



## AVALIAÇÃO DO EFEITO CICATRIZANTE E ANTIMICROBIANO DO EXTRATO DE *Bixa orellana L.*

Edson Consentino Junior<sup>1</sup>; Bruno Mateus Feria Balestero<sup>2</sup>; Ana Flávia de Souza Prado<sup>3</sup>; Daniele Fernanda Felipe<sup>4</sup>; Heber Amilcar Martins<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Acadêmico do Curso de Medicina, UniCesumar, Maringá/PR, PIBIC/UniCesumar.

<sup>2,3</sup>Acadêmicos do Curso de Medicina, UniCesumar, Maringá/PR.

<sup>4</sup>Coorientadora, Doutora, Docente do Curso de Farmácia, UniCesumar, Maringá/PR.

<sup>5</sup>Orientador, Doutor, Docente do Curso de Medicina, UniCesumar, Maringá/PR.

**RESUMO:** A utilização das plantas na medicina tem uma grande importância no atendimento primário de saúde em todo o mundo. Entretanto, poucas plantas foram validadas do ponto de vista farmacológico, fitoquímico, biológico e principalmente clínico. A *Bixa orellana L.*, popularmente conhecida urucum, é muito utilizada como corante em alimentos, mas suas propriedades terapêuticas não estão bem estabelecidas. O objetivo deste trabalho é avaliar a atividade farmacológica do extrato de *Bixa orellana L. in vivo*, estudando o provável efeito cicatrizante, e *in vitro*, avaliando possível a ação antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*. Serão utilizados 24 ratos Wistar machos, em quatro períodos experimentais com duração de 4, 7, 10 ou 14 dias. Após excisão as feridas serão tratadas com pomada base (controle) ou com a pomada contendo extrato de *Bixa orellana L.* a 5%, uma vez ao dia. Para o preparo da formulação, foi obtido o extrato etanólico de *Bixa orellana L.* e o mesmo foi incorporado a pomada base para a realização dos testes de estabilidade preliminares. Os testes preliminares demonstraram estabilidade quanto ao aspecto, cor, odor, consistência e pH na amostra submetida a temperatura de 5°C. As amostras expostas a temperatura ambiente e de 40°C apresentaram estabilidade relacionada ao odor. A preparação conservada a 5°C possui a maior estabilidade comparada às outras, já que foi a única a apresentar todas as características desejadas.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Bixa orellana L.*, cicatrização, compostos antibacterianos, métodos extrativos, feridas.

### 1 INTRODUÇÃO

A cicatrização é um processo pelo qual o tecido lesado é substituído por tecido conjuntivo vascularizado (BRASILEIRO FILHO, 2016). Durante o processo de cicatrização ocorre uma sequência de reações físicas, químicas e biológicas com a finalidade de reconstituir a continuidade tecidual que foi interrompida. Esta sequência de reações pode ser dividida em três fases, a saber: a inflamatória, a fibroblástica e a maturação, que, embora distintas, sobrepõem-se de tal maneira que numa delas se podem observar elementos da fase subsequente e vice-versa, num processo de envolvimento eminente e dinâmico (BECKER, 2006). O reparo completo de tecidos resulta de alternâncias sucessivas de reações anabólicas e catabólicas que têm os leucócitos como um de seus mais importantes protagonistas (BALBINO; FERREIRA; CURI, 2005). Diversos fitoterápicos vêm sendo investigados e usados no tratamento de feridas no intuito de acelerar ou influenciar benéficamente o processo de reparo cicatricial (SANTOS et al., 2006). Produtos naturais como plantas e minerais continuam sendo utilizados de formas individualizadas ou associadas e constituem maior fonte para obtenção de medicamentos e para diversas finalidades, como para cicatrização de feridas cutâneas (OLIVEIRA, 2005). Amplamente difundido em nossa cultura, particularmente na alimentação, o urucum (*Bixa orellana L.*) ainda é utilizado na medicina popular para o tratamento de diabetes, infecções cutâneas, queimaduras, febre, diarreia e asma (PÉREZ; SÁNCHEZ, 2010). A *Bixa orellana L.* pertence a família *Bixaceae*, uma planta nativa da floresta tropical das Américas Central e do Sul (PERRY; METZGER, 1980). Segundo Lorenzi e Matos, (2002), as folhas são levemente róseas, dispostas em panículas terminais. Seus frutos são do tipo cápsula deiscente, ovoides, com 2 ou 3 carpelos, cobertos de espículos flexíveis, de cor vermelha, esverdeada ou parda,



