

## Análise fitoquímica e microbiológica da atividade do extrato bruto etanólico da *Andiroba*, *Carapa guianensis* Aubl.

Felipe Ramon Parente da Silva<sup>1\*</sup> e Sheylla Susan Moreira da Silva de Almeida<sup>2</sup>

1. Acadêmico do Curso de Farmácia, Universidade Federal do Amapá. Laboratório de Farmacognosia e Fitoquímica - Rodovia Juscelino Kubistchek, KM-02, Jardim Marco Zero. CEP:68.902-280 - Macapá-AP, Brasil. \*E-mail: felipe\_ramon18@hotmail.com

2. Graduação em Farmácia, Universidade Federal do Pará. Doutorado em Química, Universidade Federal do São Carlos. Professora da Universidade Federal do Amapá, Laboratório de Farmacognosia e Fitoquímica, Brasil.

**RESUMO:** Na Amazônia, a população, de uma forma geral, costuma utilizar medicamentos fitoterápicos como as plantas medicinais para as mais variadas doenças. Dentre as plantas medicinais que são utilizadas encontra-se a *Carapa guianensis* Aubl. (Andiroba), que possui crescente aplicação, não só terapêutica, como também, na indústria química e cosmética. O Extrato Bruto Etanólico das cascas do caule de *Carapa guianensis* Aubl., foi investigado usando estudo fitoquímico preliminar e atividade antimicrobiana. A prospecção fitoquímica foi realizada pelos métodos clássicos descritos por Matos (1997) apud Rodrigues (2010). No ensaio antimicrobiano foi utilizado método de Kirby-Bauer modificado, apud Charles (2009), usando o teste de difusão em disco com cepas de *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 13883), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Escherichia coli* (ATCC 25922) e antibióticos padronizados, o Extrato Bruto Etanólico foi utilizado nas concentrações 25mg/mL, 50mg/mL e 100mg/mL. A análise fitoquímica preliminar evidenciou a presença de fenóis, taninos e antraquinonas. O extrato bruto etanólico das cascas de *Carapa guianensis* Aubl. apresentou baixa atividade antimicrobiana frente as cepas de *Klebsiella pneumoniae*, e nenhuma atividade frente as cepas de *S. aureus* e *E. coli*.

**Palavras-chave:** *Carapa guianensis* Aubl., andiroba, antimicrobiano.

## Phytochemical analysis and microbiological activity of the crude ethanol extract of the Crabwood, *Carapa guianensis* Aubl.

**ABSTRACT:** Amazon in the population, in general, tends to use herbal medicines as medicinal plants for various diseases. Among the medicinal plants that are used is to *Carapa guianensis* Aubl. (crabwood), which has increasing application not only therapeutic, but also in chemical and cosmetic industries. The crude ethanol extract of the stem bark of *Carapa guianensis* Aubl. was determined using preliminary phytochemical study and antimicrobial activity. The phytochemical screening was performed by classical methods described by Matos (1997) cited by Rodrigues (2010). In the antimicrobial test was used Kirby-Bauer method modified cited Charles (2009) using the disk diffusion test with strains of *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 13883), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) and *Escherichia coli* (ATCC 25922), and antibiotics standardized, crude ethanol extract was used in concentrations 25mg/mL, 50mg/mL and 100mg/mL. Preliminary phytochemical analysis revealed the presence of phenols, tannins and anthraquinones. The crude ethanol extract of the bark of *Carapa guianensis* Aubl., showed low antimicrobial activity front strains of *K. pneumoniae*, and no activity against strains of *S. aureus* and *E. coli*.

