

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

ÓLEO VEGETAL DA SEMENTE DO GUANANDI (*Calophyllum brasiliense*): ANÁLISE DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Gabriel Mendes da Cunha¹, Max Sullivan Fontes², Cristiane dos Santos
Giuberti¹, Rodrigo Rezende Kitagawa¹, Janaina Cecilia Oliveira Villanova¹,
Juliana Alves Resende²

¹Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCFAR), Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), Vitória, ES, Brasil. gabrielmcunhaufes@gmail.com, pharmacotecnica@yahoo.com.br, cristiane.giuberti@ufes.br, rodrigo.kitagawa@ufes.br

²Laboratório de Análises Clínicas, Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), Alegre, ES, Brasil. max.s.fontes@gmail.com, juliana.resende@ufes.br

Resumo

Derivados vegetais de diferentes partes do guanandi vêm sendo explorados para uso em medicamentos e cosméticos. Existem relatos do emprego do óleo vegetal dos frutos do guanandi como biocombustível e do uso na medicina popular no tratamento de feridas. O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antimicrobiana do óleo vegetal de guanandi (OVG), nas concentrações de 0,5 a 9 % v/v, obtido por prensagem, empregando o método de microdiluição em caldo frente a *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Candida albicans* (ATCC 24433). Esta investigação constitui uma etapa fundamental de triagem para avaliar a eficácia e o perfil de segurança deste derivado botânico, possivelmente abrindo caminho para sua incorporação em futuras formulações farmacêuticas. Os resultados indicaram que, dentro da faixa de concentração estudada, o OVG não exibiu atividade antimicrobiana. Embora nossas descobertas não tenham demonstrado ação antimicrobiana neste contexto, elas destacam a busca contínua por inovações farmacêuticas baseadas na biodiversidade do mundo vegetal.

Palavras-chave: Derivado vegetal. *Staphylococcus aureus*. *Escherichia coli*. *Candida albicans*.

Área do Conhecimento: Ciências da Saúde, Farmácia.

Introdução

A pele é um tecido que exerce ação fundamental de barreira, separando o corpo humano do meio ambiente e, controlando diversas atividades bioquímicas e fisiológicas importantes para o funcionamento do organismo (ITO; AMAGAI, 2023). Um dos fatores que contribui para a manutenção da integridade da pele é o uso de produtos hidratantes, ricos em agentes emolientes, caracterizadas como excipientes capazes de preencher os espaços entre as células de queratina em situações de pele ressecada, ao mesmo tempo em que possui a habilidade de proporcionar hidratação e lubrificação (FERREIRA *et al.*, 2012; GIL-CASTAÑO; CARDONA, 2020).

O guanandi (*Calophyllum brasiliense*) é uma árvore da América Central e América do Sul, encontrada em várias regiões do Brasil, utilizada principalmente para extração de madeira e no plantio para reflorestamento de matas ciliares em culturas agroecológicas (CARVALHO, 2003). Há relatos também do uso medicinal de derivados vegetais obtidos de diferentes partes da planta, visando ação anti-inflamatória (raízes); antimicrobiana, antiviral, antiulcerosa e antiparasitária (folhas e cascas do tronco); e, (ABE *et al.*, 2004; CARLI *et al.*, 2012; CARVALHO, 2003; DEVIDE; CASTRO; RIBEIRO, 2019; HUERTA-REYES *et al.*, 2004; KLEIN-JÚNIOR *et al.*, 2017; ROMBOLA, 2014). Diversas partes da planta são ricas em ácido chiquímico, composto bioativo relacionado às atividades a elas atribuídas (MARCHIOSI *et al.*, 2019).

Análises fitoquímicas apontam que o OVG é rico em ácido oleico, ácido linoleico e ácido palmítico, ácidos graxos de interesse para aplicação tópica devido à sua rica função emoliente (COELHO *et al.*, 2022; GIL-CASTAÑO; CARDONA, 2020). Estudos escassos apontam que os ácidos graxos podem ser úteis em processos de cicatrização (FERREIRA *et al.*, 2012). Apesar do grande número de trabalhos

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

que avaliaram a possibilidade do emprego de óleos vegetais oriundos de fontes diversas, tais como, semente de graviola, café verde, castanha do Pará, cacau, entre outros, como emolientes em formulações de cremes para uso tópico, não há na literatura relatos para o uso do OVG visando tal finalidade.

