

Avaliação biológica de *Foeniculum vulgare* (Mill.) (Umbelliferae/Apiaceae)

ARAUJO R.O.*¹; SOUZA I.A.²; SENA K.X.F.R.²; BRONDANI, D.J.; SOLIDÔNIO, E.G.⁴

¹Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas-Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Brasil. ²Departamento de Antibióticos-Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Brasil. ³Departamento de Ciências Farmacêuticas-Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Brasil. ⁴Departamento de Energia Nuclear- Universidade Federal de Pernambuco-UFPE, Brasil. *rosilma23@hotmail.com

RESUMO: *Foeniculum vulgare* Mill. é espécie herbácea da família Umbelliferae, nativa da região do Mediterrâneo e da Ásia Menor, amplamente distribuída em todo o território brasileiro. É conhecida popularmente como funcho ou erva-doce e usada na medicina como analgésico, digestivo, carminativo, diurético, expectorante, lactígeno, anti-inflamatório, e antiespasmódico. O extrato bruto etanólico para a verificação das atividades biológicas foi preparado a partir de sementes compradas no comércio. Para a realização do perfil fitoquímico foi utilizada a cromatografia em camada delgada analítica; a atividade antimicrobiana foi determinada pelo teste de difusão em disco de papel e da concentração inibitória mínima (CIM); a atividade antinociceptiva foi realizada pelo método de contorções abdominais em cobaias. Os microorganismos testados foram isolados clínicos multirresistentes obtidos do Setor de Bacteriologia do Hospital das Clínicas de Pernambuco. O estudo fitoquímico identificou a maioria dos compostos secundários presentes na fração metanólica das sementes, sendo eles: triterpenos, glicosídeos de flavanóides, terpenos menores (monoterpenóides, sesquiterpenóide e diterpenóides), e açúcares redutores. Os resultados obtidos mostraram que o extrato etanólico apresentou maior atividade frente à *Micrococcus* spp. (CIM=250µg/mL). Os resultados da avaliação da atividade antinociceptiva demonstraram que apenas a dosagem de 298 mg/Kg quando comparado com o padrão indometacina conseguiu uma redução significativa no número de contorções abdominais dos animais. Estudos posteriores deverão ser realizados para a identificação e isolamento de alguns compostos secundários, bem como a realização de outros protocolos de analgesia.

Palavras-chave: erva-doce, atividade antimicrobiana, *Foeniculum vulgare*.

ABSTRACT: Biological evaluation of *Foeniculum vulgare* (Mill.) (Umbelliferae/Apiaceae). *Foeniculum vulgare* Mill. (Umbelliferae) is a herbaceous plant of the family Umbelliferae, native to the Mediterranean and Asia Minor region and widely distributed all over the Brazilian territory. It is commonly known as fennel or “erva-doce” and has been used in medicine as analgesic, digestive, carminative, diuretic, expectorant, lactigenous, anti-inflammatory, and antispasmodic agent. Crude ethanolic extract for the verification of biological activities was prepared from seeds bought in the market. For the phytochemical profile, analytical thin-layer chromatography was used; the antimicrobial activity was determined by the paper disc diffusion test and minimum inhibitory concentration (MIC); the antinociceptive activity was verified by the method of abdominal writhings in the animals. The tested microorganisms were multiresistant clinical isolates obtained from the Bacteriology Sector of the Clinical Hospital of Pernambuco. The phytochemical study identified the majority of secondary compounds present in the methanolic fraction of seeds, as follows: triterpenes, flavanoid glycosides, smaller terpenes (monoterpenoids, sesquiterpenoids and diterpenoids) and reducing sugars. The obtained results showed that the ethanolic extract had greater activity against *Micrococcus* spp. (MIC=250µg/mL). Results of the evaluation of the antinociceptive activity demonstrated that only the dosage of 298 mg/Kg, compared to the indomethacin pattern, led to a significant reduction in the number of abdominal writhings in the animals. Further studies will be carried out for the identification and isolation of some secondary compounds, as well as other analgesic protocols.

Keywords: fennel, antimicrobial activity, *Foeniculum vulgare*.

INTRODUÇÃO

Foeniculum vulgare Mill. família Umbelliferae/Apiaceae é uma erva aromática anual, bienal ou perene, dependendo da variedade, conhecida desde a antiguidade na Europa e na Ásia Menor. Segundo alguns autores, é originária do continente africano, Ilha da Madeira e Açores, outros acreditam que é nativa da Europa Meridional, Central e da Ásia Menor. Possivelmente, veio para o Brasil junto com os colonos portugueses (SILVA, 2001).

