

# AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA “IN VITRO” DA AROEIRA (*SCHINUS TEREBINTHIFOLIUS*) E DA CANELA (*CINNAMOMUM ZEYLANICUM*) FRENTE A LINHAGENS GRAM POSITIVAS E GRAM NEGATIVAS

*Antibacterial activity “in vitro” of mastic (Schinus terebinthifolius) and cinnamon (Cinnamomum zeylanicum) strains against Gram positive and Gram negative*

Vanessa Raquel Greatti<sup>1</sup>  
Fernando Tozze Alves Neves<sup>2</sup>  
Dorival José Coral<sup>3</sup>  
Paulo Henrique Weckwerth<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação- Universidade do Sagrado Coração

<sup>2</sup>Departamento de tecnologia farmacêutica – Universidade do Sagrado Coração

<sup>3</sup>Departamento de Ciências Biológicas – Universidade do Sagrado Coração

GREATTI, Vanessa Raquel *et al.* Avaliação da atividade antibacteriana “in vitro” da aroeira (*Schinus Terebinthifolius*) e da canela (*Cinnamomum Zeylanicum*) frente a linhagens Gram positivas e Gram negativas. *SALUSVITA*, Bauru, v. 33, n. 3, p. 345-354, 2014.

## RESUMO

**Introdução:** Devido ao número crescente de resistência bacteriana às múltiplas drogas antimicrobianas, há uma busca incessante por novas estratégias terapêuticas, e as plantas medicinais representam uma importante fonte para obtenção de novas substâncias. A atividade antimicrobiana de extratos e óleos essenciais de plantas medicinais tem sido comprovada em diversos estudos realizados em países

Recebido em: 01/07/2014

Aceito em: 12/11/2014

com flora diversificada. **Objetivo:** avaliar a atividade antibacteriana dos extratos hidroalcoólicos das folhas e casca da aroeira, do óleo essencial obtido do fruto da árvore, conhecido como pimenta-rosa, do extrato e do óleo essencial de canela e avaliar o potencial sinérgico entre os óleos essenciais sobre linhagens ATCC de *Enterococcus faecalis* (29212), *Pseudomonas aeruginosa* (27853), *Staphylococcus aureus* (25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922). **Método:** O teste de susceptibilidade bacteriana foi realizado pelo método da difusão sobre ágar Mueller-Hinton utilizando discos de papel impregnado com as substâncias em teste. **Resultados:** Para a *E. coli*, o extrato das folhas da aroeira e o óleo essencial dos frutos da árvore apresentaram atividade antibacteriana. Todas as linhagens em teste foram sensíveis ao óleo essencial de canela. Observou-se baixo potencial sinérgico entre os óleos essenciais frente à linhagem de *S. aureus*. **Conclusão:** O óleo essencial de canela apresenta atividade antibacteriana frente a linhagens Gram positivas e Gram negativas. Houve sinergismo entre os óleos essenciais frente a linhagem *S. aureus*. Os extratos hidroalcoólicos da casca da aroeira e de canela não apresentaram atividade antibacteriana. Futuras pesquisas devem ser realizadas para definição da melhor concentração e melhor solução extratora para as cascas da aroeira e de canela.

**Palavras-chave:** Antibacterianos. *Schinus terebinthifolius*. *Cinnamomum zeylanicum*.

## ABSTRACT

**Introduction:** Due to the increasing number of bacterial resistance to multiple antimicrobial drugs, there is a constant search for new therapeutic strategies, and medicinal plants represent an important source for obtaining new substances. The antimicrobial activity of extracts and essential oils of medicinal plants has been proven in several studies conducted in countries with diverse flora. **Objective:** To evaluate the antibacterial activity of hydroalcoholic extracts of the leaves and bark of the mastic, the essential oil obtained from the fruit of the tree, known as pink pepper, extract and essential oil of cinnamon and evaluate the synergistic potential between the essential oils on lines on ATCC strains of *Enterococcus faecalis* (29212), *Pseudomonas aeruginosa* (27853), *Staphylococcus aureus* (25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922). **Method:** Bacterial susceptibility testing was conducted by the diffusion method on Mueller-Hinton agar using paper discs impregnated with test

GREATTI, Vanessa Raquel et al. Avaliação da atividade antibacteriana "in vitro" da aroeira (*Schinus Terebinthifolius*) e da canela (*Cinnamomum Zeylanicum*) frente a linhagens Gram positivas e Gram negativas. *SALUSVITA*, Bauru, v. 33, n. 3, p. 345-354, 2014.

