

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
MESTRADO EM BIOQUÍMICA

CONVÊNIO UFPE/UNIVERSIDADE ESTADUAL VALE DO
ACARAÚ

**Investigação das Atividades Antiulcerogênica,
Antimicrobiana e Antioxidante do Óleo Essencial de
Ocimum minimum Linn.**

MESTRANDA: Olindina Ferreira Melo

ORIENTADORAS: Prof^a Dra. Maria da Paz Carvalho da Silva

Prof^a Dra. Maria Bernadete de Sousa Maia

CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. Nicácio Henrique da Silva

Recife, 2003

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
MESTRADO EM BIOQUÍMICA

Olindina Ferreira Melo

**Investigação das Atividades Antiulcerogênica,
Antimicrobiana e Antioxidante do Óleo Essencial de
Ocimum minimum Linn.**

Dissertação apresentada para o
cumprimento parcial das
exigências para obtenção do título
de Mestre em Bioquímica pela
Universidade Federal de
Pernambuco

Aprovado por: _____

Data: ____/____/____

AGRADECIMENTOS

A JESUS, pelo discernimento e sabedoria adquirido durante toda trajetória do curso.

Ao Professor Nicácio pela confiança, dedicação e carinho, depositados na minha capacidade durante a orientação deste trabalho.

Às Orientadoras Maria da Paz e Bernadete, pelo apoio, estímulo e amizade durante todo o curso.

Aos Professores Tarcísio, Evandro e Elnatan, da Universidade Estadual Vale do Acaraú, que contribuíram na identificação da planta.

Ao Professor Carlos Rolim (*in memoriam*) pela dedicação dada ao curso, aos alunos e professores durante sua implantação.

Ao Professor Marçal, da Universidade Federal da Paraíba, que disponibilizou seu local de trabalho para pudermos realizar a fase inicial do experimento.

Aos Dr. Luís Odorico e Dr. Carlos Hilton, Secretário e Sub-secretário de Saúde de Sobral, respectivamente, pela compreensão na ausência do meu trabalho.

À Professora Iracema, da Universidade Federal do Ceará (PADETEC), pela colaboração e ajuda na cromatografia gasosa e espectrometria de massa.

Aos Técnicos de Laboratório Douglas, João e Heleno, pela colaboração e ajuda durante a execução da pesquisa.

À Professora Célia Castro e à mestranda Wylla Teixeira do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA) pela prestimosa colaboração na determinação da atividade antioxidante do óleo essencial.

Aos colegas de trabalho, Ivaldiana, Ivna, Silvernanda, Carmem e Francisca, que muito ajudaram na aquisição da planta no Horto de Plantas Medicinais – UVA.

Ao meu amigo Ítalo, que muito ajudou no transcorrer das minhas viagens ao Recife.

Aos meus amigos Marcos Antônio e Luíza, pelo companheirismo e carinho durante a minha estadia em Recife.

Aos meus irmãos de fé, Ana Paula e Lúcio, pelo apoio fraterno recebido durante a execução deste trabalho.

Finalmente, a todos que tornaram a realização deste trabalho uma tarefa agradável, contribuindo para sua finalização.

Um agradecimento especial à minha Mãe Fátima, que contribuiu abdicando todo o seu tempo no cuidado com minha filha para eu poder executar este trabalho. E aos meus irmãos, pela colaboração e carinho com a Evelyn. E, minha filha Evelyn, pela compreensão e paciência nos momentos de ausência na sua educação. Por fim, meu Pai Manoel, que é um grande exemplo de força de vontade em vencer na vida.

LISTA DE FIGURAS

Página

Figura 1. *Ocimum minimum* Linn.....13

Figura 2. Esquema da formação dos politerpenos14

Figura 3. Seqüência de eventos propostos pela teoria que enfatiza a importância da obstrução pilórica na etiopatogenia da úlcera gástrica.....18

Figura 4. Seqüência de eventos propostos pela teoria que enfatiza a participação do refluxo biliar na etiopatogenia da úlcera gástrica..... 19

Figura 5. Agentes causadores da úlcera gástrica..... 20

Figura 6. Estímulos que atuam na bomba de próton para regulação da secreção
.....21

LISTA DE ABREVIATURAS

- O.M.S.= Organização Mundial da Saúde
- AMV= Ácido mevalônico
- IPP= Isopentilpirofosfato
- DMAPP= Dimetilpirofosfato
- GPP= Geranilpirofosfato
- FPP= Farnesilpirofosfato
- GGPP= Geranyl geranylpirofosfato
- CGL= Cromatografia gás-líquida
- EM= Espectrometria de massa
- DL-50%= Dose letal para 50% da população
- s.c.= Subcutânea
- v.o.= Via oral
- i.m.= Intramuscular
- IC= Isolado clínico

SUMÁRIO

	Página
AGRADECIMENTOS.....	iii
LISTA DE FIGURAS	v
LISTA DE ABREVIATURAS	vi
SUMÁRIO.....	v
ii	
RESUMO.....	v
iii	
ABSTRACT.....	ix
1.0 INTRODUÇÃO.....	10
1.1. Biodiversidade e indústria farmacêutica.....	10
1.2. Utilização de plantas medicinais no Brasil.....	10
1.3. Sobre o uso do gênero <i>Ocimum</i>	11
1.4. Generalidades sobre óleo essencial.....	13
1.5. Ações farmacológicas do óleo essencial.....	15
1.6. Sobre toxicidade das plantas medicinais.....	16
1.7. Úlcera gástrica.....	17
2.0.	
JUSTIFICATIVA.....	22
3.0	
OBJETIVOS.....	22
3.1	
Geral.....	22
3.2	
Específicos.....	22

4.0. REFERÊNCIAS	
BIBLIOGRÁFICAS.....	23
5.0.	
ARTIGO.....	27
6.0.	
CONCLUSÃO.....	45
7.0.	
PERSPECTIVAS.....	46

RESUMO

Ocimum minimum (L.) é uma planta conhecida no Brasil como manjeriço anão ou folha miúda. No uso popular é utilizado como estimulante digestivo, carminativo, antipirético, sudorífico, diurético e anti-reumático. O óleo essencial extraído das folhas do *Ocimum minimum* Linn foi caracterizado por métodos químicos e físico-químicos e estudado em relação a sua atividade antiulcerogênica. A composição química do óleo determinada pela cromatografia gás-líquido apresentou: 1,8-cineol (4.9%), linalol (30.57%), cânfora (0.8%), 2-terpineol (2.06%), estragol (50.42%), ácido acético (0.77%), (-) β -elemene (0.68%), α -bergamolene (1.24%), α -humulene (0.99%), β -cubebene (0.74%), γ -cadinene e T-cadinol (2.74%). A toxicidade aguda do óleo em (0.25, 0.50, 1.50 e 5.00 mL/Kg), em camundongos Swiss apresentou uma DL_(50%) em 1.5mL/Kg. Os resultados sobre a atividade antiulcerogênica mostraram efeitos dose independente para úlceras induzidas por indometacina e dose dependente para as induzidas por etanol. Assim como, o óleo apresentou atividade antioxidante quando diluído 10 vezes (4.69 μ mol/1h e 5.92 μ mol/2h), cujo controle foi similar (6.29 μ mol/1h e 6.16 μ mol/2h). A atividade antimicrobiana do óleo essencial foi avaliada pela inibição de crescimentos dos microrganismos comparando a ciprofloxacina como controle. A maior inibição dos halos detectada (17 mm) foi menor (50%) do que a apresentada pelo antibiótico (35 mm). A partir dos resultados podemos concluir que o óleo essencial do *Ocimum minimum* tem uma significativa atividade antiulcerogênica frente a lesões gástricas induzida por indometacina e etanol, assim como, significativa atividade antioxidante.

ABSTRACT

Ocimum minimum (L.) is a plant known in Brazil as dwarf basil or small leaf basil. In the popular medicine it is used as digestive stimulant, carminative, antifever, diuretic and anti-rheumatic. Essential oil extracted from the leaves of *Ocimum minimum* Linn was characterized by chemical and physicochemical methods and its antiulcerogenic activity was determined. The chemical composition of the oil determined by using gas liquid chromatography presented: 1,8-cineole (4.90%), linalool (30.57%), camphor (0.80%), 2-terpineol (2.06%), estragole (50.42%), acetic acid (0.77%), (-) β -elemene (0.68%), α -bergamotene (1.24%), α -humulene (0.99%), β -cubebene (0.74%), γ -cadinene and T-cadinol (2.74%). The acute toxicity of the essential oil (0.25, 0.50, 1.50 and 5.00 mL/Kg) presented in Swiss white mouse a $DL_{(50\%)}$ in 1.5mL/Kg. The antiulcerogenic activity presented by the essential oil in gastric ulcer induced by indometacin was of independent dose, however, in the gastric ulcer induced by ethanol was observed an effect dependent dose. Also, the oil presented an antioxidant activity when the sample was diluted 10 times (4.69 μ mol/1h and 5.92 μ mol/2h) which was similar to the control (6.29 μ mol/1h and 6.16 μ mol/2h). The antimicrobial activity of the essential oil was evaluated by the microorganism inhibition growth compared to ciprofloxacin as standard. The highest inhibition halos detected using the oil was smaller (17 mm) than the highest one exhibited using the antibiotic (35 mm). From the results it is possible to conclude that the essential oil from *Ocimum minimum* has the significant antiulcerogenic activity concerning to the gastric lesion induced by indometacin and ethanol, as well as, significant antioxidant activity.

1.0 . INTRODUÇÃO

1.1. Biodiversidade e indústria farmacêutica

O interesse pelos produtos naturais tem origem em fatores comportamentais, biológicos, farmacológicos, biotecnológicos e químicos, que produziram uma mudança na estratégia das empresas farmacêuticas, que passaram visar o mercado dos produtos originários de plantas. Esta guinada em direção aos produtos naturais se inspira nas florestas tropicais do Brasil, as quais são consideradas verdadeiras mananciais de moléculas bioativas, pois o Brasil abriga 55 mil espécies conhecidas. Destas, 10 mil podem ser medicinais, aromáticas e úteis para o comércio (Marques, 2001).