Trabalhos prévios mostraram que o óleo essencial de *Foeniculum vulgare* Mill. contém anetol, estragol e fenchona mais uns 18 componentes adicionais os quais incluem α -pineno, camfeno, β -pineno, β -felandreno, myrceno, limoneno, α -felandreno, o γ -terpineno, o cis-ocimeno, terpinoleno, carvacol, cânfora, borneol, cineol e p-cimeno (RUBERTO et al., 2000; MIMICA-DUKIC, 2003). Estes compostos, em especial carvacol, borneol, cânfora e anetol, foram relatados por inibir o crescimento de infestações de *Phytophthora*, fungo fitopatogênico causador da doença da ferrugem, principalmente em culturas de tomate. A produção de esporangial foi inibida pelo óleo essencial da erva-doce (SOYLU; SOYLU; KURT, 2006)

As atividades antiinflamatória, analgésica e antioxidante da fruta da erva-doce foram relatadas por Choi e Hwang (2004). O óleo essencial da erva-doce exibiu atividade anti-bacteriana (RUBERTO et al, 2000). Os extratos aquosos e etanólico das sementes de erva-doce exibiram potenciais propriedades antioxidantes em estudos *in vitro* (OKTAY; GULCIN; KUFREVIOLU, 2003). Extratos metanólicos da planta inteira administrada por quatro dias sucessivos melhorou o efeito amnésico da escopolamina (0.4 mg/kg) e o envelhecimento induziu déficits de memória nos ratos. Esta propriedade da planta pode ser útil para o tratamento de desordens cognitivas como demência e doença de Alzheimer (JOSHI, 2006).

Vários estudos biológicos têm sido realizados com o óleo essencial desta espécie. Dentre as mesmas óleo essencial de sementes de erva-doce demonstrou atividades caminativa e estimulante, assim como ações espasmolíticas no músculo liso de animais experimentais. Outros efeitos benéficos têm sido descritos na literatura quando da utilização da erva-doce como os relatados por Singh & Kale (2008) quanto as propriedades antiinflamatórias, analgésicas e antioxidantes das sementes da erva-doce.

O uso de extratos de plantas e seus constituintes fitoquímicos, com conhecidas propriedades antimicrobianas, são de grande importância terapêutica em infecções. A ação antimicrobiana deve-se a síntese de componentes

do metabolismo secundário dos vegetais, tais como óleos essenciais, compostos fenólicos e taninos. Com base em relatos da literatura esta pesquisa investigou o perfil fitoquímico, a ação antimicrobiana frente a isolados clínicos Gram-positivos e a atividade antinociceptiva do extrato etanólico das sementes de *Foeniculum vulgare* Mill.

MATERIAL E MÉTODOS

Material botânico

Amostras das sementes de *Foeniculum vulgare* Mill foram adquiridas através de compra no estabelecimento M. J. Bandeira-Produtos Naturais (localizado na Praça Dom Vital, Nº. 101- São José-Recife-PE) em de outubro de 2007.

O material vegetal acondicionado em sacos plásticos foi levado ao Horto do Biotério do Departamento Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco e mantido em local arejado, à temperatura ambiente.

Uma exsicata da espécie vegetal foi depositada no Herbário Professor Geraldo Mariz do Departamento de Botânica/CCB/UFPE com o nº 50.572.

Preparação do extrato

Para obtenção do extrato das sementes do *Foeniculum vulgare* Mill. foi utilizado o processo de maceração. O material, após limpeza e pesagem, foi submetido a maceração com álcool absoluto. Permaneceu em contato com o solvente por um período de 48 horas à temperatura ambiente, sendo agitado manualmente, esporadicamente, e mantido ao abrigo da luz. O extrato bruto etanólico (EBE) obtido após filtração foi concentrado, à temperatura ambiente em rotaevaporador até *secura*. Sendo o redimento obtido utilizando-se 1060g do material seco de 39,85g para o EBE, e para as demais partições de 12,41g; 6,86g; 3,28g; 3,16g e 3,04g, respectivamente para extrato hexânico, acetato de etila, butanólico, metanólico e acetônico.

Investigação fitoquímica

Para a execução dos ensaios fitoquímicos cerca de 3 g do extrato bruto etanólico seco foi submetido à infusão metanólica, hexânica, acetato de etila, butanólica e acetona durante 30 minutos respectivamente. Alíquotas destes extratos (10 μ L) foram submetidas à cromatografia em camada delgada analítica (CCDA), empregando-se como fase estacionária placas cromatográficas prontas de gel de sílica (Merck-Alemanha, art.105554), diversas fases móveis e reveladores consoante a classe de compostos a analisar.