Tais informações justificam a realização de um estudo que avalia a viabilidade do uso do OVG como emoliente em formulações de uso tópico, a fim de agregar valor bioeconômico ao guanandi que é produzido em uma fazenda particular do estado Espírito Santo (ES). Em uma primeira etapa, além da elucidação da composição química do OVG e da pesquisa do teor de ácidos graxos de interesse como emolientes, amostras do óleo obtido por prensagem foram submetidas a ensaios de citotoxicidade *in vitro*. Na presente etapa do trabalho, objetivou-se avaliar a atividade antibacteriana e antifúngica para o OGV e definir a concentração inibitória mínima (CIM) sobre cepas padrão de bactérias Gram-positiva, Gram-negativa e de um fungo.

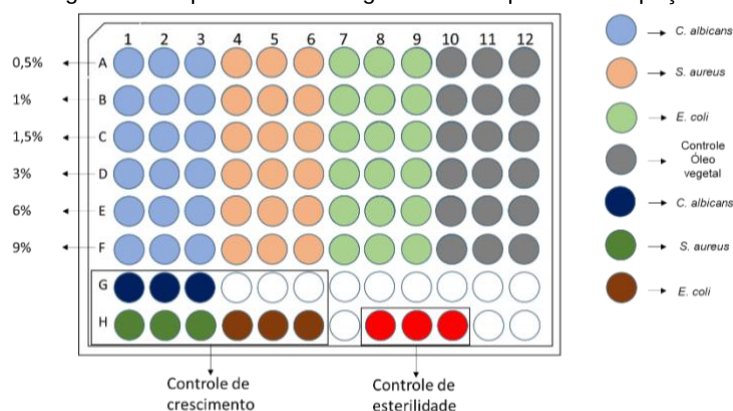
Metodologia

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Análises Clínicas, no Centro de Ciências Exatas, Naturais e de Saúde da UFES, *campus* Alegre. Todos os procedimentos envolvendo a manipulação dos microrganismos ou OVG foram realizadas em cabine de fluxo laminar vertical (LUTECH, modelo LFV-10), a fim de garantir a esterilidade dos materiais e amostras. Para realização dos ensaios, o OVG obtido por prensagem foi submetido à filtração esterilizante empregando membrana PES (BIONAKY).

Para o estudo, foram utilizadas linhagens padrão de bactérias Gram-positiva (*Staphylococcus aureus*; ATCC 25923) e Gram-negativa (*Escherichia coli*; ATCC 25922) e de uma levedura (*Candida albicans*; ATCC 24433).

Para a determinação da concentração inibitória mínima (CIM), foi utilizado o método de microdiluição de caldo, seguindo as diretrizes do *Clinical & Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2019) com modificações. Utilizou-se microplacas de poliestireno 96 poços estéreis com fundo chato, onde foram testadas diferentes concentrações do OVG (0,5%, 1%, 1,5%, 3%, 6% e 9%) acrescido de Tween® 20 (0,1%). O meio de cultura utilizado foi o caldo Mueller Hinton (CMH). Os microrganismos foram cultivados em caldo Mueller Hinton (CMH) e incubados a 35 (± 2° C) por 24 h. Após esta etapa, as culturas foram submetidas à coloração diferencial de Gram para garantia da pureza. Posteriormente, uma colônia isolada foi ressuspensas em solução salina (NaCl 0,9%) e ajustados para atingir uma turbidez de 0,5 Mc Farland. Para preenchimento dos poços, foram adicionados 100 µL das diferentes concentrações do OVG em cada poço, acrescido de 100 µL de inóculo fungico (10⁴ UFC/mL) ou bacteriano (10⁶ UFC/mL) ajustado (Figura 1).