A utilização da Fitoterapia como uma alternativa para o combate das mais variadas patologias vem ganhando um grande impulso nas últimas duas décadas, a despeito do crescimento da indústria química farmacêutica, devido a fatores diversos, destacando-se o crescente custo dos medicamentos sintéticos, efeitos colaterais destes remédios, divulgação ampla dos ideais naturalistas, necessidade de se desenvolver novas moléculas medicamentosas a partir da existência de similares naturais, dentre outros (Leal, 1998).

As plantas medicinais e os seus produtos, de modo geral, são grande trunfo para descobertas científicas. Dentro desse raciocínio podem-se destacar algumas drogas economicamente importantes, obtidas a partir de vegetais apresentando as mais variadas propriedades terapêuticas, a saber: hormônios esteróides (*Dioscorea* spp.), glicosídeos digitálicos (*Digitalis purpurea*), reserpina (*Rauvolfia serpentina*), alcalóides do ópio (*Papaver somniferum*), quinidina, quinina (*Cinchona* spp.), cocaína (*Erythroxylon coca*), d-tubocurarina (*Strychnos* spp., *Chondodendron tomentosum*), vincristina, vinblastina (*Catharantus roseus*) (Maia, 1987).

1.2. Utilização de plantas medicinais no Brasil

Em 1978, a Assembléia Geral da Organização Mundial da Saúde (OMS) deu início a um programa em que se dava ênfase ao uso de plantas medicinais. O objetivo maior da OMS era alcançar a meta “Saúde para todos no ano 2000” (Oliveira et al., 1991).

No Brasil os medicamentos fitoterápicos passam por processo de validação científica e, em seguida, são registrados e liberados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVS), órgão federal que institui e normatiza o registro de produtos fitoterápicos, definindo este como sendo todo medicamento tecnicamente obtido e elaborado exclusivamente mediante emprego de matérias-primas ativas vegetais com finalidade profilática, curativa, ou para fins de diagnóstico, com benefício para o usuário. Este processo é caracterizado pelo conhecimento da eficácia e dos riscos de seu uso, assim como pela reprodutibilidade e constância de sua qualidade. Essa medida de maior importância garantirá a comercialização, em todo o território nacional, de produtos isentos de toxicidade, com garantia de eficácia, e com o indispensável controle de qualidade (Maldaner, 2001).

Baseando-se nessa mudança da política de saúde do país, cabe à farmacologia, botânica e bioquímica garantir o emprego correto das plantas medicinais, mediante uma investigação científica completa, incluindo desde o cultivo até identificação dos princípios ativos, estudos da toxicidade e da atividade biológica (Neri, 1991).

1.3. Sobre o uso do gênero *Ocimum*

Diante das contribuições dadas pelas plantas medicinais, destaca-se o conhecimento científico do gênero *Ocimum* relacionado à ação antiulcerogênica, onde já foi observado no extrato etanólico de *Ocimum sanctum* a redução da incidência de úlceras gástricas induzidas por aspirina e estresse (Archana & Namasivayam, 2000). Por outro lado, a primeira droga, com efeito, sobre a úlcera gástrica foi carbenoxolona, descoberta através de pesquisas com a *Glycyrrhiza glabra*, uma leguminosa comumente usada entre os indígenas (Brown et al., 1959). Várias outras espécies vegetais são citadas na literatura com atividade antiulcerogênica frente a diferentes modelos experimentais: *Melia azederach* (banana) que atua na inibição da úlcera (Best et al., 1984) causada por estresse (Hanifa-Moursi & Al-Khatib, 1984), *Fagus sylvatica* (faia) e *Jugians regia* (nozes) (Wilke, 2002).

Segundo Craveiro et al. (1981), quase vinte espécies do gênero *Ocimum* são cultivadas, principalmente nos países da Europa e do oriente, para obtenção do óleo essencial de diferentes aromas e uso. No Brasil, duas espécies são bastante

utilizadas na fitoterapia, *Ocimum gratissimum* (alfavaca-cravo), como, antisséptico bucal e, *Ocimum basilicum* (manjeriço) como estomáquico.

Em levantamento bibliográfico realizado, a literatura sobre o *O. minimum* L., revelou ausência de estudos mais específicos que justificassem seu uso na medicina popular. Diante desta revelação, vê-se um grande campo de pesquisa, no qual a contribuição está longe de ser terapêuticamente definida e é nessa procura que se verifica a possibilidade da espécie *O. minimum* ter ação antiulcerogênica e, conseqüentemente, tornar-se terapia complementar no tratamento desta patologia, aproveitando a grande disponibilidade desta na região. Assim como, investigada sua atividade antimicrobiana, visto que muitas plantas medicinais têm contribuído bastante na terapia complementar como antimicrobianos, por exemplo: *Caryophyllus aromaticus* (cravo-da-índia) (Nascimento et al., 2000); *Aloe Vera* (babosa), *Capraria biflora* L.(chá-do-rio), *Eucalyptus citriodora* (eucalipto-limão), *Zingiber officinale* (gingibre) e *Psidium guayava* (goiabeira-vermelha) (Matos, 1999).

Ainda reforçando o que foi exposto acima no que se refere à utilização terapêutica das plantas, Czinner et al. (2001), cita a atividade antioxidante como contribuição importante de vegetais que possuem na sua composição química flavonóides, cumarinas, ácidos fenólicos, xantenas, taninos e micronutrientes (Cu, Mn, Zn, Ge). Por exemplo: castanha-da-índia (*Aesculus hippocastannus* L.) e hortelã-pimenta (*Mentha piperita* L.), possuem vitamina C que atua como receptor de radicais livres; castanha-do-pará (*Bertholletia excelsa* Humb. et Bonpi) e agrião (*Nasturtium off*), possuem vitamina E atuando na inibição da peroxidação lipídica; alcachofra (*Cynara scolymus* L.) e alho (*Allium sativum* L.), possuem vitamina A que atua absorvendo a energia da espécie ativa do oxigênio chamada *singlet* (Ulene & Ulene, 1995).

A espécie *O. minimum* é nativa da Índia onde é cultivada quase que como planta sagrada. Tem porte herbáceo, é aromática, ereta, muito ramificada de folhas simples, opostas, elíptico-lanceoladas, inflorescência em cimeira especiforme e flores violáceas, labiadas (Figura 1). O caule é geralmente quadrangular, e apresenta pêlos na epiderme das folhas e dos ramos, onde se localiza a essência (Craveiro et al., 1981).



Figura 1. *Ocimum minimum* Linn.

No uso popular é utilizado como estimulante digestivo, carminativo, antipirético, sudorífico, diurético e anti-reumático. A parte da planta utilizada é a folha (Matos, 1999).

1.4. Generalidades sobre óleo essencial

O termo “óleo essencial” é empregado para designar líquidos oleosos voláteis, dotados de aroma forte quase sempre agradável extraídos de plantas por alguns processos específicos, sendo o mais freqüente a destilação por arraste com vapor d’água (Craveiro et al., 1981). Estes são provenientes do metabolismo secundário, existentes em quase 2 mil espécies de plantas dispersas em 60 famílias (Leal, 1998). Na família das Labiataes (*Ocimum*) são produzidos por estruturas secretoras especializadas, tais como glândulas capilares (Brady et al., 1981).

Os constituintes químicos dos óleos voláteis podem ser divididos em 2 classes baseados na origem de sua biossíntese (Figura 2):

- (1) derivados terpenos formados pela via acetato-ácido mevalônico e;
- (2) compostos aromáticos formados pela via do ácido fenilpropanóico (Brady et al., 1981).

O *O. minimum* tem sua constituição química composta de derivados terpenos. Todos têm algo em comum, quando é considerado que se formam pelo acoplamento de um número inteiro de unidades pentacarbonadas ramificadas, derivadas do 2-metil butadieno (Bruneton, 1991). Essas unidades são chamadas isopentenil ou isopreno, sendo classificada de acordo com o número destas: monoterpenos, C₁₀; sesquiterpenos, C₁₅; diterpenos, C₂₀; sesterpenos, C₂₅; triterpenos, C₃₀; e tetraterpenos, C₄₀ (Leal, 1998).

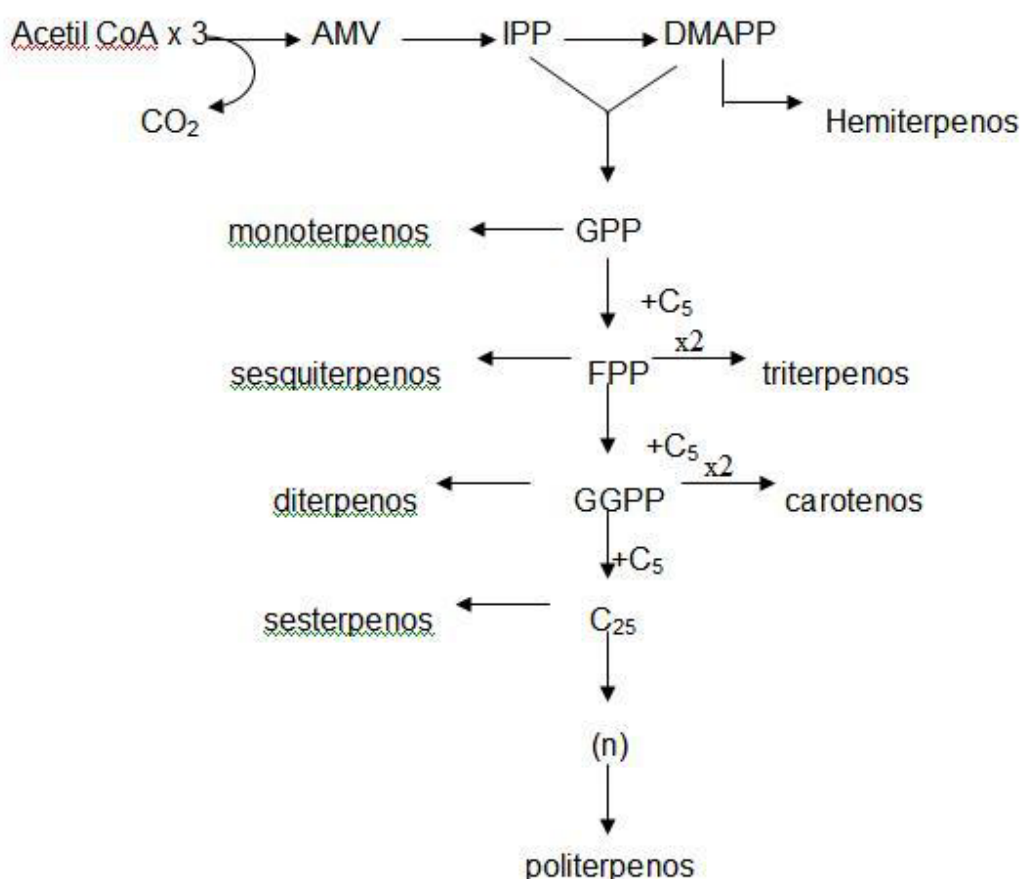


Figura 2. Esquema da formação dos politerpenos (Bruneton, 1991).

