes RA. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para a otimização da atividade. *Química Nova* 1998; 21: 99-105
18. Yunes RA, Calixto JB. *Plantas medicinais sob a ótica da moderna química medicinal*. Chapecó: Argos, 2001.
19. Felisbino AS. *Análise Farmacognóstica de Cunila microcephala Benth. (LAMIACEAE)*. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia)-Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, 2010.
20. Daozong X, Xiaoqin W, Jiayi S, Qing Y, Ying Z. Phenolic compounds from the edible seeds extract of Chinese Mei (*Prunus mume* Sieb. et Zucc) and their antimicrobial activity. *Food Science and Technology* 2011; 44: 347-349.
21. Vaquero María JR, Alberto MR, Nadra MCM. Influence of phenolic compounds from wines on the growth of *Listeria monocytogenes*. *Food Control* 2007; 18: 587-593.
22. Vinson, JA, Hao Y, Su X, Zubik L. Phenol antioxidant quantity and quality in foods: vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1998; 46: 3630-3634.
23. Almeida AAP, Farah A, Silva DAM, Nunan EA, Glória MBA. Antibacterial activity of coffee extracts and selected coffee chemical compounds against enterobacteria. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 2006; 54: 8738-8743.
24. Bravo L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. *Nutrition Reviews* 1998; 56: 317-333.
25. Estevinho L, Pereira AP, Moreira L, Dias LG, Pereira E. Antioxidant and antimicrobial effects of phenolic compounds extracts of Northeast Portugal honey. *Food and Chemical Toxicology* 2008; 46: 3774-3779.

26. Bertini LM, Pereira AF, Oliveira CLL, Menezes EA, Morais SM, Cunha FA, et al. Perfil de sensibilidade de bactérias frente a óleos essenciais de algumas plantas do Nordeste do Brasil. *Infarma* 2005; 17: 80-84.
27. Hansel R, Keller K, Rimpler H, Schneider G. *Haagers Handbuch der Phamazeutischen Praxis*. Berlin: Springer Verlag, Band 5-Drogen, E-O. 1992: 821-848.
28. Viorin B, Brun N, Bayet C. Effects of Daylength on the Monoterpene Composition of Leaves of *Mentha x piperita*. *Phytochemistry* 1990; 29: 749-755.
29. Andrews JM. Determination of minimum inhibitory concentrations. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2001; 48: 5-16.
30. Yunes, RA, Cechinel-Filho V. *Química de produtos naturais, novos fármacos e a moderna farmacognosia*. Itajaí: UNIVALI, 2009.

## ANEXOS

| <b>Microorganismo</b>             | <b>Extrato<br/>bruto</b> | <b>Fração<br/>butanol</b> | <b>Fração<br/>diclorometano</b> | <b>Fração<br/>acetato<br/>de etila</b> | <b>Infusão</b> | <b>Óleo<br/>essencial</b> |
|-----------------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------------|--|----------------|---------------------------|
| <i>Staphylococcus<br/>aureus</i>  | 6 mm                     | 0 mm                      | 4 mm                            | 4 mm                                   | 2 mm           | 12 mm                     |
| <i>Escherichia coli</i>           | 0 mm                     | 0 mm                      | 0 mm                            | 0 mm                                   | 0 mm           | 4 mm                      |
| <i>Salmonella<br/>typhimurium</i> | 0 mm                     | 0 mm                      | 0 mm                            | 0 mm                                   | 0 mm           | Não<br>testado            |
| <i>Klebsiella<br/>pneumoniae</i>  | 0 mm                     | 0 mm                      | 0 mm                            | 0 mm                                   | 0 mm           | Não<br>testado            |

Tabela 1: Zonas de inibição em milímetros (mm) de *C. microcephala* sobre quatro microorganismos.

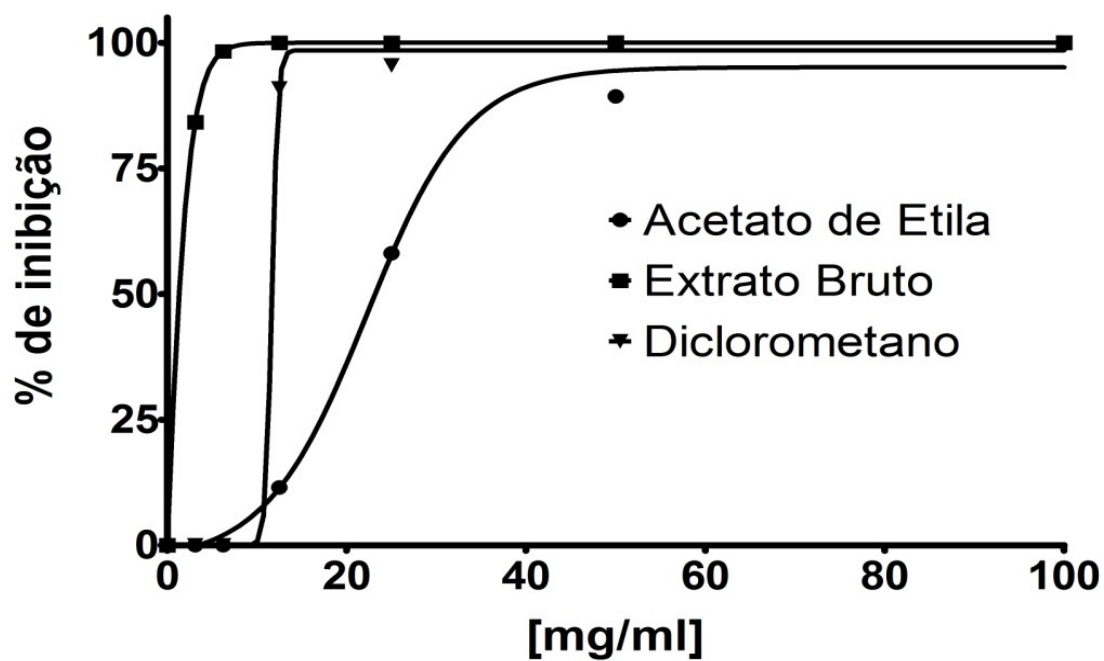


Gráfico 1: Curva de inibição de crescimento do extrato bruto<sup>a</sup> e das frações (diclorometano<sup>b</sup> e acetato de etila<sup>c</sup>) de *C. microcephala* (Benth.) frente à bactéria *Staphylococcus aureus*.

Legenda: a:  $R^2$ : 1,000; b:  $R^2$ :0,9992; c:  $R^2$ : 0,9953.