



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
Departamento de Ciências Farmacêuticas
Programa de pós-graduação em Ciências farmacêutica

**Atividade farmacológica do extrato *Ocimum campechianum*
Mill em cicatrização de ferida por segunda intenção em dorso
de ratos e sua atividade antimicrobiana**

JOSÉ JUSTINO DA SILVA JÚNIOR

Recife - 2007



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
Departamento de Ciências Farmacêuticas
Programa de pós-graduação em Ciências farmacêutica

**Atividade farmacológica do extrato *Ocimum campechianum*
Mill em cicatrização de ferida por segunda intenção em dorso
de ratos e sua atividade antimicrobiana**

JOSÉ JUSTINO DA SILVA JÚNIOR

Dissertação de mestrado, submetida ao programa de pós-graduação do Departamento de Ciências Farmacêutica do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito a obtenção do grau de mestre em Ciências Farmacêuticas.

Área de concentração: PRODUTOS NATURAIS
Orientadora: Prof^ª IVONE ANTÔNIA DE SOUZA
Co-orientadoras: Prof^ª JANE SHEILA HIGINO
Prof^ª MARIA DO SOCORRO VIEIRA

Recife – 2007

SILVA JÚNIOR, José Justino da
Atividade farmacológica do extrato *Ocimum
campechianum* MILL em cicatrização de ferida por
segunda intenção em dorso de ratos e sua atividade
antimicrobiana / José Justino da Silva Júnior –
Recife : O Autor, 2007.

xv, 92 folhas : il., tab.,

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de
Pernambuco. CCS. Ciências Farmacêuticas, 2007.

Inclui bibliografia e anexos.

1. *Staphylococcus aureus* 2. *Ocimum
campechianum* MILL. 3. Cicatrização. I. Título.

615(043)
615.7

CDU (2.ed.)
CDD (22.ed.)

UFPE
CCS023-07



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
Departamento de Ciências Farmacêuticas
Programa de pós-graduação em Ciências farmacêutica

Reitor

Prof.º. Dr. Amaro Henrique Pessoa Lins

Vice-Reitor

Prof.º. Dr. Gilson Edmar Gonçalves e Silva

Diretor do Centro de Ciências da Saúde

Prof.º. Dr. José Thadeu Pinheiro

Vice-Diretor do Centro de Ciências da Saúde

Prof.º. Dr. Márcio Antônio de Andrade Coelho Gueiros

Chefe do Departamento de Ciências Farmacêutica

Prof.º. Dr^a Jane Sheila Higino

Vice-Chefe do departamento de Ciências Farmacêuticas

Prof.º. Dr. Samuel Daniel de Souza Filho

Coordenador da Pós-Graduação em ciências Farmacêuticas

Prof.º. Dr. Pedro José Rolim Neto



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS**

Recife, 23 de fevereiro de 2007.

Dissertação de Mestrado defendida e **APROVADA**, por decisão unânime, em 23 de fevereiro de 2007 e cuja Banca Examinadora foi constituída pelos seguintes professores:

PRESIDENTE E EXAMINADOR INTERNO: Profa. Dra. Ivone Antônia de Souza (Deptº de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco).

Assinatura: Ivone Antônia de Souza

EXAMINADOR INTERNO: Profa. Dra. Jane Sheila Higino ((Deptº de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal da Pernambuco).

Assinatura: Jane Sheila Higino

EXAMINADOR EXTERNO: Profa. Dra. Alessandra de Albuquerque Tavares Carvalho (Deptº de Odontologia da Universidade Federal de Pernambuco).

Assinatura: Alessandra de Albuquerque Tavares Carvalho

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus nosso Senhor pelo seu imenso amor, pelos ensinamentos e pelas bênçãos que me presenteia diariamente com a luz da vida.

Agradeço a minha esposa, Paula Justino, pelo seu amor, carinho e dedicação nos momentos mais difíceis de minha vida e por me conceder uma família que se tornou motivação para minhas realizações.

Agradeço aos meus filhos José Gabriel Justino e José Justino Neto por suas maravilhosas existências, desenvolvendo em mim inspiração para superação dos obstáculos mais íngremes desta trajetória.

Agradeço aos meus pais que me acompanharam em toda minha caminhada nesta vida, desde os primeiros passos até esta sublime realização acadêmica.

Agradeço a minha mestra professora Elizabeth Arruda Carneiro Ponzi que na minha trajetória nos arcos acadêmicos destacou-se pela sua motivação e consagração no desencadear da aurora desta vitória.

Agradeço aos meus colegas Itarcio, Braz, Tiago e Pedro pela sua dedicação e esmero no desenvolvimento dos ensaios e a aos professores que auxiliaram no desenvolvimento sublime de meus conhecimentos nesta pós-graduação.

À Professora e Orientadora Ivone Antonia Souza pela sua consagração a pesquisa, pelo desenvolvimento de um caráter acadêmico em seus orientados e pelo desprendimento de atenção e estímulo em incitar o espírito científico.

À Professora Jane Sheila Higino pela suas orientações e estímulos em momentos difíceis e pelo norteamento no desencadear do Olímpo científico.

Á Professora Maria do Socorro Vieira Pereira pelas suas orientações que nortearam o desenvolver do conteúdo científico laboratorial desta pesquisa e incentivou –me nesta vitoriosa trajetória acadêmica.

*Dedico este momento
aos meus filhos José
Gabriel Justino e José
Justino Neto que
iluminaram estes meus
momentos com alegria, paz e
orgulho.*

“Não é o mais forte da espécie que sobrevive, nem o mais inteligente, mas aquele que responde melhor a mudanças” Charles Darwin

SUMARIO

LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE GRAFICOS	ix
LISTA DE TABELAS	x
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS	xi
LISTAS DE QUADROS	xii
RESUMO	xiii
ABSTRACT	xiv
INTRODUÇÃO	2
REVISÃO DE LITERATURA	6
Estudo sobre <i>Ocimum campechianum</i> Mill	6
Botânico	6
Fitoquímico	7
Farmacológico	8
Toxicológico	11
OBJETIVOS	14
OBJETIVO GERAL	14
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
ARTIGO I - Atividade cicatrizante de ferida por segunda intenção em dorso de ratos do extrato <i>Ocimum campechianum</i> Mill (Lamiaceae):Via oral.	17
ARTIGO II - Atividade cicatrizante de ferida por segunda intenção em dorso de ratos do extrato <i>Ocimum campechianum</i> Mill (Lamiaceae):Uso dermatológico	37
ARTIGO III - Atividade antimicrobiana do extrato <i>Ocimum Campechianum</i> MILL sobre <i>staphylococcus aureus</i>	58
CONCLUSÕES FINAIS	72
BIBLIOGRAFIA	74

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO DE LITERATURA

FIGURA 01 - Cicatrização por segunda intenção, removida do site www.Forp.Usp.br

ARTIGO I - Atividade cicatrizante de ferida por segunda intenção em dorso de ratos do extrato *Ocimum campechianum* Mill (Lamiaceae): Via oral.

FIGURA 01 –Aspecto botânico da espécie vegetal *Ocimum campechianum* Mill.(disponível na tese de SOUSA, 2004).

FIGURA 02 – Fotos da tricotomia do dorso dos animais e utilização do bisturi elétrico para realização dos ferimentos.

FIGURA 03 – Comparação dos aspectos macroscópicos da cicatrização de queimadura em dorso de ratos tratados com soro fisiológico 0,9 % por 03, 07 dias e 14 dias.

FIGURA 04 – Comparação dos aspectos macroscópicos da cicatrização de queimadura em dorso de ratos tratados com indometacina® 03, 07 dias e 14 dias.

FIGURA 05 – Comparação dos aspectos macroscópico da cicatrização (queimadura) em dorso de ratos com 03 07 e 14 dias com administração do extrato de *Ocimum campechianum* MILL.

ARTIGO II - Atividade do extrato *Ocimum campechianum* Mill (Lamiaceae) na cicatrização de ferida por segunda intenção em dorso de ratos: Uso dermatológico.

FIGURA 01 –Aspecto botânico da espécie vegetal *Ocimum campechianum* Mill.(disponível na tese de SOUSA, 2004).

FIGURA 02- Aspecto da pomada creme desenvolvidas a partir do extrato de *Ocimum campechianum* Mill.. Aplicação sobre os ferimentos pós-bisturi elétrico da pomada creme do *Ocimum campechianum* Mill. e aplicação da pomada Fibrase com cloranfenicol® .

FIGURA 03 –Fotos da tricotomia do dorso dos animais e utilização do bisturi elétrico para realização dos ferimentos.

FIGURA 04 – Comparação dos aspectos macroscópicos da cicatrização de queimadura em dorso de ratos tratados com soro fisiológico 0,9 % por 03, 07 dias e 14 dias.

FIGURA 05 - Comparação dos aspectos macroscópico em cicatrização (queimadura) em dorso de ratos com 03, 07 e 14 dias com administração Fibrase com cloranfenicol®.

FIGURA 06 – Comparação dos aspectos macroscópico em cicatrização (queimadura) em dorso de ratos com 03, 07 e 14 dias com administração do extrato de *Ocimum campechinum* MILL na forma farmacêutica pomada-creme.

ARTIGO III - atividade antimicrobiana do extrato *Ocimum campechianum* MILL sobre *staphylococcus aureus*

FIGURA 1 – Representação da atividade antimicrobiana do extrato bruto de *Ocimum campechianum* Mill. Hidroetanólico (80%) das folhas sobre as linhagens de *Staphylococcus aureus* multiresistente 186C e ATCC 25923.

LISTA DE GRÁFICOS

ARTIGO III - Atividade antimicrobiana do extrato *Ocimum campechianum* MILL sobre *staphylococcus aureus*

GRÁFICO 1 – Representação gráfica da atividade antimicrobiana do extrato bruto de *Ocimum campechianum* Mill. Hidroetanólico (80%) das folhas sobre as linhagens de *Staphylococcus aureus* multiresistente 186C, 189C, 171C, 319U, 19L e ATCC 25923.

LISTA DE TABELAS

ARTIGO II - Atividade cicatrizante de ferida por segunda intenção em dorso de ratos do extrato *Ocimum campechianum* Mill (Lamiaceae): Uso dermatológico.

Tabela 01– variação das formulações centesimais de creme-pomada dermatológica à base do extrato bruto de *Ocimum campechianum* Mill.

ARTIGO III - atividade antimicrobiana do extrato *Ocimum campechianum* MILL sobre *staphylococcus aureus*

Tabela 1 - Fenótipos de resistência das amostras de *Staphylococcus aureus* 186C, 19L, 319U, 171C e 189C e seus sítio de colheita.

Tabela 2 – Atividade antimicrobiana do extrato hidroetanólico de *Ocimum campechianum* MILL 30% valores dos halos de inibição em milímetros nas cepas de *staphylococcus* analisadas e sua sensibilidade à penicilina

LISTA DE ABREVIATIVAS, SIGLAS E SÍMBOLOS.

mm – milímetros
mg/Kg – miligramas por quilograma
% - porcentagem
p/v – peso por volume
°C – graus Celsius
BBI - Brain Infusion Agar
CMI – concentração mínima inibitória
HIA - Heart Infusion Agar
μl – microlitro
U – úbere (origem)
L - leite (origem)
C – ferida cirúrgica (origem)
V/V – volume por volume
g – gramas
DL₅₀ - dose letal para 50% de morte das cobaias
ppm - partes por milhão
® - marca registrada
ml – mililitros
cm – centímetros
n – número de amostras
Fig. - figura.
a.C – antes de Cristo
EBP - extrato bruto pilular
UFPB – Universidade Federal da Paraíba
UFPE – Universidade Federal de Pernambuco

LISTAS DE QUADROS

ARTIGO I - Atividade cicatrizante de ferida por segunda intenção em dorso de ratos do extrato *Ocimum campechianum* Mill (Lamiaceae): Via oral.

Quadro 01- Avaliação macroscópica dos ferimentos em dorso de ratos tratados com soro fisiológico 0,9% por via oral.

Quadro 02- Avaliação macroscópica dos ferimentos em dorso de ratos tratados com indometacina ® 2,5 mg via oral.

Quadro 03- Avaliação macroscópica dos ferimentos em dorso de ratos tratados com extrato de *Ocimum campechianum* MILL na dose de 100 mg via oral.

ARTIGO II - Atividade cicatrizante de ferida por segunda intenção em dorso de ratos do extrato *Ocimum campechianum* Mill (Lamiaceae): Uso dermatológico.

Quadro 01- Avaliação macroscópica dos ferimentos em dorso de ratos tratados com soro fisiológico 0,9% por via oral.

Quadro 02- Avaliação macroscópica dos ferimentos em dorso de ratos tratados com pomada de fibrase com cloranfenicol ® por via tópica.

Quadro 03- Avaliação macroscópica dos ferimentos em dorso de ratos tratados com pomada-creme do extrato bruto pilular de *Ocimum campechianum* MILL. na dose de 100mg.

RESUMO

Atividade farmacológica do extrato *Ocimum campechianum* Mill em cicatrização de ferida por segunda intenção em dorso de ratos e sua atividade antimicrobiana

O *Ocimum campechianum* Mill. é uma espécie vegetal que apresenta como característica fitoquímica a presença de óleos essenciais, os quais têm, segundo a literatura, uma sensível ação farmacológica de caráter antifúngico e antibacteriano. Nos processos de cicatrização pós-cirúrgica, um dos maiores desafios para um pós-operatório confortável e curto do paciente é o combate à infecção no leito cirúrgico. A proposta desta pesquisa foi de avaliar a ação cicatrizante do *Ocimum campechiano* Mill no reparo de ferimentos com perda de substância tecidual e cicatrização por segunda intenção em dorso de ratos através de um estudo comparativo com os medicamentos de ação cicatrizante convencional. Realizou-se um estudo “*in vivo*” da eficácia do extrato de *Ocimum Campechianum* Mill no reparo cicatricial em ferimento com perda de substância tecidual em vias de administração tópica e oral. Nos experimentos foram utilizados ratos *wistar*, os quais foram submetidos, após anestesia, a ação de bisturi elétrico por 2 segundos (padronização) promovendo uma lesão (queimadura) com perda de substância tecidual e cicatrização por segunda intenção. Os animais foram divididos em grupos contendo 15 fêmeas, as quais foram analisadas em grupos de cinco nos períodos de 03, 07, 14 dias do pós-operatório para fins de análise clínica macroscópica da área lesada. Para uso tópico foi desenvolvida uma formulação dermatológica de pomada-creme do extrato bruto pilular. Realizou-se uma inspeção dos aspectos macroscópicos dos ferimentos das diversas fases de cicatrização (3, 7 e 14 dias) através de parâmetros clínicos tais com halo hiperêmico, bordas necróticas, infecção, fundo sangrante e cicatriz final. Os resultados do estudo “*in vivo*” demonstraram a eficácia do extrato de *Ocimum Campechianum* MILL no desenvolvimento do processo cicatricial tanto na fase inflamatória como no processo de remodelação e formação do tecido cicatricial, principalmente nos testes realizados pela formulação desenvolvida de pomada-creme de uso dermatológico (ação tópica). Além disso foram realizados ensaios de atividade antimicrobiana, estudo *in vitro*, onde se observou halo de inibição significativo, entre 10 e 20 mm, contra várias linhagens de *Staphylococcus aureus* de origem humana (ferida cirúrgica) e bovina, incluindo cepas resistentes a metilicina (MRSA). Nos *staphylococcus aureus* 186C apresentou uma sensibilidade superior ao do padrão de referência (penicilina), exibindo um halo de inibição de 20mm nas dosagens de 300mg/ml e 150 mg/ml (extrato puro e diluição de 1:1) e de 15 mm nas dosagens de 75mg/ml (1:4) Além disso as cepas de *staphylococcus aureus* bovinas 319U e 19L demonstraram-se sensíveis com halos inibição entre 13 e 11 mm. A partir dos resultados obtidos neste teste pré-clínico uma determinação de parâmetros consolidados de ação farmacológica e antimicrobiana, justificara a utilização deste extrato como agente cicatrizante no processo de reparação tecidual, o que motivará as futuras pesquisas para o aprofundamento dos conhecimentos a despeito desta espécie vegetal.

Palavras-chave: *staphylococcus aureus*, *Ocimum campechianum* MILL e cicatrização.

ABSTRACT

Pharmacological activity of the extract *Ocimum campechianum* Mill in cicatrization of wound for second intention in back of rats and its antimicrobials activity

. The *Ocimum campechianum* Mill. it is a vegetal species that presents as characteristic fitoquímica the essential oil presence, which have, according to literature, a sensible pharmacology action of antifungus and antibacterial character. In the processes of after-surgical cicatrization, one of the biggest challenges for postoperative comfortable and a short one of the patient is the combat to the infection in the surgical stream bed. The proposal of this research was to evaluate the cicatrizante action of the *Ocimum campechianum* Mill in the repair of wounds with loss of tecidual substance and cicatrization for second intention in back of rats through a comparative study with medicines of conventional cicatrizante action. An alive study was become fullfilled “in” of the effectiveness of the extract of *Ocimum Campechianum* Mill in the cicatricial repair in wound with loss of tecidual in ways of topic administration and verbal substance. In the experiments rats had been used to wistar, which had been submitted, after anesthesia, the action of electric bistoury per 2 seconds (standardization) promoting an injury (burning) with loss of tecidual substance and cicatrization for second intention. The animals had been divided in groups contend 15 females, which had been sacrificed in groups of five in the periods of 03, 07, 14 days of the postoperative one for ends of analyze macroscopic clinic of the injured area. For topical use a formularization of pomade-cream of the extract was developed. An inspection of the macroscopic aspects of the wounds of the diverse phases of cicatrization (3, 7 and 14 days) through clinical parameters was become fullfilled such with hiperêmico halo, necróticas edges, infection, deep gory and final scar. The results of the alive study “in” had in such a way demonstrated the effectiveness of the extract of *Ocimum campechianum* MILL in the development of the cicatricial process in the inflammatory phase as in the process of remodeling and formation of the fabric cicatricial, mainly in the tests carried through for the developed formularization of pomade-cream of dermatological use (topic action). Yonder of this had been carried through assays of activity antimicrobials, study in vitro, where if it observed significant halo of inhibition, between 10 and 20 mm, against some ancestries of *Staphylococcus aureus* of origin human being (wounded surgical) and bovine, including cepas resistant the meticolina (MRSA). In *staphylococcus aureus* 186C presented a superior sensitivity to the one of the reference standard (penicillin), showing a halo of inhibition of 20mm in the 150 dosages of 300mg/ml and mg/ml (pure extract and first dilution) and of 15 mm in the dosages of 75mg/ml (second dilution) Yonder of this cepas of *staphylococcus aureus* bovine 319U and 19L had demonstrated sensible with halos inhibition between 13 and 11 mm. From the results gotten in this test daily pay-clinical a determination of consolidated parameters of pharmacology and action antimicrobials, which will justify it use of this extract as to assist in the cicatrization process, what it will motivate the future research for the deepening of the knowledge the spite of this vegetal species.