A volatilidade e o odor forte dos óleos essenciais constituem os elementos da comunicação química: seu papel na polinização e na dispersão das diásporas não se discute, assim como um meio de defesa frente a predadores (microrganismos,

fungos, insetos, herbívoros). Às vezes parece ter uma ação teletóxica sobre as germinações; estas ações são facilitadas pela localização periférica dos elementos secretores (Bruneton, 1991).

Segundo Amparo & Elizabeth (1999), a atividade biológica desses óleos voláteis tem grande importância, pois são atribuídas funções como atraentes de insetos, alelopáticos e ferormônios.

Praticamente todos os óleos essenciais consistem de misturas químicas que formam complexos; eles têm grande variabilidade na sua composição. Este complexo pode ser formado por: hidrocarbonetos, álcoois, cetonas, aldeídos, éteres, óxidos, ésteres e outros (Brady et al., 1981).

1.5. Ações farmacológicas do óleo essencial

Segundo Bruneton (1991), algumas propriedades farmacológicas são atribuídas aos óleos essenciais, como:

1. Propriedade antisséptica

A atividade antisséptica se manifesta frente a bactérias patogênicas variadas e inclui certas cepas resistentes aos antibióticos. Alguns óleos essenciais também são ativos frente a fungos inferiores responsáveis por micoses, por exemplo, escabiose, *Lippia sidoides*, e inclusive, frente a leveduras (*Candida*). As doses ativas, em geral são baixas e as que se determinam por experimentos *in vitro* são diretamente indicadas para uso externo. Os óleos essenciais com forte atividade antisséptica possuem citral, geraniol, linalol e o timol.

2. Propriedades expectorante e diurética

Utilizados por via externa, produtos como a essência de trementina provocam vasodilatação da microcirculação, importante rubefaciência, sensação de calor e, em certos casos, discreta ação anestésica local; isto é o que se pretendia, antigamente, com as preparações artesanais utilizadas como expectorante e diurético. Atualmente são numerosas as pomadas, cremes e géis a base de óleos essenciais, destinados a aliviar dor muscular, distensões e outras algias articulares ou musculares.

Os óleos voláteis administrados sistemicamente desencadeiam efeitos fisiológicos variados. O óleo volátil de eucalipto (*Eucalyptus teraticornis*) estimula as células do muco e aumentam os movimentos do epitélio ciliado ao nível de árvore

bronquial, causando um efeito expectorante. Da mesma maneira, agem o cumaru (*Amburana cearensis*), guaco (*Mikania glomerata*) e o chambá (*Justicia pectoralis*). De maneira análoga, alguns óleos essenciais podem, a nível renal, produzir vasodilatação, causando um efeito diurético.

3. Propriedades espasmolítica e sedativa

Os óleos essenciais como o anetol de muitas Umbelíferas, como por exemplo aqueles extraídos das mentas e da verbena, se mostram eficazes para diminuir ou suprimir os espasmos gastrointestinais; freqüentemente intensificam a secreção gástrica, pelo que se tem qualificado como “digestivos” e “estomáquicos”, com todas as conseqüências que podem derivar desta “eupepsia”: melhora de determinadas insônias, de transtornos psicossomáticos diversos, o que pode explicar o freqüente exemplo destes tanto pela medicina popular como pela medicina paralela.

Alguns óleos voláteis como, por exemplo, aqueles extraídos da melissa e lavanda apresentam tropismo neurovegetativo, e exercem ação neurosedativa (Craveiro et al., 1981).

1.6. Sobre toxicidade das plantas medicinais

Como qualquer outra substância química os óleos voláteis também apresentam toxicidade. Por serem produtos de origem natural e extremamente complexos, o que pode ultrapassar os parâmetros comuns de conhecimentos. A toxicidade dos óleos essenciais não se resume a conhecer sua atividade biológica e nem tampouco, seus constituintes químicos. É necessário levar em consideração as reações em diferentes condições como: relacionado à planta (origem, cultivo, coleta, secagem, triagem, armazenagem, extração e manipulação) e, relacionado ao paciente (idade, sexo, raça, patologia, e estado psicossomático).

Os dados sobre toxicidade crônica são incipientes. Não se tem estudado seus possíveis efeitos secundários, por conseguinte não se tem demonstrado a ausência de efeitos cancerígenos ou teratogênicos. No tocante à toxicidade aguda existem mais relatos, por exemplo, a *Tanacetum vulgare* L., *Salvia officinalis* L. Labiadas ou com (-) – pinocanfona (*Hyssopus officinalis* L. Labiadas) são psicoanalíticas que, ingeridas em doses demasiadamente elevadas, desencadeiam crises epileptiformes e tetaniformes, transtornos psíquicos e sensoriais. O mentol, quando ingerido em

2g/kg pode ser mortal para um adulto/70kg; em uma criança, gotas nasais, podem induzir espasmo da glote com o conseqüente risco de asfixia reflexa (Bruneton, 1991).

1.7. Úlcera gástrica

As principais patologias do estômago são as úlceras gástricas e gastrites. As causas estão relacionadas, de alguma forma, com o ácido clorídrico. Com isso, se produz uma enfermidade ulcerosa sempre que existe desequilíbrio entre a secreção ácida e a defesa da mucosa gástrica (Ramington, 1995), quando há rompimento do equilíbrio entre os fatores agressivos e defensivos da mucosa gástrica (Mencis, 1998). Esses fatores são:

1. Agressivos: HCl e Pepsina
2. Defensivos:
 - 2.1. Pré-epiteliais
 - Barreira mucobiocarbonato
 - Fosfolípidios
 - Bicarbonato
 - Camada surfactante
 - 2.2. Epiteliais
 - Restrição celular
 - Resistência celular
 - Transportadores ácido-básicos
 - Fator de crescimento epidérmico
 - 2.3. Subepiteliais
 - Fluxo sanguíneo

A mucosa gástrica é normalmente resistente aos sucos digestivos fortes e ácidos resistentes. Quando surge doença, provoca aumento da secreção gástrica, ou quando há destruição da mucosa protetora, por exemplo, álcool e outras substâncias químicas causam danos à mucosa gástrica. Se a mucosa protetora não é recuperada, ou o nível de acidez não é reduzido, são produzidas ulcerações, que

conduzem à dor e sangramento. Isto resulta em úlcera duodenal, gástrica, ou podem ser produzidas úlceras pépticas (Edmunds, 1991).

A úlcera gástrica não está associada a hipercloridria. Pacientes com úlcera gástrica são geralmente normo ou hipossecretores. Os mecanismos que levam ao aparecimento da lesão ulcerada parecem depender mais da deficiência dos fatores defensivos da mucosa, do que da ação dos agentes agressivos. Existem atualmente duas hipóteses para a etiologia gástrica, que, em conjunto, abrangem as principais alterações observadas (Castro & Dani, 1993). São elas as seguintes:

1. Êstase antral e hipergastrinemia: alteração da motilidade do piloro ou atonia gástrica há um retardo do esvaziamento gástrico, com conseqüente distensão do antro, promovendo a liberação de gastrina, que estimula a secreção gástrica de ácido, e este, por sua vez, condiciona a formação de úlcera. Existem, portanto, três componentes principais envolvidos nessa teoria: anormalidade do funcionamento do piloro, retardo do esvaziamento gástrico e aumento da produção de ácido (Figura 2).

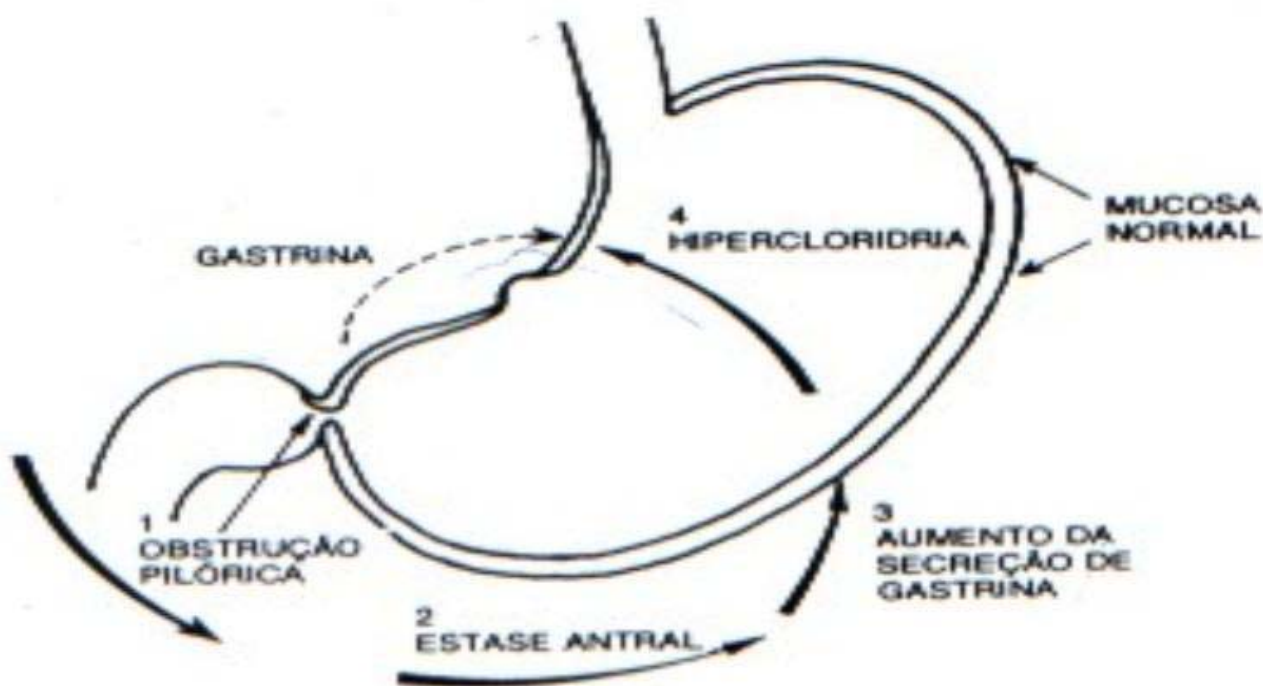


Figura 3. Seqüência de eventos propostos pela teoria que enfatiza a importância da obstrução pilórica na etiopatogenia da úlcera gástrica (Castro & Dani, 1993).

