

ESTUDO *IN VITRO* DA AÇÃO ANTIMICROBIANA DE CREMES FORMULADOS A PARTIR DE ÓLEO DE COPAÍBA

Sérgio Nunes¹, Dayana Vieira Gomes¹, Claudia C. C. Ota²

1 Acadêmicos do curso de Tecnologia em Bioprocessos e Biotecnologia da Universidade Tuiuti do Paraná (Curitiba, PR);

2 Bióloga, Prof^a. Dra. Universidade Tuiuti do Paraná (Curitiba, PR);

Endereço para correspondência: Sérgio Nunes, sergioelnunes@hotmail.com

RESUMO: Plantas medicinais com propriedades terapêuticas são de grande relevância em todo o mundo, principalmente em países em desenvolvimento. As plantas do gênero *Copaifera* são largamente usadas na medicina tradicional, como analgésico, antiinflamatório, no tratamento de úlceras, entre outras enfermidades. No presente estudo avaliou-se a ação antimicrobiana *in vitro* de cremes formulados com óleo de copaíba, usando o método de perfusão em ágar. Os cremes possuem atividade antimicrobiana contra amostras de bactérias gram-positiva, gram-negativa e fungo.

Palavras-chave: Óleo de Copaíba, avaliação antimicrobiana, halos de inibição.

ABSTRACT: Medicinal plants with therapeutic properties are of great importance in the world, mainly in developing countries. The plants of the genus *Copaifera* are widely used in traditional medicine as analgesic, anti-inflammatory in the treatment of ulcers, among other diseases. In the present study is the *in vitro* antimicrobial activity of creams formulated with oil Copaiba, using the method of infusion in agar. The creams presented, samples of antimicrobial activity against gram-positive, gram-negative bacteria and fungi.

Keywords: Oil Copaiba, antimicrobial assessment, circle of inhibition.

INTRODUÇÃO

A copaíba (*Copaifera* spp.), pelo fato de produzir um óleo-resina de valor comercial muito utilizada na medicina popular, apresenta-se como uma espécie potencial para exploração em um sistema de manejo de uso múltiplo (Baima *et al.* 1999).

Sua altura varia de 5 a 15m, tronco de 20 a 60 cm de diâmetro, tem ocorrência principalmente na Bahia, Ceará, Espírito Santo, Goiás, Mato grosso, mato grosso do Sul, maranhão, Minas Gerais, Paraíba, Paraná. Sua madeira é uma superfície lisa ao tato e lustrosa, textura média e uniforme, com grã direita ou irregular, sujeita a empenamentos e com forte

tendência ao rachamento, durável e de alta resistência ao ataque de organismos xilófagos, indicada para construção, civil, como vigas, caibros, ripas, batentes de portas e janelas, para confecção de moveis e peças torneadas, cabo de ferramenta e vassoura, para carroçarias (Carvalho, 2003).

A copaíba (*Copaifera* spp.) fornece o bálsamo ou óleo de copaíba, um líquido transparente e terapêutico, que é a seiva extraída mediante a aplicação de furos no tronco da árvore até atingir o cerne. O óleo da copaíba é um líquido transparente, viscoso e fluido, de sabor amargo com uma cor entre amarelo até marrom claro dourado (Carvalho, 2003).

O óleo-resina da copaíba é composto por uma parte sólida (cerca de 55 % a 60%), os ácidos diterpenos diluídos em óleo essencial composto principalmente de sesquiterpenos (Cascon, 2000, Gilbert, 1999). Já foram identificados 72 tipos diferentes de sesquiterpenos e 27 tipos de diterpenos (Junior, 2002).

Os trabalhos realizados sobre o gênero *Copaifera* estão, em sua maioria, relacionados com o óleo que é exudado do tronco destas árvores. Por sua ampla utilização, muitos estudos foram realizados sobre este gênero, abordando suas diversas aplicações (Junior, 2002).