Figura 1 - Esquema da montagem da microplaca de 96 poços.



Fonte: Os autores.

Para cada linhagem foi realizado um controle de crescimento (inóculo + meio de cultura) e controle de esterilidade (somente CMH). As placas foram tampadas, homogeneizadas e incubadas em

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

estufa ($35 \pm 2^\circ\text{C}$) por 24-48 horas. Todos os ensaios foram realizados em triplicata. A CIM foi determinada como a menor concentração do OVG que resultou na completa inibição do crescimento fúngico/bacteriano, sem a formação de precipitado ou turvação no meio de cultura, após o período de incubação. Após a microdiluição, todos os poços foram semeados em placas contendo ágar nutriente e incubadas a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24 horas. O resultado foi determinado pela presença ou ausência de formação de colônias, classificando a ação como fungicida/bacteriocida ou fungistática/bacteriostática, respectivamente.

Resultados

No ensaio de microdiluição, foi evidenciada a formação de turvação no meio de cultura, sugerindo o crescimento microbiano tanto nos poços de controle quanto nos que continham diversas concentrações do OVG. Essa observação aponta para a falta de atividade nas concentrações testadas em relação aos microrganismos desafiados. Após a etapa de plaqueamento, constatou-se o desenvolvimento de microrganismos em todas as placas, conforme apresentado na Figura 2, reforçando a ausência de efeitos bactericidas, fungicidas, bacteriostáticos e fungistáticos do OVG.

Figura 2 – Resultados do plaqueamento em ágar nutriente.



Fonte: Os autores (2023).

Discussão

Óleos essenciais são definidos como produtos derivados de matérias-primas naturais de origem vegetal. Por outro lado, óleos vegetais são produtos constituídos principalmente de glicerídeos de ácidos graxos de espécie vegetal. Podem conter pequenas quantidades de outros lipídeos como fosfolipídeos, constituintes insaponificáveis e ácidos graxos livres naturalmente presentes no óleo ou na gordura (BRASIL, 2005). Portanto, espera-se que os óleos essenciais, ricos em compostos bioativos de interesse, possuam maior espectro de atividades terapêuticas quando comparados aos óleos vegetais (BAPTISTA-SILVA et al., 2020).

Embora o objetivo do estudo seja avaliar a viabilidade do uso do OVG como emoliente, pesquisar a existência de atividade antimicrobiana para este amplia a sua aplicabilidade e funcionalidade, pois, além de formar camada oclusiva e hidratante, se confirmada a existência de atividade antimicrobiana, o OVG pode ser útil também no controle de infecções tópicas. No presente trabalho, a partir da avaliação dos controles, observou-se que houve crescimento microbiano nos poços contendo o controle de crescimento, demonstrando a viabilidade dos microrganismos e a adequação dos ensaios ao protocolo CSLI (2019). Por outro lado, nenhuma concentração do OVG foi capaz de inibir o crescimento das cepas de bactérias e do fungo testadas. Após plaqueamento das amostras sem e com

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

o OVG em todas as concentrações, foi observado crescimento bacteriano em todas as placas, confirmando a inexistência de atividade para as linhagens estudadas. Ao contrário dos inúmeros relatos encontrados para a existência de atividade antimicrobiana dos óleos essenciais, informações sobre a eficácia de óleos vegetais na inibição do crescimento de bactérias e fungos são encontrados em menor número.

Assim como o observado no presente trabalho, Miranda (2018) pesquisou a atividade antimicrobiana e larvívica de óleos vegetais (OVs) e extratos brutos de cinco espécies vegetais da Amazônia, a saber, castanha-do-brasil, pracaxi, tucumã, amapazeiro e rabo de arara. Os OVs não apresentaram eficácia inibitória sobre as cepas de bactérias estudadas, embora o OV de castanha-do-brasil tenha apresentado atividade larvívica após 48 h de exposição larval.