Avaliação da atividade antimicrobiana

A atividade antimicrobiana foi verificada *in vitro*, pelo método de difusão em disco de papel (BAUER; KIRBY, 1966). Discos de 6 mm de diâmetro foram impregnados com 10µL da solução do extrato bruto a 200.000µg/mL, de modo que cada disco ficou com a concentração de 2.000µg/mL.

Os discos foram colocados sobre a superfície do meio semeado com as suspensões microbianas padronizadas pela turvação equivalente ao tubo 0,5 da escala de McFarland em solução fisiológica (BARRY, 1986; KONEMAN, 1997), correspondente a uma concentração de aproximadamente 10⁷UFC/mL para leveduras e 10⁸UFC/mL para bactérias, em placas de Petri. As placas foram incubadas a 35°C, por um período adequado de acordo com o microrganismo. Após o período de incubação foi realizada a leitura dos resultados, pela medição do diâmetro do halo de inibição formado em volta do disco.

Foram considerados resultados significativos halos de 12 mm ou mais para os isolados clínicos. Os testes foram realizados em triplicata e os resultados expressos pela média aritmética dos diâmetros dos halos de inibição em mm e calculado o desvio padrão. Foram usados com padrões a Ampicilina e a Cefalexina nas concentrações 10µg e 30µg, respectivamente. O extrato etanólico foi testado frente os isolados clínicos, de diversas origens e setores hospitalares, obtidos e identificados no Setor de Bacteriologia da Unidade Laboratorial do Hospital das Clínicas da UFPE. As cepas desses microrganismos sua maioria apresentam multirresistência. Foram testadas 12 cepas de *Staphylococcus aureus*, 2 de *Micrococcus* spp. e 8 de *Enterococcus* spp.

A concentração inibitória mínima (CIM) do extrato etanólico de *F. vulgare* Mill foi determinada para todos os micro-organismos testados, pelo método de diluições seriada em meio sólido (Carvalho et al. 2002). Aliquotas de diferentes volumes (1,0; 0,5; 0,25; 0,125; 0,06; 0,03 e 0,01mL) de uma solução a 20.000µg/mL foram colocadas em placa de Petri e homogeneizadas com 10mL do meio de cultura ideal para o crescimento de cada microrganismo. Os microrganismos teste foram semeados, em estrias, sobre a superfície do meio e as placas foram incubadas à 35°C e 30°C por 24 h e 48 h. Valores de CIM iguais ou superiores a 1000µg/mL não foram considerados satisfatórios (HOLETZ et al. 2002).

Contorções abdominais

Cinco grupos de 6 camundongos cada, mantidos em jejum de 6 a 12 horas foram tratados por via oral (gavagem) com o extrato etanólico nas dosagens de 74,5, 149 e 298mg/ Kg, indometacina (10mg/ Kg) e controle (NaCl 0,9%). Após 60 minutos do tratamento, foi administrado ácido acético a 1%

diluído em salina (0,1ml/ 10g, i.p.).

As contrações da parede abdominal seguido de torções do tronco e extensão dos membros posteriores (KOSTER; ANDERSON; BEER, 1959) produzidas pelo ácido acético foram contadas durante 30 minutos. Os resultados foram expressos como o número de contorções abdominais acumuladas a cada 5 minutos durante 30 minutos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A abordagem fitoquímica da espécie *F. vulgare* Mill. realizada na fração metanólica e na fração acetato de etila das sementes do vegetal, indicou a marcante presença de triterpenos, glicosídeos de flavanóides, terpenos menores (monoterpenóides, sesquiterpenóide e diterpenóides) e açúcares redutores. Enquanto que na fração hexânica não foram observados os glicosídeos de flavanóides, embora alguns derivados cafeoil foram visualizados. A ausência dos compostos polifenóis nesta fração pode ser explicada pelo fato deste composto ser bastante polar devido à presença de hidroxilas no mesmo (tabela 1).

Os polissacarídeos foram verificados no extrato, ocorrendo a presença do açúcar (glicose). Os polissacarídeos pertencem a uma importante classe dos produtos naturais dotados de atividade bioativas como: antiinflamatórios, antivirais, hipoglicemiantes, anticoagulantes, imunoestimuladores, antitumorais e como quimioprevenção a diversos tipos de câncer (SIMÕES, 2004).

Na fração acetônica foram visualizados monoterpenóides, sesquiterpenóide e diterpenóides, bem como triterpenos. Estes compostos terpenóides são as primeiras substâncias que compõem as misturas chamadas óleos voláteis e são os responsáveis por atividades farmacológicas com anti-séptico e expectorante, bem como bactericida fungicida, analgésica e antitumoral, dados já relatados sobre o óleo essencial de *F. vulgare* Mill (MENDES, 2004). Todos os outros grupos investigados não foram constatados, nem mesmo como traços.