contendo muitas sementes pretas cobertas por um arilo ceroso de cor vermelha e odor característico, apresentam na composição celulose (40-45%), açúcares (3,5 - 5,2%), óleo essencial (3%), óleo fixo (4,5 - 5,5%), proteínas (13 -16%), vitaminas (B1, B2, C e A), e minerais (cálcio, ferro, fósforo e zinco) (COSTA, 2007). *Bixa orellana L.* é geralmente aplicada como expectorante, laxante, anti-hemorragico, antipirético ou anti-inflamatório. Também utilizado para tratar bronquite, tuberculose, dispepsia, condições do coração (LIMA; CASTRO, 2006), e queimaduras, tem usos secundários como uma adjuvante na cicatrização de feridas (COSTA, 2007). Foi descrito como antisséptico, antioxidante, diurético, afrodisíaco, hipoglicemiante e vermífugo, fonte de vitaminas e agente com propriedades antitumorais, sobretudo no combate à câncer oral (PÉREZ; SÁNCHEZ, 2010). Recentemente, a atividade cicatrizante e anti-inflamatória em feridas orais foi relatada por Piva et al., (2013).

Pesquisas têm sido realizadas no sentido de identificar novas substâncias com ação antimicrobiana (ALVARENGA, 2007). Um extrato etanólico de *Bixa orellana L.*, apresentou significativa ação antibacteriana, frente a Gram-positivas (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus faecalis*) (IROBI; MOO YOUNG; ANDERSON, 1996). Já o extrato hidroalcoólico apresentou atividade antimicrobiana contra *Streptococcus pyogenes*, *Proteus mirabilis* e *Staphylococcus aureus* (GONÇALVES; ALVES FILHO; MENEZES, 2005). O extrato metanólico das folhas e das sementes apresentou atividade antimicrobiana contra *Streptococcus mutans* e *Streptococcus sanguinis*, além de atividade citotóxica (MEDINA-FLORES et al., 2016).

Estudos avaliando a toxicidade do urucum em modelos animais indicam não haver efeitos genotóxicos, teratogênicos, mutagênicos ou clastogênicos (LIMA et al., 2001).

A partir do pericarpo seco das sementes do urucum é extraído um corante amarelo-avermelhado. Este pode ser obtido por processos mecânicos através de atrito ou raspagem das sementes, através de solventes, ou ainda através de processos enzimáticos (ANSELMO et al., 2008). O pigmento do urucum é extraído da camada externa das sementes, constituído basicamente de cis-bixina, um carotenoide que representa mais de 80% dos carotenoides totais ali presentes. Da bixina são obtidos os demais pigmentos do urucum, como a norbixina, estes corantes podem ser lipossolúveis e hidrossolúveis (SILVA, 2007). A retirada do grupo metil éster da bixina origina a norbixina, um ácido dicarboxílico. As diferenças estruturais conferem à bixina características lipossolúveis, devido à presença do éster metílico na molécula, enquanto a norbixina apresenta maior hidrossolubilidade em razão da presença do grupamento carboxila, sítio de interações com moléculas de água (LIMA et al., 2006).

Baseado nas características e devido poucos estudos em sobre os efeitos farmacológicos da Bixina e Norbixina como cicatrizantes, este trabalho irá buscar fundamentos e resultados da atividade de *Bixa orellana L.* como cicatrizante e bactericida.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

As sementes do vegetal foram coletadas na cidade de Rondon/PR, secas em estufa a  $37^{\circ} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$  por 48 horas.

O extrato foi obtido segundo as técnicas descritas por Costa, (2007), e Viuda-Martos et al., (2012). O material seco (500 g) submetido ao processo extrativo pela técnica de maceração, com emprego de etanol a 99,5% (1000 mL) por 48 horas. O extrato etanólico foi concentrado utilizando rotaevaporador com pressão reduzida ( $< 100$  mbar) a  $40^{\circ}\text{C}$ . O extrato concentrado foi armazenado adequadamente em recipientes de vidro âmbar sob refrigeração a  $4^{\circ}\text{C}$ .

Para a formulação da base da pomada foram utilizadas as seguintes matérias-primas: Lanette® N (15%), lanolina anidra (45%), vaselina líquida (20%), propilparabeno (0,15%), butilhidroxitolueno (0,1%), metilparabeno (0,05%) e água destilada (q.s.p. 100 g) (Tabela 1), adaptado a partir da técnica descrita por Barros et al., (2010).

Os componentes da fase oleosa (fase 1) foram aquecidos em banho-maria até  $70^{\circ}\text{C}$ , enquanto os componentes da fase aquosa (fase 2) foram aquecidos no bico de Bunsen até  $75^{\circ}\text{C}$ . Quando atingidas as



temperaturas desejadas, verteu-se levemente a fase 2 sobre a fase 1, formando um filete fino e contínuo, sob agitação vigorosa até adquirir a consistência adequada. Em seguida, foi incorporado e homogeneizado o extrato de *Bixa orellana L.* na concentração de 5%.

