



Avaliação da bioatividade dos extratos de cúrcuma (*Curcuma longa* L., Zingiberaceae) em *Artemia salina* e *Biomphalaria glabrata*

Carlos R. M. da Silva Filho,^{*1} Antonio G. de Souza,² Marta M. da Conceição,³
Thiago G. da Silva,⁴ Tania M. S. Silva,^{*5} Ana P. L. Ribeiro⁶

¹Departamento de Tecnologia Química e de Alimentos, Universidade Federal da Paraíba, 58051-970, João Pessoa-PB, Brasil

²Laboratório de Combustíveis e Materiais, Universidade Federal da Paraíba, 58059-900, João Pessoa-PB, Brasil

³Centro de Educação e Saúde, Unidade Acadêmica de Educação, Universidade Federal de Campina Grande, 58175-000, Cuité-PB, Brasil

⁴Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal da Paraíba, 58051-970, João Pessoa-PB, Brasil

⁵Departamento de Química, Universidade Federal Rural de Pernambuco, 52171-900, Recife-PE, Brasil

⁶Departamento de Tecnologia Química e de Alimentos, Universidade Federal da Paraíba, 58051-970, João Pessoa-PB, Brasil

RESUMO: A cúrcuma é o rizoma limpo, em boas condições, seco e moído da *Curcuma longa* L., uma planta herbácea da família Zingiberaceae. Visando novas alternativas para o controle da esquistossomose, os extratos de *Curcuma longa* L. foram testados para a avaliação da atividade moluscicida contra caramujos adultos da espécie *Biomphalaria glabrata*, e toxicidade (ensaio de letalidade com *Artemia salina*). A oleoresina e o óleo essencial de cúrcuma foram ativos contra *Artemia salina* ($CL_{50} = 80,43$ e $CL_{50} = 319,82$ $\mu\text{g/mL}$, respectivamente) e também ativos contra os indivíduos adultos de *Biomphalaria glabrata* ($CL_{50} = 58,3$ e $CL_{50} = 46,73$ $\mu\text{g/mL}$, respectivamente). A partir dos resultados obtidos pôde ser concluído que ambos os extratos podem constituir uma alternativa no controle da população desses caramujos e na redução da esquistossomose.

Unitermos: cúrcuma, atividade moluscicida, *Biomphalaria glabrata*, *Artemia salina*.

ABSTRACT: "Bioactivity evaluation of the turmeric (*Curcuma longa* L., Zingiberaceae) extracts in *Artemia salina* and *Biomphalaria glabrata*". The turmeric is the clean rhizome at good conditions, dried and powdered of *Curcuma longa* L., an herbaceous plant of Zingiberaceae family. Aiming new alternatives for Schistosomiasis control, the *Curcuma longa* L. extracts were tested for molluscicidal activity evaluation against adult snails of *Biomphalaria glabrata* specie, and the toxicity (Brine Shrimp Lethality-BSL-bioassay). The oleoresin and the essential oil of turmeric were active against *Artemia salina* ($CL_{50} = 80.43$ and $CL_{50} = 319.82$ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, respectively) and also active against the adult snails of *Biomphalaria glabrata* ($CL_{50} = 58.3$ and $CL_{50} = 46.73$ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, respectively). From the obtained results it was concluded that both extracts can constitute an alternative to population control of these snails and in the reduction of Schistosomiasis.

Keywords: turmeric, molluscicidal activity, *Biomphalaria glabrata*, *Artemia salina*.

INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, tem sido observado um grande interesse pelo potencial terapêutico das plantas medicinais (Yunes et al., 2001). Tal fato é comprovado pela evidência de que hoje, cerca de 30% das drogas prescritas no mundo são obtidas direta ou indiretamente de plantas. Além disso, cerca de 50% das drogas desenvolvidas entre 1981 e 2002 foram obtidas a partir de produtos naturais, análogos semi-sintéticos ou ainda compostos sintéticos baseados em produtos naturais (Koehn & Carter, 2005).

O açafrão ou cúrcuma, como também é conhecido, é considerado uma especiaria preciosa (Matos, 2000). Morfologicamente, caracteriza-se como uma pequena erva aromática, anual, composta de um rizoma principal com várias ramificações menores, todas marcadas com anéis de brácteas secas. Cada rizoma mede até 10 cm de comprimento e quando cortados mostram uma superfície de cor vermelha alaranjada, proveniente da presença do pigmento curcumina. Possui cheiro forte agradável e sabor aromático e picante. É originária da Índia, mas é muito cultivada nos países tropicais como planta medicinal ou

condimentar (Matos, 2000).