Words key: *staphylococcus aureus*, *Ocimum campechianum* MILL end cicatrization.

Introdução

INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais teve seu início provavelmente na pré-história e, desde então, esteve claramente presente em todas as gerações até os dias atuais. Os homens primitivos, assim como os animais iniciaram as “práticas de saúde”, alimentando-se de determinadas plantas, pelo instinto de sobrevivência. Com isto poderiam ter observado determinados efeitos para minimizar suas enfermidades, acumulando conhecimentos empíricos que foram passados de geração para geração CORREA, (2004).

A partir de uma perspectiva histórica, a produção de medicamentos e o tratamento farmacológico de doenças começaram com o uso de plantas medicinais. Em 1800, quando a medicina entrou na era científica, a medicina tradicional que se utilizava de plantas medicinais era considerada como base inquestionável para todos os livros-texto clássicos de farmacologia (SCHULZ, HÄNSEL E TYLER, 2002).

O acúmulo destas informações pelos homens primitivos propiciou o nascimento de uma cultura de arte de curar, que se tornou à base para o nascimento da medicina. Exemplificando, o aparato médico egípcio de 2.500 a.C. era constituído por drogas de procedências diferentes, dentre elas, produtos vegetais, animais e minerais; por volta de 1500 a.C., foram encontrados papiros que relatavam a utilização de 700 fármacos diferentes (CORREA et al, 2004). Há registros de que Hipócrates, considerado o pai da medicina, nascido há 460 anos a.C., teria mencionado de 300 a 400 plantas medicinais (CANTER et al, 2005).

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), 80% da população dos países em desenvolvimento utilizam-se da medicina popular na atenção primária à saúde, ou seja, dependem quase exclusivamente desta medicina, tendo as plantas como principais componentes (CANTER et al, 2005; ELOFF, 1997; SILVA, 2004).

As observações populares sobre o uso e a eficácia de plantas medicinais contribuem, de forma relevante, para a divulgação das virtudes terapêuticas dos vegetais, prescritos com frequência, pelos efeitos que produzem apesar de não ter seus constituintes químicos conhecidos. Os óleos essenciais de plantas apresentam uma atividade antimicrobiana contra um grande número de bactérias incluindo espécies resistentes a antibióticos e antifúngicos (CAVALCANTI et al, 2005).

Dos muitos fenômenos que caracterizam o organismo vivo, a cicatrização das feridas é um dos mais interessantes. A capacidade de reparação do tecido lesado é uma resposta da própria vida, e neste processo pode residir à compreensão final da natureza (SHAFER, 1987).

Todo ser animal tem a capacidade, que é inerente ao mesmo, de reposição das lesões causadas por traumatismo em suas estruturas orgânicas. É somente devido a esta capacidade que podemos fazer uso da cirurgia como modalidade de terapêutica (GREGORI, 1996).

Toda ferida infectada é de difícil cicatrização e demorada, sendo necessários cuidados locais (uma ativa terapêutica anti-infecciosa local), além da administração de medicação sistêmica adequada. A infecção é determinada por três fatores: a virulência

do microorganismo presente, seu número, e maior ou menor resistência oferecida pelos tecidos invadidos (GRAZIANI, 1986).

Tendo em vista o inerente potencial farmacológico dos óleos essenciais comprovadamente presentes nas folhas do *Ocimum campechianum* MILL e a resistência bacteriana a um grande número de fármacos dificultando assim o combate à infecção dos ferimentos dérmicos, o desenvolvimento de uma forma farmacêutica eficaz com base no extrato bruto pilular do *Ocimum campechianum* MILL foi proposto na tentativa de combate às infecções e como agente desencadeante do processo cicatricial.

A escolha da via de administração oral e dermatológica do extrato pílula bruto levou em consideração as vantagens destas formas farmacêuticas, tais como: boa estabilidade física, química, mecânica e microbiológica e comodidade na administração.

Revisão de Literatura

REVISÃO DE LITERATURA

Estudo sobre *Ocimum campechianum* Mill

Botânica

A família Lamiaceae é constituída por 220 gêneros e aproximadamente 4000 espécies (HEDGER, 1992) e assume grande importância econômica, pois 40% dos gêneros que a constituem são compostos por plantas com propriedades aromáticas (LAWRENCE, 1992)

O gênero *Ocimum* está formado por aproximadamente 30 espécies originárias da África. Sua área de distribuição envolve os trópicos e subtropicais tanto do novo como do velho mundo. (ALBUQUERQUE & ANDRADE, 1998). Considerado como o mais importante entre as plantas herbáceas pela sua utilização em diversas áreas (KHOSLA, 1980). O gênero *Ocimum* tem sido durante muito tempo reconhecido como uma rica e diversificada fonte de óleos essenciais, os quais são extraídos por destilação a vapor das folhas e utilizados em rituais tradicionais e medicinais (SIMON, QUINN & MURRAY, 1990). O *Ocimum* é um gênero que também exibe um acentuado polimorfismo na folha e hábito (ALBUQUERQUE, 1997).

É uma erva de 10-60 cm e está caracterizada por ter a base lenhosa, ser aromática, com talos eretos de seção quadrangular; a inflorescência mede 3-20 longitudinalmente, sendo a mesma robusta e ramificada, apresenta suas ramificações laterais menores ou iguais a principal. Popularmente é denominada alfavaca, alfavaca brava, alfavaca branca, alfavaca de galinha, alfavaca grande, alfavaca de cobra, alfavaca de vaca, manjerição e manjerição grande estando a espécie distribuída por todo o Brasil e

América tropical com um habitat de cultivo de terrenos alterados e freqüentemente secos (ALBUQUERQUE E ANDRADE, 1998).

Fitoquímico

De acordo com os resultados obtidos no estudo fitoquímico do extrato bruto de *Ocimum campechianum* Mill foi observada a presença de eugenol, triterpenos e esteróides, polifenóis (fenilpropanoglicosídeos e flavonóides) e açúcares redutores. Iridóides, alcalóides, cumarinas, derivados cinâmicos, proantocianidinas, leucoantocianidinas, taninos gálicos e saponinas não se mostraram presentes nos cromatogramas obtidos (SOUSA, 2004).

O screening fitoquímico do *Ocimum campechianum* Mill realizado no extrato permitiu detectar a presença de polifenóis (fenilpropanoglicosídeos e flavonóides), terpenóides (principalmente monoterpenos como o eugenol), açúcares redutores e ácidos ursólico. Com base nos resultados das análises cromatográficas dos extratos: benzênico e metanólico das folhas de *Ocimum campechianum* Mill, a presença de eugenol confirma o que está escrito na literatura quanto à composição dos óleos essenciais extraídos desse gênero (SOUSA et al, 2005).

A família Lamiaceae é também rica em muitos tipos de flavonóides, os quais tem sido freqüentemente usado com propósitos quimiotaxonômicos, sendo estes compostos encontrados nas superfícies das folhas, ramos e inflorescências de plantas e são armazenadas em grânulos especiais (VIEIRA et al, 2002).

Óleos essenciais provenientes do gênero *Ocimum* apresentam diferenças qualitativas e quantitativas na sua composição química mesmo entre exemplares dentro da mesma espécie, quando coletados em solos diferentes. A cânfora foi encontrada no óleo extraído de espécies brasileiras de *Ocimum campechianum* MILL, porém não está presente em amostras coletadas no Peru e Índia (JORGE et al, 1992).

Farmacológico

No Brasil o *Ocimum* é utilizado popularmente para tratar gripe, febre e problemas estomacais e ainda como analgésico e estimulante (CORREIA, 1984).

Na medicina popular o uso da infusão de 30g a 50 g da folha seca ou fresca de *Ocimum campechianum* Mill para 1 litro de água fervente que se bebe de preferência em 5 tomadas ao longo do dia, para tratamento de gota, reumático, enterites, de doenças hepáticas (hepatites e calculoses), do aparelho urinário (cistites, cálculos, pois o seu prolongamento consegue dissolver a maior parte dos cálculos renais, evitando em muitos casos a intervenção cirúrgica ou a laserterapia, e em concentrações de 50/1000, nefrites, oligúria, hidrópsia, blenorragia, orquite, sífilis e uremia, onde seus efeitos são considerados surpreendentes) e administra-se em clístere para prisão de ventre (NUNES, 1999).

Várias espécies de *Ocimum* apresentam na composição óleos essenciais, sendo as mesmas substâncias biologicamente ativas de caráter fungicida (REUVENI et al, 1984) e bactericida (NTERZURUBANZA et al, 1984).

A composição dos óleos essenciais depende do clima, da estação do ano, condições geográficas, período de colheita e a técnica de destilação, sendo os mesmos ativos tanto contra as bactérias gram positivas quanto as gram negativas e ainda leveduras e fungos filamentosos (CAVALCANTI et al, 2005).

Em estudos realizados na Colômbia, extrato das folhas, caule e raiz de *Ocimum campechianum* Mill foram capazes de promover 24% de neutralização *in vitro* do efeito hemorrágico produzido pelo veneno de *B. atrox* (OTERO et al, 2000). Significativa diminuição da frequência cardíaca foi observada em ratos após a administração de extrato bruto das folhas (40 ml/Kg) de *Ocimum campechianum* Mill (RIBEIRO et al, 1986)

Extrato hidro-alcoólico (50/50, v/v) das folhas de *Ocimum campechianum* Mill apresentaram efeitos diuréticos significativos, quando administrados oralmente (40 ml/Kg) em ratos *Wistar* (RIBEIRO et al., 1986).

Nos ensaios de atividade antiinflamatória em animais tratados com indometacina e com o extrato de *Ocimum campechianum* Mill. por via oral, apresentaram diminuição do volume dos edemas induzidos na região subplatar da pata esquerda posterior (edema de pata), quando comparados com os animais controle, sendo significativa num período de 04 horas após a administração do extrato. Os testes de atividade antitumoral contra dois tipos de tumores: o sarcoma 180 e o carcinoma de Ehrlich apresentaram resultados significativos em ambos os ensaios. O extrato, no entanto foi mais ativo contra o carcinoma de Ehrlich, que apresentou maior índice de inibição (SOUSA, 2004).

Através da realização de ensaios in vitro, foi constatada a atividade antimicrobiana de óleos essenciais obtidos das folhas de *Ocimum campechianum* Mill contra *B. subtilis*, *S. aureus*, *M. luteus*, *E. coli*, *S. marcescens* e *A. oryzae* (CARVALHO et al, 1999) Extratos metanólicos e aquoso das folhas de *Ocimum campechianum* Mill foram ativos contra *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosas* e *Salmonella typhi* em concentrações superiores a 2mg/ml e contra as formas tripomastigadoras de *Tripanozama cruzi*, a 500 ppm (NAVARO et al, 2003)

Vários extratos de *Ocimum campechianum* Mill foram testados contra algumas espécies de fungos e bactérias para investigação de sua atividade antimicrobiana, mas não se mostraram ativos frente aos microorganismos: *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* e *krusei*, *Enterobacter sp.*, *Micrococcus flavus* e *Escherichia coli* (SOUSA, 2004).

O óleo essencial *Ocimum ssp* é também ativo contra várias espécies de bactérias (*Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Shigella*, *Salmonela* e *Proteus*) e fungos (*Trichophyton rubum*, *T. mentagrophytes*, *Cryptococcus neoformans*, *Penicillium islandi cum* e *Cândida albicans*) (MBATA & SAIKIA, 2005).

Toxicológico

A determinação da dose terapêutica segura é de suma importância para o uso de uma droga. Através da DL₅₀ é possível calcular os índices terapêuticos de uma

substância, fornecendo alguma idéia da margem de segurança no uso da mesma (DALE et al, 2001).

A curva dose-resposta, construída a partir dos resultados provenientes dos testes de toxicidade aguda do extrato hidro-alcoólico de *Ocimum campechianum* Mill mostrou que as doses acima de 2687,4 mg/Kg foram capazes de matar 100% dos animais (SOUSA, 2004).

Os testes para avaliação da toxicidade aguda do extrato hidroalcoólico de *Ocimum campechianum* Mill foram realizados através da observação de efeitos gerais sugestivos de ação sobre o sistema nervoso central e periférico, a partir dos quais foi determinada a DL₅₀ que resultou em 1017,40 mg/Kg de peso do animal (SOUSA et al, 2004).

As reações de excitabilidade, movimentos estereotipados, tremores e movimentos circulares foram freqüentemente observados com diversas doses do extrato desta espécie vegetal testada, sugerindo a presença de compostos estimulantes do sistema nervoso central. Efeitos característicos de ações depressoras também foram observados, sendo os mais comuns: a sonolência e acomodação, o que ocorreu aproximadamente 40 minutos após a administração do extrato. Dentre os efeitos no sistema nervoso periférico foram observados alterações no sistema vascular e digestivo (SOUSA, 2004).

Cicatrização

A cicatrização de feridas consiste em uma perfeita e coordenada cascata de eventos celulares e moleculares que interagem para que ocorra a repavimentação e a reconstituição do tecido (MANDELBAUM et al, 2003).

As lesões de pele, particularmente as feridas, possuem grande importância clínica em função da alta frequência com que ocorrem, da morbidade, da proliferação bacteriana em um grande número delas e, também, do alto custo em face da demora dos mesmos quando para a obtenção de uma cicatrização por segunda intenção. Nestes casos, quanto à cicatrização não é orientada, há a formação de tecido de granulação exuberante com fenômenos anárquicos de contração e epitelização da ferida (FIGUEREDO WOUK et al, 1998).

O processo de restauração da integridade tecidual têm sido dividido em três estágios básicos (inflamatório fibroblástico e remodelador). O estágio inflamatório inicial no momento em que ocorre a lesão tecidual, e, na ausência de fatores que prolonguem a inflamação dura de 3 a 5 dias. Esse estágio tem duas fases: a vascular e a celular. Os eventos vasculares entram em cena durante o início de inflamação, com uma vasoconstrição dos vasos lesados como resultado do tônus vascular normal promovendo redução de fluxo sanguíneo na área lesada. Em poucos minutos, a histamina e a prostaglandina E₁ e E₂, sintetizadas pelas células brancas do sangue, causam vasodilatação e abre pequenas fenestrações entre as células endoepiteliais, o que permite o extravasamento de plasma e a migração de leucócitos para dentro do tecido intersticial (PETERSON et al, 1998).

Nas diversas formas de reações extracelulares às agressões pode estar envolvido apenas um componente do interstício, como a substancia fundamental ou as fibras (colágenas, reticulares e elásticas), ou ambos os componentes. Os fibroblastos e as fibras colágenas, elásticas e reticulares estão imersas no gel de consistência que varia segundo o tipo de tecido, conhecido por substancia fundamental amorfa (GUIMARÃES, 1982).

A recuperação dos tecidos é geralmente considerada como uma fase de reação inflamatória de vez que não pode ser separada dos fenômenos vasculares e celulares que ocorrem em resposta a uma injúria ou lesão tissular. Em sua fase ativa, a evolução da cicatrização poderá ocorrer por dois processos diferentes: por primeira intenção e por segunda intenção (GRAZIANI, 1996).

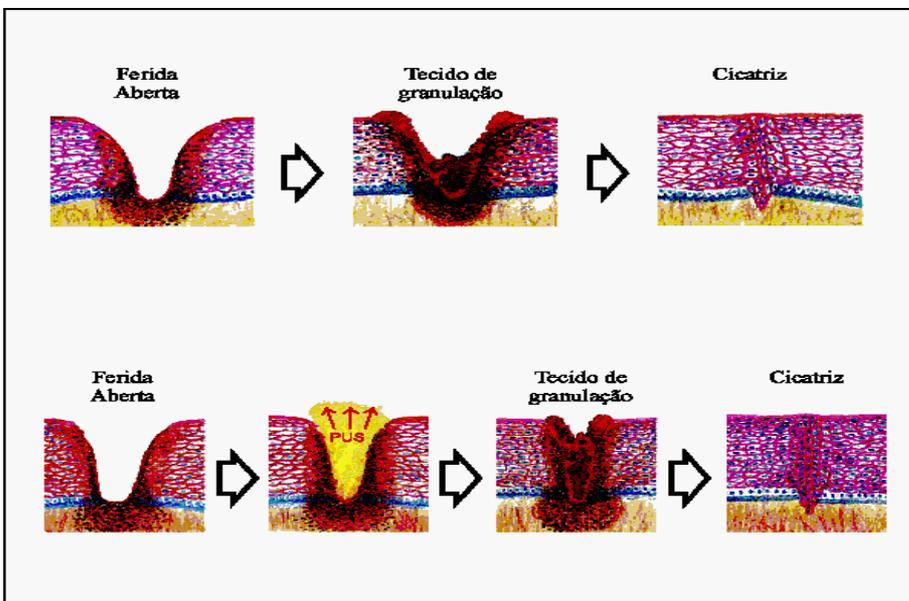


FIGURA 01- Cicatrização por segunda intenção, removida do site www.Forp.Usp.br

A inflamação é conduzida pela ação de substâncias químicas auto-elaboradas chamadas autacóides, que atuam como mediadores químicos responsáveis pelas

alterações morfofuncionais próprias de tecidos inflamados. O gatilho disparador das reações bioquímicas é a histamina e a serotonina, dois autacóides com estrutura protéica apresentando intensa atividade farmacológica sobre os vasos sanguíneos sendo por isto chamados vasoativos. Variações no diâmetro dos vasos e alterações da estrutura normal do endotélio permitem a exsudação plasmática, quer pela menor velocidade sanguínea regional quer pelo aumento da pressão osmótica, quer pela participação da pressão sistólica cardíaca e, principalmente pelo aumento de permeabilidade do endotélio (GREGORI, 1996).

A fase celular da inflamação é desencadeada pela ativação do sistema complemento sérico decorrente do traumatismo tecidual. Os produtos derivados da ativação do complemento, particularmente C_{3A} e C_{5A} , atuam como fatores quimiotáticos e causam aderência dos leucócitos polimorfonucleares (neutrófilos) na periferia dos vasos (marginalização) e, em seguida, atravessam a parede do vaso (diapedese) e uma vez em contato com os corpos estranhos (tal como bactérias) os neutrófilos liberam o conteúdo dos seus lisossomos (degranulação) as enzimas lisossomais, as quais tem função de destruição dos corpos estranhos. (PETERSON et al, 1998).

A cura começa bem cedo na inflamação quando os macrófagos começam a digerir os organismos invasores que conseguiram sobreviver ao ataque dos neutrófilos, bem como os restos necróticos de células parenquimatosas e neutrófilos mortos (COUTRAN, KUMAR & ROBBINS, 1991).

Com o tempo os linfócitos se acumulam no local da lesão tecidual. Esses linfócitos pertencem ao grupo dos linfócitos B e T, sendo o B capaz de reconhecer

material antigênico e produzir anticorpos que auxiliam o restante do sistema imunológico a identificar corpos estranhos e integrarem com o sistema complemento para lisar células estranhas, enquanto os linfócitos T citotóxicos, destroem células que tem antígenos estranhos (PETERSOM et al, 1998).