GREATTI, Vanessa Raquel *et al.* Avaliação da atividade antibacteriana "in vitro" da aroeira (*Schinus Terebinthifolius*) e da canela (*Cinnamomum Zeylanicum*) frente a linhagens Gram positivas e Gram negativas. *SALUSVITA*, Bauru, v. 33, n. 3, p. 345-354, 2014.

*substances. Results: For E. coli, the extract from the leaves of the mastic and the essential oil of the fruit of the tree showed antibacterial activity. Result: All test strains were sensitive to the essential oil of cinnamon. We observed low synergistic potential between essential oils against the strain of S. aureus. Conclusion: The essential oil of cinnamon has antibacterial activity against Gram positive strains and Gram negative. There was synergism between essential oils against S. aureus strain. The hydroalcoholic extracts of the bark of the mastic and cinnamon showed no antibacterial activity. Future research should be conducted to define the best concentration and better extraction solution to the shells of mastic and cinnamon.*

**Keywords:** *Antibacterial. Schinnus terebinthifolius. Cinnamomum zeylanicum.*

## INTRODUÇÃO

O Brasil possui a maior biodiversidade de plantas do mundo, com aproximadamente mais de 20% do número total de espécies do planeta. Com mais de 55 mil espécies descritas, o que corresponde a 22% do total mundial. Aproximadamente 48% dos medicamentos utilizados na terapêutica tem origem direta ou indiretamente, de produtos naturais. (CARVALHO *et al.* 2007)

Devido ao número crescente de resistência bacteriana às múltiplas drogas antimicrobianas, há uma busca incessante por novas estratégias terapêuticas, e as plantas medicinais representam uma importante fonte para obtenção de novas substâncias. (CANTON & ONOFRE, 2010; MULYANINGSIH *et al.* 2011; CHEN-LUNG *et al.* 2012)

A atividade antimicrobiana de extratos e óleos essenciais de plantas medicinais tem sido comprovada em diversos estudos realizados em países com flora diversificada. (SILVA *et al.* 2010; CARVALHO *et al.* 2013)

A resistência aos antimicrobianos ocorre devido a um fenômeno genético, relacionado com alteração de genes dos micro-organismos, que codificam diferentes mecanismos bioquímicos que impedem à ação dos medicamentos. (TENOVER, 2006).

Produtos do metabolismo secundário acumulado pelas plantas podem atuar potencializando a atividade antibacteriana de antibióticos cuja ação encontra-se limitada por mecanismos de multirresistência, ou como “atenuantes de virulência”, adequando a resposta do sistema imune do hospedeiro à infecção. (GONZÁLEZ-LAMOTHE *et al.* 2009)

Os óleos essenciais apresentam atividade contra vírus, fungos, protozoários e bactérias. Os compostos presentes nos óleos essenciais variam de acordo com a espécie, condições de coleta e extração, e as partes utilizadas. Os principais compostos isolados dos óleos essenciais são terpenos e seus derivados oxigenados, terpenoides, incluindo os compostos fenólicos (SOLÓRZANO-SANTOS & MIRANDA-NOVALES, 2011).

A *Schinus terebinthifolius* conhecida popularmente como aroeira, é uma espécie que pertence à família *Anacardiaceae*, é nativa da América tropical (Pio Correa, 1984) e possui propriedades medicinais, fitoquímicas e alimentícias.

Johann *et al.* 2010, realizaram um estudo com a *Schinus terebinthifolius*, onde isolaram um composto através da técnica de cromatografia que apresentou atividade antifúngica contra várias *P. brasiliensis* isoladas clinicamente.