O extrato etanólico apresentou atividade antimicrobiana intermediária para *Staphylococcus aureus*, sensível para *Micrococcus* spp, entretanto demonstrou baixa atividade frente às cepas de *Enterococcus faecalis*.

A padronização dos halos de inibição em mm para os antibióticos utilizados nos antibiogramas das cepas de *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus* spp., *Enterococcus faecalis* de acordo com o CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute / M100-S14) estabelece que para a Ampicilina 10µg é considerado halo sensível ≥ 29, intermediário não existe halo definido e halo resistente ≤ 28. Para a Cefalexina 30µg halo sensível ≥ 18, halo intermediário

TABELA 1 - Metabólitos secundários das frações das sementes de *F. vulgare* Mill.

Metabólitos	Frações				
	Metanólica	Hexânica	Acetato de etila	Butanólica	Acetônica
Alcalóides	-	-	-	-	-
Monoterpenóides, sesquiterpenóides e diterpenóides	-	-	+++	-	++
Triterpenóides	+++	-	+++	-	+++
Iridóides	-	-	-	-	-
Saponinas	-	-	-	-	-
Açúcares redutores	+++	-	-	-	-
Glicosídeos de Flavanóides	+++	+	+	+	+

Expressão dos resultados: (+) = positivo; (-) = negativo; (+++) = fortemente positivo

15-17 e halo resistente ≤ 14 .

Para as cepas de *S. aureus* de numeração 1, 2, 3, 4, 9, 10 o extrato etanólico apresentou halos de inibição de $11,3 \pm 0,6$; $12,0 \pm 0,0$; $13,0 \pm 1,0$; $11,0 \pm 0,0$; $12,0 \pm 0,0$; $11,3 \pm 0,6$ respectivamente, estes resultados indicam uma atividade antimicrobiana baixa. Com relação aos padrões utilizados para estes microrganismo verificou-se que as cepas 1 e 2 apresentaram resistência à Cefalexina $30\mu\text{g}$ ($0,0 \pm 0,0$ e $12,6 \pm 0,6$), enquanto as cepas 3, 4, 9, 10 foram sensíveis ($33,6 \pm 0,6$; $26,6 \pm 0,6$; $31,6 \pm 0,6$; $28,3 \pm 0,6$), para o padrão Ampicilina $10\mu\text{g}$ apresentaram resistência as cepas: 1, 2, 3 e 10 ($0,0 \pm 0,0$; $13,3 \pm 0,6$; $16,6 \pm 0,6$ e $22,3 \pm 0,6$), enquanto as cepas 4 e 9

foram sensíveis ($39,3 \pm 0,6$ e $35,6 \pm 0,6$). A avaliação da concentração inibitória mínima (CIM) do extrato das sementes de *F. vulgare* Mill para estas estirpes microbianas foi de $2000\mu\text{g/mL}$ (Tabela2).

Em relação às cepas de *S. aureus* de numeração 5 e 11 o extrato promoveu halos de inibição de $14,3 \pm 0,6$ e $14,6 \pm 0,6$, desta forma o extrato apresentou atividade antimicrobiana intermediária. Em comparação com os padrões, a cepa 11 foi resistente a Cefalexina $30\mu\text{g}$ ($11,6 \pm 0,6$) e resistente a Ampicilina $10\mu\text{g}$ ($15,6 \pm 0,6$), enquanto que a cepa 5 foi sensível a Cefalexina $30\mu\text{g}$ ($34,3 \pm 0,6$) e e resistente a Ampicilina $10\mu\text{g}$ ($28,6 \pm 0,6$). A concentração inibitória mínima (CIM) do extrato

TABELA 2. Atividade antimicrobiana de extrato bruto etanólico e CIM das sementes de *Foeniculum vulgare* Mill. realizada a partir da planta seca ($2000\mu\text{g}/\text{disco}$) frente a cepas de *Staphylococcus aureus*.