2. Refluxo duodeno gástrico ou refluxo biliar: há um distúrbio da motilidade antroduodenal, o conteúdo duodenal reflui para o estômago. Os ácidos biliares e a lisolectina, refluídos com o conteúdo duodenal, rompem a barreira mucosa do estômago e lesam a mucosa gástrica, produzindo gastrite antral; esta mucosa lesada se torna susceptível de ulceração péptica, especialmente na zona que limita a mucosa antral alcalina da mucosa ácida do corpo gástrico (Figura 3).

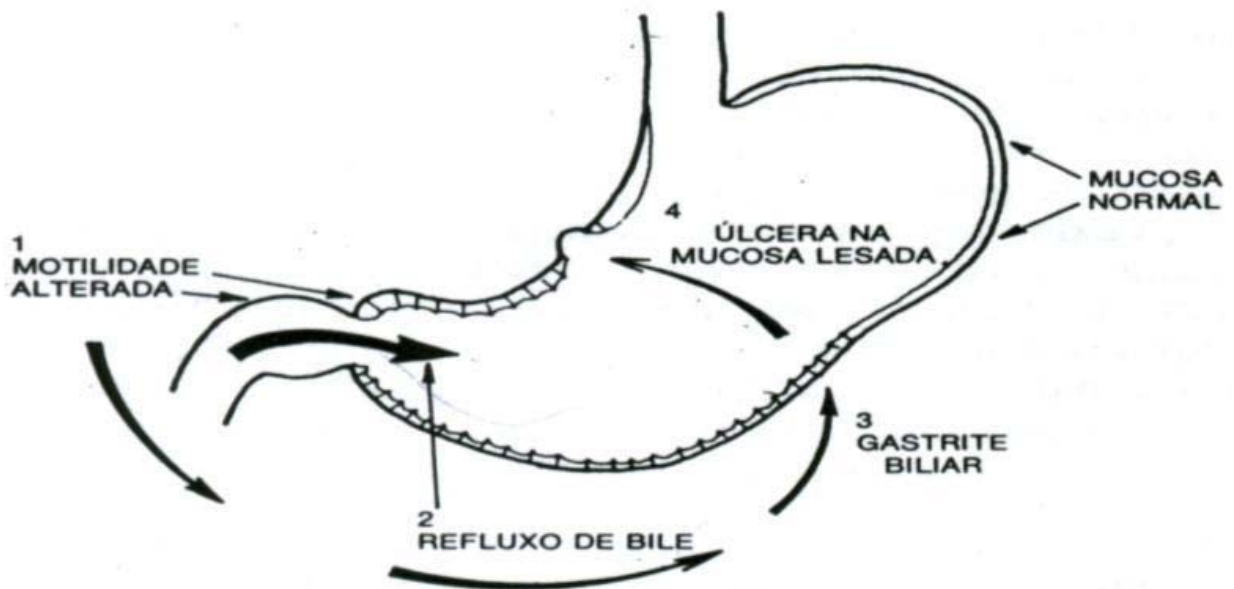


Figura 4. Seqüência de eventos propostos pela teoria que enfatiza a participação do refluxo biliar na etiopatogenia da úlcera gástrica (Castro & Dani, 1993).

Certas substâncias como salicilatos, sais biliares e álcool, são capazes de lesar a barreira da mucosa gástrica, permitindo a difusão retrógrada de íons hidrogênio, que, penetrando na mucosa, acarretam alterações em parte decorrentes da liberação de histamina e, em parte, de acidificação da célula. Isto resulta na desnutrição das células, as quais descamam, permitindo o extravasamento do líquido intersticial para dentro da luz do estômago, com conseqüente aumento de sódio e da proteína, e diminuição do hidrogênio no conteúdo gástrico, permitindo, ocasionalmente, o aparecimento de erosões na mucosa (Philips et al., 1995).

As causas do surgimento da úlcera gástrica mais freqüentes são:

- ***Helicobacter pylori***: a úlcera gástrica tem dois fatores ambientais que predominam como elementos etiológicos: o *H. pylori*, em 70% dos casos, e os AINES, em 30% (Castro & Dani, 1993).

- **Medicamentos antiinflamatórios não-esteróides (AINES)**: de todos os medicamentos capazes de lesar a mucosa gástrica, aguda ou cronicamente, os AINES são os únicos que aumentam, sem contestação, o risco para a úlcera gástrica. O risco de aparecimento de úlcera péptica em indivíduos em uso de AINES está nitidamente aumentado, sendo seis vezes maior do que o de úlcera duodenal (Philips et al., 1995). Apesar da baixa incidência de graves efeitos adversos na população em geral, os AINES, pela elevada frequência com que são usados no mundo ocidental, constituem fator de risco de importância não desprezível, especialmente para os idosos, as mulheres e pacientes com úlcera péptica, particularmente gástrica, mesmo não relacionada com os AINES. Dois são os mecanismos através dos quais os AINES lesam a mucosa gastroduodenal, notadamente o antro gástrico: por ação direta e indireta, esta através da inibição de síntese de prostaglandinas (Castro & Dani, 1993).

- **Corticóides**: participam na gênese da úlcera, os pacientes que recebem dose diária por mais de 1 mês, aqueles que recebem uma dose total equivalente de 1 g de prednisona, e aquele já ulceroso antes do início do tratamento hormonal (Castro & Dani, 1993).

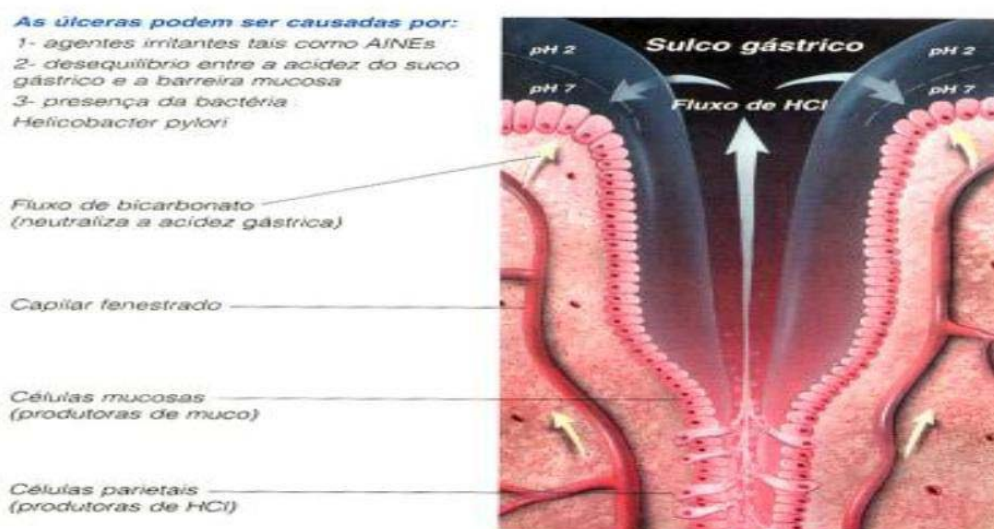


Figura 5. Agentes causadores da úlcera gástrica (Marchesine, J.B. & Marchesine, J.C., 2002).

No tratamento de úlcera gástrica, os fármacos podem ser agrupados em: anti-histamínicos H_2 , prostaglandinas, inibidores da bomba protônica (Korolkovas, 1995). A partir do entendimento fisiológico da secreção gástrica é permitida a intervenção farmacológica efetiva, bloqueando reversivelmente os receptores H_2 e reduzindo a secreção ácida, como, cimetidina e ranitidina (Figura 6). Outros exemplos são o omeprazol e lansoprazol que agem inibindo a bomba de próton, conseqüentemente, diminuindo a secreção ácida (Philips et al., 1995).

