

ESTUDO ETNOFARMACOLÓGICO DE PLANTAS MEDICINAIS: ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE *Anacardium occidentale* (Cajueiro) e *Citrus x aurantium* (Laranjeira)

Beatriz Dantas Guimarães¹; Thamires Lacerda Dantas²; Raissa Mayer Ramalho Catão³;
Thulio Antunes de Arruda⁴

¹ Universidade Estadual da Paraíba – biadantasg@gmail.com

² Universidade Estadual da Paraíba – thamires.lacerda.dantas@gmail.com

³ Universidade Estadual da Paraíba – raissacatao@uol.com.br

⁴ Universidade Estadual da Paraíba – thulioantunes@gmail.com

Resumo: O estudo etnofarmacológico é fundamental para o desenvolvimento da fitoterapia, uma vez que possibilita o pesquisador a testar e validar as propriedades terapêuticas que foram transmitidas pela população. Espécies como *Anacardium occidentale* e *Citrus x aurantium*, utilizados na medicina tradicional, apresentam propriedades medicinais, dentre elas seu uso como antimicrobiano e antifúngico. A pesquisa objetivou selecionar e analisar espécies vegetais através de uma visão etnofarmacológica sobre a utilização destas plantas com ênfase à atividade antimicrobiana. Trata-se de um estudo que foi desenvolvido em três etapas: na primeira fez-se a coleta do material na comunidade Caiana dos Mares, localizada na zona rural do município de Alagoa Grande, microrregião do brejo paraibano; na segunda obtiveram-se os extratos etanólicos vegetais, seguindo a Farmacopéia Brasileira 2ª edição (1959) e Matos (1988); e na terceira, os procedimentos microbiológicos, para a determinação da atividade antimicrobiana dos extratos vegetais obtidos. O *screening* foi realizado utilizando-se o método de disco-difusão e difusão em meio sólido. Os microrganismos utilizados foram: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 e o fungo leveduriforme *Candida albicans* ATCC 76643. Nenhuma das espécies testadas apresentaram halos de inibição frente as cepas bacterianas testadas. Os resultados obtidos neste estudo podem ser explicados pela parte do vegetal selecionada, época da coleta, ausência de chuvas nos períodos necessários à boa nutrição do vegetal e da metodologia da obtenção do extrato utilizada no teste. Não é possível afirmar que os mesmos não poderiam apresentar alguma atividade para outras cepas.

Palavras-chave: Etnofarmacologia; *Anacardium occidentale*; *Citrus x aurantium*; atividade antimicrobiana.

INTRODUÇÃO

A Etnofarmacologia trata do conhecimento popular empregado por determinado grupo social associado a utilização de plantas como fins medicinais, buscando a exploração científica de princípios ativos. A diversidade da flora brasileira, especialmente na região Nordeste, onde o uso de plantas para cura de doenças é comum, favorece o desenvolvimento destes medicamentos naturais (OMENA, 2007).

A seleção etnofarmacológica de plantas e o estudo de plantas empregadas tradicionalmente com finalidades medicinais fornece subsídios para posteriores análises farmacológicas, fitoquímicas e agronômicas, tornando-se potenciais fontes para descobertas de novos fármacos. *Anacardium occidentale* L., família Anacardiaceae, tem se destacado entre as diversas espécies vegetais utilizadas popularmente devido às suas propriedades terapêuticas. Uma variedade de propriedades farmacológicas é atribuída à espécie *A. occidentale*.

Há estudos que atestam sua atividade antianêmica (Kubo et al. 1994a), anti-helmíntica (Aiswarya et al., 2011a), antileishmania (Braga et al., 2007), antioxidante (Santos, 2011), antibacteriana (Kasemura et al., 2002), entre outras,

incl

uindo a atividade antimicrobiana, objeto deste estudo, considerando a crescente exposição de informações relacionadas à sua ação inibitória sobre diferentes microorganismos.

Citrus x aurantium L. é também conhecida como laranja azeda ou amarga. Espécies do gênero *Citrus* são ricas em flavonóides, cumarinas e pectinas (Kuster; Rocha, 2003). A maioria dos compostos flavônicos são heterosídeos de flavanonas (hesperidosídeo, neohesperidosídeo, naringosídeo, eriodictiosídeo). Ocorrem também outros flavonóides, como a diosmina e o rutosídeo (Bruneton, 1993).