São três os pigmentos curcuminóides: curcumina, desmetoxicurcumina e bisdesmetoxicurcumina, presentes no rizoma nas concentrações de 60, 22 e 18%, respectivamente (Govindarajan, 1980). Os principais componentes dos óleos essenciais são turmerona, dehidroturmerona e cetonas aromáticas (zingibereno, alfa-felandreno, sabineno, cineol e borneol) em menores proporções (Mata et al., 2004).

A cúrcuma além de largamente utilizada na medicina popular no tratamento de diversas doenças, é também muito citada na literatura pela variedade de atividades que apresenta. Os principais compostos responsáveis pelas atividades da planta são a curcumina e seus derivados. Testes *in vitro* mostraram atividades antiparasitária, antiespasmódica, antiinflamatória e também o potencial anticancerígeno da curcumina, mais abundante componente da planta. A curcumina também apresentou atividades como antibacteriana, onde o óleo da cúrcuma inibiu o crescimento de *Staphylococcus aureus* e *Bacillus typhosus*; atividade anti-HIV, em que a curcumina é um inibidor da proteína integrase na replicação do HIV-1 (Araújo & Leon, 2001).

A esquistossomose, causada pelo trematoide *Schistosoma mansoni*, é uma importante doença endêmica no Brasil e em muito outros países tropicais. O ciclo de vida desse parasita envolve um hospedeiro intermediário representado no Brasil por caramujos do gênero *Biomphalaria*, sendo o caramujo *B. glabrata* o principal vetor nas Américas do Sul e Central (Alves et al., 2000).

Para o controle da esquistossomose, além do tratamento dos pacientes infectados, é muito importante que as populações de caramujos sejam controladas como uma forma de redução do risco de transmissão da doença. Aniclosamida é o moluscicida comercialmente disponível, recomendado pela Organização Mundial da Saúde (OMS), e provou ser mais efetivo e menos prejudicial ao meio ambiente e à saúde humana do que outros moluscicidas inorgânicos ou sintéticos. Porém, o alto custo de sua aplicação em áreas extensas torna proibitivo o seu uso na maioria dos países em desenvolvimento. Desta forma, a busca por moluscicidas naturais (Silva et al., 2007a, b) e sintéticos (Vasconcellos et al., 2005) ganhou um novo destaque, visando à obtenção de um produto alternativo mais barato, biodegradável, seguro e disponível localmente para controle das populações de caramujos.

A fim de estabelecer a toxicidade de novos produtos naturais, vários ensaios podem ser utilizados, como o ensaio de letalidade com o microcrustáceo *Artemia salina*, que foi desenvolvido para detectar compostos bioativos em extratos vegetais (Silva et al., 2005), mas que também pode ser utilizado para expressar a toxicidade de um extrato com atividade moluscicida contra organismos não-alvos, como peixes e pequenos crustáceos (Lima et al., 2002).

Neste contexto, extratos de cúrcuma (*Curcuma*

longa L., Zingiberaceae) foram submetidos aos ensaios com larvas de *Artemia salina* e caramujos da espécie *Biomphalaria glabrata*, visando novas alternativas para o controle da esquistossomose.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal

A matéria-prima empregada no desenvolvimento deste trabalho foi constituída de rizomas de *Curcuma longa* L., Zingiberaceae, *in natura* comercializados no Mercado Central de João Pessoa-PB, procedentes de plantações existentes no município de Guarabira-PB. Os rizomas foram adquiridos e transportados para o Laboratório de Tecnologia Farmacêutica do Departamento de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), onde foram realizadas as análises.

Preparo da matéria-prima

Os rizomas limpos e fatiados foram secos durante 24 h em estufa de circulação forçada de ar marca FANEM, modelo ORION 520, na temperatura de 75 ± 2 °C. Posteriormente, foram triturados com moinho de facas, marca MARCONI, modelo MA 340. O material resultante (pó de cúrcuma) foi peneirado em peneira de 35 mesh e acondicionado em frascos de vidro hermeticamente fechado, que foram armazenados ao abrigo da luz e à temperatura ambiente.

Extração da oleoresina de *C. longa*

Foram utilizados para a extração da oleoresina 50 g de cúrcuma em pó e 300 mL de acetona (proporção 1:6). A mistura foi colocada em balões de boca esmerilhada, que foram acoplados a um condensador e mantidos em refluxo por 90 min. Em seguida, o material foi filtrado em papel de filtro e a acetona removida por destilação a vácuo. O óleo obtido foi armazenado em recipientes de vidro âmbar e estocado a 7 ± 2 °C, ao abrigo da luz.

Determinação do teor de curcumina na oleoresina

A quantificação de curcumina nas amostras de oleoresina foi realizada através de método colorimétrico. As leituras de absorbância foram realizadas a 425 nm em espectrofotômetro com arranjo de fotodiodos, marca HP, modelo UV/vis 8453, usando etanol como branco. O valor de absorvidade utilizado foi $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 1607$. A concentração dos pigmentos foi calculada por uma curva padrão. Os resultados foram expressos em porcentagem de curcumina na oleoresina de cúrcuma.