Amorim & Santos 2003 relataram em um estudo que a aroeira pode ser utilizada no tratamento de vaginoses bacterianas. Atualmente a indústria farmacêutica busca extrair cada vez mais substâncias desta espécie, e já existe no mercado um medicamento produzido com o tanino extraído da aroeira, o Kronel<sup>®</sup>, produzido pela indústria farmacêutica Hebron<sup>®</sup>, com propriedades anti-inflamatória e cicatrizante para o uso ginecológico.

A canela (*Cinnamomum zeylanicum*) é utilizada há muitos anos no tratamento de inflamações, diabetes, tosses, resfriados, distúrbios gastrointestinais, úlceras estomacais e também possui atividade antifúngica, antibacteriana, antiparasitária e larvicida. (SAEED & TARIQ, 2006; LIMA *et al.* 2006).

A canela tem demonstrado fortes resultados frente à *Staphylococcus aureus* meticiclina resistente. (MANDAL *et al.* 2011)

Estudos recentes têm demonstrado que a canela possui atividade antimicrobiana frente a alguns microrganismos e que quando utilizado em combinação com antibióticos demonstram potencial sinérgico favorável frente a bactérias multirresistentes. (VOUKENG *et al.* 2012)

Al-Mariri & Safi 2014 realizaram um estudo *in vitro* utilizando 28 extratos e óleos de plantas e alguns antibióticos na concentração 5% frente a bactérias Gram negativas, o estudo mostrou que entre as substâncias que demonstraram resultados positivos estava a *Cinnamomum zeylanicum*.

## OBJETIVO

O objetivo do presente estudo foi avaliar a atividade antibacteriana dos extratos hidroalcoólicos das folhas e casca da aroeira, do óleo

GREATTI, Vanessa Raquel *et al.* Avaliação da atividade antibacteriana "*in vitro*" da aroeira (*Schinus Terebinthifolius*) e da canela (*Cinnamomum Zeylanicum*) frente a linhagens Gram positivas e Gram negativas. *SALUSVITA*, Bauru, v. 33, n. 3, p. 345-354, 2014.

GREATTI, Vanessa Raquel *et al.* Avaliação da atividade antibacteriana "in vitro" da aroeira (*Schinus Terebinthifolius*) e da canela (*Cinnamomum Zeylanicum*) frente a linhagens Gram positivas e Gram negativas. *SALUSVITA*, Bauru, v. 33, n. 3, p. 345-354, 2014.

essencial obtido do fruto da árvore, conhecido como pimenta-rosa, do extrato hidroalcoólico e do óleo essencial de canela, e avaliar o potencial senérgico entre os óleos essenciais sobre as linhagens ATCC de *Enterococcus faecalis* (29212), *Pseudomonas aeruginosa* (27853), *Staphylococcus aureus* (25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922).

## METODOLOGIA

### Obtenção dos extratos

Para o extrato da casca da aroeira utilizou-se cascas obtidas da empresa Santos Flora (São Paulo/SP). A casca foi triturada em liquidificador e após esse processo foi tamisada em malha (212 mm) para a obtenção de um pó homogêneo. Para a obtenção do extrato das folhas, foram colhidos galhos da árvore aroeira localizada na Universidade do Sagrado Coração (Bauru/SP, Brasil), e após identificação botânica as folhas foram colocadas em um desumidificador para a secagem; em seguida as folhas foram submetidas a moagem em moinho de facas e tamisadas em malha (212 mm).

Após este processo, o pó obtido foi fracionado em frascos contendo 6,5 gramas e 100 mL de álcool 70°GL. As soluções obtidas foram submetidas aos processos de aquecimento 40°C e agitação por 10 minutos. Este processo foi realizado durante sete dias. Após este período, os extratos foram filtrados a vácuo (para frascos esterilizados) e envasados em capela de fluxo laminar.