METODOLOGIA

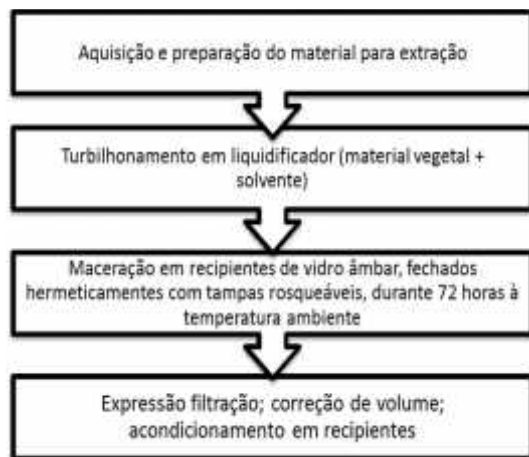
Local de realização da parte experimental

As espécies foram coletadas na comunidade Caiana dos Mares, localizada na zona rural do município de Alagoa Grande, microrregião do brejo paraibano. Foi realizada a exsicata das respectivas espécies, depositadas posteriormente no herbário Lauro Xavier na Universidade Federal da Paraíba – UFPB, João pessoa, sendo descritas e identificadas, recebendo o número de voucher no sistema do Herbário. Para o estudo, utilizou-se a casca do *Anacardium occidentale*, e a folha do *Citrus x aurantium*.

Obtenção dos extratos etanólicos

O solvente utilizado na pesquisa foi o álcool etílico absoluto P.A, devido a sua baixa toxicidade (não inibindo os bioensaios), bom desempenho no processo extrativo e boa viabilidade econômica. Os extratos etanólicos foram obtidos segundo a Farmacopéia Brasileira 2ª edição (1959) e Matos (1988).

O procedimento constituiu-se das etapas apresentadas na figura:



Procedimentos microbiológicos

Foram utilizadas as cepas padrão – American Type Culture Collection (ATCC) das bactérias *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 e do fungo leveduriforme *Candida albicans* ATCC 76643.

Foram utilizados os meios Ágar Müeller-Hinton, caldo Brain Heart Infusion (BHI) e Caldo Müeller-Hinton (CMH), para as espécies bacterianas, e

ar Sabouraud Dextrose (ASD) par a levedura. Os meios foram preparados conforme as instruções do fabricante.

Técnica de disco-difusão

Para realização da técnica de disco-difusão foi preparado o inóculo bacteriano, através da suspensão direta das colônias em solução salina, obtendo-se uma turvação correspondente a 0,5 da escala de McFarland.

Os discos utilizados para a técnica foram embebidos com os extratos e um disco foi utilizado como controle negativo, o mesmo sendo embebido com álcool PA, solvente utilizado na preparação dos extratos. Um disco do antibiótico Gentamicina foi utilizado como controle positivo para as bactérias e para a levedura foi utilizado um disco de flucosamina.

Com auxílio de “swabs” estéreis mergulhados na suspensão, o inóculo foi semeado em toda a superfície do meio, de modo a se obter um crescimento uniforme e semi-confluente.

Os discos de papel foram colocados e a placa foi incubada a 37 C durante 24 horas (bactérias) e 35 C por 24-72 horas (leveduras), quando foi feita a leitura dos halos de inibição de crescimento. Halos maiores ou iguais a 8 mm foram indicativos de sensibilidade ao extrato testado.

Técnica de difusão em meio sólido

Para realização do teste de difusão em meio sólido, foram utilizadas placas de petri descartáveis, estéreis, contendo 20 mL do meio de cultura Ágar Müller-Hinton, inoculadas pela técnica pour plate.

As placas foram colocadas para secar, durante 3 a 5 minutos, antes de se fazer as cavidades de 6 mm cada, com auxílio de perfuradores descartáveis estéreis. Em cada cavidade foram adicionados 50 µL dos extratos em suas concentrações iniciais, para verificar a presença ou não de atividade antimicrobiana. Todo o sistema de ensaio foi incubado a 37 C durante 24 horas (bactérias) e 35 C por 24-72 horas (leveduras). Após período de incubação, foram feitas as leituras e interpretação dos resultados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os estudos etnofarmacológicos investigam a atividade farmacológica de algumas plantas tradicionalmente empregadas por populações com fins terapêuticos, tendo-se encontrado resultados favoráveis a partir deste tipo de pesquisa.

O presente trabalho traz resultados com enfoque àquelas que foram citadas como antimicrobianas.

Tabela 1 – Screening de atividade antimicrobiana a partir da técnica de disco-difusão e difusão em meio sólido.

| Produtos | Microorganismos | | | |
|--|------------------------|----------------------|----------------------------|--------------------------|
| | S. aureus (ATCC 25923) | E. coli (ATCC 25922) | P. aeruginosa (ATCC 27853) | C. albicans (ATCC 76643) |
| <i>Anacardium occidentale</i> (casca) | – | – | – | – |
| <i>Citrus x aurantium</i> (folhas secas) | – | – | – | – |
| Álcool PA | – | – | – | – |
| Gentamicina (10mg) | + | + | + | – |

(-) Ausência de atividade – halo ausente ou menor que 8 mm

(+) Presença de atividade – halo ≥ 8mm

Com relação à atividade antimicrobiana, pôde-se observar que nenhuma das especiarias testadas apresentaram halos de inibição frente às cepas bacterianas testadas.

Estudos realizados por SANTOS (2007), demonstram resultados semelhantes ao do presente estudo em relação ao extrato alcoólico da casca de *Anacardium occidentale*, não apresentando atividade antimicrobiana contra *S. aureus*, *E. coli* e *C. albicans*.