Extração do óleo essencial de *C. longa*

As amostras de cúrcuma *in natura* cortadas em rodelas foram secas numa estufa com recirculação de ar (FANEM, modelo ORION 520), a uma temperatura de 75 ± 2 °C, durante 24 h, e, posteriormente, trituradas com moinho de facas (MARCONI, modelo MA 340). O material resultante (pó de cúrcuma) foi peneirado em peneira de 35 mesh. Uma amostra de 120 g do material foi colocado num balão de fundo redondo contendo 750 mL de água destilada, o qual foi conectado ao extrator de óleo essencial, aparelho tipo Clevenger. O sistema foi aquecido por uma manta de aquecimento com controle de temperatura até ebulição da água, onde o material foi submetido a uma extração por arraste de vapor de água (hidrodestilação). O período de extração foi de 180 min e o óleo essencial obtido foi separado do meio aquoso com uso de funil de separação. Posteriormente, o óleo foi seco em sulfato de alumínio (higroscópico), quantificado e acondicionado em baixa temperatura (freezer) na ausência de luz.

Avaliação tóxica da oleoresina e do óleo essencial sobre *Artemia salina*

Os ovos de *Artemia salina* foram adicionados a um pequeno tanque dividido em dois compartimentos com água do mar, com um lado coberto. Uma lâmpada de 40 W foi localizada sobre o lado aberto do tanque para atrair os nauplios. Depois de 48 h, os nauplios foram utilizados no bioensaio.

A água salina do mar utilizada no bioensaio, foi coletada na praia de Cabo Branco, João Pessoa-PB em um volume aproximado de quatro litros e submetida à filtração em papel de filtro.

A solução teste foi preparada dissolvendo-se 25 mg da oleoresina de cúrcuma em Tween-80, tensoativo que melhora a solubilização do soluto, e completado para 5,0 mL com água do mar. Esta solução correspondeu à concentração de 5 mg/mL e foi considerada a solução estoque. As demais soluções de concentração inferior (10, 25, 50, 75 e 100 µg/mL), foram obtidas a partir da diluição da solução estoque.

A solução teste para o óleo essencial de cúrcuma foi preparada dissolvendo-se 50 mg do óleo em Tween-80 e completado para 5,0 mL com água do mar. Esta solução corresponde à concentração de 10 mg/mL. As demais soluções de concentração inferior (50, 100, 200, 300 e 500 µg/mL), foram obtidas a partir da diluição da solução estoque.

Na avaliação tóxica foram utilizadas de dez a quinze larvas recém eclodidas de *Artemia salina* em cada um dos cinco tubos de ensaio, contendo as soluções solubilizadas de oleoresina e óleo essencial de cúrcuma, nas concentrações descritas acima. As análises foram realizadas em quadruplicata. Os tubos de ensaio foram

mantidos sob iluminação e as larvas sobreviventes foram contadas após 24 h. Foi utilizado um grupo controle, contendo apenas uma solução de Tween-80, submetido ao mesmo procedimento experimental que os grupos tratados com os produtos de cúrcuma em estudo, contendo idênticos números de larvas, para efeitos comparativos do veículo. Os valores de CL_{50} (concentrações letais de 50%) foram calculados pela análise de regressão linear através do gráfico da concentração dos extratos versus a percentagem de vivos usando ajuste da escala Probit. A análise estatística foi feita pelo programa Origin 6.0.

Avaliação da atividade moluscicida da oleoresina e do óleo essencial sobre *Biomphalaria glabrata*

A solução estoque da oleoresina e do óleo essencial de cúrcuma foi preparada a 1 mg/mL, dissolvendo-se 50 mg da amostra com Tween-80 e água desclorada. A atividade moluscicida foi realizada de acordo com Silva et al. (2005). Inicialmente foi feito uma triagem com as concentrações de 100, 50 e 10 µg/mL. As concentrações finais para a oleoresina foram de 20, 40, 60, 70 e 80 µg/mL e para o óleo essencial de 10, 30, 50, 60 e 70 µg/mL. O teste foi realizado em duplicata para cada concentração na presença de dez caramujos adultos (8-12 mm em diâmetro). O potencial moluscicida foi verificado no período de 24 a 48 h, a temperatura ambiente. Os controles foram feitos com carbonato de cobre a 50 ppm (controle positivo, todos os caramujos mortos) e Tween-80 em água desclorada (controle negativo). As CL_{90} , CL_{50} e CL_{10} foram calculadas pela análise de regressão linear através do gráfico da concentração das amostras versus a percentagem de mortos. A análise estatística foi feita pelo programa Origin 6.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Características químicas da *Curcuma longa* seca

Apresentam-se na Tabela 1 os teores médios de pigmentos e óleo volátil das amostras de cúrcuma cultivados no município de Guarabira-PB.