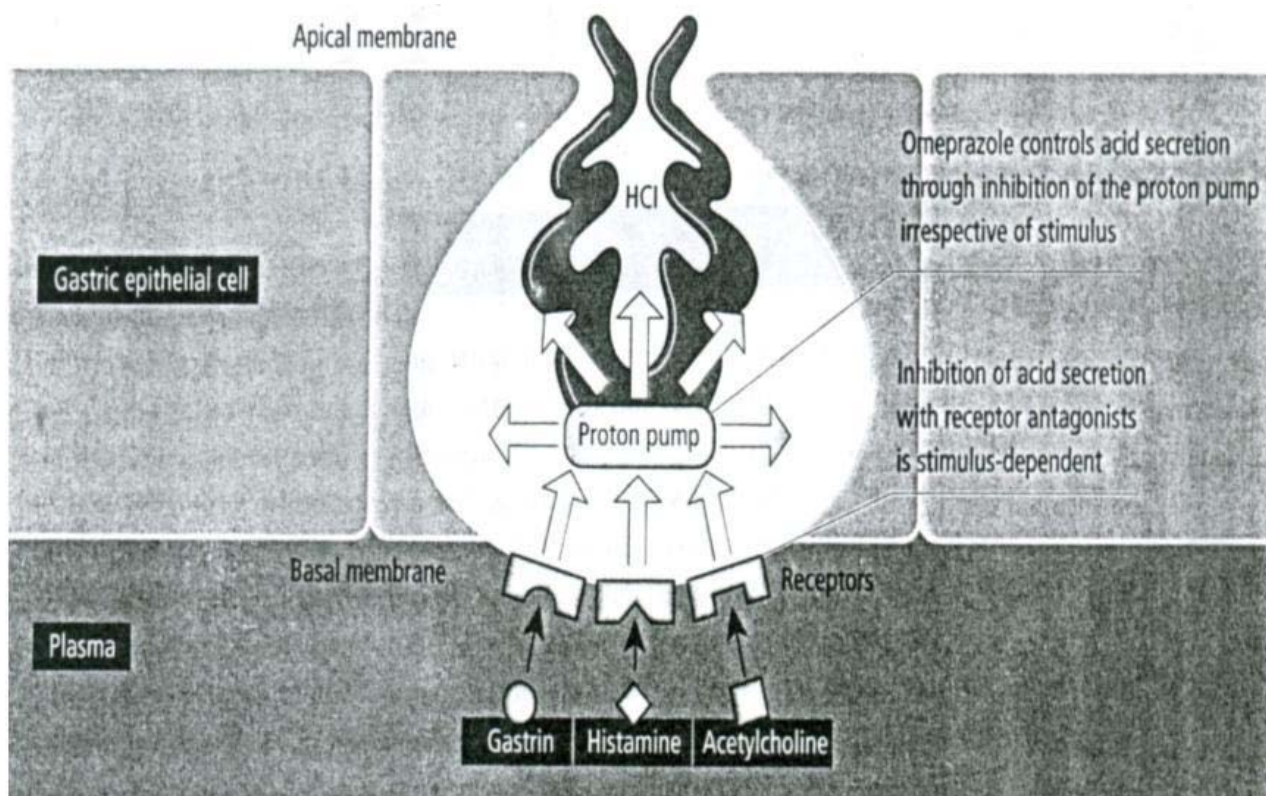


Figura 6. Estímulos que atuam na bomba de próton para regulação da secreção ácida (Philips et al., 1995).

2.0. JUSTIFICATIVA

A importância do estudo das Plantas Medicinais só vem a enriquecer a variabilidade dos conhecimentos quanto à descoberta de novos medicamentos fitoterápicos, dos quais uma boa parte da população do mundo está necessitando destes para o tratamento de patologias comuns; como antiulcerogênico, antimicrobiano e antioxidante. E levando-se em consideração a grande disponibilidade da *Ocimum minimum* Linn., na nossa região, fica mais do que necessário a investigação das ações supracitadas. Além do baixo custo e a grande biodiversidade da nossa flora, tornando-se mais acessíveis à população, e às indústrias farmacêuticas que estão cada vez mais investindo nesses produtos.

3.0. OBJETIVOS

3.1 Geral

Extrair e caracterizar os componentes químicos do óleo essencial e, investigar as atividades antiulcerogênica e antimicrobiana de *Ocimum minimum* Linn. (manjeriçõ anão).

3.2 Específicos

- Identificar a composição química do óleo essencial de *Ocimum minimum* Linn.;
- Determinar a toxicidade aguda (DL50%) do óleo essencial de *O. minimum*;
- Verificar o efeito do óleo essencial de *O. minimum* em lesões gástricas induzidas por indometacina e etanol;
- Investigar a atividade antimicrobiana do óleo frente a bactérias, fungos filamentosos e leveduriformes;
- Investigar a atividade antioxidante do óleo essencial de *O. minimum*.

4.0. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Amparo, V.P. & Elizabeth, M.P., 1999. **Determinación de constituyentes volátiles de la albahaca (*Ocimum spp*) mediante dos métodos de extracción.** Revista Colombiana de Química, volumen 28, N° 1.

Archana, R. & Namasivayam, A., 2000. **Effect of *Ocimum sanctum* on noise induces changes in neutrophil functions.** Journal of Ethnopharmacology **70(2000)**, 81-85.

Best, R., Lewis, D.A., Nasser, N., 1984. **The antiulcerogenic activity of unripe plantain banana (*Musa spp.*).** British Journal of Pharmacology **82**, 107-116.

Brady, L.R, Robbers, J.E. et al.- **Pharmacognosy** – 8th Edition, Lea & Febiger, Philadelphia, 1981.

Brown, H.M., Christie, A.B., Colin Jones, E., et al., 1959. **Glycyrrhetic acid hydrogen succinate (disodium) salt, a new anti-inflammatory compound.** Lancet **2**, 492-496.

Bruneton, J. – **Elementos de Fitoquímica y de Farmacognosia** – 1^a Edição, Editorial Acribin S. A., Zaragoza, 1991.

Castro, P. & Dani, R. – **Gastroenterologia Clínica** – Vol.1, 3^a Edição, Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1993.

Craveiro, A. A. Fernandes, A. G., Andrade, C.H.S., et al. - **Óleos Essenciais de Plantas do Nordeste** – 1^a Edição, UFC Edições, Fortaleza, 1981.

Czinner, E., Hagymasi, K., Blazovics, A., Kery, A., Szoke, E. & Lemberkovics, E., 2001. **The *in vitro* effect of *Helichysi flos* on microsomial lipid peroxidation.** Journal of Ethnopharmacology, **77**: 31-35.

Edmunds, M.V. – **Instructor's Resource Manual – Introduction to Clinical Pharmacology** – 1ª Edição, Mosby Year Book, St. Louis, 1991.

Hanifa-Moursi, S.A ., Al-Khatib, I.M., 1984. **Effect of *Melia azedarach* fruit on gipsing-restraint stress-induced ulcer in rats.** Japaneses of Pharmacology **36**, 527-534.

Korolkovas, A. - **Dicionário Terapêutico Guanabara** – Edição 1996, Editora Guanabara Koogan S. A., Rio de Janeiro, 1995.

Leal, T.C.B., 1998. **Produção do óleo essencial de capim cidreira (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf) em função de fatores endógenos e exógenos.** Tese de Doutorado, Universidade Estadual do Norte Fluminense, Rio de Janeiro.

Maia, M.B.S., 1987. **Estudo da atividade antiinflamatória e outros efeitos farmacológicos relacionados de *Orbignia phalerata* MART.** Tese de Mestrado, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará.

Maldaner, C. Adoção à brasileira: fitoterapia investindo na saúde. **Senado**, Santa Catarina. Disponível em: <<http://www.senado.gov.br/web/senador/casmalda/fitoterapia.htm>>. Acesso em: 03 Maio 2001.

Marchesine, J. B. & Marchesine, J. C. Adoção à brasileira: úlceras. **Google**, Santa Catarina. Disponível em: <<http://google.com.br/gastronet/favoriteindexhtm>>. Acesso em: Julho 2002.

Marques, L.C. Adoção à brasileira: fitoterapia. **Altavista**, São Paulo. Disponível em: <<http://altavista.com.br/Com Ciênciã.Fitoterapia3htm>>. Acesso em: 15 Maio 2001.

Matos, F.J. A. – **Plantas da Medicina popular do Nordeste** – 1ª Edição, Editora UFC, Fortaleza, 1999.

Mencis, M. – **Gastroenterologia & Hepatologia: Diagnóstico e Tratamento** – 2ª Edição, Lemos Editorial, São Paulo, 1998.

Nascimento, G.G.F., Locatelli, Juliana, Freitas, Paulo C. et al., 2000. **Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria.** Braz. J. Microbiol. **Vol.31**, nº 4, ISSN 1517-8382.

Neri, M.R.S., 1991. **Papel do extrato da *Psidium guayawa* L. var. *Pyrifera* na regulação glicêmica em camundongos.** Tese de Mestrado, Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

Oliveira, F., Akisue, G. et al. – **Farmacognosia** – 1ª Edição, Editora Livraria Atheneu, Rio de Janeiro, 1991.

Philips, J.J., Murray, P. & Crocker, J. – **The biology of disease** – 1ª Edição, Blacwel Science Ltd., Cambridge, 1995.

Ramington – **Farmácia – TOMO 01** – 19ª Edición, Editorial Médica, Panamericana, 1995.

Wilke, B.C. Adoção à brasileira: fitoterapia. **Google**, São Paulo. Disponível em: <<<http://google.com.br/medicinacomplementar/fitoterapia/biblioteca>. Acesso em: 07 Jun. 2002.

Ulene, A. & Ulene, V. – **Vitaminas** – Editora Eko, Blumenau, SC, 1995.

**5.0. ARTIGO A SER SUBMETIDO PARA PUBLICAÇÃO NO
PERIÓDICO: “JOURNAL OF ETHNOPHARMACOLOGY”**

**EVALUATION OF THE GASTRIC ANTIULCER, ANTIMICROBIAL AND
ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF THE ESSENTIAL OIL FROM *Ocimum mimum*
Linn.**

Melo, O. F. 1; Silva, W.T.F. 3; Castro, C.M.M.B. 3; Ximenes, E. A⁴ ; Silva, N. H. 1 ;
Maia, M. B. S. 2 & M. P. C. Silva 1*

¹Departamento de Bioquímica/ ² Departamento de Farmacologia e Fisiologia/

³Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA)/ ⁴ Departamento de Antibióticos
da Universidade Federal de Pernambuco, Cidade Universitária, CEP 50.570-901,
Recife, PE, Brazil.

* Author for correspondence (Fax: 55 8132718576; e-mail: mariapaz@hotlink.com.br

Abstract

Ocimum minimum (L.) is a plant known in Brazil as dwarf basil or small leaf basil. In the popular medicine it is used as digestive stimulant, carminative, antifever, diuretic and anti-rheumatic. Essential oil extracted from the leaves of *Ocimum minimum* Linn was characterized by chemical and physicochemical methods and its antiulcerogenic activity was determined. The chemical composition of the oil determined by using gas liquid chromatography presented: 1,8-cineole (4.90%), linalool (30.57%), camphor (0.80%), 2-terpineol (2.06%), estragole (50.42%), acetic acid (0.77%), (-) β -elemene (0.68%), α -bergamotene (1.24%), α -humulene (0.99%), β -cubebene (0.74%), γ -cadinene and T-cadinol (2.74%). The acute toxicity of the essential oil (0.25, 0.50, 1.50 and 5.00 mL/Kg) presented in Swiss white mouse a $DL_{(50\%)}$ in 1.5mL/Kg. The antiulcerogenic activity presented by the essential oil in gastric ulcer induced by indometacin was of independent dose, however, in the gastric ulcer induced by ethanol was observed an effect dependent dose. Also, the oil presented an antioxidant activity when the sample was diluted 10 times (4.69 μ mol/1h and 5.92 μ mol/2h) which was similar to the control (6.29 μ mol/1h and 6.16 μ mol/2h). The antimicrobial activity of the essential oil was evaluated by the microorganism inhibition growth compared to ciprofloxacin as standard. The highest inhibition halos detected using the oil was smaller (17 mm) than the highest one exhibited using the antibiotic (35 mm). From the results it is possible to conclude that the essential oil from *Ocimum minimum* has the significant antiulcerogenic activity concerning to the

gastric lesion induced by indometacin and ethanol, as well as, significant antioxidant activity.