O óleo de copaíba vem sendo indicado para diversos fins farmacológicos inclusive, tem sido utilizado pela medicina popular no tratamento de bronquite, úlceras, sífilis e curar feridas (Gomes *et al.* 2007). Estudos farmacológicos recentes têm demonstrado suas propriedades como um anti-inflamatório, analgésico, cicatrizante de feridas (Paiva *et al.* 2004, Brito *et al.* 2005, Carvalho *et al.* 2005, Júnior *et al.* 1997), anti-tumoral (Lima *et al.* 2006), repelente de insetos (Gilbert *et al.* 1999) e antimicrobianos (Costa-Lotufo *et al.* 2002, Tincusi *et al.* 2002).

A indústria cosmética utiliza óleos de copaíba em xampus, loções capilares, sabonetes e espumas. Estudos demonstraram que a óleo-resina em formulação não mostrou citotoxicidade em células de mamíferos (Gomes *et al.* 2007).

Este trabalho tem como objetivo avaliar a ação antimicrobiana de cremes formulados com o óleo de copaíba de duas espécies diferentes frente à bactérias (gram-positiva e gram-negativa) e fungos selecionados, padrões para análise antimicrobiana.

MATERIAIS E MÉTODOS

Microrganismos

Foram escolhidas cinco cepas padrões para avaliação antimicrobiana. A escolha foi baseada nas análises microbiológicas que produtos cosméticos necessitam para cumprir requisitos de controle de qualidade estabelecidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Bactérias Gram-negativa como *Escherichia coli* (ATCC 25922)

causadora de infecção alimentar, apendicite entre outras doenças, *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) causadora de infecções na pele e *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028) causadora de enjôo, vômito e diarreia. Gram-positiva como *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) causadora de vários tipos de doenças na pele entre elas síndrome da pele escaldada. A levedura *Candida albicans* (ATCC 10231), causadora de micose. Antes da sua utilização as cepas selecionadas foram semeadas em caldo BHI (Brain Heart Infusion, Difco) e incubadas a 37°C por 24 horas. Todas as cepas, meio de cultura e materiais utilizados foram adquiridos na Newprov.

Formulação dos cremes

O creme é constituído de 50 % de gel de carbopol que é a base do creme, 35 % do óleo de copaíba que é o princípio ativo, e 15 % de um polímero utilizado na indústria têxtil, que age como tensoativo, todos misturados em grau com pistilo até a homogeneização total.

Foram utilizados dois tipos diferentes de óleo de Copaíba para formulação dos cremes, sendo um deles o óleo de *Copaifera langsdorffi*, e para o outro óleo de *Copaifera officinalis*.

Avaliação Antimicrobiana

A avaliação antimicrobiana foi realizada *in vitro*, através do método de perfusão em Agar, frente a bactérias e fungos selecionados. Preparou-se Agar Mueller Hinton (Difco) para as bactérias e Agar Sabouraud para fungo, que foram distribuídos em placas de Petri de 140 mm de diâmetro, com volume suficiente para atingir uma espessura de 5 cm.

Após a solidificação e através da técnica de semeadura de superfície, foram inoculadas 100 µl de bactéria em cada placa, e com auxílio de bastão de vidro, foram espalhadas em três sentidos: horizontal, vertical e diagonal, para evitar o crescimento de colônias isoladas. Com auxílio de um furador de rolhas (estéril) foram feitos três orifícios de 5 mm de diâmetro nas placas, para receberem as drogas testes, sendo que em um dos orifícios foi adicionado um controle positivo, que para bactérias foi utilizado Penicilina, e para a levedura foi usado Nitrato de Miconazol, e nos outros dois orifícios foram adicionados os cremes formulados.