Micro-organismos	EBE ($2000\mu\text{g}/\text{disco}$)	Padrões		CIM ($\mu\text{g/mL}$)
		Cefalexina $30\mu\text{g}$	Ampicilina $10\mu\text{g}$	
Halos de inibição em mm ($X \pm \delta$)				
1.[21231] <i>S. aureus</i>	$11,3 \pm 0,6$	$0,0 \pm 0,0$	$0,0 \pm 0,0$	2000
2.[20981] <i>S. aureus</i>	$12,0 \pm 0,0$	$12,6 \pm 0,6$	$13,3 \pm 0,6$	2000
3.[21036] <i>S. aureus</i>	$13,0 \pm 1,0$	$33,6 \pm 0,6$	$16,6 \pm 0,6$	2000
4.[20489] <i>S. aureus</i>	$11,0 \pm 0,0$	$26,6 \pm 0,6$	$39,3 \pm 0,6$	2000
5.[20794] <i>S. aureus</i>	$14,3 \pm 0,6$	$34,3 \pm 0,6$	$28,6 \pm 0,6$	1000
6.[20905] <i>S. aureus</i>	$17,0 \pm 1,0$	$0,0 \pm 0,0$	$0,0 \pm 0,0$	500
7.[20092] <i>S. aureus</i>	$16,0 \pm 0,0$	$0,0 \pm 0,0$	$10,3 \pm 0,6$	500
8.[20449] <i>S. aureus</i>	$18,0 \pm 0,6$	$0,0 \pm 0,0$	$13,3 \pm 0,6$	500
9.[19924] <i>S. aureus</i>	$12,0 \pm 0,0$	$31,6 \pm 0,6$	$35,6 \pm 0,6$	2000
10.[20696] <i>S. aureus</i>	$11,3 \pm 0,6$	$28,3 \pm 0,6$	$22,3 \pm 0,6$	2000
11.[21141] <i>S. aureus</i>	$14,6 \pm 0,6$	$11,6 \pm 0,6$	$15,6 \pm 0,6$	1000
12.[S.IDT] <i>S. aureus</i>	$16,6 \pm 0,6$	$29,6 \pm 0,6$	$34,6 \pm 0,6$	500

EBE: Extrato bruto etanólico; *S. aureus*: *Staphylococcus aureus*; S.IDT: sem identificação

para estas cepas microbianas foi de 1000 µg/mL (Tabela 2).

Com relação à atividade do extrato etanólico de *F. vulgare* Mill frente às cepas de *Staphylococcus aureus* verificou-se uma atividade satisfatória para as cepas de numeração 6, 7, 8, 12 verificando halos de inibição de 17,0± 1,0; 16,0± 0,0; 18,0± 0,6 e 16,6± 0,6, respectivamente. Correlacionando com os padrões observou-se que as cepas 6, 7 e 8 demonstraram resistência a Cefalexina 30µg (0,0± 0,0; 0,0± 0,0 e 0,0± 0,0), embora a cepa 12 foi sensível (29,6±0,6), o mesmo resultado também foi verificado para a Ampicilina 10 µg onde as cepas 6, 7 e 8 foram resistentes (0,0± 0,0; 10,3± 0,6 e 13,3± 0,6) e a cepa 12 sensível (34,6± 0,6). A concentração inibitória mínima (CIM) do extrato para estas estirpes microbianas foi de 500 µg/mL (Tabela 2).

O extrato etanólico demonstrou baixa atividade antimicrobiana para a maioria das cepas de *Enterococcus faecalis* como: 1, 2, 3, 4, 5, 7 e 8 apresentando halos de inibição (10,0± 0,0; 11,3± 1,5; 11,0± 0,0; 11,3± 1,5; 8,3± 1,1; 8,3± 1,1 e 10,0 ± 1,00 respectivamente. Embora o extrato tenha

demonstrado atividade intermediária frente a cepa 6 (14,3± 0,6). Todas as cepas 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8 mostraram suscetibilidade intermediária frente à Cefalexina 30µg (15,6± 0,6; 14,3± 0,6; 16,6± 0,6; 17,3± 2,0; 16,6± 0,6; 15,6± 0,6; 16,3± 1,1 e 17,3± 2,0). Da mesma maneira todas as cepas 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8 foram sensíveis a Ampicilina 10 µg (39,6± 0,6; 37,6± 0,6; 38,3± 0,6; 36,6± 0,6; 37,6± 0,6; 36,0± 1,0; 37,3 ± 0,6 e 38,6± 0,6). A concentração inibitória mínima (CIM) do extrato para as estirpes microbianas 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8 foi de 2000 µg/mL e para a cepa 6 foi de 1000 µg/mL (Tabela 3).

Para as estirpes de *Micrococcus* spp de numeração 1 e 2 o extrato apresentou halos de inibição de 20,3±0,6 e 24,0±1,0, permitindo concluir que o mesmo possui atividade satisfatória frente a estas cepas. Com relação aos padrões utilizados para estes micro-organismos verificou-se que as cepas 1 e 2 foram sensíveis à Cefalexina 30µg (35,3± 0,6 e 35,6± 0,6), para o padrão Ampicilina 10 µg apresentaram também sensibilidade (36,3± 0,6 e 34,6± 0,6). A concentração inibitória mínima (CIM) do extrato para as estirpes 1 e 2 foi de 250µg/mL e

TABELA 3. Atividade antimicrobiana de extrato bruto etanólico e CIM das sementes de *Foeniculum vulgare* Mill. Realizada a partir da planta seca (2000 µg/disco) frente a cepas de *Enterococcus faecalis*.