Keywords: *Ocimum minimum*; Essential oil; Antiulcer; Antimicrobial; Antioxidant.

1.0. INTRODUCTION

Ocimum minimum L. is a specie native from Indian where it is cultivated almost like holy plant. It is a herbaceae plant, aromatic, erect, very branched, simple leaves, oposites, eliptic-oval, aerial parts in summit spiciforms and violet flowers, labiatae (Matos, 1999). The stem is genarally square and present hair in the epiderm of the leaves and of the branches where is found the essence (Craveiro et. al., 1981). In the popular medicine it is used as digestive stimulant, carminative, antifever, diuretic and anti-rheumatic. The leaves are the part of the plant used (Matos, 1999). In Brazil two species are very used in the fitotherapy, *Ocimum gratissimum*, as mouth anti-septic and *Ocimum basilicum* for stomach problems.

Among the contributions given by the medicinal plants from the *Ocimum* genera regarding to antiulcer action, the reduction of the incidence of gastric ulcer induced by aspirin was already observed with the ethanolic extract of *Ocimum sanctum* (Archana & Namasivayam, 2000). The antiulcer action was also observed with banana fruit which act inhibiting peptic ulcer (Best et. al., 1984) and *Melia azedarach* in ulcer induced by stress in mouses (Hanifa-Moursi & Al-Khatib, 1984) . Antimicrobial activity was the other one observed by many medicinal plants which have to much contributed in complementary therapy as antimicrobials, such as: *Cariophylus aromaticus* (Nascimento et. al., 2000); *Aloe vera*, *Capraria biflora* L.; *Eucalyptus citriodora*; *Zingiber officinale* and *Psidium guayava* (Matos, 1999). The aim of this work was investigate antiulcer, antioxidant and antimicrobial activities, and acute toxicity of the essential oil from *Ocimum minimum* Linn..

2.0. MATERIALS AND METHODS

2.1 Materials

The leaves of the plant *Ocimum minimum* used were obtained from the vegetable garden of the “Universidade Estadual Vale do Acaraú”, Sobral, Ceará, Brazil and identified for the Herbarium Prisco Bezerra with number vancher 30852 at the “Universidade Federal do Ceará”, Fortaleza, Ceará, Brazil.

White mice (*Mus musculus*) Swiss of both sex were supplied from the animal room at the “Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA)/Universidade Federal de Pernambuco”, Brazil and all of them were maintained in the same environmental conditions (temperature of 25°C, clear/dark) with *ad libitum* water and food.

White rats (*Ratus norvegicus*) belonging to Wistar variety, adult and male, were supplied from the “Departamento de Fisiologia e Farmacologia/Universidade Federal de Pernambuco”, Brazil and maintained in the same conditions as before.

Microorganisms used were: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus* and *Candida albicans*. They were supplied from the microorganisms collection of the “Departamento de Antibióticos/Universidade Federal de Pernambuco”, Brazil.

2.2 Methods

2.2.1 Extraction of the essential oil from the *Ocimum minimum*

The oil was extracted by using vapour dragging and hydrodistillation. The material was placed in a container and a water vapour current pass through it under pressure. The volatile products present in the leaves were dragged by the water vapour and the mixture was taken to a condenser where the vapours returned to liquid state and were collected in a separator. The essential oil is a mixture of insoluble organic substances in water, which was isolated by using hexane resulting in a system of two phases (Craveiro et. al., 1981). Then the material hydrolysed was dried by rotaevaporator under vacuum at 40°C.

2.2.2 Gas-liquid chromatography linked to mass spectrometry

The chemical constituents of essential oil were identified by comparing to the mass spectra obtained with standards. The conditions were: DB-5-dimethylpolysiloxane column (30mm x 0.25mm); N₂ gas; temperature 35-280°C, injection volume 1µL. The programme used was developed by A. A. Craveiro and J.W. Alencar (Craveiro et. al., 1981)

2.2.3 Acute toxicity

Groups of six mice, three male (32.00g) and three female (26.00g), to which crescent doses of 0.25; 0.50; 1.5 and 5.0 mL/Kg were administered by oral via were used to determine DL50%. The percentage of death was observed during 72 hour and the DL50% was calculated using probito method according to Miller & Tainter (1944) model.

2.2.4 Pharmacological evaluation of the antiulcer activity

2.2.4.1 Gastric lesions induced by indometacin (Hayden et. al., 1978)

Four groups of six rats (150g) were maintained in fasted for 24 hour with *ad libitum* water. Sixty minutes before of the indometacin injection (20mg/Kg; s.c.), 18 animals were treated by gavage with oil in the following doses 0.125; 0.250 and 0.500 mL/Kg. Oil doses were repeated three hour after the antiinflammatory to be administered. After six hour of the first dose, the animals were sacrificed under anesthesia with ether. The stomachs were removed and opened, washed with water and placed in Petri dishes for the gastric lesions inspection. The ulcer degree for the each stomach was established according to the follow classificatory scale:

- . Loss of the mucosa pleat 1 point
- . Loss of the mucosa colour..... 1 point
- . Edema 1 point
- . Hemorrhage 1 point
- . Number spots (up 10) 2 points
- . Number of spots (more than 10) 3 points
- . Ulceration intensity

Ulcer or erosion of up to 1 mm..... n x 2 points
Ulcer or erosion more than 1 mm.....n x 3 points
Úlcer perforatedn x 4 points

n = number of ulcer found.

2.2.4.2 Gastric lesions induced by ethanol

Five groups of six rats (310g) male in fasted for 24 hour were treated with 0.9% salt (5 mL/Kg), plant oil (0.025; 0.040; and 0.060 mL/Kg;p.o.) and dexchlorfeniramine (3mg/Kg;v.o.). After 45 min 50% ethanol (5 mg/Kg;p.o.) was administered to induce the gastric ulcer. One hour after the animals were sacrificed by anesthesia with ether. The stomachs were removed and inspected the gastric lesions as procedure described for the previous model.

2.2.5 Antioxidant activity of the essential oil

2.2.5.1 Macrophages culture

In cell culture plates were placed: :

1. Macrophages (2 million) and 2 mL RPMI 1640 medium completed with 3% bovine fetal serum (SBF) or 0.9% salt (control);
2. Essential oil prepared in methanol (100 μ l);
3. The mixture was incubated in stove at 37°C with [CO₂] approximately 5%;
4. After 1 hour the medium was discarded
5. Cells were washed with 1 mL of RPMI medium
6. 2 mL of RPMI medium without 3% bovine fetal serum was added in each role.
7. After 1 hour, the macrophages were available to be used in the next experiment..

2.2.5.2 Production and release of superoxide radical (O_2^-): In the culture plates were added:

1. 29 μ l of the superoxide dismutase enzyme which was used as positive control;
2. 29 μ l of distilled water as a negative control;
3. The mixture was incubated at 37°C for 10 min;
4. 143 μ l of cytochrome c and 145 μ l of PMA (phorbol miristate acetate);
5. Aliquots of 600 μ l were immediately collected (samples and blank) at 1h and 2h ;
6. The material collected was centrifuged at 10.000 x g for 5 min;
7. Absorbances of the supernatant were measured at 550 nm.

2.2.6 Antimicrobial activity of the essential oil

The antimicrobial activity of the essential oil from *Ocimum minimum* L. was evaluated according to method described by Bauer et al.(1966). This method is based in the microorganism growth inhibition which is detected by the disc diffusion technique.

2.2.6.1 Paper discs preparation

Filter paper discs of $30\text{mg} \pm 4\text{mg}/\text{cm}^2$ and 6 mm of diameter were soaked with 20 μ L of essential oil from *O. minimum*. Ciprofloxacin (20 μ L) was used as standard.

2.2.6.2 Culture media preparation

Mueller-Hinton medium was used for bacteria culture maintenance and Sabourand medium for yeast. These cultures were diluted 0.45% of salt following the Mac Farland scale (10^8 UFC/mL).

2.2.6.3 Culture plates preparation

Mueller-Hinton solid medium (18 mL) was placed in Petri plates (90 mm of diameter) until complete solidification.

2.2.6.4 Inoculum preparation

Microorganisms suspensions were spread at medium surface. Paper discs impregnated with essential oil were placed at the medium surface.

2.2.6.5 Measurement of inhibition halos

Inhibition halos were measured after 18 hour of incubation using a ruler and the halos diameter of the oil were compared with the ones of the ciprofloxacin.

2.2.7 Statistic analysis

The results obtained in all analysis were expressed in media \pm SD (standard error) . The levels of statistic significance ($p < 0.01$ and $p < 0.05$) were calculated based in Student T Test.

3.0. RESULTS AND DISCUSSION

3.1 Extraction and chemical composition of the essential oil from *Ocimum minimum*.

The essential oil extracted from the leaves of the *Ocimum minimum* plant by hydrodistillation and vapor dragging and solubilized in hexan yielded 2.38% The oil presented yellow color, aromatic smell and density of 0.9256 g/mL.