As placas de Petri foram mantidas à temperatura ambiente por 2 horas, para ocorrer a pré-difusão das substâncias e, posteriormente, incubadas a 37°C, por 48 horas. Os experimentos foram realizados em triplicata, para cada cepa indicadora utilizada, totalizando 15 placas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em análise dos resultados obtidos, pode ser verificado que ambos os cremes mostraram alguma atividade inibitória sobre o crescimento microbiano das cepas testadas, em alguns

casos o halo inibitório foi superior ao da droga controle utilizada, como apresentado na tabela abaixo (Tabela 1). Também foi possível verificar que entre os dois tipos de cremes, houve formações de halos de diferentes tamanhos, frente aos mesmos microrganismos (Tabela 2).

| Copaíba / Cepa | <i>Staphylococcus aureus</i> | <i>Escherichia coli</i> | <i>Salmonella typhimurium</i> | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | <i>Candida albicans</i> |
|------------------------------|------------------------------|-------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------|
| <i>Copaifera langsdorffi</i> | + | - | - | + | + |
| <i>Copaifera officinalis</i> | + | - | - | + | + |

Tabela 1 – Tabela de resultados da comparação dos halos dos cremes com a droga controle frente às cepas.

- Formação de halo menor que o controle.

+ Formação de halo maior que o controle.

| Cepa | <i>Staphylococcus aureus</i> | <i>Escherichia coli</i> | <i>Salmonella typhimurium</i> | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | <i>Candida albicans</i> |
|-------|------------------------------|------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|------------------------------|
| Creme | <i>Copaifera officinalis</i> | <i>Copaifera langsdorffi</i> | <i>Copaifera officinalis</i> | <i>Copaifera officinalis</i> | <i>Copaifera langsdorffi</i> |

Tabela 2 – Tabela demonstrando de qual creme à formação do halo foi maior.

Quando analisadas as placas com as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, observou-se a formação de halos de inibição maiores que o controle, sendo ainda o halo do creme feito com a *Copaifera officinalis* foi maior que o do creme feito com *Copaifera langsdorffi* (Figuras 1).



Figura 1 – Placa contendo bactéria *Staphylococcus aureus*
0- Penicilina 1- *Copaifera langsdorffi* 2-*Copaifera officinalis*



Figura 2 – Placa contendo bactéria *Escherichia coli*
0- Penicilina 1- *Copaifera langsdorffi* 2-*Copaifera officinalis*

Ao analisar as placas contendo as bactérias *Escherichia coli* e *Salmonella typhimurium*, obteve-se halos menores que o do controle, sendo que na *Escherichia coli* o halo do creme da

Copaifera langsdorffi foi maior (Figura 2) e na *Salmonella typhimurium*, o creme da *Copaifera officinalis* foi maior (Figura 3).

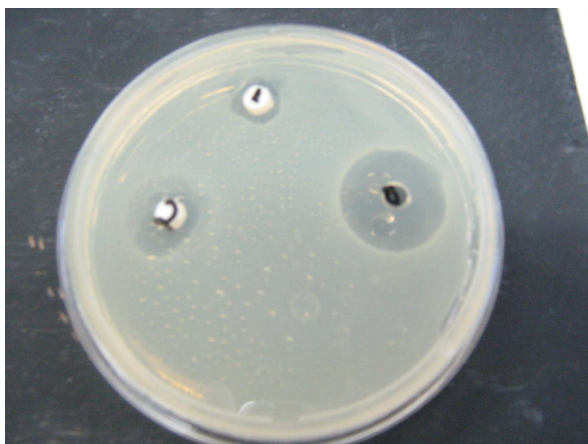


Figura 3– Placa contendo bactéria *Salmonella typhimurium*
0- Penicilina 1- *Copaifera langsdorffi* 2-*Copaifera officinalis*



Figura 4 – Placa contendo fungo *Cândida albicans*
0- Nitrato de Miconazol 1- *Copaifera langsdorffi* 2-*Copaifera officinalis*

Ao verificar as placas com a levedura *Candida albicans*, observou-se a formação de halos maiores que o do controle, sendo que a formação do halo contendo o creme feito com da *Copaifera langsdorffi* foi maior que o halo feito com o creme da *Copaifera officinalis* (Figura 4).

Como pode se observar, os cremes possuem alguma atividade inibitória, principalmente frente a microrganismos causadores de doenças de pele, podendo ser fontes de novos agentes para tratamento de doenças infecciosas importantes, como citado por Adriana dos Santos Oliveira.