**Keywords:** *Carapa guianensis* Aubl., crabwood, antimicrobial.

### 1. Introdução

A floresta amazônica é considerada a detentora da maior biodiversidade do mundo, em fauna e flora. Um grande destaque tem sido dado às espécies da família Meliaceae (COSTA-SILVA et al., 2006). A família Meliaceae pertence à ordem Sapindales (CRONQUIST, 1988), compreendendo cerca de 5 gêneros e 120 espécies distribuídos por toda a Região Neotropical, 16 espécies agrupadas em 4 gêneros ocorrem como espécies arbóreas e nativas na Região Sul do Brasil (BARTH et al., 1998).

O hábito da família constitui-se de árvores (medindo em média de 20 a 30 m de altura) e arvoretas (medindo em média de 3 a 10 m de altura). São comuns nas Florestas Estacionais Deciduais e Semideciduais, apresentando ampla e expressiva distribuição. Ocorrem também na Floresta Ombrófila Densa da Encosta Atlântica, mesmo em altitudes elevadas. Sua

maior concentração é no Sul do Brasil (BARTH et al., 1998).

A espécie *Carapa guianensis* Aubl., conhecida popularmente no Brasil por “andiroba” e “carapa”, apresenta uma larga aplicação na medicina popular na região Norte do Brasil como anti-inflamatória, antibacteriana, antitumoral e antifúngico (GRAHAM et al., 2000). A andiroba é de uso múltiplo: a madeira é utilizada para fabricação de móveis, construção civil, lâminas e compensado; e as sementes para extração de óleo, o qual é de grande importância participando na economia regional e continua sendo muito apreciado, principalmente, na medicina popular (MENDONÇA; FERRAZ, 2007).

É uma árvore que mede de 20-30 m de altura, com tronco de 50-120 cm de diâmetro, nativa da região Amazônica, em várzeas secas e alagadiças. As folhas são compostas pinadas de 80-120 cm de comprimento

com 12-18 folíolos. Flores discretas, pequenas, perfumadas, de cor creme. Os frutos são cápsulas lenhosas, globoso-anguladas, discentes, de 8-14 cm de diâmetro, contendo 5-10 sementes de 4-5 cm de comprimento (LORENZE, 2008).

O uso de suas sementes encerra 65% do óleo insetífugo e medicinal extraído localmente por processo primitivo. O óleo é amplamente usado na região amazônica para iluminação das malocas, bem como para lustrar móveis. Além do óleo das sementes também as folhas e cascas são empregadas na medicina caseira, tanto pelos índios como pela população não-índigena do local. Algumas tribos usam o óleo como solvente para os corantes vegetais que usam para pintar o corpo e também para mumificar cabeças humanas obtidas como troféu de guerra (LORENZE, 2008).

O óleo em mistura com cinza e casca de cacau é empregado localmente para a manufatura artesanal de um sabão medicinal usado contra problemas da pele e como repelente para insetos. Entre as principais propriedades medicinais atribuídas ao seu óleo pelas comunidades tradicionais de forma empírica, sua ação anti-inflamatória e reumática são extremamente eficaz, segundo relatos do uso tradicional realizados por estas comunidades, porém, sem cunho científico. Adicionalmente é usado contra carrapatos, pulgas, piolhos e sarnas de couro cabeludo, e para mordidas de insetos. O óleo da andiroba é comercializado no Brasil e, além do uso medicinal, faz parte da composição de produtos para cabelos visando conferir brilho e sedosidade aos mesmos. É também usado no Brasil, tanto puro como em mistura com outros produtos naturais, topicamente para ferimentos e escoriações, ou na forma de massagens terapêuticas por atletas e praticantes de lutas marciais. A composição química do óleo extraído das sementes da Andiroba é representado por estearina, ácidos graxos oleico e mirístico e em menor quantidade pelos ácidos palmíticos e linoleico (LORENZE, 2008).

No Brasil, o seu córtex e sua semente são utilizados pelos nativos para tratar inflamações na garganta, prevenção e tratamento de picada de insetos, cortes e contusões. A semente também é utilizada para o tratamento de artrite reumatoide, infecção auricular e câncer uterino. O potencial da semente está no seu óleo, extraído de forma artesanal, que é administrado por via oral ou tópica e também tem sido utilizado pela indústria farmacêutica na formulação de cosméticos (PESSOA, 2009).