Outros estudos feitos SILVA (2007), VIEIRA (2014), utilizando o extrato hidroalcoólico da casca, obtiveram amostras sensíveis das espécies utilizadas no presente estudo. Isto demonstra que há

interferência na extração dos princípios ativos de acordo com o solvente utilizado, podendo justificar a ausência de atividade antimicrobiana neste estudo, assim como a diferença entre as cepas bacterianas, apesar de serem da mesma espécie.

Em relação ao *Citrus x aurantium*, poucos estudos com teste de atividade antimicrobiana foram realizados. Foi demonstrado por VIEIRA (2014), que o óleo essencial obtido da casca apresentou halo de inibição de 14,2 mm contra *Staphylococcus aureus*. No entanto, os estudos utilizando extratos das folhas de *Citrus x aurantium* são extremamente escassos para obter comparações.

Os resultados obtidos neste estudo podem ser explicados pela parte do vegetal selecionada, época da coleta, ausência de chuvas nos períodos necessários à boa nutrição do vegetal e da metodologia da obtenção do extrato utilizada no teste.

Não é possível afirmar que os mesmos não poderiam apresentar alguma atividade para outras cepas.

CONCLUSÕES

As especiarias *Anacardium occidentale* e *Citrus x aurantium* não apresentaram halo de inibição frente aos microrganismos testados.

Apesar de estudos comprovarem a

exi

stência de atividade antimicrobiana do *Anacardium occidentale*, fatores metodológicos, fatores ambientais e de coleta, assim como as cepas bacterianas, podem ter interferido na ação do extrato contra os microrganismos testados.

A escassez de estudos testando a eficácia do extrato de *Citrus x aurantium* contra microrganismos revela a necessidade de novos testes futuros.

Acredita-se que estudos como este contribuam para um maior conhecimento de toda a população e comunidade científica a respeito das várias utilidades medicinais das especiarias, principalmente como antimicrobianas, além da comprovação de que o saber popular transmitido de geração em geração pode ser utilizado para estudos mais aprofundados a respeito da atividade farmacológica e da elucidação de princípios ativos vegetais.

REFERÊNCIAS

OMENA, M.L.R.A. Ensaio etnofarmacológico de espécies vegetais com ação no sistema nervoso central, originárias do bioma caatinga. **Saúde & Ambiente em Revista**, v.2, p.92-107, 2007.

KUBO, I.; MUROI, H.; KUBO A.; HIMEJIMA, M. Structure-antibacterial activity relationships of anacardic acids. *Journal of Agricultural and Food*

- Chemistry, v.41, p.1016-1019, 1993b.
- KUBO, I.; MUROI, H.; KUBO A. Naturally occurring antiacne agents. *Journal of Natural Products*, v.57, p.9-17, 1994.
- AISWARYA, G.; REZA, K. H.; RADHIKA, G.; FAROOK, S. M. Study for antibacterial activity of cashew apple (*Anacardium occidentale*) extracts. *Der Pharmacia Lettre*, v.3, p.193-200, 2011a.
- BRAGA, F. G.; BOUZADA, M. L. M.; FABRI, R. L.; MATOS, M. O.; MOREIRA, F.O.; SCIO, E.; COIMBRA, E. S. Antileishmanial and antifungal activity of plants used in traditional medicine in Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*, v.111, p.396-402, 2007.
- KASEMURA, K.; NOMURA, M.; TADA, T.; FUJIHARA, Y.; SHIMOMURA, K. Antimicrobial and tyrosinase inhibitory activities of 6-[(8Z)-8-Pentadecenyl] salicylic acid derivatives. *Journal of Oleo Science*, v.51, p.637-642, 2002.
- Kuster RM, Rocha LM 2003. Cumarinas, cromonas e xantonas. In: Simões CMO, Shenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR (org.) *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 5.ed. Porto Alegre/ Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, p.247-262.
- Bruneton J 1993. *Pharmacognosie, phytochimie, plantesmedicinales*. 2.ed. Paris: Lavoisier.
- GAFFNEY, B. et al. Charm analysis of two *Citrus sinensis* peel oil volatiles. *Perfumer and Flavorist*, Wheaton, v.21, n. 4, p. 1-2, 4-5, 1996.
- VIEIRA, D.R.P. et al . Plantas e constituintes químicos empregados em Odontologia: revisão de estudos etnofarmacológicos e de avaliação da atividade antimicrobiana in vitro em patógenos orais. **Rev. bras. plantas med.**, Botucatu, v. 16, n. 1, p. 135-167, Mar. 2014.
- SILVA, Jackeline G. da et al . Atividade antimicrobiana do extrato de *Anacardium occidentale* Linn. em amostras multiresistentes de *Staphylococcus aureus*. **Rev. bras. farmacogn.**, João Pessoa , v. 17, n. 4, p. 572-577, Dec. 2007.