Os achados clínicos da fase não-proliferativa ou inflamatória decorrente da lesão tecidual do ponto de vista macroscópico, clínico, portanto, torna-se muito útil saber que os sinais e sintomas da inflamação - os sinais de Celsius - tendem a reduzir passadas as primeiras 48 horas do pós-trauma. A exacerbação desta sintomatologia por um período maior de 24 horas, em um paciente normorreativo, não deve ser interpretada com sendo decorrente do trauma, impondo que se considere a possibilidade de ação sobre a ferida cirúrgica de outro tipo de trauma, como reação a corpos estranhos (infecção) (GREGORI, 1996). A cicatrização por segunda intenção se faz, então pela organização de uma superfície de tecido de granulação que posteriormente se epitelializará (GRAZIANI, 1986).

Para algumas vezes, até mesmo 24 horas após a agressão os fibroblastos e as células endoteliais começam a se proliferar e a formar (em 03 a 05 dias) o tipo especializado de tecido (tecido de granulação) que é o marco da inflamação em processo de cura. O termo “tecido de granulação” origina-se de seu aspecto róseo, granular, sobre a superfície das feridas, mas são os aspectos histológicos que são característicos: a proliferação dos novos vasos sanguíneos pequenos e dos fibroblastos (COUTRAN, KUMAR & ROBBINS, 1991).

Há no local do trauma um afluxo de fibroblastos que se depositam, multiplicam e sintetizam substâncias. Assim, esta fase é denominada fibroplática e contém uma intensa proliferação endotelial, de maneira que se constitui em um tecido denominado de granulação, devido ao seu aspecto peculiar, aspecto macroscópico. Ao estudar o tecido de granulação, constatou-se que ele tinha a capacidade de se retrair (MODOLIN, 1998).

Para os tipos de fibrinas derivados da coagulação que se entrecruzam nas feridas formam uma rede sobre o qual os fibroblastos podem iniciar a precipitação de substância fundamental amorfa e tropocolágeno. Esta fase fibroblástica da recuperação das feridas (PETERSON et al, 1998).

Os fibroblastos sintetizam também fibras elásticas e secretam os vários glicosaminoglicans (GAG) e outros componentes da matriz extracelular. Os fibroblastos e os miofibroblastos são as células que secretam os colágenos, a elastina e os proteoglicanos nas feridas em cicatrização, mas os mecanismos que estimulam ou determinam tal secreção nas diferentes fases ainda são mal compreendido (COUTRAN, KUMAR & ROBBINS, 1991)

Os tecidos de granulação são constituídos por fibrina de coágulo, por infiltrado leucócito, pela presença de células e de pequenos corpos estranhos lançados em profundidade durante a manipulação cirúrgica dos tecidos por macrófagos, por fibroblastos e por entesa presença de capilares neoformados (GREGORI, 1996).

O estímulo à proliferação fibroblástica e a síntese de colágeno pode ser encontrado em várias formas de agressão tecidual. Neoformação excessiva de colágeno ocorre no decurso das inflamações prolongadas e nos processo de reparo por fibrose cicatricial (GUIMARÃES, 1982).

Quando há uma perda maior de células e tecido, como ocorre no infarto, na ulceração inflamatória, na formação de abscesso e em feridas superficiais que criam grandes defeitos, o processo de reparo é mais complicado. O denominador comum de todas as situações é um grande defeito tissular que deve ser preenchida (COUTRAN, KUMAR & ROBBINS, 1991).

As primeiras fibras de colágeno surgem na profundidade da ferida, cerca de 05 dias após o traumatismo. Com o passar dos dias, feixes de colágeno dispostos ao acaso vão gradativamente ocupando as profundezas dos ferimentos. Estes feixes originam uma estrutura bastante densa e consistente: a cicatriz. A fase fibroblástica não tem um final definido e sua duração varia conforme o local da lesão, sua profundidade, o tipo do tecido lesado e se existem ou não as deficiências (PIRES & VIEIRA STARLING, 1991).

Os achados clínicos da fase proliferativa o tecidos de granulação normal tem aspecto macroscópico modulado (que lembra uma amora, o morango) é flácido, friável, não exudativo, contínuo e intensamente hiperêmico. A sua constatação clínica, nas feridas exuberantes pode avaliar a normalidade evolutiva da reparação da ferida cirúrgica através das características do tecido de granulação. Um aspecto relevante de propedêutica cirúrgica, fracamente evidenciável nesta fase, é da importância da aferição

dos valores da auto-hemostasia do paciente na formação do coágulo e da medida de hemostasia cirúrgica, como o tamponamento e repouso tecidual, direcionada a estabilidade deste coágulo sanguíneo, fator participante prioritário da estrutura do tecido de granulação (GREGORI, 1996).

O estágio final da reparação das feridas continua indefinitivamente e é conhecida como estágio de remodelação, embora alguns autores preferiram usar o termo maturação da ferida (PETERSON et al, 1998).

As cicatrizes continuam remodelando-se com o passar dos meses e anos, sofrendo alteração progressivas em seu volume e forma. Essa remodelação ocorre através da degradação do colágeno, que é mediada pela enzima colagenase (PIRES & VIEIRA STARLING, 2002).

Na fase de remodelação ocorre uma intensa modificação microscópica não detectável por manifestações clínicas. Ocorre, também, uma queda no número de fibroblastos presentes; desaparecem os leucócitos e os macrófagos, restabelece-se a microcirculação regional pela redução do número de capilares neoformados; estabelece-se uma definição real entre o tecido neoformado e os tecidos pré-existentes pela deposição funcional dos feixes colágenos neoformados (GREGORI, 1996).

Durante a evolução da cicatrização ocorre um aumento dos elementos constitutivos extracelular, principalmente colágeno, como uma diminuição do número de fibroblastos ativos e novos vasos. Muitos vasos sanguíneos característicos do estágio

iniciais sofrem trombose e degeneração e suas várias células são reabsorvidas e digeridas pelos macrófagos (COUTRAN, KUMAR & ROBBINS, 1991).

Durante a segunda semana, ainda conforme descreve, há um acúmulo continuados de colágeno e proliferação de fibroblastos. Em grande parte, já desapareceram o infiltrado leococitário, o edema e o aumento da vascularização. Nesse momento, começa o longo processo final de cicatrização, realizado pelo acúmulo maior de colágeno dentro da cicatriz incisional, acompanhado de regeneração dos canais vasculares (COUTRAN, KUMAR & ROBBINS, 1991).

Os processos finais, que começa próximo do final da fase fibroblástica e continua durante as fases precoces da remodelação é a contração da ferida. Na maioria dos casos, a contração da ferida tem ação benéfica na sua reparação, embora o mecanismo exato de contração da ferida ainda não esteja claro. Durante a contração da ferida as suas bordas migram em direção umas das outras em feridas em que as bordas não podem ou não poderão ser colocadas postas (PETERSON et al, 1998).

Queimadura

Entende-se por queimadura o quadro resultante da ação direta ou indireta do calor sobre o organismo humano. Apesar de o prognóstico ter melhorado dramaticamente, em especial graças ao reconhecimento da importância do debridamento precoce e do progresso no emprego de substitutos biológicos da pele, as queimaduras ainda configuram como importantes causadoras de mortalidade. Esta se deve principalmente à infecção que pode evoluir com septicemia, assim como à

repercussão sistêmica, com possíveis complicações renais, adrenais, cardiovasculares, pulmonares, musculoesqueléticas, hematológicas e gastrintestinais (VALE, 2005).

A cicatriz com deformidade é uma complicação comum na cicatrização de queimaduras de segundo e terceiro graus, especialmente em crianças. As cicatrizes nesses casos são vermelhas, elevadas, inelásticas e apresentam sérios problemas estéticos e funcionais, que são freqüentemente exacerbados pelo desenvolvimento de contraturas. A produção excessiva de matriz extracelular pelos fibroblastos presentes nas feridas, provavelmente sob a ação de altos níveis de citosinas fibrogênicas, tem sido responsabilizada pelo desenvolvimento das deformidades pós-queimaduras (MEDEIROS et al, 1999).

A pessoa que sofre queimadura é considerada imunossuprimida, pois, após o trauma, ocorre uma série de alterações orgânicas que modificam seu mecanismo de defesa contra infecções. A perda da integridade da pele e o desequilíbrio na regulação do pH cutâneo facilitam a colonização da ferida por microorganismos oportunistas. Dependendo do agente que provocou a lesão, microbiota residente da pele também é eliminada, deixando de exercer um papel protetor neste sentido (WEBER, 1998 e FERNANDES & RIBEIRO, 2000).

A colonização de feridas queimadas ocorre freqüentemente por *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus coagulase negativo*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosas*, *Enterobacter cloacae*, *Acinetobacter ssp*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella sp*, entre outras bactérias, destacando-se a *Cândida*

albicans e *Aspergillus* entre os fungos (FERNAMDES & RIBEIRO, 2000 e WARD & SAFFE, 1995).

O tratamento das lesões por queimaduras é um grande desafio aos profissionais da saúde, sobretudo no que se refere ao elevado potencial para desenvolver infecções. A terapêutica sistêmica ou local deve visar, fundamentalmente, o equilíbrio das funções vitais, assim como a instalação de medidas de prevenção de complicações, dentre as quais estão as infecções das lesões cutâneas (RAGONHA et al, 2005).

Infecção de feridas

Apesar dos grandes avanços terapêuticos, a prevenção e o tratamento da infecção pós-operatória ainda são problemas a serem resolvidos. A introdução da terapia com antibióticos na metade do século XX aumentou a esperança de que as infecções cirúrgicas graves seriam eliminadas. Infelizmente, isso não aconteceu. Não somente as infecções pós-operatórias continuaram, como também o uso disseminado de antibióticos dificultou ainda mais a prevenção e o controle das infecções cirúrgicas (FRANÇA & STAHKE JÚNIOR, 2004).

O *Staphylococcus aureus* é um importante patógeno, sendo descrito, desde 1950, como agente etiológico significativo de infecções hospitalares adquiridas, sendo também o mais freqüente microorganismo associado às mastites caprina e bovina (HARVEY E GILMOUR, 1988). Estudo comprovou que em infecções de pacientes de unidades de tratamento intensivo é mais freqüentemente isolados e associados aos casos de infecção hospitalar o *Staphylococcus aureus* (JONES et al , 2004).

A capacidade patogênica do *Staphylococcus aureus* ocorre devido a diversos fatores de virulência, que podem ser representados por toxinas, enzimas e outras proteínas, sendo todos estes fatores mediados por genes plasmidiais ou cromossômicos, que combinados produzem doença. A coagulase é produzida por todas as linhagens de *Staphylococcus aureus*, e sua produção são o principal critério usados no laboratório de microbiologia clínica para a identificação em humanos, além de ser um importante fator de virulência (HOOKEY et al, 1998).

Este acréscimo na quantidade de linhagens de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA) também foi observado em um estudo feito em 40 hospitais na Espanha, 1425 microorganismos isolados, onde também foi demonstrado que poucas amostras de MRSA eram concomitantemente resistentes a vancomicina (PICAZO et al, 2004); e investigações recentes em isolados obtidos de hospitais universitários de medicina e odontologia de Nagasaki, demonstraram que 60,2% dos *Staphylococcus aureus* isolados são MRSA, e que a grande maioria destas linhagens é também resistente a outros agentes antimicrobianos, exceto glicopeptídios como a vancomicina (COOKSON, 1991)

Objetivo

3. OBJETIVO

3.1 OBJETIVO GLOBAL

A proposta desta pesquisa foi avaliar a ação cicatrizante do *Ocimum campechiano* Mill no reparo de ferimentos (queimadura) com perda de substância tecidual e cicatrização por segunda intenção em dorso de ratos, através de um estudo comparativo com os medicamentos de ação cicatrizante convencionais e sua atividade antimicrobiana da espécie vegetal.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Realização de um estudo “*in vivo*” da eficácia do extrato bruto hidroalcolico pilular de *Ocimum Campechiano* Mill no reparo cicatricial em ferimento com perda de substância tecidual no qual foram utilizados ratos albinos *Wistar (Rattus Novergicus)* para visualização do processo cicatricial com análise clínica macroscópica.

Comparação dos resultados obtidos nos estudos do extrato com a substância padrão (indometacina) e soro fisiológico (controle) sendo realizados através de estudos clínicos do desenvolvimento cicatricial em prazos de análise dos subgrupos de animais em 03, 07 e 14 dias.

Observação de um estudo comparativo dos resultados macroscópicos, a eficácia das vias de administração utilizadas para o extrato, vias tópica e oral, nos estudos “*in vivo*”.

Realização de testes “*in vitro*” de antibiograma para um ensaio da eficácia do extrato no combate de vários microorganismos.

Artigo I

Atividade cicatrizante de ferida por segunda intenção em dorso de ratos do extrato *Ocimum campechianum* Mill (Lamiaceae):Via oral.

Atividade cicatrizante de ferida por segunda intenção em dorso de ratos do extrato *Ocimum campechianum* Mill (Lamiaceae):

Via oral.

Activity cicatrizante of wounds by second intention in dorsum of mice of the extract *Ocimum campechianum* Mill (Lamiaceae):
Way oral.

José Justino da SILVA JÚNIOR¹, Jane Sheila HIGINO², Ivone Antônia de SOUZA³

RESUMO

Ocimum campechianum Mill. é uma espécie vegetal que apresenta como característica fitoquímica a presença de óleos essenciais, os quais têm uma sensível ação farmacológica de caráter antifúngico e antibacteriano. Nos processos de cicatrização pós-cirúrgica, um dos maiores desafios para um pós-operatório confortável e curto do paciente é o combate à infecção no leito cirúrgico. O extrato do *Ocimum campechianum* Mill. foi avaliado em cicatrização de feridas cirúrgicas realizadas em dorso de ratos *wistar* fêmeas (pesando 250 a 350g), administrado por via oral, no intuito de investigar sua atividade cicatrizante em feridas em dorso de ratos (“*in vivo*”). Os resultados clínicos macroscópicos foram observados após o período de 03, 07 e 14 dias através de características como halo hiperêmico, crostas, fundo sangrante, infecção e bordas necróticas. Este ensaio comprovou uma maior ação com agente cicatrizante do reparo tecidual quando comparados ao do grupo padrão positivo (indometacina 2,5mg/Kg) e o controle (soro fisiológico 0,9%) com dose terapêutica de 100mg.

¹ Cirurgião-dentista e mestrando em Ciências Farmacêuticas da UFPE, ² Profª Adjunta do Departamento de Farmácia da UFPE, ³ Profª Adjunta do Departamento de Antibióticos da UFPE

Palavras chave: Atividade cicatrizante, *Ocimum campechianum* Mill, extrato bruto.

ABSTRACT

Ocimum campechianum Mill. it is a vegetal species that presents as characteristic fitoquímica the essential oil presence, which have a sensible pharmacologic action of antifungus and antibacterial character. In the processes of after-surgical cicatrization, one of the biggest challenges for postoperative comfortable and a short one of the patient is the combat of the infection of the surgical stream bed. The extract of the *Ocimum campechianum* Mill. it will be evaluated in cicatrization of surgical wounds carried through in back of rats to wistar female (weighing 250 350g), managed for saw verbal, in intention to investigate its cicatrizante activity in wounds in back of rats (“*in alive*”). The macroscopic clinical results had been observed the period of 03 after, 07 and 14 days through characteristics as hiperêmico halo, crust, deep gory, necróticas infection and edges. Where this assay proved a bigger action as cicatrizante agent of the tecidual repair when compared with the one of the group positive standard (indometacina 2,5mg/Kg) and the control (physiological serum 0.9%) with therapeutical dose of 100mg/Kg.

Words key: Cicatrizante activity, *Ocimum campechianum* Mill, rude extract.

INTRODUÇÃO

A capacidade de auto-regeneração é um fenômeno universal nos organismos vivos. Nos organismos superiores, o reparo do tecido pode ocorrer de duas formas: regeneração com a reposição de atividade funcional ou cicatrização com restabelecimento da homeostasia do tecido com perda da atividade funcional pela formação de cicatriz fibrótica (BALBINO et al, 2005).

O processo de restauração da integridade tecidual ou cicatrização tem sido dividido em três estágios básicos: inflamatório, fibroblástica e remodelador (PETERSON et al, 1998). Esta forma de defesa, que se integra a hemostasia do indivíduo, envolve um somatório de fatores atuantes e pode ser desencadeada por várias formas de trauma, inclusive o cirúrgico (GREGORI, 1996).

Toda ferida infectada é de difícil cicatrização e demorada, sendo necessários cuidados locais (uma ativa terapêutica anti-infecciosa local), além da administração de medicação sistêmica adequada. A infecção é determinada por três fatores: virulência do microorganismo presente, seu número e maior ou menor resistência oferecida pelos tecidos invadidos (GRAZIANI, 1986).

O gênero *Ocimum* está formado por aproximadamente 30 espécies originárias da África. Sua área de distribuição envolve os trópicos e subtropicais tanto do novo como do velho mundo.(ALBUQUERQUE & ANDRADE, 1998). Considerado como o mais importante entre as plantas herbáceas pela sua utilização em diversas áreas (KHOSLA, 1980).O gênero *Ocimum* tem sido durante muito tempo reconhecido como uma rica e diversificada fonte de óleos essenciais, os quais são extraídos por destilação a vapor das

folhas e utilizados em rituais tradicionais e medicinais (SIMON, QUINN & MURRAY, 1990). O *Ocimum* é um gênero que também exibe um acentuado polimorfismo na folha e hábito (ALBUQUERQUE, 1997).

Desenvolveram-se neste estudo ensaios pré-clínicos de atividade cicatrizante do extrato bruto hidroalcoólico pilular de *Ocimum campechianum* Mill. em ferimento de queimaduras por eletroprodução em ratos *Wistar (Rattus Novergicus)* através de uma avaliação macroscópica dos aspectos clínicos macroscópicos.

REVISÃO DE LITERATURA

A família Lamiaceae é também rica em muitos tipos de flavonóides, os quais tem sido freqüentemente usados como propósito quimiotaxonômicos, sendo estes compostos encontrados nas superfícies das folhas, ramos e inflorescências de plantas e armazenados em grânulos especiais (VIEIRA et al, 2002).

De acordo com os resultados obtidos no estudo farmacológico do extrato bruto de *Ocimum campechianum* Mill. foi observada a presença de eugenol, triterpenos e esteróides, polifenóis (fenilpropanoglicosídeos e flavonóides) e açúcares redutores. Iridóides, alcalóides, cumarinas, derivados cinâmicos, proantocianidinas, leucoantocianidinas, taninos gálicos e saponinas não se mostraram presentes nos cromatogramas obtidos (SOUSA, 2004).

A partir de uma perspectiva histórica, a produção de medicamentos e o tratamento farmacológico de doenças começaram com o uso de plantas medicinais. Em

1800, quando a medicina entrou na era científica, a medicina tradicional que se utilizava das plantas medicinais era considerada como base inquestionável para todos os livros-texto clássicos de farmacologia (SCHULZ, HÄNSEL E TYLER, 2002).

