

Composição química e atividade antimicrobiana do óleo volátil de *Casearia sylvestris* Swart

The volatile oil composition and antimicrobial activity of *Casearia sylvestris* Swart

Naira F. Z. Schneider¹, Neusa F. Moura¹, Tiara Colpo^{1,2} & Adriana Flach³

RESUMO – A composição química do óleo volátil das folhas da *C. sylvestris* foi determinada CG/EM. Trinta e sete compostos foram identificados representando 90% da composição do óleo. O constituinte majoritário determinado foi o α -cariofileno (27,5%), seguido do biciclogermacreno (24,2%). O óleo volátil das folhas da *C. sylvestris* apresentou atividade antimicrobiana frente a todas bactérias testadas.

PALAVRAS-CHAVE – Óleo volátil, *Casearia sylvestris*, bioautografia.

SUMMARY – The volatile oil composition obtained from the leaves of *Casearia sylvestris*, have been investigated by GC and GC/MS. Twenty-seven compounds were identified representing ca. 90.0% of the oils. The main constituents of the oil of *C. sylvestris* were found to be α -cariophyllene (27.5%), and bicyclogermacrene (24.2%). The volatile oil showed antibacterial activity against the microorganisms tested.

KEYWORDS – Volatile oil, *Casearia sylvestris*, bioautography.

INTRODUÇÃO

Casearia *sylvestris* Swart, pertencente à família Flacortiaceae, é uma árvore com 4 a 6m de altura, cultivada na América do Sul, e conhecida popularmente como "Guaçatonga" ou "chá de bugre" (Lorenzi, *et. al.*, 2002). É muito utilizada na medicina popular pela sua ação contra picadas de cobras (Borges, *et. al.*, 2001), atividade analgésica e antiinflamatória, (Ruppert, *et. al.*, 1991). Estudos pré-clínicos demonstram que o extrato bruto das folhas da *C. sylvestris* protege a mucosa do estômago do rato (Sertié, *et. al.*, 2000) e que compostos isolados desta espécie apresentam atividade antitumoral (Itokawa, *et. al.*, 1988). O óleo volátil desta espécie também apresentou atividade contra gastrite, úlcera e a atividade antiinflamatória (Esteves, *et. al.*, 2005). O presente trabalho tem como objetivo determinar a composição química do óleo volátil da *C. sylvestris* e sua atividade antimicrobiana utilizando o método de bioautografia.

MATERIAIS E MÉTODOS

Extração do óleo volátil

As folhas da *C. sylvestris* coletadas na cidade de Chapecó, SC, Brasil em dezembro de 2004. Identificadas pela prof. Dra. Rosiane B. Denardin, e excisada da espécie (SMDB 9499) foi depositada no

Herbário da Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil. As folhas foram submetidas durante 4 horas a extração por arraste de vapor, utilizando um aparelho do tipo Clevenger, obtendo-se cerca de 0,6% de óleo volátil.

Análise cromatográfica

O óleo extraído foi submetido à análise em cromatógrafo gasoso (CG), modelo Varian 3800, equipado com coluna capilar de sílica fundida (25m x 0.25mm, 0.25 μ m) recheada com SE-54. Para análise no CG foi utilizado He (1mL/min) como gás de arraste, a temperatura do injetor foi de 200°C; temperatura FID 280°C; temperatura da coluna 50 - 250°C a 4°C/min.

Para o CG/EM o equipamento utilizado foi HP 5973-6890 GC-MSD com sistema de operação em modo EI a 70 eV, equipado com coluna capilar HP-5 (30m x 0.25mm, 0.25 μ m). As condições de temperatura foram as mesmas utilizadas para o CG.

As identificações dos compostos foram baseadas no cálculo do índice de Kovat's e na comparação com espectros de massa da NBS (Massada, 1995) e por Adams (Adams, 1995).

Atividade antimicrobiana

A atividade antimicrobiana da *C. sylvestris* foi realizada no Laboratório de Microbiologia da UNOCHAPECÓ.

Recebido em 19/8/2006

¹Professora Dra. em Química Orgânica, Centro de Ciências Agro Ambientais e de Alimentos, Unochapecó.

²Acadêmicas do curso de Farmácia, Unochapecó.

³Professora Dra. em Química Orgânica, Centro de Ciências e Tecnologia, UFR.