Após a obtenção da pomada, foram iniciados os testes de estabilidade e qualidade. Para acelerar as possíveis mudanças durante o prazo de validade, a pomada foi dividida em três recipientes plásticos e armazenadas em temperaturas diferentes: ambiente, refrigerador (5°C) e estufa (40°C). Sendo avaliado o aspecto, cor, odor, consistência e pH em 24 horas, 3, 7, 15, 30 e 60 dias a partir da manipulação.

**Tabela 1.** Formulação da pomada contendo extrato de *Bixa orellana L.*

Fase	Componentes	Quantidade
1	Lanette® N	15 g
1	Lanolina Anidra	45 g
1	Vaselina Líquida	20 g
1	Propilparabeno	0,15 g
1	Butilhidroxitolueno	0,1 g
2	Metilparabeno	0,05 g
2	Água Destilada	q.s.p. 100 g
3	Extrato de <i>Bixa Orellana L.</i>	5 g

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO PARCIAIS

A escolha da forma farmacêutica levou em consideração o fato de que as pomadas proporcionam maior fixação à pele, resultando em maior penetração do ativo no sítio de lesão (BARROS et al., 2010).

O extrato concentrado feito das sementes de *Bixa orellana L.* foi incorporado em concentração de 5% na base da pomada que, depois de manipulada, apresentou aspecto, consistência e pH desejados, odor característico da lanolina anidra e coloração laranja oriunda dos pigmentos contidos no extrato.

Os testes de estabilidade e qualidade foram iniciados, sendo observados o aspecto, a cor, o odor, a consistência e o pH das pomadas armazenadas em temperatura ambiente, no refrigerador e na estufa, nos períodos de 24 horas, 3, 7, 15, 30 e 60 dias a partir da manipulação.

A pomada armazenada na geladeira permaneceu estável, entretanto, a amostra armazenada em temperatura ambiente apresentou alterações no aspecto e consistência a partir do sétimo dia, possuindo óleo na superfície e perda de consistência, entretanto na avaliação de 60 dias houve melhora na consistência da amostra. A pomada da estufa, mostrou alterações de aspecto, consistência, cor e pH já nas primeiras 24 horas, apresentando perda de consistência, coloração escura e pH mais ácido (Tabela 2).

As variações de temperatura influenciam a estabilidade de formulações como pomadas e emulsões, considerando que altera as interações do tipo pontes de hidrogênio, levando a perda da eficiência dos tensoativos, que perdem sua propriedade hidrofílica, levando a instabilidade (BARROS et al., 2010). As alterações dos constituintes da formulação também podem estar relacionadas à estabilidade do pH. A melhora visualizada em relação à consistência da preparação exposta à temperatura ambiente resulta das baixas temperaturas ambientes manifestadas nos meses de junho a agosto de 2018, demonstrando o papel importante desta variável sobre a estabilidade de pomadas, que devem ser mantidas em locais frescos para evitar a separação de suas fases.



**Tabela 1** Resultado do teste de estabilidade da pomada contendo extrato de *Bixa orellana L.* nos tempos de 0 horas, 24 horas, 3, 7, 15, 30 e 60 dias, quanto ao aspecto, a cor, o odor, a consistência e o pH em temperatura ambiente, sob refrigeração e estufa.

Tempo	Temperatura	Aspecto	Cor	Odor	Consistência	pH
0h	5°C	AD	CARAC	CARAC	AD	5,5
	AMBIENTE	AD	CARAC	CARAC	AD	5,5
	40°C	AD	CARAC	CARAC	AD	5,5
24h	5°C	AD	CARAC	CARAC	AD	5,5
	AMBIENTE	AD	CARAC	CARAC	AD	5,5
	40°C	INAD	INCAR	CARAC	INAD	4,5
3 dias	5°C	AD	CARAC	CARAC	AD	5,5
	AMBIENTE	AD	CARAC	CARAC	AD	5,5
	40°C	INAD	INCAR	CARAC	INAD	4,5
7 dias	5°C	AD	CARAC	CARAC	AD	5,5
	AMBIENTE	INAD	CARAC	CARAC	INAD	5,5
	40°C	INAD	INCAR	CARAC	INAD	4,5
15 dias	5°C	AD	CARAC	CARAC	AD	5,5
	AMBIENTE	INAD	CARAC	CARAC	INAD	5,5
	40°C	INAD	INCAR	CARAC	INAD	4,5
30 dias	5°C	AD	CARAC	CARAC	AD	5,5
	AMBIENTE	INAD	CARAC	CARAC	INAD	5,5
	40°C	INAD	INCAR	CARAC	INAD	4,5
60 dias	5°C	AD	CARAC	CARAC	AD	5,5
	AMBIENTE	INAD	CARAC	CARAC	AD	5,5
	40°C	INAD	INCAR	CARAC	INAD	4,5

Legenda: AD: adequado; INAD: inadequado; CARAC: característico; INCAR: não característico.