Micro-organismos	EBE (2000 µg/disco)	Padrões		CIM (µg/mL)
		Cefalexina	Ampicilina	
		30µg	10 µg	
Halos de inibição em mm (X±δ)				
1.[21675] <i>E. faecalis</i>	10,0 ± 0,0	15,6 ± 0,6	39,6 ± 0,6	2000
2.[21752] <i>E. faecalis</i>	11,3 ± 1,5	14,3 ± 0,6	37,6 ± 0,6	2000
3.[21944] <i>E. faecalis</i>	11,0 ± 0,0	16,6 ± 0,6	38,3 ± 0,6	2000
4.[24614] <i>E. faecalis</i>	11,3 ± 1,5	17,3 ± 2,0	36,6 ± 0,6	2000
5.[24622] <i>E. faecalis</i>	8,3 ± 1,1	16,6 ± 0,6	37,6 ± 0,6	2000
6.[24708] <i>E. faecalis</i>	14,3 ± 0,6	15,6 ± 0,6	36,0 ± 1,0	1000
7.[24902] <i>E. faecalis</i>	8,3 ± 1,1	16,3 ± 1,1	37,3 ± 0,6	2000
8.[25392] <i>E. faecalis</i>	10,0 ± 1,0	17,3 ± 2,0	38,6 ± 0,6	2000

EBE: Extrato bruto etanólico; *E. faecalis*: *Enterococcus faecalis*

TABELA 4. Atividade antimicrobiana de extrato bruto etanólico e CIM das sementes de *Foeniculum vulgare* Mill. Realizada a partir da planta seca (2000 µg/disco) frente a cepas de *Micrococcus* spp.

Micro-organismos	EBE (2000 µg/disco)	Padrões		CIM (µg/mL)
		Cefalexina	Ampicilina	
		30µg	10 µg	
Halos de inibição em mm (X±δ)				
1.[21061] <i>Micrococcus</i> spp	20,3±0,6	35,3 ± 0,6	36,3 ± 0,6	250
2.[21068] <i>Micrococcus</i> spp	24,0±1,0	35,6 ± 0,6	34,6 ± 0,6	500

EBE: Extrato bruto etanólico;

500µg/mL, respectivamente (Tabela 4).

Os resultados obtidos em relação às cepas de *S. aureus* mostraram-se muito variáveis, uma vez que cada cepa apresentava um padrão de resistência diferente entre si à antibióticos padronizados e previamente testados no local de coleta, onde algumas cepas eram multirresistentes, enquanto outras eram bastante sensíveis.

Em relação aos *Enterococcus faecalis* como geralmente são cepas freqüentemente multirresistentes, os resultados obtidos eram esperados. E para as cepas de *Micrococcus* spp o extrato demonstrou boa atividade antimicrobiana.

Em comparação com outros trabalhos a atividade antimicrobiana de *F. vulgare* Mill frente às bactérias Gram-positivas verificada no presente estudo, não foi constatada para o óleo essencial extraído das raízes, da haste, das sementes e das folhas da erva-doce pelo método da destilação de vapor da água frente a *S. aureus* ATCC 25923 e *B. subtilis* (ABED, 2007).

Estudos realizados por Mininja; Thoppil (2002) demonstraram que o óleo essencial das sementes de *Foeniculum vulgare* Mill. possui atividade antimicrobiana contra bactérias e fungos, principalmente contra a *Candida albicans*. A atividade antimicrobiana é atribuída a presença de componentes biologicamente ativos presentes no óleo essencial, principalmente o anetol que corresponde à 99.69% do óleo essencial presente nas sementes.

Segundo Cantore et al (2004), o óleo essencial da semente de *Foeniculum vulgare* Mill, inibiu o crescimento de cepas de importantes bactérias patogênicas de plantas tais como: gênero de bactérias Gram-negativas (*Pseudomonas*, *Erwinia*, *Xantomonas* e *Agrobacterium*) e gênero de bactérias Gram-positivas (*Clavibacter*, *Curtobacterium* e *Rhodococcus*).

Vários estudos referentes à atividade antimicrobiana estão sendo realizados com *Foeniculum vulgare* Mill, entretanto, a maioria dos estudos é realizada com bactérias pertencentes a coleções microbianas. Por isso, a ausência de dados referentes a estudos antimicrobianos com cepas de isolados clínicos dificulta a discussão do presente estudo.

Os resultados obtidos com a administração prévia do extrato etanólico de *F. vulgare* Mill, nas doses de 298, 149 e 74,5mg/Kg demonstraram que apenas a dosagem de 298mg/Kg quando comparado com o padrão indometacina conseguiu uma redução significativa no número de contorções abdominais dos animais. As demais dosagens apresentaram efeito dose-resposta, uma vez que a diminuição gradativa das dosagens implicou em resultados semelhantes aos obtidos com o controle salina (Figura 1).