TABELA I
Componentes do óleo volátil da *C. sylvestris*

Compostos	KI	% no óleo	Método de Identificação
α -pineno	939	2.0	CG/MS
Alcool benzílico	1031	0.1	CG/MS
Linalol	1111	0.8	CG/MS
Pulegona	1236	0.5	CG/MS
Elemeno	1333	1.1	CG/MS
Eugenol	1348	0.2	CG/MS
α -copaeno	1374	0.6	CG/MS
β -bourboneno	1387	0.3	CG/MS
β -elemeno	1388	1.3	CG/MS
α -gurgujeno	1405	0.1	CG/MS
α -cariofileno	1425	27.5	CG/MS
χ -elemeno	1427	0.2	CG/MS
β -gurjuneno	1430	0.4	CG/MS
Aromandreno	1437	0.3	CG/MS
α -humuleno	1456	3.9	CG/MS
Alloaromadendrene	1458	0.3	CG/MS
Muuroleno	1470	0.2	CG/MS
Germacreno D	1482	7.8	CG/MS
Biciclogermacreno	1500	24.2	CG/MS
α -bisaboleno	1501	0.7	CG/MS
α -bisaboleno	1507	0.2	CG/MS
χ -Cadineno	1511	0.3	CG/MS
Cubebol	1513	0.4	CG/MS
Δ -cadineno	1516	0.6	CG/MS

O método utilizado foi a Bioautobiografia, onde os microorganismos *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Micrococcus* (isolado), *Shigella flexnerii* (isolado), *Enterobacter* (isolado), *Staphylococcus epidermitis* (isolado), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Salmonella* (isolado), foram testados frente ao óleo volátil da *C. sylvestris*.

Os microorganismos foram repicados em caldo Ágar Nutriente Müeller-Hinton e depois de 48 horas foram diluídos em solução salina 0,8%, (inóculo), sendo comparados com a escala padrão de McFarland.

Em balão de fundo chato contendo o meio Ágar Nutriente esterilizado foi adicionado, 5mL do inóculo de cada microorganismo testado, e então adicionados à placas de Petry contendo placas cromatográficas com o óleo volátil em várias concentra-

ções. O controle positivo utilizado foi Cloranfenicol.

Os microorganismos inoculados foram levados em estufa a 37°C por 48 horas para o crescimento microbiano, sendo que, logo após as primeiras 24 horas, foi aplicada a solução reveladora TTC 0,5%, e a leitura dos resultados foi realizada 24 horas após a aplicação do revelador.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os compostos identificados no óleo volátil da *C. sylvestris*, encontram-se na Tabela I, por ordem de tempo de eluição da coluna. Foi possível identificar 90% dos constituintes presentes no óleo volátil da espécie, que apresentou-se rico em sesquiterpenos (86,6%)

Os compostos majoritários determinados foram α -cariofileno (27,5%) e o biciclogermacreno (24,2%).

Os monoterpenos (4,7%) encontram-se em pequena quantidade no óleo volátil da espécie, sendo que o β -pineno (2,0%) é o principal monoterpeno determinado.

Os resultados obtidos da atividade antimicrobiana do óleo são representados na Tabela II, onde o óleo da *C. sylvestris* inibiu todos os microorganismos testados, porém, mais eficaz contra bactérias gram-positivas.

O óleo apresentou maior atividade (1,3 μ g) frente às bactérias *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Micrococcus* e *Staphylococcus epidermitis*. Essas bactérias são responsáveis por endocardites, (Alterthum *et. al*, 2005) exceto *E.coli* que é responsável pela causa de meningites e infecções do trato urinário, (Murray *et. al*, 2004). Sendo assim, devido à baixa concentração para inibir as bactérias citadas, o uso do óleo volátil da *C. sylvestris* torna-se uma alternativa contra esses microorganismos.

Frente às bactérias *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter* e *Shigella flexnerii* o óleo apresentou uma menor inibição (12,8 μ g). Estas bactérias são responsáveis por gastroenterites, conhecida como shigelose (*S. flexnerii*); bacterimias, endocardites, podendo acarretar pneumonia (*S. aureus*), (Alterthum *et. al*, 2005) e infecções hospitalares que podem ocorrer em vários órgãos humanos, mais comumente causada pela bactéria (*Enterobacter*). (Murray *et. al*, 2004).