De acordo com o observado neste estudo, Mendes Neta (2020), avaliou a atividade antibacteriana e antibiofilme do óleo fixo de pequi (*Caryocar coriaceum*) e, segundo a autora, o óleo fixo não apresentou atividade antibacteriana frente às bactérias isoladas, porém foi capaz de inibir a formação de biofilme. Lima *et al.*, (2016) estudaram a atividade antimicrobiana através do óleo fixo das sementes de Sucupira-preto (*Bowdichia virgiloides*) e observaram que o OV não apresentou atividade antimicrobiana nas concentrações de estudo.

Ao contrário do observado no presente estudo, Holanda (2016) avaliou a atividade antimicrobiana do óleo vegetal da semente do murici-rasteiro frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, empregando método de microdiluição e observou que o óleo vegetal inibiu a proliferação das bactérias desafiadas. Ramos (2015) avaliou o efeito antimicrobiano do óleo vegetal da semente da romã frente *B. cereus*, *E. coli*, *S. typhi*, *S. aureus* pelo método de microdiluição, observando a existência de atividade sobre todas as cepas para a maior concentração pesquisada. Agra e Fortuna (2019) avaliaram a existência de atividade antimicrobiana de diferentes partes da palmeira buri sobre *S. aureus* e *E. coli* sendo observada ação sobre a bactéria Gram-positiva. Silva (2020) investigou o potencial de atividade antimicrobiana do óleo vegetal do licuri pelas técnicas de microdiluição e apresentou e apresentou atividade antimicrobiana frente aos testes.

A inexistência de atividade antimicrobiana para o OVG de guanandi estudado pode ser justificada por diferentes motivos, entre os quais se destacam a técnica empregada para a extração dos óleos vegetais, que podem se fundamentar em métodos que utilizam ou não solventes, o que altera a composição dos OVs. A obtenção por métodos que envolvem solventes permite a extração de compostos bioativos com reconhecida ação antimicrobiana, tais como o timol, carvacrol, eugenol, entre outros. Já os métodos mecânicos, como a prensagem, empregada para a obtenção do OVG utilizado neste estudo, nem sempre extraem compostos bioativos de interesse terapêutico, sendo úteis na obtenção de compostos não voláteis, como os ácidos graxos (NDE; ANUANWEN, 2020; YUSUF, 2018).

Conclusão

Os resultados obtidos neste estudo demonstraram que o óleo vegetal dos frutos do guanandi obtido por prensagem não apresentou atividade antimicrobiana nas concentrações estudadas sobre as cepas padrão desafiadas.

Referências

ABE, F. *et al.* Trypanocidal constituents in plants 3. Leaves of *Garcinia intermedia* and heartwood of *Calophyllum brasiliense*. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 27, n. 1, p. 141–143, 2004.

AGRA, A. C.; FORTUNA, J. L. Atividade antimicrobiana do óleo fixo de *Allagoptera caudescens* (Mart.) Kuntze sobre bactérias patogênicas. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 2, n. 3, p. 1120–1129, 2019.

BAPTISTA-SILVA, S. *et al.* The progress of essential oils as potential therapeutic agents : a review. **Journal of Essential Oil Research**, v. 32, n. 4, p. 279–295, 2020.

BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução-RDC nº 270, de 22 de

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

setembro de 2005. Dispõe sobre o regulamento técnico para planejamento, programação, elaboração e avaliação de projetos físicos de estabelecimentos assistenciais de saúde. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 23 set. 2005

CARLI, E. *et al.* Aspectos químico, botânico e etnobotânico da espécie *Calophyllum brasiliensis*. **Biodiversidade**, v. 11, n. 1, p. 43–56, 2012.

CARVALHO, P. E. R. Guanandi: *Calophyllum brasiliense*. **Espécies arbóreas Bras.** Coleção es ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; Colombo: Embrapa Florestas, 2003. p. 485–494.

CLSI (CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE). **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically**. Approved standard M100, Wayne, PA: CLSI. 2019.