### Obtenção do óleo essencial da aroeira

O óleo essencial da aroeira foi obtido através da hidrodestilação do fruto da árvore, conhecido popularmente como pimenta-rosa, estes foram obtidos da empresa Bombay (São Paulo/SP). Foram pesados 100 gramas do fruto e em seguida foi adicionado 300 ml de água, e triturada em liquidificador por 15 segundos. Após este processo a amostra foi adicionada a um balão volumétrico de 500 ml para o início da destilação. A destilação foi realizada em um período de 1 hora, após este procedimento utilizou-se um funil de separação para a separação do óleo essencial da água.

O óleo essencial da canela (*Cinnamomum zeylanicum*) foi obtido da empresa Bio Essência (Jaú/SP, Brasil).

## Teste da difusão

O teste de susceptibilidade bacteriana foi realizado sobre ágar Mueller-Hinton. Foram utilizadas as linhagens ATCC de *Enterococcus faecalis* (29212), *Pseudomonas aeruginosa* (27853), *Staphylococcus aureus* (25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922). As placas foram semeadas com zaragatoa de algodão obedecendo à escala 0,5 de Mac Farland ( $1,5 \times 10^8$  Unidades Formadoras de Colônias /mL). Foram utilizados discos de papel estéreis para a impregnação das substâncias em teste, onde 20  $\mu$ L foram o suficiente. Após a impregnação dos discos com as substâncias em teste, os discos foram aplicados e as placas foram deixadas 2 horas em temperatura ambiente para pré-incubação. Em seguida, foram incubadas em estufa bacteriológica a 36°C, sob condições atmosféricas adequadas por 24 horas. Os halos de inibição foram mensurados com auxílio de um paquímetro digital, sob intensa luminosidade.

## RESULTADOS

Para a *E. coli*, o extrato hidroalcoólico das folhas da aroeira e o óleo essencial dos frutos da árvore apresentaram atividade antibacteriana. Todas as linhagens em teste foram sensíveis ao óleo essencial de canela. Os extratos da casca da aroeira e de canela não apresentaram atividade frente às linhagens em teste. Observou-se baixo potencial sinérgico entre os óleos essenciais frente à linhagem ATCC de *S. aureus*, onde o óleo dos frutos da aroeira potencializou a ação antibacteriana do óleo essencial de canela.

A Tabela 1 mostra os halos de inibição em milímetros das substâncias em teste frente às linhagens.

Tabela 1. Halos de inibição da aroeira e da canela frente às linhagens

	E. faecalis (29212)	S. aureus (25923)	E. coli (25922)	P. aeruginosa (27853)
Extrato Aroeira (folhas)	0	0	10	0
Extrato Aroeira (casca)	0	0	0	0
Óleo essencial de Aroeira	0	0	14	0
Extrato Canela	0	0	0	0
Óleo essencial de Canela	13	15	11	14
Sinergismo Óleos essenciais	-	21	-	-

GREATTI, Vanessa Raquel *et al.* Avaliação da atividade antibacteriana "in vitro" da aroeira (*Schinus Terebinthifolius*) e da canela (*Cinnamomum Zeylanicum*) frente a linhagens Gram positivas e Gram negativas. *SALUSVITA*, Bauru, v. 33, n. 3, p. 345-354, 2014.

GREATTI, Vanessa Raquel *et al.* Avaliação da atividade antibacteriana "in vitro" da aroeira (*Schinus Terebinthifolius*) e da canela (*Cinnamomum Zeylanicum*) frente a linhagens Gram positivas e Gram negativas. *SALUSVITA*, Bauru, v. 33, n. 3, p. 345-354, 2014.

## DISCUSSÃO

O extrato hidroalcoólico da casca da aroeira não apresentou atividade no presente estudo; Degaspari *et al.* em 2005 realizou um estudo com extratos aquoso e alcoólico de *Schinus terebinthifolius*, neste estudo, o extrato alcoólico apresentou atividade antimicrobiana frente *Staphilococcus aureus* e *Bacilo cereus*, e o extrato aquoso não inibiu o crescimento das linhagens. A solução extratora para as cascas da aroeira deve ser analisada e definida para melhor extração dos compostos com atividade antisséptica.