Nos ensaios de atividade antiinflamatória em animais tratados com indometacina e com o extrato de *Ocimum campechianum* Mill. por via oral, apresentaram diminuição do volume dos edemas induzidos na região subplantar da pata esquerda posterior (edema de pata), quando comparados com os animais controle, sendo significativa num período de 04 horas após a administração do extrato (SOUZA,2004).

Através da realização de ensaios in vitro, foi constatada a atividade antimicrobiana de óleos essenciais obtidos das folhas de *Ocimum campechianum* Mill contra *B. subtilis*, *S. aureus*, *M. luteus*, *E. coli*, *S. marcescens* e *A. oryzae* (CARVALHO et al, 1999)

Os testes para avaliação da toxicidade aguda do extrato de *Ocimum campechianum* Mill foram realizados através da observação de efeitos gerais sugestivos de ação sobre o sistema nervoso central e periférico, a partir dos quais foi determinada a DL₅₀ que resultou em 1017,40 mg/Kg de peso do animal.(SOUSA et al, 2004).

A cicatrização de feridas consiste em uma perfeita e coordenada cascata de eventos celulares e moleculares que interagem para que ocorra a repavimentação e a reconstituição do tecido (MANDELBAUM et al, 2003).

Os eventos iniciais do processo de reparo foram verificados nos primeiros momentos, voltados para o tamponamento dos vasos sanguíneos e quase que concomitante com o estímulo lesivo ocorre a degranulação de mastócitos e as descargas adrenérgicas devido à influência nervosa (BALBINO et al, 2005).



Figura 01 –Aspecto botânico da espécie vegetal *Ocimum campechianum* Mill.(disponível na tese de SOUSA, 2004).

Os achados clínicos da fase não-proliferativa ou inflamatória decorrente da lesão tecidual do ponto de vista macroscópico são de extrema relevância e torna-se muito útil saber que os sinais e sintomas da inflamação - os sinais de Celsius - tendem a reduzir passadas as primeiras 48 horas do pós-trauma. A exacerbação desta sintomatologia por um período maior de 24 horas, em um paciente normorreativo, não deve ser interpretada como sendo decorrente do trauma, impondo que se considere a possibilidade de ação sobre a ferida cirúrgica de outro tipo de trauma, como reação a corpos estranhos (infecção) Nos aspectos macroscópicos da fase proliferativa o tecido de granulação

normal tem aspecto macroscópico modulado (que lembra uma amora, o morango) é flácido, friável, não exudativo, contínuo e intensamente hiperêmico (GREGORI, 1996).

As cicatrizes continuam remodelando-se com o passar dos meses e anos, sofrendo alterações progressivas em seu volume e forma. Essa remodelação ocorre através da degradação do colágeno que é mediada pela enzima colagenase (PIRES & VIEIRA STARLING, 2001).

Existe uma variedade de fatores que contribuem para o desenvolvimento da infecção nos pacientes queimados. Entre eles, os cuidados e procedimentos realizados nas lesões, os fatores de risco associados à infecção, os agentes infecciosos típicos, as exotoxinas associadas, problemas com a resistência aos antibióticos e as amostras para análise (GRAGNANI et al, 2005).

As principais bactérias causadoras de septicemia em pacientes queimados foram os *Staphylococcus s.p.* (62,2%) *Acinetobacter s.p.* (12,3%), *Pseudomonas Aeruginosa* (10,5%) e *Enterobacter cloacal* (7,6%). Em 62 episódios de septicemia pesquisados com isolamento e *Staphylococcus aureus* houve análise de resistência dos antimicrobianos em 37,1% a oxacilina e de todos a vancomicina (MACEDO et al, 2005).

Extratos metanólicos e aquosos das folhas de *Ocimum campechianum* Mill foram ativos contra *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Salmonella typhi* em concentrações superiores a 2mg/ml e contra as formas tripomastigotas de *Trypanosoma cruzi*, a 500 ppm (NAVARO et al, 2003).

MATERIAIS E MÉTODOS

Amostras da folha do *Ocimum campechianum* Mill. foram coletadas em novembro de 2005, no campus da UFPE. O material botânico foi espalhado ao ar livre, armazenado no Departamento de Antibiótico e mantido em local arejado à temperatura ambiente (27°C) até sua utilização. Após trituração, a extração foi realizada pelo processo de maceração por 15 dias, em seguida foi efetuada a filtração e desprezando o marco e concentrando o filtrado até a obtenção do extrato pilular.

Para realização do protocolo experimental foram selecionados ratos fêmeas, com idade de 2-3 meses e peso entre 180g a 250g que foram mantidos antes e durante o período experimental em gaiolas plásticas (polipropileno), forradas com maravalha. Os animais foram divididos em cinco grupos de 15 animais:

GRUPO I – animais tratados com soro fisiológico a 0,9% durante 05 dias administrado a cada 24 horas (VIA ORAL)
--

GRUPO II - animais tratados indometacina® 2.5mg administrada a cada 24 horas durante 05 dias (VIA ORAL)

GRUPO III - animais tratados com extrato de <i>Ocimum campechianum</i> MILL. na dose de 100mg administrado a cada 24 horas durante 05 dias (VIA ORAL)

Os animais foram previamente tratados com solução de atropina a uma dose de 0,04 mg por Kg de peso corpóreo do animal por via subcutânea 10 minutos antes do evento cirúrgico com o objetivo de evitar possíveis arritmias atrioventricular (cardíacas). Posteriormente as cobaias foram anestesiadas com uma dose de 0,2 ml por Kg de peso corpóreo de uma mistura de 1:1 das soluções de quetamina e xilazina

administrada por via intramuscular em região de pata posterior esquerda do animal, sendo utilizadas para isso agulhas de insulina e seringas de 1,0 ml.

Depois de anestesiados, foram realizadas as tricotomias da região de dorso superior de cada animal e em seguida colocados em decúbito dorsal sobre uma mesa operatória, cobertos com um campo cirúrgico estéril e realizada a antissepsia com álcool iodado a 0,3 %.

Posteriormente foram realizadas as cauterizações (queimaduras) com utilização da ponta esférica de um bisturi elétrico, o qual proporcionou um dano tecidual cutâneo (queimadura de 3º grau) de 0,3cm de diâmetro e uma profundidade que atingiu os tecidos subcutâneos, com preservação da fascia muscular desta região. Posteriormente os animais foram colocados nas gaiolas plásticas devidamente identificados.

O extrato pilular (EBP- extrato bruto pilular) , após devidamente rotaevaporado foi pesado em balança analítica na concentração de 100mg por kg de peso corpóreo dos ratos, sendo posteriormente dissolvido em água destilada e depois de determinada a dose para cada animal, foram administradas por via oral nos períodos determinados do pós-operatório.

O pó das cápsulas de indometacina 50 mg foi devidamente solubilizado em água destilada até atingir uma concentração de 2,5 mg de pó para cada ml de água. A solução salina administrada aos animais foi soro fisiológico a 0,9% sendo retirados os devidos volumes de dosagem sem diluições. A posologia adotada para o tratamento foi de intervalos de 24 horas em cada dosagem por via oral por um período de 05 dias com a

primeira dose após 24 horas do ato cirúrgico. Foi utilizada como medicação analgésica no pós-operatório dos ratos a dipirona sódica de 500 mg (0,3 ml) via oral.



FIGURA 02 –Fotos da tricotomia do dorso dos animais e utilização do bisturi elétrico para realização dos ferimentos.

Após 03, 07 e 14 dias os animais foram sedados e a área do procedimento cirúrgico foi fotografada para realização de análise macroscópica das fases de cicatrização.

As avaliações macroscópicas das feridas foram realizadas em todos os animais, com os critérios de avaliação previamente estabelecidos com os seguintes parâmetros: presença de infecção, presença de halo hiperêmico em torno da ferida, formação de crosta cicatricial, presença de borda necrótica, fundo sangrante da ferida e a cicatriz final.

RESULTADOS

Os resultados clínicos demonstraram uma eficácia no auxílio do processo de cicatrização do **extrato** *Ocimum campechianum* Mill. quando comparando com as características macroscópicas da ação da indometacina e do controle (soro fisiológico 0,9%)

Os critérios utilizados para avaliação macroscópica se caracterizaram pela presença de infecção, halo hiperêmico peri-lesional, bordas necróticas, fundo da ferida e cicatriz final.

Resultados:

- ◆ Macroscopicamente, nenhum dos grupos apresentou infecção da ferida.

VARIÁVEIS	03 DIAS	07 DIAS	14 DIAS
Infecção	Ausente	Ausente	Ausente
Halo hiperêmico	N=5	Ausente	Ausente
Bordas necróticas	N=5	N=5	Ausente
Crostra	Ausente	Ausente	Presente N=1
Fundo sangrante	n=5	N=5	N=5
Cicatriz final	Ausente	Ausente	Ausente

Quadro 01- Avaliação macroscópica dos ferimentos em dorso de ratos tratados com soro fisiológico 0,9% por via oral.

No grupo I (soro fisiológico 0,9%), as feridas dos animais apresentaram-se no, 3º dia, circundadas por evidente halo hiperêmico nas cinco amostras e com bordas necróticas. O fundo de todas as feridas do grupo apresentou aspecto sangrante. (Fig. 03). No 7º dia, muito embora observada uma regressão do tamanho da ulceração e ausência do halo hiperêmico em todas as feridas, a borda das mesmas permaneceram de aspecto necrótico e fundo sangrante (Fig. 03). Não foi observada macroscopicamente

formação de crostas em nenhuma amostra. No 14º dia, as feridas apresentaram clinicamente melhor evolução cicatricial e em uma das cinco amostras já havia presença de crosta. Com ausência de borda necrótica, mas com os fundos das feridas ainda sangrantes, em nenhuma das amostras observou-se formação de cicatriz final (Fig. 03).

VARIÁVEIS	03 DIAS	07 DIAS	14 DIAS
Infecção	Ausente	Ausente	Ausente
Halo hiperêmico	N=5	Ausente	Ausente
Bordas necróticas	N=5	N=5	Ausente
Crosta	Ausente	N=2	N=4
Fundo sangrante	N=5	N=5	N=4
Cicatriz final	Ausente	Ausente	N=1

Quadro 02- Avaliação macroscópica dos ferimentos em dorso de ratos tratados com indometacina ® 2,5 mg via oral.

O grupo II (Indometacina® 2.5mg), no 3º dia observou-se acentuado halo hiperêmico em torno das feridas. Não houve formação de crosta sobre a lesão em nenhum dos espécimes, entretanto foram verificadas bordas necróticas com fundo sangrante (Fig. 04). No 7º dia, não se evidenciou halo hiperêmico em nenhuma das amostras com formação de crosta em duas das amostras (Fig. 04). No 14º dia as feridas do Grupo II (Indometacina® 2.5mg) estavam o aspecto cicatricial com ausência de sinais clínicos de inflamação, discreta cicatriz na área operada e em apenas uma das amostras observou-se cicatriz final no 14º dia (Fig. 04).

O grupo III (*Ocimum campechianum* MILL.), no 3º dia observou-se discreto halo hiperêmico em torno das feridas do grupo. Houve início de formação de crosta sobre a lesão em dois dos espécimes; os outros três ainda apresentavam borda necrótica

VARIÁVEIS	03 DIAS	07 DIAS	14 DIAS
Infecção	Ausente	Ausente	Ausente
Halo hiperêmico	N=5	Ausente	Ausente
Bordas necróticas	N= 2	Ausente	Ausente
Crostra	N=2	N=5	N=1
Fundo sangrante	N=3	Ausente	Ausente
Cicatriz final	Ausente	Ausente	N=4

Quadro 03- Avaliação macroscópica dos ferimentos em dorso de ratos tratados com extrato de *Ocimum Campechianum* MILL. na dose de 100 mg por via oral.

e com fundo sangrante. (Fig. 05). No 7º dia, não se evidenciou halo hiperêmico em nenhuma das amostras. Observou-se um estado cicatricial bem mais avançado com formação de crosta em todas as amostras (Fig. 05). No 14º dia, as feridas do Grupo II (*Ocimum campechianum* MILL.) estavam com excelente aspecto cicatricial, ausência de sinais clínicos de inflamação e com discreta cicatriz na área operada, além de discreta, porém evidente, neoformação de pêlos em região tricotomizada (Fig. 05).

Assim, o grupo que clinicamente apresentou resultado superior no que se refere ao aspecto clínico da inflamação foi o grupo II (*Ocimum campechianum* MILL.) pela ausência de halo hiperêmico e a cicatrização pela formação precoce de crosta e pelo aspecto final das cicatrizes das feridas. O processo inflamatório ficou mais evidente nos animais que foram tratados no padrão (indometacina®) e controle soro fisiológico, assim como o aspecto macroscópico das escaras após 07 dias para o extrato assumiu conformidade mais firme e definida. Aos 14 dias formaram-se nos animais tratados com o extrato, cicatrizes mais bem definidas e uma neoformação de pelos da região tricotomizada mais evidente.

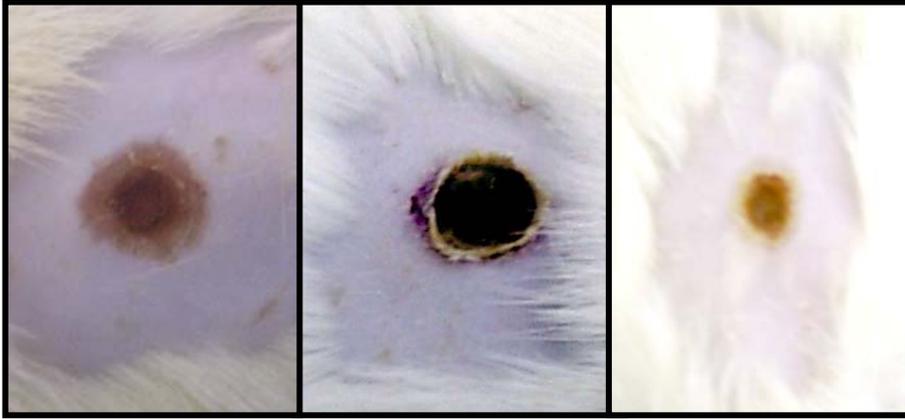


FIGURA 03 – Comparação dos aspectos macroscópicos da cicatrização de queimadura em dorso de ratos tratados com soro fisiológico 0,9 % por 03, 07 dias e 14 dias.

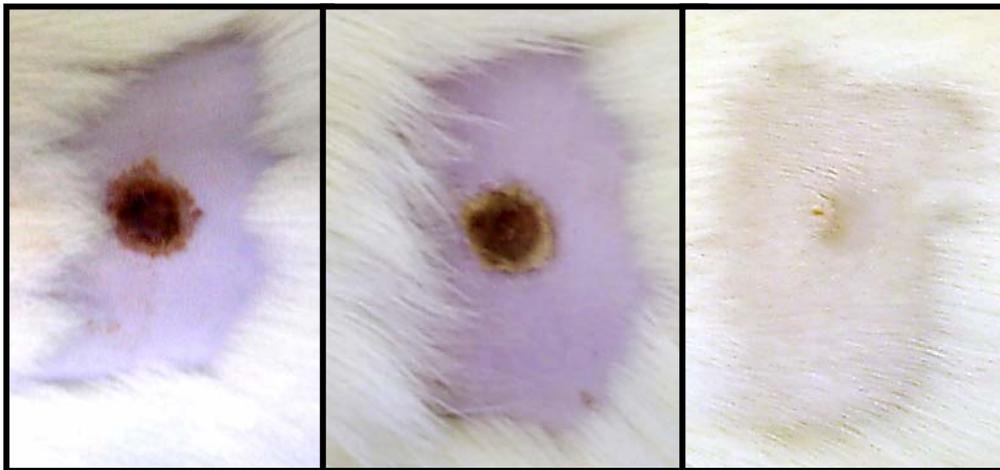


FIGURA 04 – Comparação dos aspectos macroscópicos da cicatrização de queimadura em dorso de ratos tratados com indometacina® 03, 07 dias e 14 dias.

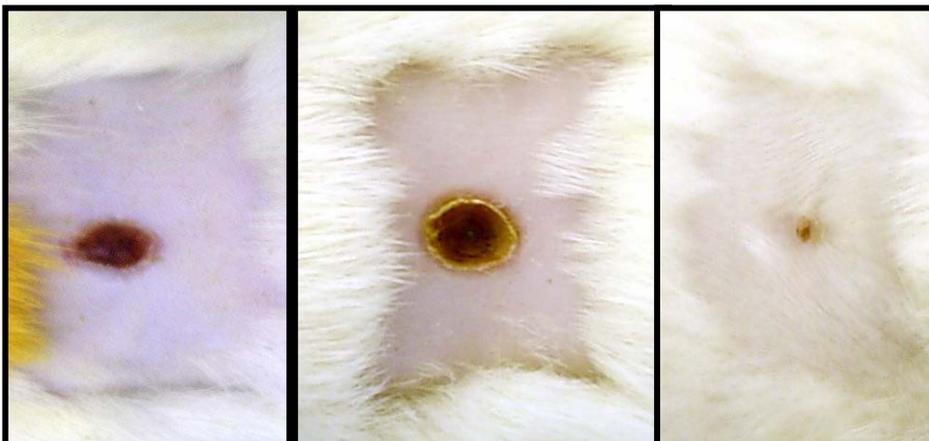


Figura 05 – Comparação dos aspectos macroscópicos em cicatrização (queimadura) em dorso de ratos com 03, 07 e 14 dias com administração do extrato de *ocimum campechianum* MILL.

DISCURSSÃO

Somos concordes com SCHULZ, HÄNSEL E TYLER (2002) que define as origens do tratamento farmacológico das enfermidades com uso de plantas medicinais, o que ratifica a justificativa do estudo realizado a partir da espécie *Ocimum campechianum* MILL, a qual no Brasil, conforme ALMEIDA E ALBUQUERQUE (2002) é largamente utilizada no combate a gripes, febres e distúrbios gástricos.

A cicatrização é definida por MANDELBAUM et al (2003) como eventos celulares e moleculares resultando em reconstituição do tecido lesado que ainda de acordo com BALBINO et al (2005) é iniciado por eventos coagulativos e de tamponamento dos vasos sanguíneos com ação nervosa. Porém em queimaduras, ocorre à formação de tecido ou área necrótica, observada nos animais desta pesquisa que determinam, concordando com Gragnani et al (2005), através de efeitos com a resistência do microorganismos aos agentes antimicrobianos, as infecções hospitalares que resultam muitas vezes em septicemia e morte dos enfermos queimados.

É notável que queimaduras em pele tornam-se excelente meio de cultura para microorganismos como os *Staphylococcus aureus* como afirma Macedo (2005) e que os cuidados e a resistência aos antibióticos são fatores já descritos e confirmados em estudos com influentes no perfeito desenvolvimento da cicatrização destas lesões de acordo com Gragnani et al (2005).

Os resultados desta pesquisa confirmaram com os dados de Navaro et al (2003) que descreve o extrato do *Ocimum campechianum* Mill e foram ativos contra

Staphylococcus aureus, o que auxiliou no desenvolvimento de processos cicatriciais livre de infecções.