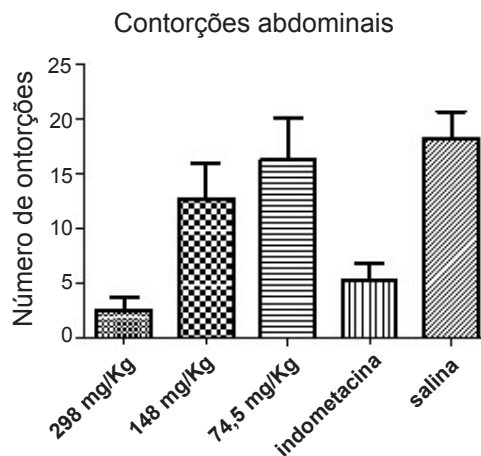


FIGURA 1. Efeito do extrato etanólico de *F. vulgare* Mill. nas dosagens de 298, 149 e 74,5 mg/Kg nas contorções abdominais em camundongos. Resultados expressos em média \pm desvio padrão. *P < 0,05 vs. controle.

Uma vez que este teste permite a avaliação de substâncias analgésicas de ação central e/ou periféricas dotadas dos mais variados mecanismos de ação, os resultados obtidos neste trabalho corroboram com o estudo de Choi; Hwang (2004) no qual, a administração oral de 200mg/kg do extrato metanólico de *F. vulgare* Mill. reduziu significativamente a estimulação térmica do hot-plate. O teste do Hot-plate é usado normalmente para estudar os efeitos analgésicos centrais das drogas. Conseqüentemente, é provável que o extrato metanólico de *F. vulgare* Mill. produza seus efeitos analgésicos centralmente ou, como já conhecido para os AINE'S, pois ele inibiu os receptores da dor no local da inflamação.

Os estudos de Choi; Hwang, 2004 também relataram a administração oral do extrato metanólico das sementes da erva-doce que exibiu efeito inibitório frente às doenças inflamatórias agudas, subagudas e reações alérgicas tipo IV além de ter mostrado um efeito analgésico central. Foi observado um aumento significativamente das atividades específicas da superóxido dismutase (SOD) e da catalase, assim como a significativa diminuição do nível da lipoproteína de alto peso molecular do colesterol adicionada a uma diminuição no dano peroxidativo.

Estudos adicionais são necessários para melhor elucidar o mecanismo de ação da atividade analgésica do extrato etanólico de *F. vulgare* Mill.

CONCLUSÃO

O estudo fitoquímico identificou a maioria dos compostos secundários presentes na fração metanólica e na fração acetato de etila das sementes do vegetal, sendo eles: triterpenos, glicosídeos de flavanóides, terpenos menores (monoterpenóides, sesquiterpenóide

e diterpenóides) e açúcares redutores.

O extrato etanólico das sementes de *F. vulgare* Mill. apresentou atividade intermediária frente a *S. aureus*, satisfatória para *Micrococcus* spp e baixa para *E. faecalis*. Vale ressaltar que esses resultados são de extrema importância devido aos fatos das amostras testadas serem multirresistentes e isoladas de ambiente hospitalar.

A atividade antimicrobiana observada para os extratos das sementes de *F. vulgare* Mill. representa mais uma alternativa terapêutica para infecções com micro-organismos resistentes aos antibióticos sintéticos disponíveis no mercado.

Os resultados da avaliação da atividade antinociceptiva demonstraram que apenas a dosagem de 298mg/Kg quando comparada ao padrão indometacina conseguiu uma redução considerável de contorções abdominais dos animais.