## 4 CONCLUSÃO

As plantas medicinais vêm sendo muito estudadas, mas seus potenciais terapêuticos não são completamente explorados e validados, como é o caso da ação cicatrizante e antimicrobiana da *Bixa orellana L.*

Os testes de estabilidade são muito importantes na produção de medicamentos, pois são a partir deles que obtemos informações sobre a estabilidade, vida-média e período de utilização em embalagem e condições de estocagem especificadas do produto e demonstraram, até o momento, que a pomada armazenada em temperatura de 5°C possui a maior estabilidade comparada às outras, já que foi a única a apresentar todas as características desejadas, pois notou-se que, em 60 dias após a manipulação, as pomadas apresentaram alterações no aspecto, consistência, cor e pH diante maiores temperaturas.

## REFERÊNCIAS

ALVARENGA, A. L. et al. Atividade antimicrobiana de extratos vegetais sobre bactérias patogênicas humanas. **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**, v.9, p. 86-91, 2007.

ANSELMO, G. C. S.; MATA, M.; RODRIGUES, E. Comportamento Higroscópico do Extrato seco de Urucum (*Bixa Orellana L.*). **Ciências agrotécnicas**. v. 32, n. 6, p. 1888-1892, 2008.

BALBINO, C. A.; PEREIRA, L. M.; CURI, R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. **Rev. Bras. Cienc. Farm.**, São Paulo, v. 41, n. 1, 2005.



- BARROS, K. N. et al. Desenvolvimento de Formulação de uso Tópico com Ação Cicatrizante Contendo Extrato de *Pereskia aculeata*. **Revista de Iniciação Científica Cesumar**, v. 12, n. 1, p. 29-37, 2010.
- BECKER, P. F. L. **Patologia geral**. São Paulo: Sarvier 2006.
- BRASILEIRO FILHO, G. et al. **Bogliolo: patologia**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016. 1542 p.
- COSTA, C. K. **Estudo Fitoquímico de Bixa orellana L., Bixaceae e Aplicação de seu óleo em Formulação Cosmética**. 2007. 115 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2007.
- GONÇALVES, A. L.; ALVES FILHO, A.; MENEZES, H. Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas arvores nativas. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.72, n.3, p. 353-358, 2005.
- IROBI, O. N.; MOO YOUNG, M.; ANDERSON, W. A. Antimicrobial activity of Annatto (*Bixa Orellana*) extract. **International Journal of Pharmacognosy**, v.34, n.2, p.87-90, 1996.
- LIMA, L. R. P. et al. Bixina, norbixina e quercetina e seus efeitos no metabolismo lipídico de coelhos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.38, n.4, p.196- 200, 2001.
- LIMA, R. J. C. et al. Taninos hidrolisáveis em *Bixa Orellana L.* **Quim. Nova**, v. 29, n.3, p. 507-509, 2006.
- LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas Medicinais no Brasil: Nativas e Exóticas Cultivadas**. Nova Odessa: Ed. Plantarum, 2002.
- MEDINA-FLORES, D. et al. Antibacterial activity of *Bixa orellana L.* (achiote) against *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguinis*. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 6, n. 5, p. 400-403, 2016.
- OLIVEIRA, J. S. **Caracterização, extração e purificação por cromatografia de compostos de Urucum (*Bixa orellana L.*)**. 2005. 215 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.
- PÉREZ, H. de la C. L.; SÁNCHEZ, G. M. La *Bixa orellana L.* en el tratamiento de afecciones estomatológicas, un tema aún por estudiar. **Revista Cubana Farmacia**. v. 44, n.2, p. 231-244, 2010.
- PERRY, L. M.; METZGER J. **Medicinal Plants of East and South-east Asia**, MIT Press, Cambridge, Mass, USA, 1980.
- PIVA, R. M. et al. Bixin action in the healing processo f rats mouth wounds. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, v. 14, n. 8, 2013.
- SANTOS, M. F. S. et al. Avaliação do uso do extrato bruto de *Jatropha gossypifolia L.* na cicatrização de feridas cutâneas em ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**. v. 21, supl. 3, p. 2-7, 2006.
- SILVA, I. P. **Métodos de Extração e Caracterização de Bixina e Norbixina Em Sementes de Urucum (*Bixa orellana*)**. 2007. 145 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2007.



VIUDA-MARTOS, M. et al. *In vitro* antioxidant and antibacterial activities of extracts from annatto (*Bixa orellana* L.) Leaves and seeds. **Journal of Food Safety**, v. 32, n. 4, p. 399-406, 2012.