Não foi necessário realizar o ensaio da toxicidade do extrato por já ter sido realizado previamente a determinação da DL₅₀ que foi de 1017,40 mg por SOUZA et al (2004) e a dose terapêutica de 100mg/Kgda peso corpóreo.

Os achados clínicos da fase inflamatória ratificaram os estudos de GREGORI (1986). Foram relevantes na avaliação macroscópica desta pesquisa principalmente referente ao halo hiperêmico que se resume em um dos sinais de Celsius do processo inflamatório mais evidenciado no grupo experimental dos animais tratados com indometacina[®] 2.5mg .

De acordo com os achados macroscópicos destacados por Gregori (1986), nos animais o tecido de granulação se formou com uma área necrótica e halo hiperêmico mais evidenciados nos grupos tratados com soro fisiológico e indometacina[®] 2.5mg aos 07 dias com substituição por uma crosta que ocorre mais precocemente nos grupos submetidos ao tratados com o extrato de *Ocimum campechianum* Mill por via oral.

Ratificando o descrito por PIRES & VIEIRA STARLING, 2001 as cicatrizes vão se formando ao longo de semanas. Porém notou-se neste estudo que os animais que apresentaram em maior número cicatrizes finais após 14 dias de estudo foram tratados com o extrato vegetal.

CONCLUSÃO

Concluimos através deste estudo realizado in vivo realizado que o extrato hidroalcoólico de *Ocimum campechianum* MILL na dose de 100mg administrado em ratos albinos *Wistar (Rattus Novergicus)*, atuou com agente cicatrizante significativamente nos aspectos clínicos macroscópicos o processo cicatricial por segunda intenção de feridas provocadas por eletro-produção no dorso dos animais quando comparados com o padrão positivo (indometacina[®] 2.5mg) e o grupo controle (soro fisiológico 0,9%).

BIBLIOGRAFIA

ALMEIDA, C. de F. C. B. R. de ; ALBUQUERQUE, U. P. de check-list of the family lamineaceae in Pernambuco,Brazil. Brazil arch. Biology technology. , vol 45, n. 3, p. 343-353, 2002.

BALBINO, C. A.; PEREIRA, L. M. P.; CURI,R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão, revista brasileira de ciências Farmacêuticas ,v. 41, n. 1, jan/mar., 2005.

CARVALHO, J. C. T.; VIGNOLI,V. V.; SOUZA, G. H. B. de; UJICAWA, K.; NETO, J. J. Antimicrobial activity of essencial oils from plantes used in Brazilian popular medicine.Acta Hort., 501,p. 77-81,1999.

CORREIA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas.** Rio de Janeiro: IBDF. 1984, v. 1, p. 63-64.

GREGORI, C. cirurgia buco-dento-alveolar. São Paulo: Savier, 1986. 272p.

- GRAZIANI, M. Cirurgia buco-maxilo-facial. 7ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara.Koogan, 1986. 717p.
- GRAGNANI, A.; et al Analise microbiológica em queimados Revista da Sociedade Brasileira de Cirurgia Plástica;(1997) :20(4) 237-240; out- dez 2005.
- MACEDO, J. L. S. de RESA, S. C. ;MACEDO, K. C. S., SANTOS, J. B. Septise no paciente queimado: estudo microbiológico e da sensibilidade antimicrobiana. Revista da Sociedade Brasileira de Cirurgia Plástica; 20(4) 220-224; out-dez 2005.
- MANDELBAUM S. H. et al. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares - Parte I, An bras Dermatol, Rio de Janeiro, 78(4):393-410, jul./ago. 2003.
- NAVARRO, M. C.: MONTILA, M. P.; CABO,M. M.; GALISTEO, M.; CACERES,A.; MORALES,C.: BERGER,I. antibacterial, antiprotozoal, and antioxidant activity of fave plants used in Izabal for infectious diseases. Phytother. Res., v.17, n.4 p.325-329,2003.
- PIRES, M. T. B. ; STARLING, S. V. ; **Manual de urgências em ponto-socorro**, 7ª ed. , Rio de Janeiro: ed. Medsi , Feridas , cap 2 , p. 24-46, 2001.
- PETERSON, L. J.; ELLIS, E. ; HUPP, J. R. ; TUCKER, M. R. ; Cirurgia Oral e Maxilo Facial Contemporânea, 3ª ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan,1998.
- SOUSA, S. T. de; SILVA, A. C. P.: SILVA, E. C. B. HIGINO, J. S.; XIMENES, E. A. ;SOUZA, I. Avaliação da toxicidade e.determinação da DL50 DO extrato das folhas de *Ocimum campechianum Mill* .Revista Brasileira de Ciências da saúde: 2004, Artigo in press.
- SCHULZ, V.; HÄNSEL. R. E TYLER, V. E. Fitoterapia racional- um guia de fitoterapia para as ciências da saúde , 1ª ed. , São Paulo: Editora Manole Ltda. 2002.

VIEIRA, R. F.; GREYER, R. J.; PATONB,A.; SIMON,J. E. Uso de marcadores químicos no estudo da diversidade genética de *Ocimum gratissimum* L. Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 12,supl., p. 126-129,2002.

Artigo II

**Atividade cicatrizante de ferida por segunda intenção em
dorso de ratos do extrato *Ocimum campechianum* Mill
(*Lamiaceae*): Uso dermatológico**

Atividade cicatrizante de ferida por segunda intenção em dorso de ratos do extrato *Ocimum campechianum* Mill (Lamiaceae):

Uso dermatológico

Activity cicatrization of wounds by second intention in dorsum of mice of the extract *Ocimum campechianum* Mill (Lamiaceae):

Dermatology use.

José Justino da SILVA JÚNIOR¹, Jane Sheila HIGINO², Elizabeth Arruda Carneiro

PONZI³, Ivone Antônia de SOUZA⁴

RESUMO

O *Ocimum campechianum* Mill. é espécie da família Lamiaceae que apresenta nas suas folhas uma concentração significativa de óleos essenciais com características bactericidas. Visando o uso do extrato desta planta no processo de cicatrização em queimaduras nos processos infecciosos, foi desenvolvido um produto em forma de creme pomada do extrato para uso tópico. Os testes foram realizado “*in vivo*” em dorso de ratos *wistar* machos (pesado 250 a 350g) através da confecção queimadura com bisturi elétrico e administração via tópica, no intuito de investigar sua atividade cicatrizante em feridas. Os resultados clínicos foram analisados de acordo com critérios macroscópicos de cicatrização, incluindo inspeção de infecção, bordas necróticas e cicatriz final, e comprovou-se a superior ação cicatrizante do fitoterápico uma dose terapêutica de 100mg quando comparados ao do grupo padrão (Fibrase com cloranfenicol®) e o controle (soro fisiológico).

¹ Cirurgião-dentista e mestrando em Ciências Farmacêuticas da UFPE, ² Profª Adjunta do Departamento de Farmácia da UFPE, ³ Profª Assistente do Departamento de Prótese e Cirurgia Buco-Maxilo-Facial da UFPE, ⁴ Profª Adjunta do Departamento de Antibióticos da UFPE

Palavras chaves: Pomada dermatológica, *Ocimum campechianum* Mill e cicatrização.

ABSTRACT

The *Ocimum campechianum* Mill. it is species of the Lamiaceae family who presents in its leaves a significant essential oil concentration with bactericidal characteristics. Aiming at the use of the extract of this plant in the process of cicatrization in burnings in the infectious processes, a product in pomade form of cream of the extract for topical use was developed. The tests had been carried through “in alive” in back of rats to wistar male (heavy 250 350g) through the confection burning with electric bistoury and administration saw topic, in intention to investigate its cicatrizante activity in wounds. The clinical results had been analyzed in accordance with macroscopic criteria of cicatrization, including necróticas inspection of infection, edges and final scar, and proved it superior cicatrizante action of the fitoterápico a therapeutical dose of 100mg/Kg when compared with the one of the group standard (fibrase with cloranfenicol®) and the control (physiological serum).

Words keys: Dermatological Pomade, *Ocimum campechianum* Mill end cicatrization

INTRODUÇÃO

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), 80% da população dos países em desenvolvimento utilizam-se da medicina popular na atenção primária à saúde, ou seja, dependem quase exclusivamente da medicina tradicional tendo as plantas como principais componentes (CANTER et al, 2005; ELOFF, 1997)

A família Lamiaceae é constituída por 220 gêneros e aproximadamente 4000 espécies (HEDGER, 1992) e assume grande importância econômica, pois 40% dos gêneros que a constituem são compostos por plantas com propriedades aromáticas (LAWRENCE, 1992).

Várias espécies de *Ocimum* apresentam na composição óleos essenciais, sendo as mesmas, substâncias biologicamente ativas de caráter fungicida (REUVENI et al, 1984) e bactericida (NTERZURUBANZA et al, 1984).

O screening fitoquímico do *Ocimum campechianum* Mill realizado no extrato permitiu detectar a presença de polifenóis (fenilpropanoglicosídeos e flavonóides), terpenóides (principalmente monoterpenos como o eugenol), açúcares redutores e ácidos ursólico. Com base nos resultados das análises cromatográficas dos extratos: benzênico e metanólico das folhas de *Ocimum campechianum* Mill, a presença de eugenol confirma o que está escrito na literatura quanto à composição dos óleos essenciais extraídos desse gênero (SOUSA et al, 2005).

Nos ensaios de atividade antiinflamatória nos animais tratados com indometacina e com o extrato de *Ocimum campechianum* Mill., por via oral ,

apresentaram diminuição do volume dos edemas induzidos na região subplantar da pata esquerda posterior(edema de pata), quando comparados com os animais controle,sendo significativa num período de 04 horas após a administração do extrato. (SOUSA, 2004).



Figura 01 –Aspecto botânico da espécie vegetal *Ocimum campechianum* Mill.(disponível na tese de SOUSA, 2004).

Desenvolveu-se uma forma farmacêutica de pomada-creme de uso dermatológico a partir do extrato hidroalcoólico pilular do *Ocimum campechianum* Mill. para ensaios “*in vivo*” em ferimentos (queimadura) no dorso de ratos *Wistar* (*Rattus Novergicus*) sendo os resultados da ação cicatrizante avaliados através da inspeção dos aspectos clínicos macroscópico com intervalos de tempo de 03, 07 e 14 dias, realizando-se posteriormente uma comparação com os grupos padrão (Fibrase com cloranfenicol®) e controle (soro fisiológico 0,9%)

REVISÃO DE LITERATURA

A prática de friccionar óleos essenciais e rubefacientes na pele para aliviar a dor tem raízes profundas na medicina popular. As evidências empíricas disponíveis sugeriram que esses remédios tinham um mecanismo de ação similar, isto é, aliviavam a dor contra irritação de áreas da pele associadas a órgãos (zonas principais) por meio de neurônios espinhais correspondentes (SCHULZ, HÄNSEL E TYLER, 2002).

O gênero *Ocimum* tem sido durante muito tempo reconhecido como uma rica e diversificada fonte de óleos essenciais, os quais são extraídos por hidrodestilação das folhas e utilizados em rituais tradicionais e medicinais (SIMON, QUINN & MURRAY, 1990).

Através da realização de ensaios *in vitro*, foi constatada a atividade antimicrobiana de óleos essenciais obtidos das folhas de *Ocimum campechianum* Mill contra *B. subtilis*, *S. aureus*, *M. luteus*, *E. coli*, *S. marcescens* e *A. oryzae* (CARVALHO et al, 1999)

A curva dose-resposta, construída a partir dos resultados provenientes dos testes de toxicidade aguda do extrato hidro-alcoólico de *Ocimum campechianum* Mill mostrou que as doses acima de 2687,4 mg/Kg foram capazes de matar 100% dos animais (SOUSA, 2004).

Após um ferimento, inicia-se a seqüência de eventos biológicos, dinâmicos e complexos que visam promover o reparo da lesão que caracterizam a cicatrização. Ela é formada por três fases evolutivas superpostas: fase inicial ou inflamatória, fase

proliferativa ou de fibroplasia e fase de remodelação ou maturação (BRANCO NETO et al, 2006).

Os achados clínicos da fase não-proliferativa ou inflamatória são decorrentes da lesão tecidual do ponto de vista macroscópico clínico, portanto, torna-se muito útil saber que os sinais e sintomas da inflamação - os sinais de Celsius - tendem a reduzir passadas as primeiras 48 horas do pós-trauma. A exacerbação desta sintomatologia por um período maior de 24 horas, em um paciente normorreativo, não deve ser interpretada como sendo decorrente do trauma, impondo que se considere a possibilidade de ação sobre a ferida cirúrgica de outro tipo de trauma, como reação a corpos estranhos (infecção) (GREGORI, 1996).

A inflamação depende, além de inúmeros mediadores químicos, das células inflamatórias, como os leucócitos polimorfonucleares (PMN), macrófagos e linfócitos. (MANDELBAUM et al, 2003). A neoangiogênese é uma das características histológicas mais importantes do tecido de granulação no processo de cicatrização de pele (BIONDO-SIMÕES et al., 2006).

A formação do tecido de granulação depende do fibroblasto, célula crítica na formação da matriz. Longe de ser apenas produtor de colágeno, o fibroblasto produz elastina, fibronectina, glicosaminoglicana e proteases, estas responsáveis pelo debridamento e remodelamento fisiológicos (MANDELBAUM et al, 2003).

As cicatrizes continuam remodelando-se com o passar dos meses e anos, sofrendo alterações progressivas em seu volume e forma. Essa remodelação ocorre

através da degradação do colágeno, que é mediada pela enzima colagenase (PIRES & VIEIRA STARLING, 2001).

Toda ferida infectada é de difícil cicatrização e demorada, sendo necessários cuidados locais (uma ativa terapêutica anti-infecciosa local), além da administração de medicação sistêmica adequada. A infecção é determinada por três fatores: a virulência do microorganismo presente, seu número, e maior ou menor resistência oferecida pelos tecidos invadidos (GRAZIANI, 1986).

Os tecidos queimados é um excelente meio de cultura para o crescimento de uma ampla variedade de bactérias devido à disponibilidade de nutrientes, ao ambiente úmido e a temperatura. A septicemia originada da lesão é ainda a causa principal de mortalidade e morbidade em pacientes queimados. Conseqüentemente é extremamente necessário diagnóstico e controle da infecção (GRATGNANI et al, 2005).

O óleo essencial *ocimum ssp* é também ativo contra várias espécies de bactérias (*Staphilococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Shigella*, *Salmonela e Proteus*) e fungos (*Trichophyton rubrum*, *T. mentagrophytes*, *Cryptococcus neoformans*, *Penicillium islandicum* e *Cândida albicans*) (MBATA & SAIKIA, 2005).

O screening fitoquímico do *Ocimum campechianum* Mill realizado no extrato, permitiu detectar a presença de polifenóis (fenilpropanoglicosídeos e flavonóides), terpenóides (principalmente monoterpenos como o eugenol), açúcares redutores e ácidos ursólico. Com base nos resultados das análises cromatográficas dos extratos: benzênico e metanólico das folhas de *Ocimum campechianum* Mill, a presença de

eugenol confirma o que está escrito na literatura quanto à composição dos óleos essenciais extraídos desse gênero (SOUSA et al, 2004).

Os testes para avaliação da toxicidade aguda do extrato de *Ocimum campechianum* Mill foram realizados através da observação de efeitos gerais sugestivos de ação sobre o sistema nervoso central e periférico, a partir dos quais foi determinada a DL₅₀ que resultou em 1017,40 mg/Kg de peso do animal (SOUSA et al, 2004).

MATRIAIS E MÉTODOS

◆ Técnica de preparatória da pomada-creme dermatológica á base de extrato de *Ocimum campechianum* MILL (100mg)

Algumas formulações para o desenvolvimento técnico da pomada-creme do extrato de *Ocimum Campechianum* Mill. foram testadas, escolhendo as melhores preparações. Destas, apresentamos na tabela 01 as dez melhores atingidas. Variamos a quantidade de emulgente, do espessante e da fase dispersante e a formulação piloto escolhida foi a 07 (TABELA 01).

A extração foi realizada utilizando folhas secas de *Ocimum campechianum* Mill., que posteriormente foram trituradas e feita à aferição de peso, sendo as mesmas submetidas ao processo de maceração (composição do solvente de 80% de álcool absoluto e 20% de água destilada), por tempo de 15 dias, sendo o macerado, em seguida a esta fase, filtrado e evaporado.O extrato obtido foi o extrato bruto de hidroetanólico (80%) pilular das folhas – EBP.

FORMULAÇÕES	Piloto									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Ácido esteárico	5,0%	5,0%	5,0%	5,0%	5,0%	5,0%	4,0%	5,0%	5,0%	5,0%
Trietanolamina	3,0%	3,0%	3,0%	3,0%	3,0%	3,0%	2,4%	3,0%	2,4%	2,4%
Glicerina	3,0%	3,0%	2,0%	2,6%	2,5%	2,4%	2,4%	2,4%	2,6%	2,4%
Álcool cetosteárfílico	5,0%	4,5%	4,0%	4,0%	4,0%	4,0%	4,0%	4,0%	4,0%	4,0%
Extrato vegetal	2,0%	2,0%	2,0%	2,0%	2,0%	2,0%	2,0%	2,0%	2,0%	2,0%
Água dest. q.s.p.	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%

Tabela 01- variação das formulações centesimais de pomada-creme dermatológica à base do extrato bruto pilular de *Ocimum campechianum* Mill.

Em um béquer de 100ml aqueceu-se os constituintes lipossolúveis (fase lipofílica) à 70 °. Em outro béquer, aqueceram-se os constituintes hidrossolúveis (fase hidrofílica) à 70°C. Em um gral de porcelana colocou-se a fase lipofílica, também chamada fase dispersa, adicionando-se lentamente a fase hidrofílica, também chamada de fase dispersante promovendo-se a homogeneização.

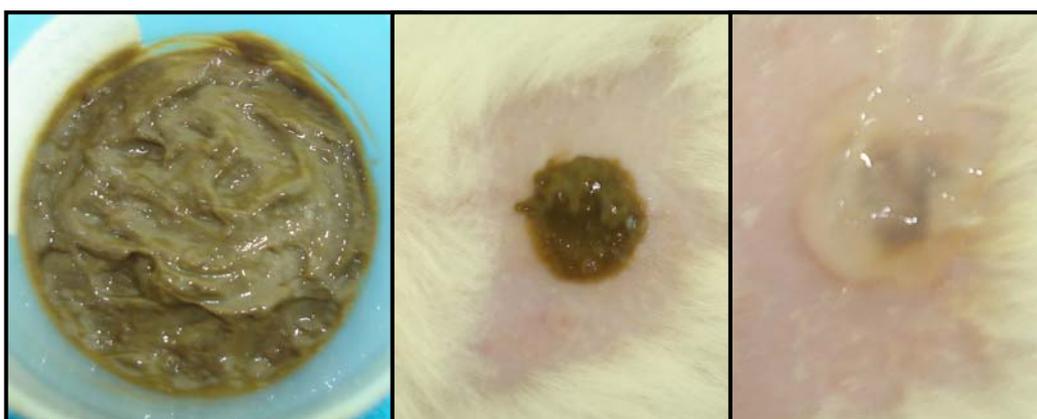


Figura 02- Aspecto da pomada creme desenvolvidas a partir do extrato de *Ocimum campechianum* Mill.. Aplicação sobre os ferimentos pós-bisturi elétrico da pomada creme do *Ocimum campechianum* Mill. e aplicação da pomada fibrase com cloranfenicol® .