Guerra *et al.*, 2000 realizou um estudo com as folhas da aroeira, onde utilizou extratos alcoólicos (80%) de *Schinus terebinthifolius* e houve inibição bacteriana e fúngica, entre as bactérias estavam *S. aureus*, *P. aeruginosa* e *E. coli*. No presente estudo o extrato hidroalcoólico (70%) da planta inibiu o crescimento somente da *E. coli*.

Silva *et al.* (2010), mostraram que a pimenta-rosa, frutos da aroeira, apresentaram atividade antimicrobiana frente a *S. aureus* coagulase positiva isolados de otite externa de cães, no entanto, no presente estudo, o óleo essencial não demonstrou atividade frente à linhagem ATCC de *Staphilococcus aureus* (25923) , somente frente à linhagem de *E. coli*.

O extrato hidroalcoólico de canela não apresentou atividade frente às linhagens do presente estudo, entretanto, Usha *et al.* (2012) utilizou os extratos com solução extratora de cetona e etanol, neste estudo os extratos apresentaram atividade frente à Gram positivos e Gram negativos.

O óleo essencial de canela apresentou atividade antibacteriana frente à linhagens Gram positivas e Gram negativas, o que corrobora com um recente estudo realizado por Wong *et al.* (2014) avaliando as diferentes formas de extração do óleo essencial da *Cinnamomum zeylanicum*, na avaliação da atividade antimicrobiana todos os óleos obtidos apresentaram atividade frente à uma bactéria Gram positiva e outra Gram negativa.

O óleo essencial de canela foi potencializado pelo óleo essencial de pimenta-rosa, alguns óleos essenciais podem interagir entre si e ter suas atividades principais moduladas (CAL, 2006), as ações podem ser potencializadas ou inibidas.

## CONCLUSÃO

Os extratos hidroalcoólicos da casca da aroeira e de canela não apresentaram atividade antibacteriana. O extrato das folhas da aro-

eira e o óleo essencial de pimenta-rosa inibiram o crescimento da *E. coli*. O óleo essencial de canela apresenta atividade antibacteriana frente a linhagens Gram positivas e Gram negativas. Houve sinergismo entre os óleos essenciais frente à linhagem *S. aureus*. Futuras pesquisas devem ser realizadas para definição da melhor concentração e melhor solução extratora para as cascas da aroeira e da canela.

## REFERÊNCIAS

AL-MARIRI, A.; SAFI, M. In Vitro Antibacterial Activity of Several Plant Extracts and Oils against Some Gram-Negative Bacteria. **Iran J Med Sci**. Mashhad, Teeran, v.39, n.1, p.36-43, 2014.

AMORIM, M.M.R.; SANTOS, L.C. Tratamento da Vaginose Bacteriana com Gel Vaginal de Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi): Ensaio Clínico Randomizado. **RBGO**. São Paulo, v.25, n.2, p.95-102, 2003.

Antifungal activity of schinol and a new biphenyl compound isolated from *Schinus terebinthifolius* against the pathogenic fungus *Paracoccidioides brasiliensis*. **Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.** London, v.9, p.30, 2010.

CAL, K. Skin penetration of terpenes from oils and tropical vehicles. **Planta médica**. Stuttgart, v.72, n.4, p.311-316, 2006.

CANTON, M.; ONOFRE, S.B. Interferência de extratos da *Baccharis dracunculifolia* DC, Asteraceae, sobre a atividade de antibióticos usados na clínica. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. São Paulo, v.20, n.3, p.348-354, 2010.

CARVALHO, A.C.B et al. Aspectos da legislação no controle dos medicamentos fitoterápicos. **T&C Amazônia**. Manaus, v.5, n.11, p.26-32, 2007.

CARVALHO, M.G., et al. *Schinus terebinthifolius* Raddi: chemical composition, biological properties and toxicity. **Rev. Bras. Pl. Med.** Botucatu, v.15, n.1, p.158-169, 2013.

DEGASPARI, C.H.; WASZCZYNSKYJ, N.; PRADO, M.R.M. Atividade antimicrobiana de *Schinus terebinthifolius* Raddi. **Ciênc. Agrotec**. Lavras, v.29, n.3, p.617-622, 2005.

