

# Atividades antimicrobiana e antioxidante da *Chamomilla recutita* L.

Aline Gonçalves Coelho\*  
Elita Scio\*  
Isabel Vieira de Assis Lima\*  
Mauro Nogueira\*

## RESUMO

A espécie *Chamomilla recutita* L., conhecida popularmente por camomila, camomila-dos-alemães ou matricária, é uma planta herbácea anual, aromática, pertencente à família *Asteraceae*. Neste trabalho, o extrato metanólico de camomila teve sua atividade antioxidante determinada pelo método do sequestro do radical 2,2'-difetil-1-picrilhidrazilo (DPPH $\cdot$ ), apresentando CI50 de  $13,7 \pm 1,0 \mu\text{g/mL}$ . A atividade antimicrobiana foi avaliada pelo teste de microdiluição em caldo para determinação da concentração inibitória mínima (CIM) contra sete cepas de microorganismos. Os microorganismos mais sensíveis ao extrato foram *Bacillus cereus* (CIM = 0,625 mg/mL), *Pseudomonas aeruginosa* (CIM = 1,25mg/mL) e *Cryptococcus neoformans* (CIM = 0,156mg/mL). A concentração bactericida mínima (CBM) foi de 0,625mg/mL para *B. cereus* e de 5,0mg/mL para *P. aeruginosa*. Este trabalho relata, pela primeira vez, a atividade anticriptocócica do extrato metanólico de camomila e mostra que, apesar de extensivamente estudada, ainda existem novas propriedades biológicas que podem ser identificadas para a camomila.

Palavras-chave: Camomila. *Chamomilla recutita*. Antioxidante. Antimicrobiana.

## 1 INTRODUÇÃO

A espécie *Chamomilla recutita*, pertencente à família *Asteraceae*, é uma erva anual originária da Europa e de algumas regiões da Ásia. No Brasil, apresenta diversas denominações, entre elas, camomila-da-alemanha, macela, matricária, camomila-dos-alemães, camomila-vulgar, maçanilha, camomila, camomila-romana, camomila-comum, camomila-verdadeira, camomila-legítima (PANIZZA, 1997). Seus capítulos florais são utilizados para vários fins terapêuticos devido às diversas propriedades farmacológicas que seus princípios ativos possuem (ALBUQUERQUE et al., 2004; ALMEIDA, 1993; ALVES et al., 2010; BALMÉ, 1978; CARVALHO, 2004; DUARTE et al., 2011; LORENZI; MATOS, 2002; SRIVASTAVA; SHANKAR; GUPTA, 2010; TESKE; TRENTINI, 1997). Eles contêm óleos essenciais compostos por terpenos ( $\alpha$ -bisabolol, camazuleno, óxido bisabolol A e óxido bisabolol B), flavonóides (apigeninas, apigenin-glucosídeos e luteolinas), bem como outras substâncias orgânicas (ácidos orgânicos, cumarinas e colinas) (RODRÍGUEZ et al., 1996; SILVA JÚNIOR, 2003; TESKE; TRENTINI, 1997). Portanto, a análise do desenvolvimento de capítulos florais de camomila é de extrema

importância, devido à presença, nestas estruturas, de tricomas glandulares peltados que contêm o óleo essencial. Para contribuir com os estudos realizados, os objetivos desse trabalho foram avaliar as atividades antimicrobiana e antioxidante do extrato metanólico obtidos dos capítulos florais de *Chamomilla recutita*.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização do presente estudo, foram realizadas as etapas descritas em seguida.

### 2.1 Coleta e identificação da planta

Os capítulos florais da camomila foram coletados em Juiz de Fora, Estado de Minas Gerais, Brasil, em dezembro de 2007. Uma exsicata (CESJ 47435) foi depositada no herbário Leopoldo Krieger da Universidade Federal de Juiz de Fora.

### 2.2 Preparação do extrato

O material coletado foi seco em estufa com circulação de ar à 40 °C. Posteriormente, 100g deste foram pulverizados e extraídos com metanol por maceração estática. Após 24h de contato, à temperatura ambiente, a mistura foi filtrada e o processo repetido duas vezes utilizando-se o

\* Universidade Federal de Juiz de Fora, Departamento de Bioquímica, Laboratório de Produtos Naturais Bioativos - Juiz de Fora, MG.  
Email: elita.scio@ufjf.edu.br

mesmo solvente. O extrato foi concentrado à pressão reduzida, utilizando evaporador rotatório, e mantido sob refrigeração até a realização dos ensaios biológicos.