O principal monoterpeno encontrado na *C. sylvestris*, o β -pineno. Embora este composto apresente baixa concentração na planta, acredita-se que

TABELA II
Inibição dos microorganismos frente ao óleo da *C. sylvestris* em μ l

	Bactérias gram-negativo				Bactéria gram-positivo			
	<i>E. coli</i>	<i>Shigella</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Salmonella</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>Micrococcus</i>	<i>S. epidermitis</i>
Óleo da <i>Casearia sylvestris</i> em μ l	1,3	12,8	12,8	12,8	12,8	1,3	1,3	1,3

ele pode ser um dos responsáveis pela inibição do óleo da *C. sylvestris* frente a microorganismos testados. Isto porque o β -pineno tem sua ação comprovada frente aos microorganismos *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, (Burt, 2004)

A bactéria *Salmonella* esta amplamente distribuída em animais e no ambiente, ocorrendo vários surtos de infecção alimentar associada ao consumo de produtos contaminados. Frente a este aspecto, a bactéria *Salmonella* tem uma importante relação com a saúde pública, (Weiss *et. al*, 2002) sendo necessário seu amplo controle. O uso do óleo volátil da *C. sylvestris* frente a este microorganismo é uma alternativa natural, porém, são necessários estudos mais aprofundados para o seu controle e de outras bactérias.

CONCLUSÃO

Na determinação dos compostos químicos do óleo volátil da *C. sylvestris*, foi possível identificar quase a totalidade dos constituintes da planta (90%), sendo que (86,6%) são sesquiterpenos e (4,7%) monoterpenos, possuindo estes constituintes amplas atividades medicinais, o que justificaria o uso popular da planta para a medicina caseira.

O presente estudo da sua atividade antimicrobiana, corroborou na comprovação da ação medicinal dessa planta, principalmente pela atividade antimicrobiana apresentada pelo óleo volátil frente aos microorganismos testados (sendo que estes podem acarretar vários quadros patológicos). Sendo assim, o óleo da planta tem um forte poder medicinal, sendo um possível instrumento para a medicina alternativa.

REFERÊNCIAS

1. Adams, R. Identification of Essential Oil Components by Chromatography/Mass Spectroscopy. Allured Publishing, Carol Stream, IL. 1985.
2. Borges, M.H., Soares, A.M., Rodrigues, V.M., Oliveira, F., Franscheschi, A. M., Rucavado, A., Giglio, J.R., Homs-Brandeburgo, M.I., Neutralization of protease from *Bothrops* snake venoms by the aqueous extract from *Casearia sylvestris* (Flacourtiaceae). *Toxicon*, 2001. 39 (12), 1863-1869.
3. Esteve, I., Souza, I.R., Rodrigues, M., Cardoso, L.G.V., Santos, L.S., Sertié, J.A.A., Perazzo, F.F., Lima, L.M., Schneedorf, J. M., Bastos, J.K., Carvalho, J.T., Gastric: antiulcer and anti-inflammatory activities of the essential oil from *Casearia sylvestris* Sw. *Journal of Ethnopharmacology*, 2005. 101, 191-196.
4. Itokawa, H., Totsuka, N., Takeya, K., Watanabe, K., Obala, E., Antitumor principles from *C. sylvestris*, structure elucidation of new clerodane diterpenes by 2-D NMR spectroscopy. *Chem. Pharm. Bull (Tokyo)* 1988. 36(4), 1585-1588.
5. Lorenzi, H., Matos, F.J.A., Plantas medicinais do Brasil:nativas e exóticas. Instituto Plantarum, São Paulo, 2002. 220-221.
6. Massada, Y. Analysis of Essential Oil by Gas Chromatography and Spectrometry. J. Wiley & Sons, NY 1995.
7. Ruppert, B.M., Pereira, E.F, Gonçalves, L.C., Pereira, N.A., Pharmacological screening of plants recommended by folk medicine as anti-snake venom - I. Analgesic and anti-inflammatory activities. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 1991. 87(2), 203-205.
8. Sertié, J.A.A., Carvalho, J.C.T., Panizza, S., Antiulcer activity of crude extract from the leaves of *Casearia sylvestris*. *Pharmaceutical Biology*, 2000. 38, 112-119.
9. Murray P. R., Rosenthal K. S., Kobayashi G. S., Pfaller M. A *Microbiologia Médica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. p. 188 – 262.
10. Altherthun, F., Trabulsi, L.R., *Microbiologia*. São Paulo: Atheneu, 2005. p.187-213.
11. Weiss L. H. N. ; Resistência a antimicrobianos de amostras de *Salmonella* sp. Isoladas de suínos abatidos no Estado do RS. Capturado em 15 de dez. 2005. Online. Disponível na internet: <http://www.ufrgs.br/favet/revista/29-1/29-1-507.pdf>.
12. Burt, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. 2004.

Endereço para correspondência

Naira Fernanda Zanchett Schneider
Centro de Ciências Agro Ambientais e de Alimentos - Unochapecó.
Rua Sete de Setembro, 64 d - naira@unochapecó.edu.br
CEP: 89801-140, Chapecó-SC