Após resfriamento à temperatura ambiente, obteve-se a consistência do creme (brilhante e firme) neste momento foi feita a incorporação do extrato bruto pilular do *Ocimum Campechianum* Mill., homogeneizando até a consistência final dentro das especificações farmacopéicas (viscosidade, pH, etc).

◆ **Estudo “*in vivo*”**

Foram utilizados neste estudo de cicatrização “*in vivo*”, ratos *Wistar (Ratus norvegicus)* fêmeas adultas, com idade de 2-3 meses e peso entre 180g a 250g, os quais foram mantidos durante o período experimental em gaiolas plásticas (polipropileno), forradas com maravalha e trocadas a cada dois dias.

Os animais foram divididos em três grupos:

GRUPO I – Animais tratados dermatologicamente com soro fisiológico a 0,9% a cada 24 horas durante 05 dias.

GRUPO II – Animais tratados dermatologicamente com pomada-creme EXTRATO de <i>Ocimum campechianum</i> MILL. na dose de 100mg de peso corpóreo do animal a cada 24 horas durante 05 dias.

GRUPO III - Os animais tratados dermatologicamente com pomada fibrase com cloranfenicol® a cada 24 horas durante 05 dias.
--

Os animais foram previamente tratados com solução de atropina a uma dose de 0,04 mg por Kg de peso corpóreo do animal por via subcutânea 10 minutos antes do evento cirúrgico com o objetivo de evitar possíveis arritmias atrioventricular (cardíacas). Posteriormente as cobaias foram anestesiadas com uma dose de 0,2 ml por Kg de peso corpóreo de uma mistura de 1:1 das soluções de quetamina e xilazina,

administrada por via intramuscular em região de pata posterior esquerda do animal, sendo utilizado para isso agulhas de insulina e seringas de 1,0 ml.

As remoções dos pelos da região de dorso superior de cada animal foi realizada. Os animais foram postos em decúbito dorsal sobre uma mesa operatória e cobertos com um campo cirúrgico estéril, sendo realizada a antissepsia com álcool iodado a 0,3 %.

Posteriormente foram realizadas as cauterizações (queimadura) utilizando-se para este fim, a ponta esférica de um bisturi elétrico, o qual proporcionou um dano tecidual cutâneo (queimadura de 3º grau) de 0,3cm de diâmetro e uma profundidade que atingiu os tecidos subcutâneos, porém preservando a fascia muscular desta região. Os animais foram colocados em gaiolas plásticas devidamente identificados até a data de análise dos aspectos clínicos.



FIGURA 03 –Fotos da tricotomia do dorso dos animais e utilização do bisturi elétrico para realização dos ferimentos.

A aplicação da pomada nos grupos foi realizada com porção satisfatória da mesma sobre o ferimento no pós-operatório do animal, sendo a mesma aplicada imediatamente após o ferimento e posteriormente a posologia adotada para o tratamento

por via tópica. Tais aplicações foram realizadas a cada intervalos de 24 horas durante um período de 05 dias a partir do ato cirúrgico. Também foi utilizada como medicação analgésica no pós-operatório dos ratos nestes grupos a dipirona sódica de 500 mg (0,3 ml) via oral.

Após 03, 07 e 14 dias os animais foram sedados e foram realizadas fotografias da área cirurgiada para realização de análise macroscópica das fases de cicatrização.

As avaliações macroscópicas das feridas foram realizadas em todos os animais, sendo os critérios de avaliação previamente estabelecidos nos seguintes padrões: presença de infecção, presença de halo hiperêmico em torno da ferida, formação de crosta cicatricial, presença de borda necrótica, fundo sangrante da ferida e a cicatriz final.

RESULTADOS

Os aspectos clínicos dos ferimentos em suas várias etapas de sacrifício englobando as diferentes fases de cicatrização (03, 07 e 14 dias) revelaram superior resposta cicatrizante do creme pomada do extrato de *Ocimum campechianum* Mill comparado aos observados pelos padrões utilizados nesta pesquisa. Os critérios utilizados para avaliação macroscópica foram à presença de infecção, halo hiperêmico peri-lesional, bordas necróticas e fundo da ferida e cicatriz final. O resultado da avaliação foi o seguinte:

VARIÁVEIS	03 DIAS	07 DIAS	14 DIAS
Infecção	Ausente	Ausente	Ausente
Halo hiperêmico	N=5	Ausente	Ausente
Bordas necróticas	n=5	N=5	Ausente
Crostra	Ausente	Ausente	Presente n=1
Fundo sangrante	n=5	N=5	N=5
Cicatriz final	Ausente	Ausente	Ausente

Quadro 01- Avaliação macroscópica dos ferimentos em dorso de ratos tratados com soro fisiológico 0,9% por via oral.

No grupo I (soro fisiológico 0,9%), as feridas de todo grupo apresentaram-se no, 3º dia, circundadas por evidente halo hiperêmico nas cinco amostras e com bordas necróticas. O fundo de todas as feridas do grupo apresentavam-se sangrantes (Fig. 4). No 7º dia, muito embora observada uma regressão do tamanho da ulceração e ausência do halo hiperêmico em todas as feridas, a borda das mesmas permaneciam com aspecto necrótico e fundo sangrante (Fig. 4). Não foi observada macroscopicamente formação de crostas em nenhuma amostra. No 14º dia, as feridas apresentavam-se clinicamente com melhor evolução cicatricial, em uma das cinco amostras já havia presença de crosta. Não houve borda necrótica, os fundos das feridas ainda estavam sangrantes e em nenhuma das amostras observou-se formação de cicatriz final (Fig. 4).

O grupo II (Fibrase com cloranfenicol®), no 3º dia observou-se em todos os espécimes não só um relevante halo hiperêmico em torno das feridas, como também a não formação de crosta por sobre o ferimento e a presença de bordas necróticas com fundo sangrante. (Fig. 5).

VARIÁVEIS	03 DIAS	07 DIAS	14 DIAS
Infecção	Ausente	Ausente	Ausente
Halo hiperêmico	N=5	Ausente	Ausente
Bordas necróticas	N=5	N=5	Ausente
Crosta	Ausente	N=2	N=3
Fundo sangrante	N=5	N=5	N=4
Cicatriz final	Ausente	Ausente	N=2

Quadro 02- Avaliação macroscópica dos ferimentos em dorso de ratos tratados com pomada de Fibrase com cloranfenicol ® por via tópica.

No 7º dia, não se evidenciou halo hiperêmico em nenhuma das amostras, contudo a formação de crosta foi observada em apenas duas das amostras e em todos as queimaduras apresentaram-se com fundo sangrante e bordas necróticas (Fig. 5). No 14º dia as feridas do Grupo II estavam com aspecto cicatricial com ausência de sinais clínicos de Celsius e com discreta cicatriz em área operada em dois animais, todavia apresentavam fundo sangrante discreto em 4 dos espécimes, a crosta persistia em três amostras (Fig. 5).

VARIÁVEIS	03 DIAS	07 DIAS	14 DIAS
Infecção	Ausente	Ausente	Ausente
Halo hiperêmico	N=2	Ausente	Ausente
Bordas necróticas	N= 1	Ausente	Ausente
Crostra	N=2	N=2	Ausente
Fundo sangrante	N=2	Ausente	Ausente
Cicatriz final	Ausente	N=3	N=5

Quadro 03- Avaliação macroscópica dos ferimentos em dorso de ratos tratados com pomada-creme do extrato bruto pilular de *Ocimum campechianum* MILL. na dose de 100mg.

No grupo II (extrato de *Ocimum campechianum* MILL. na dose de 100mg), as feridas do primeiro grupo apresentaram-se no 3º dia um relativo halo hiperêmico apenas duas amostras e bordas necróticas em apenas 01 espécime; além disso, observamos a formação de crostas em dois animais e o fundo das feridas de duas amostras do grupo apresentavam-se sangrantes (Fig. 6). No 7º dia, foi observada uma grande regressão do tamanho da ulceração e ausência de halo hiperêmico. Em todas as feridas, as bordas das mesmas não se apresentavam de aspecto necrótico nem com fundo sangrante (Fig. 6). Foi observada macroscopicamente a formação de crostas em duas das amostras e, conseqüentemente, de cicatriz final em três animais. No 14 dia as feridas apresentavam-se clinicamente com elevada evolução cicatricial e em todas as cinco amostras já havia presença de cicatriz final e completa ausência de borda necrótica com fundos sangrantes (Fig. 6).

Assim, o GRUPO III (pomada creme do extrato de *Ocimum Campechianum* MILL na dose de 100mg) foi o que clinicamente apresentou um melhor resultado no que se refere ao aspecto macroscópico da inflamação das queimaduras através da ausência de halo hiperêmico na maioria dos espécimes ao 3º dia e uma cicatrização em fase avançada, pois na maioria dos animais ocorreu a formação precoce de crosta e o desenvolvimento rápido de um aspecto final das cicatrizes das feridas.

DISCURSSÃO

Concordamos com os autores CORRÊIA et al (2001) e COWAN (1999) que atribuem aos produtos naturais desde a antiguidade a base da medicina farmacêutica moderna, pois podemos comprovar na ação do extrato de *Ocimum campechianum* Mill.

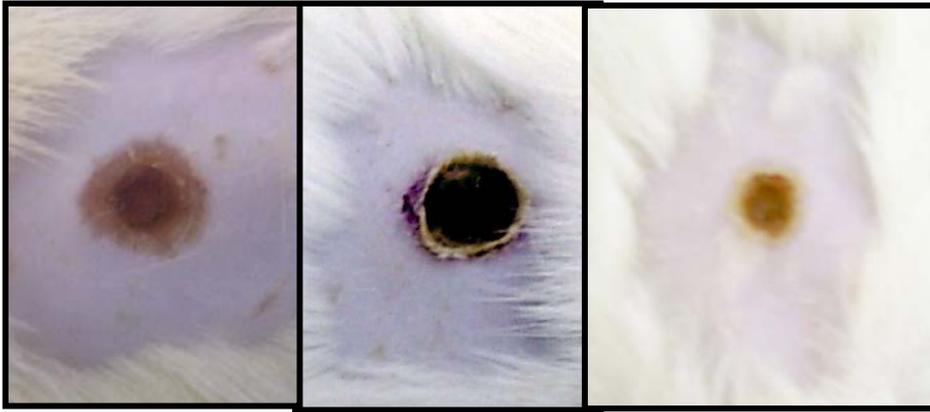


FIGURA 04 – Comparação dos aspectos macroscópicos da cicatrização de queimadura em dorso de ratos tratados com soro fisiológico 0,9 % por 03, 07 dias e 14 dias.

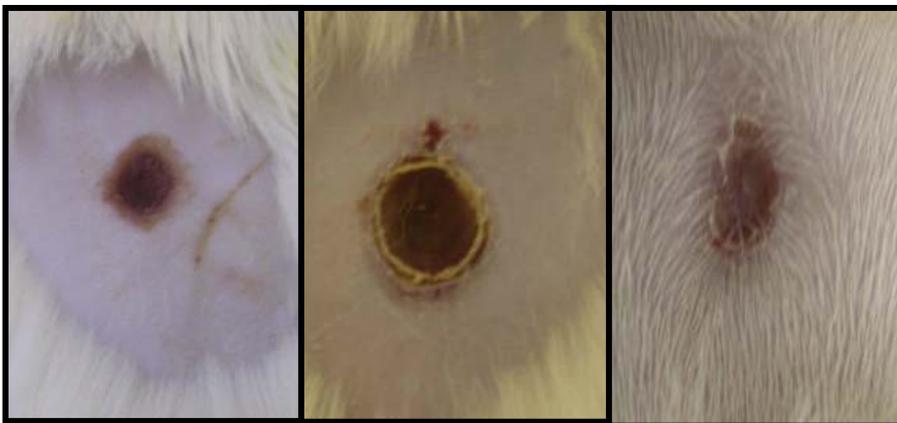


Figura 05 -Comparação dos aspectos macroscópico em cicatrização (queimadura) em dorso de ratos com 03, 07 e 14 dias com administração Fibrase com cloranfenicol®



Figura 06 – Comparação dos aspectos macroscópico em cicatrização (queimadura) em dorso de ratos com 03, 07 e 14 dias com administração do extrato de *ocimum campechianum* MILL na forma farmacêutica creme-pomada.

utilizado neste experimento que se demonstrou altamente ativo como cicatrizante de queimadura em pele na forma farmacêutica de pomada creme dermatológica.

Os experimentos comprovaram nos achados de SOUSA (2004) que se observou uma ação antiinflamatória satisfatória do extrato de *Ocimum campechianum* Mill. , que em ação local inibiu os sinais clínicos da inflamação local na maioria dos espécimes analisados.

Ainda conforme SCHULZ, HÄNSEL E TYLER (2002) a medicina popular, os óleos essenciais presentes no extrato dos ensaios apresentam ação analgésica da pele. O que está presente no combate aos sinais clínicos de Celsius, sendo o mesmo conforme fitoquímica realizada por SOUSA (2004) quantidade satisfatória de óleos essenciais.

Os achados clínicos da fase não-proliferativa ou inflamatória descritos por GREGORI (1996) foram comprovados nos ratos controle através dos halos hiperêmicos, que tendem a reduzir após 48 horas o que se evidenciou de maneira mais precoce nos animais que foram tratados com a pomadas dermatológica desenvolvida a partir do extrato de *Ocimum campechianum* Mill., não havendo em todos os animais exacerbação do processo de forma atípica por não apresentar infecção localizadas.

Concordamos as afirmações de MANDELBAUM et al (2003) de que tecido de granulação que posteriormente na pele dará origem às crostas e é formado por fibroblastos durante a segunda fase da cicatrização, o que foi observada neste experimento aos 07 dias após a queimadura. Todavia nos animais tratados com a pomada creme do extrato hidroalcoólico do *Ocimum campechianum* MILL, isso se

processou de maneira precoce desenvolvendo cicatrizes em estágio final em vários espécimes. O que não se evidenciou no grupo padrão positivo (Fibrase com cloranfenicol®)

Corroborando com os estudos de MBATA E SAIKIA (2005) que relata a ação dos óleos essenciais do gênero *ocimum* com ativo antimicrobiano contra várias espécies de bactérias inclusive o *Staphylococcus aureus*, os quais conforme pesquisa de GRATGNANI et al (2005) são um dos principais responsáveis pelos casos de septicemia em pacientes queimados. A infecção é, conforme GRAZIANI (1986), um fator que retarda o processo de cicatrização, fato este que pode ser considerado uma das vantagens da pomada creme dermatológica do extrato em relação aos demais grupos testados nesta pesquisa.

CONCLUSÃO

Concluimos a partir destes ensaios pré-clínicos que a formulação farmacológica de pomada-creme do extrato bruto pilular de *Ocimum campechianum* MILL demonstrou-se de acordo com aos aspectos clínicos macroscópicos dos ferimentos (queimadura) com cicatrização por segunda intenção em dorso de ratos albinos *Wistar* (*Rattus Novergicus*) ação cicatrizante, desenvolvendo assim uma atividade farmacológica no processo de redução da inflamação, no combate a infecção e na remodelação dos tecidos quando comparados com a ação Fibrase com cloranfenicol®(padrão) e soro fisiológico 0,9% (controle).

BIBLIOGRAFIA

- BRANCO NETO, M. L.; et al. Avaliação do extrato hidroalcoólico de Aroeira (*Schinus terebinthifolius Raddi*) no processo de cicatrização de feridas em pele de ratos. Acta Cir. Bras. vol.21 suppl.2 São Paulo 2006
- BIONDO-SIMÕES.M. L. P.et al. Cicatrização de feridas: estudo comparativo em ratos hipertensos não tratados e tratados com inibidor da enzima conversora da angiotensina. Rev. Col. Bras. Cir. vol.33 no.2 Rio de Janeiro Mar./Apr. 2006
- CANTER, P. H.; THOMAS, H.; ERNEST, E. bringing medicinal plants into cultivation: opportunities and challenges for biotechnology. Trends in Biotechnology, v.23,n. 4, p. 180 – 185. 2005.
- CARVALHO, J. C. T. :VIGNOLI, V. V. ; SOUZA,G. H. B. de; UJIKAWA, K.;NETO, J.J. Antimicrobial activity of essencial oils from plants used in Brazilian popular medicine.Acta Hort., 501,77-81,1999.
- CORREIA, A. D. ; BATISTA, R. S. ; QUINTAS, L. E. ; Plantas medicinais : do cultivo à terapêutica. 4 ed. Vozes, 2001.
- ELOFF, J. N. Which extractant should be used for the screening and isolation of anti microbial components from plants? Journal of Ethno pharmacology, v. 60, p. 1 – 8.1997.
- GRAZIANI, M. Cirurgia buco-maxilo-facial. 7ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara.Koogan, 1986. 717p.
- GRATGNANI, A.; et al Analise microbiológica em queimados Revista da Sociedade Brasileira de Cirurgia Plástica;(1997) :20(4) 237-240; out- dez 2005.
- GREGORI, C. cirurgia buco-dento-alveolar. São Paulo: Savier, 1996. 272p.

- HEDGER, I. C. A global survey of the biogeography of the laminaceae. In : HARLEY, R. M.; REYNOUDS, T. (Eds.). Advances in Labiateae Science. UK, 1992.p. 7-17.
- LAWRENCE, B. M. chemical components of labiatea oils and their exploitation. In: HARLEY, R. M.; REYNOLDS, T. (Eds.). Advances in labiateae science. Royal Botanic Gardens. Kew, 1992. p. 399 – 436.
- MANDELBAUM S. H. et al. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares - Parte I, An bras Dermatol, Rio de Janeiro, 78(4):393-410, jul./ago. 2003.
- MBATA, T. J. ; SAIKIA, A. Antibacterial Activity of Essential oil from *Ocimum gratissimum* on *Listeria monocytogenes* journal of Food Safety ,v(7): 15-19 2005.
- NTEZURUBANZA, L.; SCHEFFER, J. J. C.; LOOMAN, A.; SVENDSEN. A. B. Compositions of essential oil of *ocimum kiliman* discharicum grown in Rwanda. **Planta médica**, v. 05, n. 05, pág. 385-388, 1984.
- SCHULZ, V.; HÄNSEL. R. E TYLER, V. E. Fitoterapia racional- um guia de fitoterapia para as ciências da saúde , 1ª ed. , São Paulo: Editora Manuel Ltda. 2002
- SIMON, J. E., QUINN, J., MURRAY, R. G. Basil: a source of essential oils. In: JACICK, J., SIMON, J. E. . Advances in new crops. Timber press, Portland, Oregon.1990. p. 484-489.
- SOUSA, S. T. de; Estudo da atividade biológica do *Ocimum campechianum* Mill. e determinação de seu perfil fitoquímico. 2004. Tese de mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco, Recife.
- SOUSA, S. T. de; SILVA, A. C. P.: SILVA, E. C. B. HIGINO, J. S.; XIMENES, E. A. ;SOUZA, I. Avaliação da toxicidade e.determinação da DL50 DO extrato das folhas de *Ocimum campechianum* Mill .Revista Brasileira de Ciências da saúde: 2004, Artigo in press.