### 2.3 Microorganismos

Os microorganismos testados foram *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Escherichia coli* (ATCC 10536), *Salmonella enterica* sorovar Typhimurium (ATCC 13311), *Shigella sonnei* (ATCC 11060), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 13866), *Bacillus cereus* (ATCC 11778), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442), *Candida albicans* (ATCC 18804) e *Cryptococcus neoformans* (ATCC 32608).

### 2.4 Atividade antimicrobiana in vitro

Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM):

O ensaio de susceptibilidade em microdiluição em caldo foi realizado utilizando o método descrito pela NCCLS (NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS) para determinação do CIM (NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS, 2002; NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS, 2003). Os testes foram realizados utilizando caldo Mueller-Hinton (MHB) para bactérias e RPMI-1640 para fungos. Cepas de bactérias foram cultivadas “overnight” à 37°C por 24h em ágar Mueller Hinton e as cepas de fungos à 35°C por 48h em ágar Sabouraud Dextrose. Diluições sucessivas de 5,0 a 0,039mg/mL do extrato foram preparadas em microplacas de 96 poços. Para isso foram utilizadas soluções estoque de 25mg/mL em DMSO 1%. Foram transferidos 80µL dessa solução para as microplacas, que já continham 100µL de meio de cultura. Para completar o volume final de 200µL, foram adicionados 20µL de inóculo (108 unidades formadoras de colônias (CFU/mL), de acordo com a escala turbidimétrica padrão de McFarland). As placas foram incubadas à 37°C por 24h para bactérias, à 35°C por 48h para *C. albicans* e à 35°C por 72h para *C. neoformans*. Os mesmos testes foram realizados simultaneamente com os controles (MHB ou RPMI-1640 + microorganismo e MHB ou RPMI-1640 + extrato). Cloranfenicol e a anfotericina B foram utilizados como substâncias de referência nas concentrações de 500 a 0,24µg/mL e de 10 a 0,002µg/mL, respectivamente. Após o período de incubação foi realizada a análise das placas. Os testes foram realizados em triplicata.

A CIM foi calculada como a menor diluição que apresenta completa inibição da cepa testada.

Para a determinação da CBM, uma alíquota de 10µL foi retirada dos poços que não apresentaram crescimento microbiano visível e semeada na superfície do ágar Muller-Hinton. Após 24h de incubação à 37°C, a CBM foi definida como a menor concentração do extrato capaz de causar a morte do inóculo. Os ensaios foram realizados em triplicata.

### 2.5 Atividade antioxidante

Para determinação da atividade antioxidante do extrato, foi utilizado o método do DPPH (GOVINDARAJAN et al., 2003). O extrato foi solubilizado em metanol (1,0 mg/mL) e a solução diluída em solução metanólica do radical DPPH· (50µmol/L) nas concentrações de 250 a 0,49µg/mL. O branco foi preparado com cada concentração do extrato e metanol. Como controle negativo foram utilizados metanol e DPPH. Rutina e  $\alpha$ -tocoferol foram utilizados como controle positivo. Após 30 minutos de incubação, à temperatura ambiente e ao abrigo da luz, a leitura foi então realizada a 517nm em leitor de microplacas.

Os resultados foram expressos em CI50, que é a concentração do extrato necessária para reduzir em 50% a concentração inicial do DPPH, calculado pelo programa estatístico Grafit5 (Erithacus Software Ltd., Horley, U.K.).

## 3 RESULTADOS

O estudo apresentou os seguintes resultados.

### 3.1 Atividade antimicrobiana

Os valores de CIM do extrato metanólico de camomila para as cepas testadas estão apresentados na Tabela 1.

TABELA 1

Concentração inibitória mínima do extrato metanólico de camomila

Concentração inibitória mínima			
Microorganismos	Extrato (mg/mL)	Anfotericina (µg/mL) Υg/mB(Υg/ml)	Cloranfenicol (µg/mL)
<i>Candida albicans</i>	2,5	0,39	—
<i>Cryptococcus neoformans</i>	0,156	0,78	—
<i>Bacillus cereus</i>	0,625	—	3,9
<i>Escherichia coli</i>	2,5	—	15,6
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5,00	—	0,98
<i>Salmonella Typhi</i>	5,00	—	0,98
<i>Shigella sonnei</i>	5,00	—	0,98
<i>Staphylococcus aureus</i>	5,00	—	62,5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1,25	—	15,6

Fonte – Os autores (2012).