Figure 1 shows the mass spectra of the essential oil chemical constituents. It can be seen that the oil presented in its chemical composition derivates of terpen formed by mevalonic acid acetate via, such as: 1.8-cineole, linalool, camphor, 2-terpineol, estragole, acetic acid, (-) β -elemene, α -bergamotene, α -humulene, β -cubebene, γ -cadinene, T-cadinol (Brady et. al., 1981). These constituents present in its struture follow chemical groups: hidrocarbonetos, alcohols, ketones, ethers and oxid. This spectrum was similar to the oil from *Ocimum gratissimum* concernig to the chemical groups which data was found by Craveiro et. al., 1981. Also, Amparo &

Elizabeth (1999) found similar results for the *Ocimum basilicum*, however it presented different chemical profile in surface flavonoids. The chemical constituents content greater are in the Figures 2,3 and 4.

3.2 Acute toxicity of the essential oil of *Ocimum minimum*

The DL50% of the essential oil of *Ocimum minimum* Linn., given to mice by oral via and calculated according to Miller & Tainter (1944) method was 1.5 mL/Kg.

An important characteristic of that oil is its low toxicity. During the determination of the acute toxicity were observed the animals presented loss of the reflexes, leading to the death by breathing deficiency (Bruneton, 1991). It can be supposed the possibility of the depressed effects of the central nervous system, because regarding to the highest concentrations of estragole (50.42%), linalool (30.57%) and 1,8-cineol (4.9%), which belong to chemical group ether and alcohol, respectively (Oga, 1996).

3.3 Pharmacological evaluation of antiulcerogenic activity of *Ocimum minimum*

3.3.1 Gastric lesions induced by indometacin

The effect of essential oil of *Ocimum minimum* on gastric lesions induced by indometacin can be observed in Table 1. The reduction of the gastric lesions was in media 83.80% of inhibition ($p < 0.01$) were observed by using the oil in the doses of 0.125, 0.250 and 0.500 mL/Kg.

Indometacin is a good prostaglandin synthase inhibitor and this action can be associated with its harmful effect in the gastric mucosa. The reaction must be attributed to the inhibition of the prostaglandin biosynthesis PGE₂ and PGI₂ (cyclooxygenase inhibition via arachidonic acid metabolism), consequent increase in the production of leukotrienes and other products by the lipoxygenase via (Philips et al., 1995).

The gastric lesion observed in the group of rats treated with essential oil of *Ocimum minimum* were of low intensity compared with control groups even being independent dose, because in the doses of 0.125 and 0.500 mL/Kg were observed

in media 83.00% of inhibition. However this result showed some statistically significance (Table 1) and the suggest that the essential oil of *Ocimum minimum* showed like a protector agent against this type of lesion. However, it is not possible to identify which mechanism involved in the patogenesis of the gastric lesions induced by indometacin would be influenced in the presence of the oil.

3.3.2 Gastric lesions induced by ethanol

The effect of the essential oil of *Ocimum minimum* (0.125mL/Kg) in the gastric lesion induced buy ethanol presented very significative values as can be seen in Table 2.

The mechanisms involved to induce gastric lesions by ethanol are complex and numerous, with venoconstriction, artery dilation, autacoids liberation, etc (Maia, 1987). According to Llesuy et al. (2002), the ethanol increase superoxide anion and hidroxy radical production and lipid peroxidation in the gastric mucosa. The scores media comparision showed that the group treated with 0.125 mL/Kg of oil reduced the lesions induced by ethanol in 70%.

3.4 Evaluation of antioxidant activity of the essential oil of *Ocimum minimum*

The essential oil shown antioxidant activity who diluted 1/10, conform Table 3.

Several studies have shown antioxidant activity of flavonoids and another natural compounds (Gonzalez et al., 2001). The antioxidant activity of flavonoids is efficient in trapping superoxide anion ($O_2^{\cdot -}$), hidroxy (OH^{\cdot}), peroxy ($ROOH^{\cdot}$) and alcohoxy (RO^{\cdot}) radicals (Llesuy et al., 2002).

3.5 Evaluation of microbial activity of *Ocimum minimum* essential oil

It can be observed from the inhibition halos diameter in Table 4 that the microorganisms growth are less inhibited by the oil than by the ciprofloxacin used as antibacterial standard. Then it is not possible to suggest the antibacterial action of the oil concerning to the microorganisms used.

4.0 CONCLUSION

From the results it is possible to conclude that the essential oil from *Ocimum minimum* has the significant antiulcerogenic activity concerning to the gastric lesion induced by indometacin and ethanol, however further studies are need to know the action mechanism of the oil, as well as, significant antioxidant activity.

5.0 ACKNOWLEDGEMENT

The authors are thankful to the “Laboratório de Produtos Naturais da UFPB” by the extraction of the essential oil carried out.

6.0 REFERENCES

Amparo, V.P. & Elizabeth, M.P., 1999. **Determinación de constituyentes volátiles de la albahaca (*Ocimum spp*) mediante dos métodos de extracción.** Revista Colombiana de Química, volumen 28, N° 1.

Archana, R. & Namasivayam, A ., 2000. **Effect of *Ocimum sanctum* on oise induces changes in neutrophil functions.** Journal of Ethnopharmacology 70(2000), 81-85.

Bauer, A. W. et al., 1966. **Antibiotic susceptibility testing a standardized single disc method.** Am. J. Clin. Pathol. 45; 493.

Best, R., Lewis, D.A ., Nasser, N., 1984. **The antiulcerogenic activity of unripe plantain banana (*Musa spp.*).**British Journal of Pharmacology 82, 107-116.

Brady, L.R, Robbers, J.E. et al.- **Pharmacognosy** – 8th Edition, Lea & Febiger, Philadelphia, 1981.

Bruneton, J- **Elementos de Fitoquímica y de Farmacognosia** – 1^a Edição, Editorial Acribin S.A., Zaragoza, 1991.

Craveiro, A.A., Fernandes, A.G., Andrade, C.H.S., et al. - **Óleos Essenciais de Plantas do Nordeste** - 1^o Edição, UFC Edições, Fortaleza, 1981.

Hayden L.J., Thomas, G., West, G. B., 1978. **Inhibition of gastric lesions in the rat.** J. Pharmac. **30**, 244-246.

Hanifa-Moursi, S.A ., Al-Khatib, I.M., 1984. **Effect of *Melia azedarach* fruit on gipsing-restraint stress-induced ulcer in rats.** Japaneses of Pharmacology **36**: 527-534.

Hayden L.J., et al., 1978. **Inhibition of gastric lesions in the rat.** Journal Pharmac. **30**: 244-246.

Llesuy, S. F.; Repetto, M. G. (2002). **Antioxidant properties of natural compounds used in popular medicine for gastric ulcers.** Brazilian Journal of Medical and Biological Research **35**: 523-534.

Maia, M.B.S., 1987. **Estudo da atividade antiinflamatória e outros efeitos farmacológicos relacionados de *Orbignia phalerata* MART.** Tese de Mestrado, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará.

Matos, F.J. A. – **Plantas da Medicina popular do Nordeste** - 1^o Edição, Editora UFC, Fortaleza, 1999.

Miller, L.C. & Tainetr, M.L. **Estimation of the ED₅₀ and its error by means of logarithmic probit graph parper.** Proc. Soc. Exp. Med., **57**:261-4, 1944.

Nascimento, G.G.F. Locatelli, Juliana, Freitas, Paulo C. et al., 2000. **Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria.** Braz. Journal Microbiol. **Vol.31**, n^o4. ISSN 1517-8382.

Oga, S. – **Fundamentos de Toxicologia** – Editora Atheneu, São Paulo, 1996.

Philips, J.J. Murray, P. & Crocker, J. – **The Biology of Disease** - 1º Edição, Blacwel Science Ltd., Cambridge, 1995.

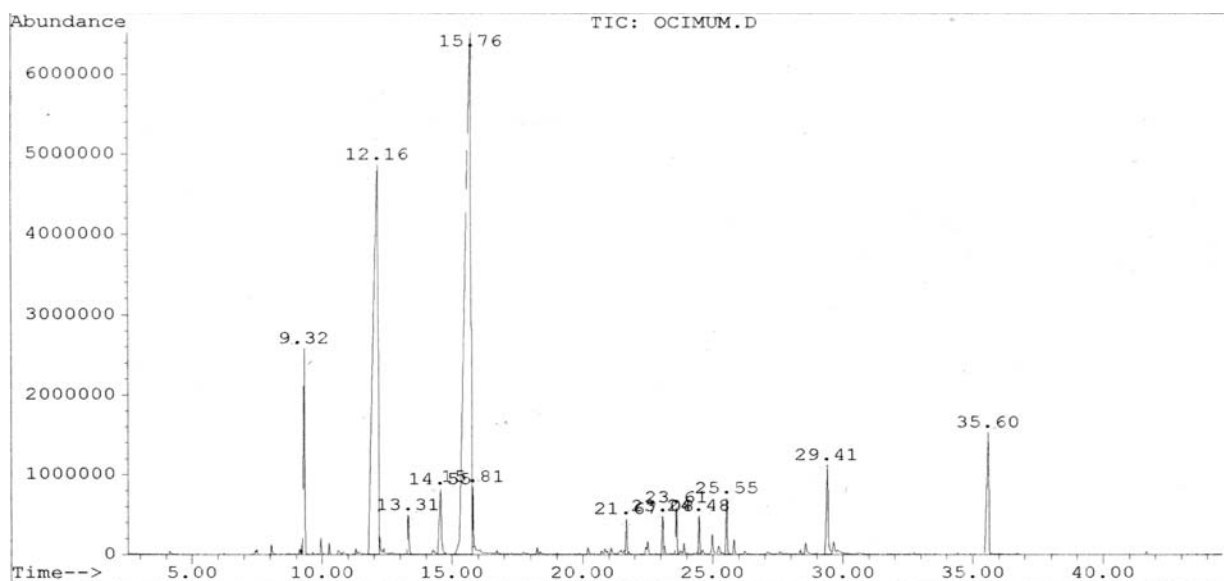


Figure 1. Mass spectrum of the essential oil chemical constituents (CGL/EM).