SOUSA, S. T. de; SILVA, A. C. P.: SILVA, E. C. B. XAVIER, H. S. ; XIMENES, E. A. ;SOUZA, I. A.Determinação do perfil fitoquímico do *Ocimum campechianum* Mill. Anais do V simpósio Brasileiro de Farmacognosia. Recife: 2005

PIRES, M. T. B. ; STARLING, S. V. ; **Manual de urgências em ponto-socorro**, 7^a ed. , Rio de Janeiro: ed. Medsi , Feridas , cap 2 , p. 24-46, 2001.

REUVENI, R. ; FLEISHER, A. ; PUTIEVSKY, E. Fungistatic activity of essential oils from *ocimum brasiliicum* chemo types. **Phytopath. Z.**, v.110, p.20-22, 1984.

Artigo III

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO *Ocimum campechianum* Mill SOBRE *Staphylococcus aureus*

Publicado na revista INTERNATIONAL JOURNAL DENTISTRY

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO *Ocimum campechianum* Mill SOBRE *Staphylococcus aureus*

THE ANTIMICROBIANA ACTIVITY THE EXTRACTS
Ocimum campechianum Mill THE *Staphylococcus aureus*

José Justino da SILVA JÚNIOR¹

Ivone Antônia de SOUZA ²

Jane Sheila HIGINO³

Maria do Socorro Vieira PEREIRA⁴

Elizabeth Arruda Carneiro PONZI⁵

Lucas Alexandre de Moraes SANTOS⁶

Itárcio Queiroz de Melo PADILHA⁷

¹Cirurgião-dentista e mestrando em Ciências Farmacêuticas da UFPE

²Prof^a Adjunta do Departamento de Antibióticos da UFPE

³Prof^a Adjunta do Departamento de Ciências Farmacêuticas da UFPE

⁴Professora de genética do Departamento de Biologia Molecular (DBM) – (UFPB)

⁵ Prof^a Assistente do Departamento de Prótese e Cirurgia Buco-Maxilo-Facial da UFPE

⁶Cirurgião-dentista e Mestrando em Cirurgia e Traumatologia Buco Facial da UFPE

⁷Graduando em Ciências Biológicas da UFPB.

¹ Av. Severiano José freire, 49 Edf. Maria Luiza, Apt^a 301 Carpina-PE bairro: Cajá, CEP 55810-000.

Fones (81) 36210529 / (81)88718637- mestredentista@yahoo.Com.br

RESUMO

O *Ocimum campechianum* Mill. é uma espécie vegetal que apresenta como característica fitoquímica a presença de óleos essenciais, os quais têm uma sensível ação farmacológica de caráter antibacteriano. Há muito tempo têm-se estudado varias formas de controle e erradicação das doenças causadas por *Staphylococcus aureus* através de agentes antimicrobianos, grandemente variado em suas ações, aplicações e eficácia, porém o uso abusivo e indiscriminado de antibióticos na prática clínica humana e veterinária tem um efeito seletivo no surgimento e manutenção de resistências a drogas. O extrato da espécie vegetal *Ocimum campechianum* Mill foi testado in vitro em linhagens multiresistente de *Staphylococcus aureus* de origem humana e animal, o qual apresentou atividade antimicrobiana significativa com halos de inibição em torno dos poços entre 10 e 20 mm.

Unitermos: Atividade Antimicrobiana, *Staphylococcus aureus*, *Ocimum* e extrato vegetal.

ABSTRACT

The *Ocimum campechianum* Mill. it is a vegetal species that presents as characteristic phitochemistry the essential oil presence, which have a sensible pharmacologic action of antifungus and antibacterial character. It has much time have been studied you vary forms of control and eradication of the illnesses caused for *Staphylococcus aureus* through agent antimicrobials, greatly varied in its action, applications and effectiveness, however the abusive and indiscriminate use of agents in the practical clinic human being and veterinary medicine has a selective effect in the sprouting and maintenance of resistant the drugs. The extract the vegetal species the *ocimum campechianum* MILL. was tested “in vitro” in aureus ancestry’s manu resistance of *Staphylococcus aureus* presenting activity antimicrobials significant with halos of inhibition around the wells between 10 and 20 mm.

Uniterms: The Antimicrobiana Activity, *Staphylococcus Aureus*, *Ocimum* end Vegetal Extract.

INTRODUÇÃO

A partir de uma perspectiva histórica, a produção de medicamentos e o tratamento farmacológico de doenças começaram com o uso de plantas medicinais. Em 1800, quando a medicina entrou na era científica, a medicina tradicional que utilizava às plantas medicinais era considerada como base inquestionável para todos os livros-texto clássicos de farmacologia.⁹

No Brasil o *Ocimum* é utilizada popularmente para tratar gripe, febre e problemas estomacais e ainda como analgésico e estimulante.²

Na investigação dos efeitos antiinflamatórios dos óleos essenciais de *Ocimum gratissimum* (Lamiaceae) em pata de camundongos suíços machos, concluiu-se que nas maiores doses (300 mg/Kg, pó) ocorreu uma inibição de aproximadamente 60% do processo inflamatório, comparado com os valores obtidos da indometacina® (10 mg/Kg, pó).⁷

Os membros do gênero *Staphylococcus* tem sido isolado de uma grande variedade de fontes que incluem o solo, a água, a areia da praia, o ar, alimentos, entre outros, no entanto estas fontes são questionáveis como habitat primário, visto que estas linhagens poderiam ser disseminadas por portadores animais⁵.

A resistência a drogas tem sido reconhecida desde a introdução de antibióticos na terapêutica clínica. Quando a penicilina foi introduzida, em 1940, menos de 1% dos *Staphylococcus aureus* eram resistentes, poucos anos depois, em 1946, cerca de 60% das linhagens eram produtoras de penicilinase.⁴

As observações populares sobre o uso e a eficácia de plantas medicinais contribuem, de forma relevante, para a divulgação das virtudes terapêuticas dos vegetais, prescritos com frequência, pelos efeitos medicinais que produzem apesar de não ter seus constituintes químicos conhecidos. Os óleos essenciais de plantas

apresentam uma atividade antimicrobiana contra um grande número de bactérias incluindo espécies resistentes a antibióticos e antifúngicos.¹

O gênero *Ocimum* tem sido durante muito tempo reconhecido como uma rica e diversificada fonte de óleos essenciais, os quais são extraídos por destilação a vapor das folhas e utilizados em rituais tradicionais e medicinais.¹¹

A composição dos óleos essenciais depende do clima, da estação do ano, condições geográficas, período de colheita e a técnica de destilação, sendo os mesmos ativos tanto contra as bactérias gram positivas quanto as gram negativas e ainda leveduras e fungos filamentosos.¹

De acordo com os resultados obtidos no estudo farmacológico do extrato bruto de *Ocimum campechianum* Mill, foram observadas as presenças de eugenol, triterpenos e esteróides, polifenóis (fenilpropanoglicosídeos e flavonóides) e açúcares redutores. Iridóides, alcalóides, cumarinas, derivados cinâmicos, proantocianidinas, leucoantocianidinas, taninos gálicos e saponinas não se mostraram presentes nos cromatogramas obtidos.¹⁰

Várias espécies de *Ocimum* apresentam na composição óleos essenciais, sendo as mesmas substâncias biologicamente ativas de caráter fungicida⁸ e bactericida.⁶

As espécies do gênero *Staphylococcus* são habitualmente comensais de pele e de mucosas do homem e de outros animais. São causadores de infecções cutâneas e cultâneo-mucosas, tais como foliculites e impetigo: algumas mais graves, como abscesso e bacteremias complicadas, podendo estar associada ainda ao aparecimento de metástase óssea, pulmonar, genitais e renais.¹³

A espécie mais importante do gênero é o *Staphylococcus aureus*, assim denominado em decorrência da pigmentação amarela de suas colônias, onde aureus

significa dourado, são anaeróbios facultativos, porém se desenvolvem de maneira mais satisfatória aerobicamente.¹²

A análise da resistência estafilocócica a agentes antimicrobianos tem revelado três mecanismos bioquímicos principais que se constituem por: inativação de antimicrobianos através de enzimas que modificam ou hidrolisam estes agentes; por alteração dos receptores alvo, seja em decorrência da aquisição de um alvo com reduzida afinidade ao antimicrobiano devido à aquisição de enzimas que possam converter o alvo nativo ou através de mutação de genes que codifiquem este alvo; e finalmente por um acesso limitado dos antimicrobianos³

MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Genética de Microrganismo do Departamento de Biologia Molecular (DBM) – Universidade Federal da Paraíba (UFPB). Amostras da folha do *Ocimum campechianum* Mill foram coletadas em novembro de 2005, no campus da UFPE. O material da espécie vegetal foi acondicionado em sacos plásticos, o mantido em local arejado, à temperatura ambiente (27°C) até sua utilização. A extração foi realizada utilizando folhas secas de *Ocimum campechianum* Mill., que posteriormente foram trituradas e feitas à aferição de peso, sendo as mesmas submetidas ao processo de infusão (composição do solvente de 20% de água destilada e 80% de álcool absoluto), por 15 dias, sendo os infusos filtrados e evaporado originando o extrato bruto hidroetanólico (80%) das folhas - EHF (10% p/v).

Foram selecionadas linhagens multiresistentes de *Staphylococcus aureus* de origem bovina e humana, os quais foram inoculados e cultivadas em caldo nutritivo em meio de BBI (Brain Infusion Agar - DIFCO) e incubados a 37° por 20-24 horas. A

atividade antimicrobiana foi determinada pelo método de difusão em meio sólido para determinação da concentração inibitória mínima (CMI) do extrato *Ocimum campechianum* Mill. sobre as linhagens bacterianas. Realizaram-se diluições, de 10^{-2} , do crescimento bacteriano em caldo nutritivo, e estas foram inoculadas em meio de cultura HIA (Heart Infusion Agar - DIFCO) por inundação. Realizaram-se perfurações no meio de cultura (aproximadamente 6mm de diâmetro) e colocado 50µl da solução do extrato diluídos em água destilada, variando a diluição de 1:1 até 1: 512. As placas foram inoculadas em estufa bacteriológica a 37° C por um período de 24 horas, foi considerada a menor concentração do extrato que inibiu completamente os crescimentos bacterianos, observados pela presença de halo de inibição.

A leitura foi efetivada verificando-se a ocorrência de atividade antimicrobiana através do aparecimento de halos de inibição e a medida dos mesmos foi realizado com paquímetro, e considerado ativo a concentração do extrato que mostrou halo de inibição superior a 10mm.

DISCUSSÃO

A medicina tradicional tem se mostrado ineficiente em alguns aspectos relacionados às infecções ou doenças causadas por *Staphylococcus aureus*. Os resultados dos testes antimicrobianos desta pesquisa foram expressos em milímetros, tanto para as medições de halos de inibição formadas entorno dos poços preenchido pelo extrato, quanto para os halos da substância padrão utilizado (tabela 2).

No tocante dos métodos de tratamento de antibioticoterapia, muitas vezes ineficazes ou realizados de maneira que propiciem o desenvolvimento, cada vez maior, de resistência bacteriana de acordo com Freitas (2003) e que os processos infecciosos

observados com freqüência em hospitais e UTI envolvendo linhagens de bactérias multiresistente de *Staphylococcus aureus* em pós-operatório de pacientes em seu leito cirúrgico (feridas cirúrgicas) são considerados um fator grave, onde devem ser adotadas medidas profiláticas a fim de evitar a disseminação destas espécies, principalmente pela busca de novos agentes antimicrobianos como ratifica Takaki (1992).

As cepas de *Staphylococcus aureus* utilizadas na pesquisa mostraram-se sensíveis ao extrato bruto, exibindo halos de inibição em torno dos poços entre 10 e 20mm (tabela 2). Na figura 1A e 1B observamos a atividade antimicrobiana do extrato sobre as cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 com limite de inibição compreendido entre 12 e 10mm (tabela 2) e *Staphylococcus aureus* 186C que apresentou uma sensibilidade superior ao do padrão de referência (penicilina), exibindo um halo de inibição de 20mm nas dosagens de 300mg/ml e 150 mg/ml (extrato puro e primeira diluição) e de 15 mm nas dosagens de 75mg/ml (segunda diluição) sendo a mesma uma amostra colhida de ferida cirúrgica com perfil de resistência definido para penicilina, arsenato e cádmio (tabela 1).

De acordo com Kayser (2006) este fato não se detém apenas à medicina humana, mas estende-se a medicina veterinária, como por exemplo, nos casos de mastite bovina causada por *Staphylococcus aureus*. Nestes há um grande risco, não só para os animais, mas também para a saúde pública, podendo propiciar a contaminação de pessoas pela ingestão de leite e produtos derivados deste, segundo Ntezurubanza et al (1984).

As cepas de *Staphylococcus aureus* bovinas 319U e 19L utilizadas neste ensaio “*in vitro*” para o extrato demonstraram-se sensíveis com halos inibição entre 13 e 11 mm, os quais são resistentes aos seguintes antibióticos e íons metálicos: penicilina, eritromicina, canamicina/neomicina, streptomina, gentamicina, amicamicina, tobramicina, cloranfenicol, tetraciclina/minomicina, cádmio (Tabela 1).

O extrato demonstrou ainda uma atividade antimicrobiana nas linhagens de *Staphylococcus aureus* 189C com halos de inibição em tornos de 13 e 11mm e de *Staphylococcus aureus* 171C com halos em torno de 14mm, sendo estas linhagens colhidas de feridas cirúrgicas.

Para Freitas (2003) as medidas (preventivas e curativas) no uso de produtos naturais como o extrato de *Ocimum campechianum* MILL pode desempenhar importante função, no sentido de resolver algumas condições crônicas e constituir excelentes alternativas para solucionar o problema da resistência aos antimicrobianos colocado à disposição na prática clínica.

A concentração inibitória mínima para do extrato para o *Staphylococcus aureus* ATCC, *Staphylococcus aureus* 189C, *Staphylococcus aureus* 171C, *Staphylococcus aureus* 19L foi de uma concentração de extrato de 75 mg/ml, já para o *Staphylococcus aureus* 186C atingiu halos em concentrações de 37,5 mg/ml e na concentração de 150mg/ml para os cultivos de *Staphylococcus aureus* 319U.(Figura 01)

Não se observou nas cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus* analisadas neste experimento, nenhum dos fatores de resistência à ação antimicrobiana nas concentrações ativas do extrato de *Ocimum campechianum* MILL, os quais foram devidamente relatados por Freitas (2003), Takaki (1992), Tortora et al (2003) tais como enzimas, alteração de receptores ou aceso limitado dos antimicrobianos e Cavalcanti et al (2005) complementam que os óleos essenciais do extrato de *Ocimum campechianum* MILL apresentaram excelente atividade antimicrobiana contra várias linhagens de bactérias da espécie *Staphylococcus aureus*.

CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos no presente estudo *in vitro* de ação antimicrobiana do extrato de *Ocimum campechianum* MILL podemos concluir que houve uma excelente atividade contra as diversas linhagens de *Staphylococcus aureus* de origem humana (ferida cirúrgica) e bovina (úbere e leite) obtendo halos de inibição em suas concentrações ativas entre 10 e 20 mm.

BIBLIOGRAFIA

1. Cavalcanti, E. S. B.; Cunha, F. A.; Morais, S. M. de; Menezes, E. A.; Oliveira, C. L. de L.; Pereira, A. F. Bertini, L. M. **Perfil de sensibilidade de bactérias frente a óleos essenciais de algumas plantas do nordeste do Brasil.** Química nova, v. 17, n. 3/4, 2005.
2. Correia, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas.** Rio de Janeiro: IBDF. 1978. 94p.
3. Freitas, D. B. **Atividade antimicrobiana de fluorquinolonas e ação sobre plasmídios em amostras de *Staphylococcus aureus* humanas e bovina.** Dissertação (mestrado em genética) Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2003.
4. Kayser, F. H. **Basic aspects of antibiotic resistance in the multiresistant *staphylococcus*: an overview.** Chemotherapy. 2006
5. Kloos, W. E.; Shleifer, K. H. **The genes *staphylococcus*.** In: STARR, M. P. et al. **The prokaryotes.** Berlin e Helbelberg: Springer Verlag, 1981.

6. Ntezurubanza, L.; Scheffer, J. J. C.; Looman, A.; Svendsen. A. B. **Compositions of essential oil of ocimum kilimandischaricum grown in Rwanda.** Planta médica, v. 05, n. 05, p385-388, 1984.
7. Rabelo, M.; Souza, E. P.; Soares, P. M. G.; Miranda, A. V.; Matos, F. J. A.; Criddle, D. N. **Antinociceptive properties of the essential oil ocimum gratissimum L. (Labiatae) in mice.** Brazilian journal of medical and Biological Research, 2003; 36: 521-524.
8. Reuveni, R.; Fleisher, A.; Putievsky, E. **Fungistatic activity of essential oils from ocimum brasiliense chemotypes.** Phytopath. Z., v.110, p.20-22, 1984.
9. Schulz, V.; Hänsel, R. E Tyler, V. E. **Fitoterapia racional - um guia de fitoterapia para as Ciências da saúde**, 1ª ed., São Paulo: Editora Manole Ltda. 2002.
10. Sousa, S. T. de. **Estudo da atividade biológica do Ocimum campechianum Mill. e determinação de seu perfil fitoquímico.** 2004. Tese de mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco, Recife.
11. Simon, J. E., Quinn, J., Murray, R. G. **Basil: a source of essential oils.** In: JACICK, J., SIMON, J. E. Advances in new crops. Timber press, Portland, Oregon. 1990. p. 484-489.
12. Tortora, G. J.; Funke, B. R.; Case, C. L. **Microbiologia**. 6ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2003.
13. Takaki, G. M. C. 1992. **Atividade *in vitro* das fluorquinolonas perfloxacina, ofloxacina, ciprofloxacina e norfloxacina sobre *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus saprophyticus*.** Universidade Federal de Pernambuco, Recife (tese de doutorado).