No Amapá a andiroba se distribui do Oiapoque ao Jarí. É uma das árvores de multiuso mais conhecidas da região amazônica e sua madeira de excelente qualidade é apontada como sucedânea do mogno (*Swietenia macrophylla*). A sua exploração extrativista é cada vez mais promissora e inevitável, e pode ser futuramente ainda mais intensificada (FERRAZ, 2003).

Portanto, há a necessidade de conservar esse recurso natural, e saber sobre a sua composição química para uma melhor utilização desta espécie vegetal, podendo agregar valores científicos ao conhecimento popular, proporcionando o seu uso mais adequado. Assim, o objetivo deste estudo foi analisar a presença dos principais metabólitos secundários presentes nas cascas do caule desta espécie e realizar análise biológica do seu extrato bruto.

Embora seu amplo uso pelas populações da Amazônia, tanto na forma de chá como de óleo, usado topicamente, não há dados registrados na literatura, em relação à toxicidade da *C. guianensis* Aubl. (COSTA-SILVA et al; 2006) e nem há estudos na literatura sobre as cascas do caule. O presente trabalho descreve mais especificamente, resultados de estudos fitoquímicos preliminares realizados com o extrato bruto etanólico obtido do pó das cascas do caule de *C. guianensis*, atividade antimicrobiana e toxicidade em *Artemia salina* deste extrato.

## 2. Material e Métodos

### Material vegetal

As cascas de *Carapa guianensis* (Andiroba) foram coletadas no município de Pedra Branca do Amapari-AP, em julho de 2012. A identificação do material foi realizada pela Dra. Wegliane Campelo da Silva Aparício, no Herbário da Universidade Federal do Amapá (HUFAP) onde uma exsicata da espécie foi depositada, obtendo a numeração 431.

### Obtenção do extrato bruto etanólico

O material vegetal foi seco por sete dias e posteriormente cortado para diminuir sua dimensão para em seguida ser submetido à moagem em moinho de faca. Após secagem e moagem foi obtido o pó das cascas de *C. guianensis*. Parte deste pó (100g) foi submetida ao método de extração a quente sob refluxo, seguida de filtração e concentração em evaporador rotativo, para obtenção do extrato bruto etanólico (EBE), onde desta amostra de 100g pode-se obter, aproximadamente, 25,2g do EBE.

### Análise fitoquímica preliminar

As análises fitoquímicas preliminares padrão, visaram o conhecimento de possíveis grupos químicos presentes no extrato bruto etanólico. Através de reações químicas pesquisou-se a presença das principais classes de metabólitos secundários, com a metodologia descrita por Matos (1997) apud Rodrigues (2010).

### Análise antimicrobiana

A partir do crescimento das bactérias em meio de cultura caldo Infusão de Cérebro e Coração (BHI), foi

realizado ajuste da turbidez para 0,5 da escala de McFarland, que corresponde a, aproximadamente, 108 UFC/mL (Unidades Formadoras de Colônias por mililitro) e, para comprovação da quantidade de colônias, realizou-se contagem em Petrifilm<sup>®</sup>, em virtude da praticidade de utilização desse sistema.

Após a confirmação da quantidade de colônias, introduziu-se um swab bacteriológico na suspensão bacteriana, deixando-o submerso nessa suspensão por três minutos. Em seguida, este foi pressionado contra a parede do tubo, para que houvesse um esgotamento. Dessa forma, semeou-se, uniformemente, o inóculo sobre toda a superfície de placas contendo meio de cultura Ágar Mueller-Hinton (MH), Ágar Salmonella Shigella (SS ágar) e Ágar Plate Count (PCA), todos em duplicata. Após secagem por 3 a 4 minutos, os discos (papel filtro Whatman – tipo 3) impregnados com o óleo essencial em sete concentrações diferentes foram aplicados sobre o ágar. As placas foram incubadas, invertidas, à temperatura de 35 °C ± 2 °C por 24 h ± 1 h.