CONCLUSÃO

Os cremes formulados com óleo de Copaíba apresentam significativa atividade inibitória frente às cepas selecionadas, e por não apresentarem citotoxicidade em células de mamíferos, apresentam-se como uma alternativa eficaz no tratamento de algumas doenças de pele causadas por alguns tipos de fungos e bactérias, já que sua formulação é de baixo custo e de fácil acesso a população.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAIMA, A.M.V., SANTOS, L.S., NUNES, D.S, CARVALHO, L.O.P. Produção de óleo de copaíba na região de Tapajós. **Embrapa – CPATU**. v. 103, p. 3, 1999.

BRITO, M.V.H., MOREIRA, R.J., TAVARES, M.L.C., CARBALLO, M.C.S., CARNEIRO, T.X., SANTOS, A.A.S. Copaiba oil effect on urea and creatinine serum levels in rats submitted to kidney ischemia and reperfusion syndrome. **Acta Cir Bra.** v. 20, p. 243-246, 2005.

CARVALHO, J.C.T., CASCON, V., POSSEBON, L.S., MORIMOTO, M.S.S., CARDOSO, L.G.V., KAPLAN, M.A.C., GILBERT, B. Topical antiinflammatory and analgesic activities of *Copaifera duckei* Dwyer. **Phytother Res.** v. 19, p. 946-950, 2005.

CARVALHO, P.E.R. Espécies arbóreas Brasileiras. **Embrapa Informação Tecnológica.** v. 1, p. 397-404, 2003.

CASCON, G.B. Characterization of the chemical composition of oleoresins of *Copaifera guianensis* Desf., *Copaifera duckei* Dwyer and *Copaifera multijuga* Hayne. **Phytochemistry.** v. 55, p. 773-778, 2000.

COSTA-LOTUFO, V., CUNHA, G.M.A., FARIAS, P.A.M., VIANA, G.S.B., CUNHA, K.M.A., PESSOA, C., MORAES, M.O., SILVEIRA, E.R., GRAMOSA, N.V. The cytotoxic and embryotoxic effects of kaurenoic acid, a diterpene isolated from *Copaifera langsdorffii* oleo-resin. **Toxicol.** v. 40, p. 1231-1234, 2002.

GILBERT, B.; TEIXEIRA D.F.; CARVALHO, E. S.; CASCON, V. Activities of the Pharmaceutical Technology Institute of the Osvaldo Cruz Foundation with medicinal, insecticidal and insect repellent plants. **Anais da Academia Brasileira de Ciências.** v. 71, n. 2, p. 265-271, 1999.

GOMES, E; GUES, M. A; MARTIN, N; SILVA, R. Enzimas termoestáveis: fontes, produção e aplicação industrial. **Química Nova,** São Paulo, v.30, n. 1, p. 136-145, 2007.

JUNIOR, V.F., PINTO, A.C. O Gênero *Copaifera*. **Química Nova,** São Paulo, vol. 25, 2002.

LIMA, M, BIAVATTI, M., DOSSIN, D. Análise de óleos-resinas de copaíba: contribuição para o seu controle de qualidade. **Revista Brasileira de Farmacognosia.** v. 16, p. 230-235, 2006.

PAIAVA, L.A.F., GURGEL, L.A., DE SOUZA, E.T., SILVEIRA, E.R., SILVA, R.M., SANTOS, F.A. Protective effect of *Copaifera langsdorffii* oleo-resin against acetic acid-induced colitis in rats. **J Ethnopharmacol**, v. 93, p. 51-56, 2004.

TINCUSI, B.M., JIMÉNEZ, I.A., BAZZOCCHI, I.L., MOUJIR, L.M., MAMANI, Z.A., BARROSO, J.P., RAVELO, A.G., HERNÁNDEZ, B.V. Antimicrobial terpenoids from the oleo resin of the peruvian medicinal plant *Copaifera paupera*. **Planta Med**, v.68, p. 808-812, 2002.

VEIGA, V. F., PATITUCCI, P. Controle de autenticidade de óleo de copaíba comerciais por cromatografia gasosa de alta resolução. **Química Nova**, v.20, p.612-615, 1997.