REFERÊNCIA

- ABED, K. F. Antimicrobial Activity of Essential Oils of some Medicinal Plants from Saudi Arabia. **Saudi Journal of Biological Sciences**. v.14, n.1, p.53-60, 2007.
- BARRY, A.L. **Procedure for testing antimicrobial agents in agar media: theoretical considerations**. In: Lorian V (ed) Antibiotics in Laboratory Medicine. Baltimore: Williams & Wilkins. p.13, 1986.
- BAUER, A. W.; KIRBY, W. M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. **American Journal of Clinical Pathology**. v.45, p.493-499, 1966.
- CANTORE, P. et al. Antibacterial Activity of *Coriandrum sativum* L. and *Foeniculum vulgare* Miller Var. Vulgare (Miller) Essential oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.52, p.7862-7866, 2004.
- CARVALHO, A.A. et al. Atividade antimicrobiana in vitro de extratos hidroalcoólico de *Psidium guajava* L. sobre bactérias Gram-negativas. **Acta Farmaceutica Bonaerense**. v.21, p. 255-258, 2002.
- CHOI, E.; HWANG, J. Antiinflammatory, analgesic and antioxidant activities of the fruit of *Foeniculum vulgare*. **Fitoterapia**. v.75, p.557-565, 2004.
- HOLETZ, F.B. et al, 2002. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. 97: 1027-1031.
- KONEMAN, E.W., 1997. **Diagnóstico microbiológico**. México: J. B. Lippincott Co.
- KOSTER, R.; ANDERSON, M.; BEER, E.J. Acetic acid for analgesic screening. **Federal procedures**. v.18, p. 412, 1959.
- JOSHI, H. Cholinergic basis of memory-strengthening effect of *Foeniculum vulgare* Linn. **Journal of Food Medicine**. v.9, n.3, p.413-417, 2006. In: SINGH, B.; KALE, R.K. Chemomodulatory action of *Foeniculum vulgare* (Fennel) on skin and forestomach papillomagenesis, enzymes associated with xenobiotic metabolism and antioxidant status in murine model system. **Food and Chemical Toxicology**. v.46, p.3842-3850, 2008.
- MENDES, C.L.A. **Triterpenóides e sua atividade antiinflamatória**. Portugal: Faculdade de Ciências e Tecnologias da Universidade Nova Lisboa. 2004.
- MIMICA-DUKIC, N. Essential oil composition and antifungal activity of *Foeniculum vulgare* Mill obtained by different distillation conditions. **Physiotherapy Research International**. v.17, n.4, p. 368-71, 2003. In: ABED, K.F. Antimicrobial Activity of Essential Oils of some Medicinal Plants from Saudi Arabia. **Saudi Journal of Biological Sciences**. v.14, n.1, p.53-60, 2007.
- MININJA, J.; THOPPHIL, J.E., 2002. Studies on Essential oil composition and microbicidal activities of two south Indian spices of the Apiaceae. **The Intern. J. of Aromatherapy**. 12 (4): 215.
- OKTAY, M., GULCIN, I., KUFREVIOGLU, I., 2003. Determination of in vitro antioxidant activity of fennel (*Foeniculum vulgare*) seed extracts. **Lebensm. Wiss. Technol.** 36, 263-271. In: SINGH, B.; KALE, R.K., 2008. Chemomodulatory action of *Foeniculum vulgare* (Fennel) on skin and forestomach papillomagenesis, enzymes associated with xenobiotic metabolism and antioxidant status in murine model system. **Food and Chemical Toxicology**: 46, 3842-3850.
- RUBERTO, G. et al. Antioxidant and antimicrobial activity of *Foeniculum vulgare* and *Crithmum maritimum* essential oils. **Planta Med.** v.66, n.8, p.689-693, 2000. In: SINGH, B.; KALE, R.K. Chemomodulatory action of *Foeniculum vulgare* (Fennel) on skin and forestomach papillomagenesis, enzymes associated with xenobiotic metabolism and antioxidant status in murine model system. **Food and Chemical Toxicology**. v.46, p.3842-3850, 2008.
- SILVA, R. C. **Plantas Medicinais na Saúde Bucal**. Vitória. 2001.
- SIMÕES, C.M.O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 4. ed. Porto Alegre / Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS / Ed. UFSC. p.13-40, 2004.
- SINGH, B.; KALE, R.K. Chemomodulatory action of *Foeniculum vulgare* (Fennel) on skin and for estomach papillomagenesis, enzymes associated with xenobiotic metabolism and antioxidant status in murine model system. **Food and Chemical Toxicology**. v.46, p.3842-3850, 2008.
- SHUKLA, H.S., DUBEY, P., CHATUVEDI, R.V. Antiviral properties of essential oils of *Foeniculum vulgare* and *Pimpinella anisum* L. **Agronomia**. v.9, p.277-279, 1988. In: SINGH, B.; KALE, R.K. Chemomodulatory action of *Foeniculum vulgare* (Fennel) on skin and forestomach papillomagenesis, enzymes associated with xenobiotic metabolism and antioxidant status in murine model system. **Food and Chemical Toxicology**. v.46, p.3842-3850, 2008.
- SOYLU, E.M.; SOYLU, S.; KURT, S. Antimicrobial activities of the essential oils of various plants against tomato late blight disease agent *Phytophthora infestans*. **Mycopathologia**. v.161, n.2, p.119-28, 2006. In: ABED, K.F. Antimicrobial Activity of Essential Oils of some Medicinal Plants from Saudi Arabia. **Saudi Journal of Biological Sciences**. v.14, n.1, p.53-60, 2007.