Os discos, de 6 mm de diâmetro, impregnados com cada concentração do óleo (puro até a diluição 10-7), foram aplicados sobre as placas com o auxílio de pinça flambada e fria, seguindo-se conforme metodologia de Santos et al. (2007). Foram pressionados para melhor aderir ao meio. A distância entre os discos foi calculada a fim de evitar sobreposição dos halos de inibição. Nas placas, foram inseridos quatro discos de inibição com concentrações de extrato predeterminadas.

Para a atividade antimicrobiana foi utilizado o método de Kirby-Bauer modificado, apud. Charles (2009). Foram utilizadas no presente trabalho linhagens bacterianas padronizadas de *Klebsiella pneumoniae* (ATCC13883), *Escherichia coli* (ATCC25922) e *Staphylococcus aureus* (ATCC25923). Discos de amostras de antibióticos padronizados foram usados como comparação frente ao EBE da Andiroba, usando concentrações de 25mg/mL, 50mg/mL e 100mg/mL do EBE da Andiroba para todas as bactérias. Estes foram submetidos ao meio de cultura das bactérias para se avaliar o tamanho dos halos de inibição dos mesmos e assim verificar o impedimento do crescimento das bactérias, observando assim atividade do EBE da Andiroba.

#### Toxicidade frente à *Artemia salina*

O ensaio de citotoxicidade frente *Artemia salina* foi baseado na técnica de Araujo et al., (2010) e Lôbo et al., (2010) com algumas modificações. Inicialmente, foram preparados 250 mL da solução sal marinho sintético (35,5 g/L) para incubação de 25mg de ovos de *A. salina*, no qual foram expostas a luz artificial em período de 24h para eclosão das lavas (metanúpilos), em seguida os metanúpilos foram separados e colocados em ambiente escuro por período de 24h. A

solução mãe foi preparada contendo 62,5 mg do extrato bruto das cascas do caule, adicionados 28 mL da solução de sal marinho sintético e 2mL de dimetilsulfoxido (DMSO) para facilitar a solubilização do mesmo.

Posteriormente, ao término do período em escuro os mesmos serão selecionados e divididos em 7 grupos com 10 indivíduos em cada tubo de ensaio, em cada grupo será adicionada uma alíquota da solução mãe (3125, 2500, 1250, 625, 250, 25 e 2.5 µL) e completado o volume para 5 mL com solução de sal marinho sintético, obtendo-se soluções finais com as seguintes concentrações de 1250, 1000, 500, 250, 100, 10 e 1 µg/mL, dessa forma os grupos serão designados de acordo com sua respectiva concentração e todos os testes serão realizados em triplicatas. Ao final será contabilizado o número de sobreviventes para determinação de CL<sub>50</sub> por meio da análise PROBIT do software SPSS<sup>®</sup>.

### 3. Resultados

Durante o estudo da análise fitoquímica foi possível observar no EBE da andiroba a presença de fenóis, taninos e antraquinonas (Tabela 1) como principais metabólitos. No teste antimicrobiano foi possível verificar a inibição do crescimento da bactéria *Klebsiella pneumoniae*, com a utilização do extrato na concentração de 100mg/mL, (Tabela 2), nas demais bactérias não foi possível observar atividade nas concentrações testadas. Quanto ao teste de toxicidade, frente a artemia salina, O extrato bruto etanólico foi testado nas concentrações de 1250, 1000, 500, 250, 100, 10 e 1 µg/mL. O valor encontrado da CL50 foi de 353,64831 (µg/mL). O extrato testado apresentou alto grau de toxicidade frente a *A. salina*, uma vez que apresentou CL50 <1000 ppm, demonstrando também que esse efeito é dependente da concentração.