AMOSTRAS	FENÓTIPO (ANTIBIÓTICOS E ÍONS METÁLICOS)	Sítio
<i>Staphylococcus aureus</i> 186C	Penicilina, arsenato e cádmio.	Ferida cirúrgica
<i>Staphylococcus aureus</i> 171C	Penicilina, eritromicina, canamicina/neomicina, streptomina, gentamicina, ampicilina, tobramicina, tetraciclina/minomicina, cádmio e mercúrio.	Ferida cirúrgica
<i>Staphylococcus aureus</i> 319U	Penicilina, eritromicina, canamicina/neomicina, streptomina, gentamicina, ampicilina, tobramicina, cloranfenicol, tetraciclina/minomicina, cádmio.	Úbere
<i>Staphylococcus aureus</i> 19L	Penicilina, eritromicina, canamicina/neomicina, streptomina, gentamicina, ampicilina, tobramicina, cloranfenicol, tetraciclina/minomicina, cádmio.	Leite
<i>Staphylococcus aureus</i> 189C	Penicilina, eritromicina, canamicina/neomicina, streptomina, gentamicina, ampicilina, tobramicina, cloranfenicol, tetraciclina/minomicina, cádmio.	Ferida cirúrgica

Tabela 1 - Fenótipos de resistência das amostras de *Staphylococcus aureus* 186C, 19L, 319U, 171C e 189C e seus sítio de colheita.

LINHAGEM BACTERIANA	DIÂMETRO DO HALO DE INIBIÇÃO (mm) DILUIÇÃO DO EXTRATO (V/V) (EXTRATO DE <i>OCIMUM CAMPECHIANUM</i> MILL 30%).					
	Extrato puro	1:2	1:4	1:8	1:16	Penicilina
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC	12	12	10	0	0	12
<i>Staphylococcus aureus</i> 186C	20	20	15	10	0	10
<i>Staphylococcus aureus</i> 189C	13	12	11	0	0	10
<i>Staphylococcus aureus</i> 171C	14	13	12	0	0	10
<i>Staphylococcus aureus</i> 319U	12	11	0	0	0	13
<i>Staphylococcus aureus</i> 19L	13	12	11	0	0	10

Tabela 2 – Atividade antimicrobiana do extrato hidroetanólico de *Ocimum campechianum* MILL 30% valores dos halos de inibição em milímetros nas cepas de *staphylococcus* analisadas e sua sensibilidade à penicilina

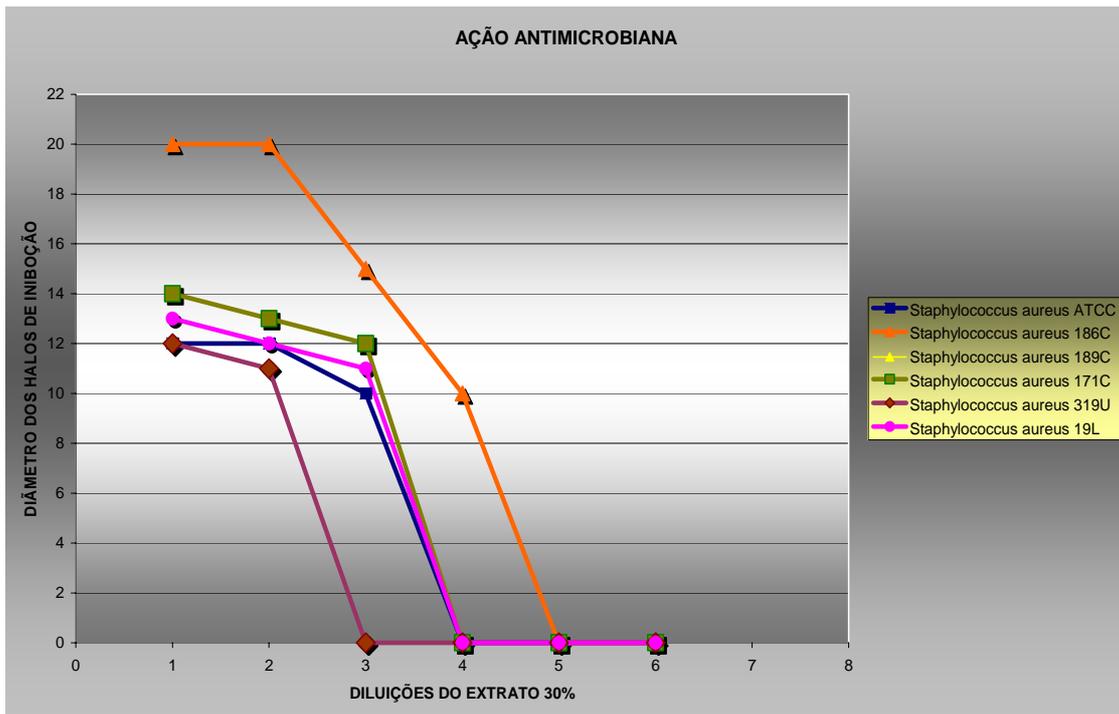


GRÁFICO 1 – Representação gráfica da atividade antimicrobiana do extrato bruto de *Ocimum campechianum* Mill. Hidroetanólico (80%) das folhas sobre as linhagens de *Staphylococcus aureus* multiresistente 186C, 189C, 171C, 319U, 19L e ATCC 25923.

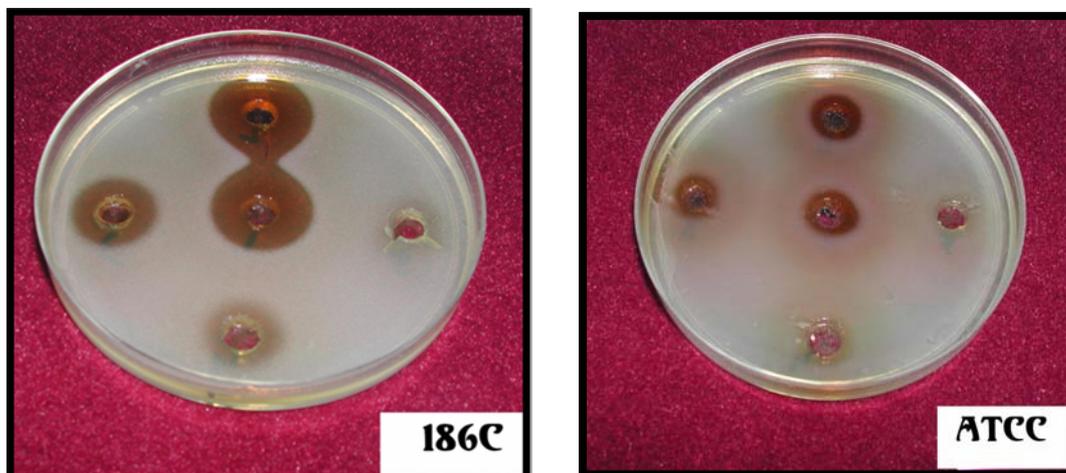


FIGURA 1 – Representação da atividade antimicrobiana do extrato bruto de *Ocimum campechianum* Mill. Hidroetanólico (80%) das folhas sobre as linhagens de *Staphylococcus aureus* multiresistente 186C e ATCC 25923.

Conclusões finais

CONCLUSÕES FINAIS

De acordo com os resultados observados nesta pesquisa de análise pré-clínica dos aspectos macroscópicos da ação cicatrizante do extrato bruto pilular do *Ocimum campechianum* MILL em ferimentos com cicatrização por segunda intenção em dorso de ratos podemos concluir que sua ação cicatrizante foi evidente tanto do ponto de vista de controle dos sinais inflamatórios de Celsius como na aceleração dos eventos teciduais de remodelação e formação de cicatriz final quando se compara com os medicamentos alopático (padrão) positivo e controle (soro fisiológico 0,9%). Das vias de administração testadas (oral e dermatológica) a de mais evidente resposta cicatrizante foi à formulação dermatológica de pomada-creme desenvolvida a partir do extrato da planta. Demonstramos através dos estudos laboratoriais *in vitro* que a atividade antimicrobiana do extrato pilular do *Ocimum campechianum* MILL apresentou ação significativa no combate a diversas cepas multiresistentes de *Staphylococcus aureus* de origem animal (ferida cirúrgica) e bovina (úbere e leite) com halos de inibição do crescimento bacteriano significativo. Resultados estes que consolida o seu uso como cicatrizante e com ação antimicrobiana para ferimentos de pele desenvolvendo aceleração da cicatrização e combate a infecção local por *Staphylococcus aureus*.

Bibliografia

BIBLIOGRAFIA

ALBUQUERQUE, U. P. de; ANDRADE, L. de H., El gênero ocimum L. (lamiaceae) em al nordeste Del Brasil. Anales Jard. Bot. Madrid, 56(1); 1998, p. 43-64.

ALBUQUERQUE , U. P. de, Contribuição ao estudo das alfavacas no Brasil. Revista Brasileira Farm, 78(4): 74-78, 1997.

ALMEIDA, C. de F. C. B. R. de ; ALBUQUERQUE, U. P. de check-list of the family laminaceae in Pernambuco,Brazil. Brazil arch. Biology technology. , vol 45, n. 3, p. 343-353, 2002.

CANTER,P. H.; THOMAS, H. ; ERNEST, E. bringing medicinal plants into cultivation: opportunities and challenges for biotechnology. Trends in Biotechnology, v.23,n. 4, p. 180 – 185. 2005.

CAVALCANTI, E. S. B.; CUNHA,F. A.; MORAIS, S. M. de; MENEZES, E. A.; OLIVEIRA, C. L. de L.;PEREIRA, A. F. BERTINI, L. M. Perfil de sensibilidade de bactérias frente a óleos essenciais de algumas plantas o nordeste do Brasil. Química nova, v. 17, n. 3/4 , 2005.

CARVALHO, J. C. T.; VIGNOLI,V. V.; SOUZA, G. H. B. de; UJICAWA, K.; NETO, J. J. Antimicrobial activity of essencial oils from plantes used in Brazilian popular medicine.Acta Hort., 501,p. 77-81,1999.

COOKSON, B. D.; BOLTON, M. C.; PLATT, J. H. Chlorhexicline resistance in MeticiliResistant Staphylococcus aureus or just an elevated MIC? An in vitro and vivo assessment. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, v.35, n.10, p.1997-2002.1991.

CORREIA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas.** Rio de Janeiro: IBDF. 1984,v. 1, p. 63-64.

CORREIA, M. P. **Dicionário das plantas úteis e das exóticas cultivadas.** Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura. 1978 p. 84.

CORREIA, A. D. ; BATISTA, R. S. ; QUINTAS, L. E. ; Plantas medicinais : do cultivo à terapêutica. 4 ed. Vozes, 2004.

COUTRAN, R. S., KUMAR V. ROBBINS, S. L. **Robbins patologia estrutural e funcional**, 4ª ed., Rio de Janeiro, Ed. Guanabara Koogan S. A., 1991.

DALE, M.M., RANG, H. P., RITTER, J. M.Farmacologia 4º ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

ELOFF, J. N. Which extractant should be used for the screening and isolation of anti microbial components from plants? Journal of Ethno pharmacology, v. 60, p. 1 – 8.1997.

FERNANDES, A. T. & RIBEIRO FILHO, N. Infecção em queimados. In: FERNANDES, A. T. Infecção hospitalar suas interfaces na área da saúde. Ed. Atheneu: São Paulo, p. 657-669, 2000.

FIGUEREDO WOUK, A. F. P. de, DINIZ, J. M.; CÍRIO, S. M.; SANTOS, H. dos et al. Membranas biológicas (biofill®)- estudo comparativo com outros agentes promotores da cicatrização da pele em suínos: aspectos clínicos, histológicos e morfométricos. Arch. Vet. Science. 3(1): 31-37, 1998

FRANÇA, L. H. G.; STAHKE JÚNIOR; Estratégias atuais par o tratamento da infecção em revascularizações infra-inguinais. Revista da Sociedade Brasileira de Angiologia e Cirurgia Vascular, 3(2) 137-44, 2004.

GRAZIANI, M. Cirurgia buco-maxilo-facial. 7ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara. Koogan, 1986. 717p.

GREGORI, C. cirurgia buco-dento-alveolar. São Paulo: Savier, 1996. 272p.

GUIMARÃES, S. A. C., **Patologia Básica da cavidade bucal**, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1982.

HARVEY, J.; GILMOUR, A. isolation and characterization of staphylococci from goats licks produced in Northern Ireland. Letters in Applied microbiology, v.7, p. 79-82, 1988.

- HOOKEY, J. V. ; RICHARDSON, J. F. ; COOKSON, B. D. Molecular typing of staphylococcus aureus on based on PCR restriction fragment. Length polymorphism and DNA sequence analysis of the coagulose gene. Journal of Clinical Microbiology, v. 36, n.4, p.1083-1089. 1998.
- HEDGER ,I. C. A global survey of the biogeography of the laminaceae. In : HARLEY, R. M.; REYNOUDS, T. (Eds.). Advances in Labiateae Science. UK, 1992.p. 7-17.
- JONES, R. N.; ANDEREGOA, T. R.; DESHPANDEA, L. M. , AZ2563, anew oxazoliclinone: bactericidal activity and synergy studies combined whit gentamicin or vancomycin against *staphylococci* and *streptococcal* strains. Diagnostic microbiology and infectious disease v. 43,p.87-90.2002.
- JORGE, L.I.F.; ROQUE, N. F.: FERRO,V. O. *Ocimum Micrathum Willd.* – manjeriçã do Brasil. Caracterização histológica e química. Ver. Inst. Adolfo Lutz, v. 52, n.1 / 2. 1992.
- KHOSLA, M. K.; PUSHPANGADAN, P.; THAPPA, R. K.; SOBTI, S. N. Search for new aroma chemicals from ocimum species. III. Studies on genetic variability for essential oils and other allied characters of South American species *O. micranthum* Will. Indian Perf., v. 24,n.e, p. 148 – 152, 1980.
- LAWRENCE,B. M. chemical components of labiatea oils and their exploitation. In: HARLEY, R. M.; REYNOLDS, T. (Eds.). Advances in labiateae science. Royal Botanics Gardens. Kew,1992. p. 399 – 436.

- MBATA, T. J.; SAIKIA, A. Antibacterial Activity of Essential oil from *Ocimum gratissimum* on *Listeria monocytogenes* journal of Food Safety, v (7): 15-19 2005.
- MANDELBAUM S. H. et al. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares - Parte I, Anais bras Dermatol, Rio de Janeiro, 78(4): 393-410, jul. /ago. 2003.
- MEDEIROS, A. da C. et al. Tratamento tópico de queimaduras do dorso de ratos com ácido hialurônico. **Acta Cir. Bras.**, São Paulo, v. 14, n. 4, 1999.
- MODOLIN, M.L. **Biologia da cicatrização dos tecidos**. In: MÉLEGA, J. M.; ZANINI, S. A. ; PSILLAKIS, J. M. Cirurgia plástica: reparadora e estética. Rio de Janeiro; Medsi, cap.01, p.9-10. 1988.
- NAVARRO, M. C.; MONTILA, M. P.; CABO, M. M.; GALISTEO, M.; CACERES, A.; MORALES, C.; BERGER, I. antibacterial, antirotozoal, and antioxidant activity of five plants used in Izabal for infectious diseases. *Phytother. Res.*, v.17, n.4 p.325-329, 2003.
- NTEZURUBANZA, L.; SCHEFFER, J. J. C.; LOOMAN, A.; SVENDSEN. A. B. Compositions of essential oil of *ocimum kiliman discharicum* grown in Rwanda. **Planta médica**, v. 05, n. 05, pág. 385-388, 1984.
- NUNES, J. R. Medicina popular tratamento pelas plantas medicinais. 1º edição; Lisboa : editora Litexa , pág. 50-52 ,1999.

PETERSON, L. J. ; ELLIS, E. ; HUPP, J. R. ; TUCKER, M. R. ; Cirurgia Oral e Maxilo Facial Contemporânea, 3ª ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan,1998.

PICAZO, J. J. et al. Vigilância de resistências a los antimicrobianos estudio VIRA 2004. *Enferm. Infecc Microbial Clin*, v.22, n.9, p.517-525. 2005.

PIRES, M. T. B. ; STARLING, S. V. ; Manual de urgências em ponto-socorro, 7ª ed. , Rio de Janeiro: ed. Medsi , Feridas , cap 2 , p. 24-46, 2001.

REUVENI, R.; FLEISHER, A. ; PUTIEVSKY, E. Fungistatic activity of essential oils from *ocimum brasilicum* chemo types. *Phytopath. Z.*, v.110, p.20-22, 1984.

RIBEIRO,R. de .; MELO, M. M. R. F. de; BARROS, F. ; GOMES,C.; TROLIN,G. acute antihypertensive effect in conscious rats produced by soma medicinal plants used in state of São Paulo *J. Ethnopharmacology.*, v. 15, p. 261-269, 1986.

RAGONHA, A. C. O. et al. Avaliação microbiológica de coberturas com sulfadiazina de prata a 1%, utilizada em queimaduras.*Rev. Latino-americana de Enfermagem*, junho-agosto, 13(4); 514-21, 2005.

SCHULZ, V.; HÄNSEL. R. E TYLER, V. E. Fitoterapia racional- um guia de fitoterapia para as ciências da saúde , 1ª ed. , São Paulo: Editora Manuel Ltda. 2002

SHAFER, W. G.; HINE, M.K.; LEVY, B. M. Tratamento de patologia bucal, 4ª ed., Rio de Janeiro, ed. Guanabara Koogan S.A. , 1987

- SILVA, M.A.R. Atividade antimicrobiana in vitro do extrato hidro-alcoólico da Ruma (*Punica granatum* Linn.) e sua ação sobre plasmídeos em amostras de staphylococcus aureus de origem bovina. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa-PB, 2004).
- SIMON, J. E., QUINN, J., MURRAY, R. G. Basil: a source of essential oils. In: JACICK, J., SIMON, J. E. . Advances in new crops. Timber press, Portland, Oregon.1990. p. 484-489.
- SOUSA, S. T. de; SILVA, A. C. P.: SILVA, E. C. B. HIGINO, J. S.; XIMENES, E. A. ;SOUZA, I. Avaliação da toxicidade e.determinação da DL50 DO extrato das folhas de *Ocimum campechianum* Mill .Revista Brasileira de Ciências da saúde: 2004, Artigo in press.
- SOUSA, S. T. de; Estudo da atividade biológica do *Ocimum campechianum* Mill. e determinação de seu perfil fitoquímico. 2004. Tese de mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco, Recife.
- SOUSA, S. T. de; SILVA, A. C. P.: SILVA, E. C. B. XAVIER, H. S. ; XIMENES, E. A. ;SOUZA, I. A.Determinação do perfil fitoquímico do *Ocimum campechianum* Mill. Anais do V simpósio Brasileiro de Farmacognosia. Recife: 2005
- VALE, E. C. S. do. Inicial management of burns: approach by dermatologists. **An. Bras. Dermatol.**, Rio de Janeiro, v. 80, n. 1, 2005.

VIEIRA, R. F.; GREYER, R. J.; PATONB,A.; SIMON,J. E. Uso de marcadores químicos no estudo da diversidade genética de *Ocimum gratissimum* L. Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 12,supl., p. 126-129,2002.

WEBER, J. M. Epidemiology of infections and strategies for control. In: CARROUGHER, G. J. Burn care and therapy.St. Louis (MO): Mosby. P 185-211. 1998.

WARD, R. S. & SAFFLER J.R. Tropical agents in burn and wound care.Phys. Ther, Jun; n. 75(6): 526-38. 1995.