A CBM foi calculada para as duas cepas mais sensíveis. Para *P. aeruginosa* a CBM foi de 5,0mg/mL e para *B. cereus* foi de 0,625mg/mL.

### 3.2 Atividade antioxidante

O CI50 obtido para a amostra de camomila foi de  $13,7 \pm 1,0 \mu\text{g/mL}$ . O CI50 para o  $\alpha$ -tocoferol foi de  $0,97 \pm 0,13 \mu\text{g/mL}$  e para a rutina  $2,5 \pm 1,8 \mu\text{g/mL}$ . Quanto menor o valor do CI50, maior será a atividade antioxidante, pois uma menor concentração é capaz de produzir 50% de inibição do radical livre.

## 4 DISCUSSÃO

O teste de microdiluição em caldo foi empregado para se determinar a CIM, que corresponde à menor concentração do extrato capaz de inibir o crescimento microbiano. Dessa forma, quanto menor o valor da CIM, maior a atividade antimicrobiana do extrato contra a cepa testada.

De acordo com Sartoratto e outros (2004), o extrato apresenta atividade antimicrobiana elevada quando a CIM varia de 0,05 a 0,5mg/mL; moderada, quando entre 0,6 e 1,5mg/mL; e fraca se a CIM for superior a 1,5mg/mL. Dentre os microorganismos testados, *C. neoformans* foi o mais sensível. A atividade antimicrobiana da camomila decresceu na seguinte ordem: *C. neoformans* > *B. cereus* > *P. aeruginosa* > *E. coli*, *C. albicans* > *K. pneumoniae*, *S. Typhimurium*, *S. sonnei*, *S. aureus*.

Dessa forma, a camomila apresentou elevada atividade antimicrobiana em relação ao *C. neoformans*

e moderada atividade contra *B. cereus* e *P. aeruginosa*. Sendo assim, a concentração bactericida mínima foi determinada para essas duas bactérias. Nas concentrações que permitiram o crescimento bacteriano, o extrato foi considerado bacteriostático para *P. aeruginosa*, visto que inibiu o crescimento, mas não causou a morte do microorganismo. Para *B. cereus*, todas as concentrações testadas (5,0; 2,5; 1,25mg/mL) apresentaram atividade bactericida.

Alguns trabalhos descrevem a ação antimicrobiana da camomila contra *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius*, *Bacillus subtilis* (CARVALHO, 2004), *C. albicans* (SCHULZ; HANSEL; TYLER, 2004), *Staphylococcus epidermidis*, *Salmonella setubal*, *Micrococcus luteus*, *Klebsiella pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *E. coli* (SIMIONATTO, 2004) e *S. aureus* (NOGUEIRA; DINIZ; LIMA, 2008; ROMERO et al., 2005). Entretanto, não há registro na literatura sobre a atividade anticriptocócica observada neste estudo. Desta forma, este trabalho descreve pela primeira vez a atividade da camomila contra o fungo *Cryptococcus neoformans*, constituindo uma alternativa terapêutica a ser estudada e desenvolvida.

*C. neoformans* é uma levedura capsulada que causa criptococose em pacientes imunocomprometidos. Esta doença é considerada uma importante causa de mortalidade em pacientes com AIDS em todo o mundo. A grande incidência de criptococose, em decorrência do aumento de indivíduos imunocomprometidos, e os efeitos colaterais dos fármacos administrados para o tratamento desta infecção, justificam a importância

da descoberta de novos antifúngicos contra este microorganismo (PASSOS et al., 2002).

Alguns constituintes da camomila podem ser citados como responsáveis pela sua atividade antimicrobiana como, por exemplo, o  $\alpha$ -bisabolol (TESKE; TRENTINI, 1995; RAAL et al., 2012), a quercetina e a umbeliferona (SOUZA et al., 2006; SRIVASTAVA; SHANKAR; GUPTA, 2010).