**Tabela 1.** Resultados da análise Fitoquímica do Extrato Bruto Etanólico (EBE).

Teste para	EBE
Alcalóides	-
Flavonóides	-
Fenóis e taninos	+
Saponinas espumificas	-
Ácidos orgânicos	-
Açúcares redutores	-
Polissacarídeos	-
Proteínas e Aminoácidos	0
Purinas	0
Esteróides e Triterpenóides	-
Azuleno	0
Carotenóides	0
Depsídeos e depsidonas	-
Antraquinonas	+
PARÂMETROS: Não realizado (0); Ausente (-); Presente (+)	

**Tabela 2.** Resultados das médias dos halos de inibição (em mm) dos ensaios de atividade antibacteriana do EBE de *C. guianensis* sobre espécies bacterianas.

Concentrações EBE	Microrganismos		
	Kp	Ec	Sa
25 mg/mL	0	0	0
50 mg/mL	0	0	0
100 mg/mL	0,8	0	0

Legenda: EBE = Extrato Bruto Etanólico; Kp = *Klebsiella pneumoniae*; Ec = *Escherichia coli*; Sa = *Staphylococcus aureus*.

#### 4. Discussão

As substâncias denominadas antraquinonas, segunda a literatura, fazem parte dos grupos denominados como *antranóides*, *derivados antracênicos* ou *derivados hidroxiantracênicos*. Entre os derivados antracênicos, as antraquinonas são as mais estáveis, responsável pela atividade laxante (SIMÕES, 2007).

Estudos realizados com os compostos fenólicos, classe de metabólitos secundários presentes no EBE, demonstram sua capacidade antioxidante, assim como seu possível efeito na prevenção de diversas enfermidades cardiovasculares, cancerígenas e neurológica. De maneira geral, a ação benéfica dos compostos fenólicos na saúde humana vem sendo relacionada com a sua atividade anti-inflamatória e com a atividade que impede, não só a aglomeração das plaquetas sanguíneas, mas também a ação de radicais livres no organismo. Uma vez que protege moléculas como o DNA, podem vir a minimizar alguns processos carcinogênicos (SILVA et al. 2010).

Os compostos fenólicos possuem atividade antioxidante, onde esta atividade deve-se principalmente às suas propriedades redutoras e estrutura química. Estas características desempenham um papel importante na neutralização ou sequestro de radicais livres e quelação de metais de transição, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo. Os intermediários formados pela ação de antioxidantes fenólicos são relativamente estáveis, devido à ressonância do anel aromático presente na estrutura destas substâncias (SOUZA et al., 2007).

Acredita-se que as atividades farmacológicas dos taninos são devidas, pelo menos em parte, a três características gerais que são comuns em maior ou menor grau aos dois grupos de taninos, condensados e hidrolisáveis: 1) complexação com íons metálicos (ferro, manganês, vanádio, cobre, alumínio, cálcio, entre outros), 2) atividade antioxidante e sequestradora de radicais livres e 3) habilidade de complexar com outras moléculas incluindo macromoléculas, tais como proteínas e polissacarídeos. Existem três hipóteses para o mecanismo de ação antimicrobiana. A primeira hipótese pressupõe a inibição das enzimas de bactérias e fungos e/ou complexação dos substratos dessas enzimas; a segunda seria a ação dos taninos sobre as membranas celulares dos microrganismos, modificando o seu

metabolismo. Finalmente, a terceira hipótese menciona a complexação dos taninos com íons metálicos, diminuindo, assim, a disponibilidade destes elementos essenciais para o metabolismo dos microrganismos (SIMÕES, 2007).