GONZÁLEZ-LAMOTHE, R., et al. Plant antimicrobial agents and their effects on plant and human pathogens. **Int. J. Mol. Sci.** Basel, v.10, p.3400–3419, 2009.

GREATTI, Vanessa Raquel et al. Avaliação da atividade antibacteriana "in vitro" da aroeira (*Schinus Terebinthifolius*) e da canela (*Cinnamomum Zeylanicum*) frente a linhagens Gram positivas e Gram negativas. **SALUSVITA**, Bauru, v. 33, n. 3, p. 345-354, 2014.



GREATTI, Vanessa Raquel *et al.* Avaliação da atividade antibacteriana "in vitro" da aroeira (*Schinus Terebinthifolius*) e da canela (*Cinnamomum Zeylanicum*) frente a linhagens Gram positivas e Gram negativas. *SALUSVITA*, Bauru, v. 33, n. 3, p. 345-354, 2014.

GUERRA, M.J.M.; BARREIRO, M.L.; RODRIGUEZ, Z.M.; RUBALCADA, Y. Actividad antimicrobiana de un extracto fluido al 80% de *Schinus terebinthifolius* Raddi. Inst. Superior de Ciências Médicas de La Habana. **Revista Cubana Plant. Med.** Habana, v.5, n.1, p. 5-23, 2000.

LIMA, I.O. et al. Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre espécies de *Candida*. **Rev. Bras. Farmacogn.** São Paulo, v.16, n.2, p.197-201, 2006.

MANDAL, S.; DEBMANDAL, M.; SAHA, K.; PAL, N.K. In Vitro Antibacterial Activity of three Indian Spices Against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. **Oman Medical Journal.** Muscat, v.26, n.5, p.319-323, 2011.

MULYANINGSIH, S.; SPORER, F.; REICHLING, J.; WINK, M. Antibacterial activity of essential oils from Eucalyptus and of selected components against multidrug-resistant bacterial pathogens. **Pharm. Biol.** Lisse, v.49, n.9, p.893-899, 2011.

Pio Corrêa, M. Dicionário de Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, 1984. v. 1.

SAEED, S.; TARIQ, P. *In vitro* antibacterial activity of clove against gram negative bacteria. **Pak. J. Bot.** Karachi, v.40, p. 2157-2160, 2008.

SILVA, A.B. et al. Antibacterial activity, chemical composition, and cytotoxicity of leaf's essential oil from brazilian pepper tree (*schinus terebinthifolius*, raddi). **Braz. J. Microbiol.** Rio de Janeiro, v.41, p. 158-163, 2010.

SOLÓRZANO-SANTOS, F.; MIRANDA-NOVALES, M.G. Essential oils from aromatic herbs as antimicrobial agents. **Current Opinion in Biotechnology.** London, v.23, p.1-6, 2011.

TENOVER, F.C. Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. **Am J Infect Control.** United States, 119 (Suppl. 1), p. S3-S10, 2006.

USHA, M.; RAGINI, S.; NAQVI, S.M.A. Antibacterial Activity of Acetone and Ethanol Extracts of Cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) and Ajowan (*Trachyspermum ammi*) on four Food Spoilage Bacteria. **I. Res. J. Biological Sci.** Indore, vol. 1, n. 4, p. 7-11, 2012.

VOUKENG, I.K. et al. Antibacterial and antibiotic-potential activities of the methanol extract of some Cameroonian spices against Gram-negative multi-drug resistant phenotypes. **BMC Research Notes.** London, v.5, p.299, 2012.

WONG, Y.C.; AHMAD-MUDZAQQIR, M. Y.; WAN-NURDIYANA, W.A. Extraction of Essential Oil from Cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*). **Orient. J. Chem.**, Bhopal, v. 30, n.1, p.37-47, 2014.

GREATTI, Vanessa Raquel *et al.* Avaliação da atividade antibacteriana "in vitro" da aroeira (*Schinus Terebinthifolius*) e da canela (*Cinnamomum Zeylanicum*) frente a linhagens Gram positivas e Gram negativas. *SALUSVITA*, Bauru, v. 33, n. 3, p. 345-354, 2014.