O extrato metanólico de camomila apresentou significativa atividade antioxidante frente ao radical DPPH. Os compostos fenólicos constituem um dos principais grupos de antioxidantes encontrados nas plantas como, por exemplo, os flavonoides. Sua atividade antioxidante é garantida pelas propriedades redox que permitem que eles se comportem como agentes redutores ou doadores de hidrogênio (MORAES-DE-SOUZA, 2007). Substâncias como lactonas sesquiterpênicas, flavonoides e alguns taninos presentes na camomila contribuem para o caráter antioxidante observado (AVALLONE et al., 2000).

O estresse oxidativo, decorrente do desequilíbrio entre a produção e a degradação dos radicais livres, está relacionado com o aparecimento de várias doenças, como câncer, doença de Alzheimer, doença

de Parkinson e algumas cardiopatias. Por isso, é extremamente importante buscar novas fontes de antioxidantes (VICENTINO; MENEZES, 2007).

## 5 CONCLUSÃO

O extrato metanólico dos capítulos florais de *Chamomilla recutita* apresentou significativa atividade antioxidante em termos de sequestro de radicais livres do DPPH, atividade antimicrobiana moderada contra *B. cereus* e *P. aeruginosa* e elevada para *C. neoformans*. Esse é o primeiro relato da ação anticriptocócica do extrato metanólico dessa espécie. Além disso, esses resultados mostram que, apesar de extensivamente estudada, ainda existem novas propriedades biológicas que podem ser identificadas para a camomila.

## 6 AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a FAPEMIG pelo auxílio financeiro concedido e à UFJF pelas bolsas de iniciação científica concedidas.

## Antimicrobial and antioxidant activity of *Chamomilla recutita* L.

### ABSTRACT

The species *Chamomilla recutita* L., popularly known as camomila-vulgar, camomila-dos-alemaes or matricaria, is an annual aromatic herbaceous plant that belongs to the Asteraceae family. In this work, chamomile metanolic extract had its antioxidant activity determined by the method of DPPH·(2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl) and presented IC<sub>50</sub> of  $13.7 \pm 1.0 \mu\text{g/mL}$ . The antimicrobial activity of chamomile was evaluated through the broth microdilution method for determining the minimum inhibitory concentration (MIC) against seven strains of microorganisms. The most sensitive microorganisms were *Bacillus cereus* (MIC = 0.625 mg / mL), *Pseudomonas aeruginosa* (MIC = 1.25 mg/mL) and *Cryptococcus neoformans* (MIC = 0.156 mg/mL). The minimum bactericidal concentration (MBC) was 0.625 mg/mL for *B. cereus* and 5.0 mg/mL for *P. aeruginosa*. This work reports for the first time the anticryptococcal activity of chamomile and shows that although extensively studied, there are new biological properties that could be identified for chamomile.

Keywords: Chamomile. *Chamomilla recutita*. Antioxidant. Antimicrobial.

### REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, H. N. et al. Uso de plantas medicinais no tratamento de répteis em cativeiro: um estudo preliminar. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, Campina Grande, v. 4, n. 1, p. 1-9, 2004.
- ALMEIDA, E. R. As plantas medicinais: características botânicas. In: ALMEIDA, E. R. de. **Plantas medicinais brasileiras**: conhecimentos populares e científicos. São Paulo: Hemus, 1993. p. 111-112.

- ALVES, A. D. H. et al. Evaluation of the sesquiterpene (-)-alpha-bisabolol as a novel peripheral nervous blocker. **Neuroscience Letters**, New Haven, v. 472, no. 1, p. 11-15, 2010.
- AVALLONE, R. et al. Pharmacological profile of apigenin, a flavonoid isolates from *Matricaria chamomilla*. **Phytotherapy Research**, Reading, v. 59, no. 11, p. 1387-1394, 2000.
- BALMÉ, F. **Plantas medicinais**. São Paulo: Hemus Livraria, 1978. p. 398.