Muitas das ações farmacológicas dos taninos parecem derivar de suas capacidades de formarem complexos com proteínas e polissacarídeos, desta maneira contribuem na cura de feridas e queimaduras. Semelhantemente, esta afinidade dos polifenóis por proteínas desempenha um papel na inativação de enzimas, impedindo assim o crescimento de alguns microrganismos (HASLAM, 1996), podendo explicar a atividade antimicrobiana frente a uma bactéria no experimento realizado, corroborando assim com algumas das atividades alegadas pela medicina popular.

Estas substâncias presentes no extrato sugerem que as cascas do caule que é utilizada pelas comunidades tradicionais, podem estar correlacionadas com as atividades alegadas pela população, comprovando cientificamente, em parte, o seu emprego empírico, como, por exemplo, a capacidade dos taninos em formarem complexos com proteínas e polissacarídeos de membranas podendo causar rompimento das mesmas e haver morte de microrganismos.

#### 5. Agradecimentos

Ao Programa de Educação Tutorial (PET) do Ministério da Educação (MEC), pelo apoio, a Universidade Federal do Amapá (UNIFAP) pela disponibilidade da sua infra-estrutura laboratorial que permitiram a realização integral deste trabalho.

#### 6. Referências Bibliográficas

- ARAÚJO, M. G. F.; et al. Estudo fitoquímico preliminar e bioensaio toxicológico frente a larvas de *Artemia salina* Leach. de extrato obtido de frutos de *Solanum lycocarpum* A. St.-Hill (Solanaceae). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 31, n. 2, p. 205-209, 2010.
- BARTH, O. M.; JUSTO R. L.; BARROS M. A. Catálogo sistemático do pólen das plantas Arbóreas do Brasil meridional. xxx: meliaceae. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 58, p. 497-509, 1998.
- FERRAZ, I. D. K. Andiroba *Carapa guianensis* Aublet. **Informativo técnico da rede de sementes da Amazônia**. 2003.
- GRAHAM, J. G. et al. Plants used against cancer an extension of the work of Jonathan Hartwell. **Journal of Ethnopharmacology**. 2000.
- HASLAM, E. **Journal of Natural Products**. v. 59, p. 205-215, 1996.
- JOÃO, H. COSTA-SILVA et al. Estudo Toxicológico Reprodutivo da *Carapa guianensis* Aublet (Andiroba) em Ratas Wistar. **Acta Farm. Bonaerense**. v. 25, p. 425-428, 2006.
- LÔBO, K.M.S.; et al. Avaliação da atividade antibacteriana e prospecção fitoquímica de *Solanum paniculatum* Lam. e *Operculina hamiltonii* (G. Don) D. F. Austin & Staples, do semiárido paraibano. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.12, n.2, p.227-233, 2010.
- LORENZI, H.; MATOS F. J. A. Plantas Mediciniais no Brasil: Nativas e Exóticas. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2008.

- MELLO, C.P.; SANTOS, S. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 4ed., Porto Alegre. 950, 2002.
- MENDONÇA, A.P.; FERRAZ, I.D.K. Óleo de andiroba: processo tradicional da extração, uso e aspectos sociais no estado do Amazonas, Brasil. **Acta Amazônica**, v. 37, p. 353-364, 2007.
- PESSOA, M. C. P. **Avaliação da toxicidade do Extrato contendo NIM (*Azadirachta indica* L.), Andiroba (*Carapa guianensis* Aublet) e Cana de açúcar (*Saccharum officinarum* L) em ratas wistas**. Programa de Pós-graduação em Ciência veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2009.
- RODRIGUES, K. A. F. et al. Prospecção fitoquímica e atividade moluscicida de folhas de *Momordica charantia* L. **Cadernos de Pesquisa**, v. 17, n. 2, 2010.
- SIMÕES, C. M. O. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. Porto Alegre: UFRGS, 2007.
- SILVA, M. L. C. et al. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, p. 669-682, 2010.
- SOUZA, C. M. M. (2007). Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, p. 351-355, 2007.
- TREASE, G. E.; EVANS, W. C. *Pharmacognosy*, 13th edition, London:BailliereTindall, 1989.