PICO	T.RET.	TEOR(%)	IKOVAT
1	9.32	4.19	1019
2	12.16	30.57	1103
3	13.31	0.80	1137
4	14.55	2.06	1173
5	15.76	50.42	1209
6	15.81	0.77	1211
7	21.67	0.68	1384
8	23.08	0.83	1426
9	23.61	0.99	1442
10	24.48	0.74	1468
11	25.55	1.24	1499
12	29.41	2.74	1613
13	35.60	3.95	1997

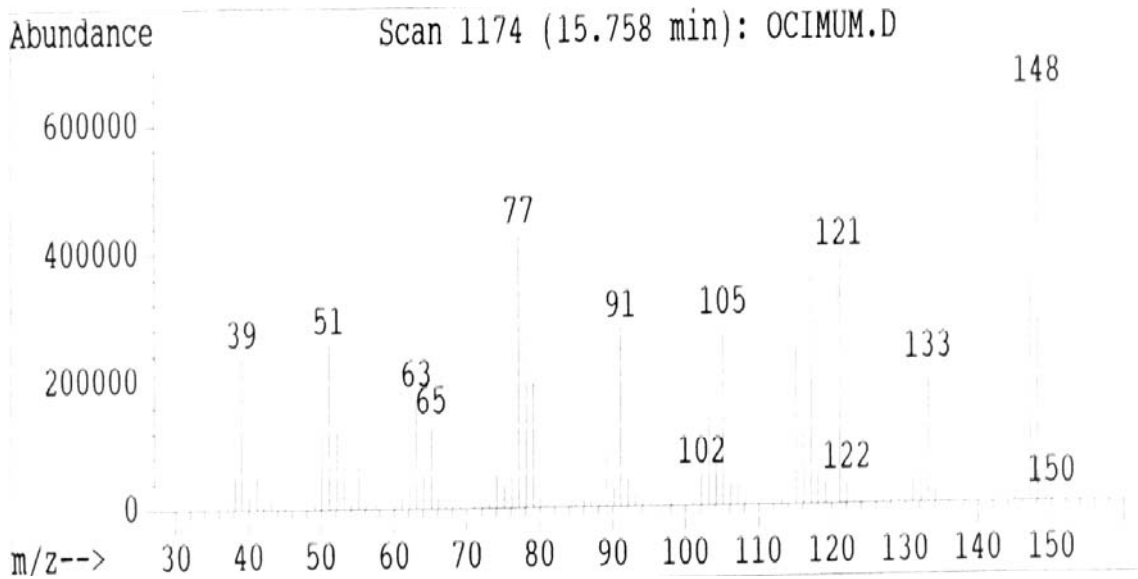


Figure 2. Mass spectrum of estragole (50.42%).

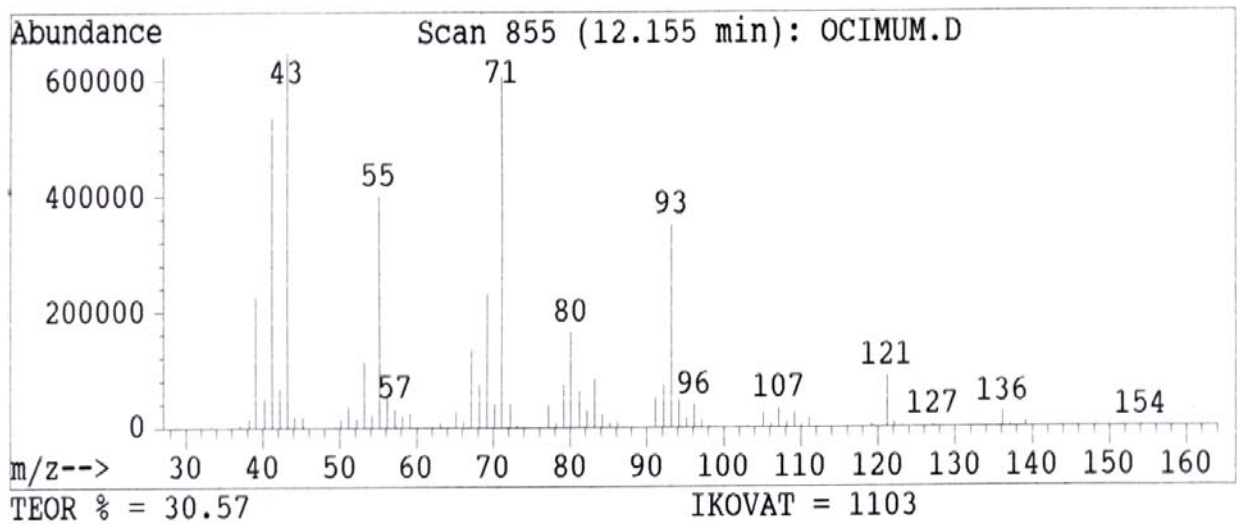


Figure 3. Mass spectrum of linalool (30.57%).

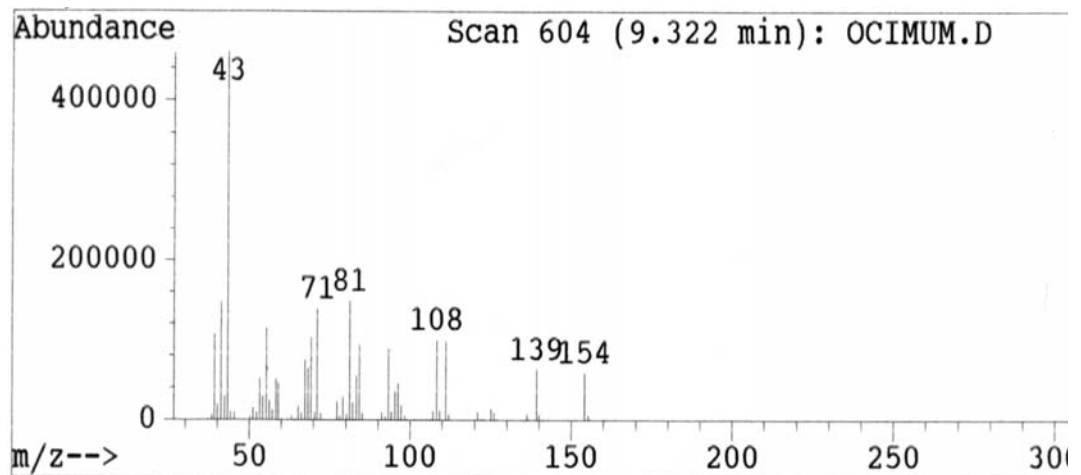


Figure 4. Mass spectrum of 1,8-cineole (4.9%).

Table 1. Effect of *Ocimum minimum* essential oil on indomethacin induced ulcers in rats.

GROUP/DOSE	SCORE ($\bar{X} \pm SD$)
Salt 0.9%	
(5.0 mL/Kg;p.o.)	39.5±20.74
Essential oil <i>O. minimum</i>	6.4±3.84 *
(0.125 mL/Kg;p.o.)	(83.80%)
Essential oil <i>O. minimum</i>	9.2±7.15 *
(0.250 mL/Kg;p.o.)	(76.70%)
Essential oil <i>O. minimum</i>	6.4±4.10 *
(0.5 mL/Kg;p.o.)	(83.50%)

* p<0.01;

() Percentage of inhibition.

Table 2. Effect of *Ocimum minimum* essential oil on ethanol induced ulcers in rats

GROUP/DOSE	SCORE ($\bar{X} \pm SD$)
Salt 0.9%	27.80±5.80
(0.125 mL/Kg;p.o.)	
Essential oil <i>O. minimum</i>	23.33±5.60
(0.041 mL/Kg;p.o.)	(16.00%)
Essential oil <i>O. minimum</i>	22.83±5.41
(0.062 mL/Kg;p.o.)	(18.00%)
Essential oil <i>O. minimum</i>	8.33±5.57 **
(0.125 mL/Kg;p.o.)	(70.00%)
Dexclorfeniramine	15.00±6.00
(control) (3.000 mL/Kg;p.o.)	(46.00%)

** p<0.05;

() Percentage of inhibition.

Table 3. Evaluation of antioxidant activity of the essential oil *Ocimum minimum*.

SYSTEM	ABSORBANCE		CONCENTRATION OF SUPERÓXIDE (μmol)	
	1h	2h	1h	2h
Control	0,051	0,050	6,29	6,16
Pure sample	0,107	0,122	13,19	15,04
Diluted sample 1/10	0,038	0,048	4,69	5,92

- **The formule below is used to calculate concentration of superoxide radical:**

$$K = 205,9 \times \text{Absorb.} \times 600,$$

K is express in nmol or μmol of superoxide radical.

Table 4. Evaluation of the antimicrobial activity of essential oil for the method of disc difusion in solid way.

MICROORGANISMS	INHIBITION HALO FOUND WITH ESSENTIAL OIL (mm)	INHIBITION HALO FOUND WITH CIPROFLOXACIN (mm)
<i>Staphylococcus aureus</i> IC-403	10	17
<i>Staphylococcus aureus</i> IC-159	10	31
<i>Escherichia coli</i> DAUFPE-24	10	35
<i>Escherichia coli</i> IC-02	10	30

<i>Salmonella enteritidis</i> DAUFPE-415	9	30
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IC-472	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IC-515	-	-
<i>Bacillus cereus</i> DAUFPE-11	24	35
<i>Candida albicans</i> DAUFPE-1007	17	NT
<i>Candida albicans</i> DAUFPE-IC-07	15	NT

(-)No antimicrobial activity

6.0. CONCLUSÃO

Com base nos estudos realizados, podemos concluir que:

1. O óleo essencial de *Ocimum minimum* é constituído de grupos químicos hidrocarbonetos, álcoois, cetonas, éteres e óxidos;
2. Toxicidade aguda é considerada de baixa ordem, pois sua DL_{50%}, por via oral em camundongos foi de 1.5 mL/Kg;
3. A atividade antiulcerogênica do óleo essencial diante de lesões gástricas induzidas por indometacina e etanol foi significativa;
4. A atividade antioxidante do óleo essencial do *O. minimum*, quando diluído, apresentou ação antioxidante importante quando comparado ao controle; e
5. Atividade antimicrobiana não teve valor significativo frente aos microrganismos testes, e quando comparado ao padrão (ciprofloxacina).

7.0. PERSPECTIVAS

Como perspectivas:

- Isolar e purificar os componentes químicos do óleo da *Ocimum minimum*;
- Utilizar cada substância, isoladamente, para testes farmacológicos;
- Descrever o mecanismo de ação envolvido na proteção da mucosa gástrica;
- Avaliar a toxicidade crônica do óleo.