- CARVALHO, J. C. T. Camomila *Matricaria recutita* L. In: CARVALHO, J. C. T. **Fitoterápicos anti-inflamatórios: aspectos químicos, farmacológicos e aplicações terapêuticas**. Ribeirão Preto: Tecmedd, 2004. p. 267-273.
- DUARTE, C. M. E. et al. Effects of *Chamomilla recutita* (L.) on oral wound healing in rats. **Medicina Oral Patologia Oral Y Cirugia Bucal**, Valencia, v. 16, no. 6, p. 716-721, 2011.
- GOVINDARAJAN, R. et al. Studies on the antioxidant activities of *Desmodium gangeticum*. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, Tokyo, v. 26, no. 10, p. 1424-1427, 2003.
- LORENZI, H.; MATOS, F. J. *Compositae (asteraceae)* In: LORENZI, H.; MATOS, F. J. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. p. 147-148.
- MORAES-DE-SOUZA, R. A. **Potencial antioxidante e composição fenólica de infusões de ervas consumidas no Brasil**. 2007. 59 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) — Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.
- NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. **Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts**. Approved standard M27-A2-P. Wayne, 2002.
- NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically**. Approved standard M7-A4. Wayne, 2003.
- NOGUEIRA, J. C. R.; DINIZ, M. F. M.; LIMA, E. O. Atividade antimicrobiana in vitro de produtos vegetais em otite externa aguda. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, São Paulo, v. 74, n. 1, p. 118-124, 2008.
- OLIVEIRA, J. E. Z. de; AMARAL, C. L. F.; CASALI, V. W. D. **Plantas medicinais e aromáticas: avanço no melhoramento genético**. Viçosa, MG: UFV, 2001. p. 50-54.
- PANIZZA, S. Monografias das plantas. In: PANIZZA, S. **Plantas que curam: cheiro de mato**. São Paulo: IBRASA, 1997. p. 60-61.
- PASSOS, X. S. et al. Atividade antifúngica de *Caryocar brasiliensis* (Caryocaraceae) sobre *Cryptococcus neoformans*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 35, n. 6, p. 623-627, 2002.
- RAAL, A. et al. Content of essential oil, terpenoids and polyphenols in commercial chamomile (*Chamomilla recutita* L. Rauschert) teas from different countries. **Food Chemistry**, Reading, v. 131, no. 2, p. 632-638, 2012.
- RODRÍGUEZ, F. M.; MOURELLE, J. F.; GUTIÉRREZ, Z. P. Actividad espasmolítica del extrato fluido de *Matricaria* (Manzanilla) en organos aílados. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, Habana, v. 1, n. 1, p. 19-24, 1996.
- ROMERO, C. D. et al. Antibacterial properties of common herbal remedies of the southwest. **Journal of Ethnopharmacology**, Leiden, v. 99, no. 2, p. 253-257, 2005.
- SARTORATTO, A. et al. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 35, n. 4, p. 275-280, 2004.
- SCHULZ, V.; HANSEL, R.; TYLER, V. E. **Fitoterapia Racional: um guia de fitoterapia para as ciências da saúde**. Barueri: Manole, 2002. p. 307-311.
- SILVA JÚNIOR, A. A. **Essentia herba: plantas bioativas**. Florianópolis: Epagri, 2003. p. 441.
- SIMONATTO, E. **Estudo dos constituintes químicos de óleos voláteis de plantas medicinais do Rio Grande do Sul: isolamento, determinação e modificação estrutural e atividade biológica**. 2004. 193 f. Tese (Doutorado em Química) – Faculdade de Química, Universidade Federal de Santa Maria (RS), Santa Maria, 2004.
- SOUZA, J. R. P. et al. Ação do estresse térmico na sobrevivência de mudas e produção de camomila originadas de sementes importadas e nacionais. **Horticultura Brasileira**, Vitória da Conquista, v. 24, n. 2, p. 233-236, abr./jun. 2006.
- SRIVASTAVA, J. K.; SHANKAR, E.; GUPTA, S. Chamomile: a herbal medicine of the past with a bright future. **Molecular Medicine Reports**, Athens, v. 3, no. 6, p. 895-901, 2010.
- TESKE, M.; TRENTINI, A. M. M. **Herbarium compêndio de fitoterapia**. Curitiba: Herbarium Laboratório Botânico, 1995. p. 69-71.
- TESKE, M.; TRENTINI, A. M. M. **Herbarium compêndio de fitoterapia**. Curitiba: Herbarium Laboratório Botânico, 1997. p. 317.
- VICENTINO, A. R. R.; MENEZES, F. de S. Atividade antioxidante de tinturas vegetais, vendidas em farmácias com manipulação e indicadas para diversos tipos de doenças pela metodologia do DPPH. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 17, n. 3, p. 384-387, 2007.

Enviado em 1/2/2012

Aprovado em 30/3/2012