COELHO, M. C. B. *et al.* Rendimento e ácidos graxos dos frutos de *Calophyllum brasiliensis* no sul do tocamins. **Gears Future**. p. 212–220, 2022

DEVIDE, A. C. P.; CASTRO, C. M. ; RIBEIRO, R. D. L. D. Crescimento do guanandi e produção de mandioca e araruta em sistemas agroflorestais. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 14, n. 2, p. 303–311, 2019.

FERREIRA, A. M. *et al.* Utilização dos ácidos graxos no tratamento de feridas: uma revisão integrativa da literatura nacional. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 46, n. 3, p. 752–760, 2012.

GIL-CASTAÑO, G.; CARDONA, R. Emollients: Benefits, key elements, and clinical application. **Revista Alergia Mexico**, v. 67, n. 2, p. 128–141, 2020.

HOLANDA, L. C. **Caracterização química e atividades biológicas do óleo vegetal da semente da espécie *Byrsonima verbascifolia* (L.) DC.** 2016. 58 f. Universidade Federal de Roraima, 2016.

HUERTA-REYES, M. *et al.* HIV-1 inhibition by extracts of clusiaceae species from Mexico. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 27, n. 6, p. 916–920, 2004.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO 9235:2021. **Aromatic natural raw materials – Vocabulary**. International Organization for Standardization: Genebra, 2021

ITO, Y.; AMAGAI, M. Dissecting skin microbiota and microenvironment for the development of therapeutic strategies. **Current Opinion in Microbiology**, v. 74, p. 102311, 2023.

KLEIN-JÚNIOR, L. C. *et al.* The validation of *Calophyllum brasiliense* (“guanandi”) uses in Brazilian traditional medicine as analgesic by in vivo antinociceptive evaluation and its chemical analysis. **Naunyn-Schmiedeberg’s Archives of Pharmacology**, v. 390, n. 7, p. 733–739, 1 jul. 2017.

LIMA, F. G. C. *et al.* Evaluation of antimicrobial activity of the fixed oil of *Bowdichia virgilioides* Kunth (Fabaceae) seeds. **Gaia Scientia**, v. 10, n. 4, p. 681–689, 2016.

MARCHIOSI, R. *et al.* *Calophyllum brasiliense*: An alternative and promising source of shikimic acid. **Sustainable Chemistry and Pharmacy**, v. 14, n. August, 2019.

MENDES NETA, B. **Avaliação da atividade antibacteriana e antibiofilme do óleo fixo de *Caryocar coriaceum***. 2020. 78 f. TCC (Graduação em Enfermagem) – Universidade Federal de Pernambuco, CAV, Bacharelado em Enfermagem, 2020.

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

MIRANDA, D. T. M. **Atividade antimicrobiana e larvicida de óleos fixos e extratos brutos de cinco espécies vegetais da Amazônia**. 2018. 97 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Departamento de Pós-Graduação, Universidade Federal do Amapá, Macapá, 2018.

NDE, D. B.; ANUANWEN, C. F. Optimization methods for the extraction of vegetable oils: A review. **Processes**, v. 8, n. 2, 2020.

RAMOS, A. V. G. **Atividade antioxidante e antimicrobiana de produtos naturais e seus efeitos na associação com conservantes sintéticos de alimentos e cosméticos**. 2015. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnologia em Processos Químicos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Toledo, 2015.

ROMBOLA, T. H. **Efeito do extrato aquoso de folhas de guanandi (*Calophyllum brasiliense*) no controle do crescimento de *Microcystis aeruginosa***. 2014. vi, 73 f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu, 2014.

SILVA, P. M. **Utilização do óleo *syagrus coronata* para auxiliar no tratamento da acne**. 2020. 51 f. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas. Recife, 2020.

YUSUF, A. K. A Review of Methods Used for Seed Oil Extraction. **International Journal of Science and Research**, v. 7, n. 12, p. 233–238, 2018.

Agradecimentos

À FAPES pelo apoio financeiro e concessão de bolsa de mestrado (Edital Universal 03/2021; TO427/2021) e, ao CNPq, pela concessão de bolsa de Inovação Tecnológica.