O teor de curcumina na variedade de *Curcuma longa* L., Zingiberaceae, está em conformidade com os dados de Souza (1993), podendo ser comparado às variedades indianas com teores elevados. Observa-se ainda que os teores médios de pigmentos da *C. longa* cultivada no Estado de Minas Gerais- $4,41 \pm 1,17$ (Souza, 1993), e em amostras cultivadas nos Estados de São Paulo, Goiás e Mato Grosso (Oliveira et al., 1992) são inferiores ao teor obtido neste trabalho.

Avaliação tóxica da oleoresina e do óleo essencial de *C. longa* sobre *Artemia salina* e *Biomphalaria glabrata*

Os resultados dos testes de atividade tóxica da

oleoresina e do óleo essencial de *C. longa* sobre *Artemia salina* estão registrados na Tabela 2.

A oleoresina e o óleo essencial de *C. longa* submetidos ao bioensaio de toxicidade sobre *Artemia salina* foram considerados ativos ou detentores de compostos bioativos ($CL_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$). A maior atividade concentrou-se na oleoresina, a qual apresentou $CL_{50} = 80,43 \mu\text{g/mL}$, e indica a presença de um importante componente tóxico neste extrato. Joe et al. (2004) relataram que os curcuminoides, um grupo de compostos fenólicos presentes na oleoresina de cúrcuma, exibem uma variedade de efeitos benéficos sobre a saúde e possui a ação de prevenir certas doenças.

Os resultados obtidos nos ensaios realizados com o óleo essencial também apresentaram princípios ativos com $CL_{50} = 319,82 \mu\text{g/mL}$. A literatura científica registra algumas atividades biológicas tais como efeito antibacteriano, antifúngico e antiinflamatório, atribuídos à ação dos compostos presentes no óleo essencial de cúrcuma. Sendo assim, estes compostos podem agir como o princípio ativo responsável pela atividade tóxica frente à *Artemia salina*.

Assim, os extratos foram testados para as atividades moluscicidas. Esta é a primeira vez que extratos obtidos de *Curcuma longa* L. são submetidos a ensaios de atividade moluscicida contra caramujos adultos da

espécie *Biomphalaria glabrata*. Os resultados dos testes estão mostrados na Tabela 3 e revelam atividade tanto da oleoresina quanto do óleo essencial de cúrcuma.

Tabela 1. Resultados das características químicas da *C. longa* seca.

<i>C. longa</i> seca	Teor (%)	
	curcumina	óleo essencial
	9,11±0,01	2,34±0,09

Tabela 2. Atividades tóxicas da oleoresina e do óleo essencial sobre *Artemia salina* expressas em concentrações letais de 50% (CL_{50}).

Composto	Concentração $\mu\text{g/mL}$	% de vivos	CL_{50} $\mu\text{g/mL}$
Oleoresina	100	33	80,43
	75	57	
	50	78	
	25	92	
	10	98	
Óleo essencial	500	3	319,82
	300	10	
	200	30	
	100	60	
	50	90	

Tabela 3. Atividade moluscicida da oleoresina e do óleo essencial de *C. longa* sobre *Biomphalaria glabrata*.

Composto	Concentração $\mu\text{g/mL}$	Mortalidade %	CL_{10} $\mu\text{g/mL}$	CL_{50} $\mu\text{g/mL}$	CL_{90} $\mu\text{g/mL}$
Oleoresina	80	95	39,4	58,3	77,2
	70	80			
	60	47			
	40	13			
	20	2			
Óleo essencial	70	94	13,7	46,73	67,7
	60	80			
	50	50			
	30	20			
	10	2			

A oleoresina de *C. longa* apresentou $CL_{10} = 39,4$; $CL_{50} = 58,3$ e $CL_{90} = 77,2 \mu\text{g/mL}$. Para o óleo essencial as concentrações letais determinadas foram: $CL_{10} = 13,7$; $CL_{50} = 46,73$ e $CL_{90} = 67,7 \mu\text{g/mL}$. Como os extratos brutos das plantas são considerados ativos em concentrações abaixo de $100 \mu\text{g/mL}$, tanto a oleoresina quanto o óleo essencial poderiam constituir uma alternativa frente aos moluscicidas sintéticos.

Conforme citado por Cecilio Filho et al. (2000) além do uso principal da cúrcuma como condimento, a presença de substâncias antioxidantes, antimicrobianas e corantes (curcumina) lhe conferem possibilidade de emprego nas áreas de cosméticos, têxtil, medicinal e alimentícia. Xia et al. (2007) analisaram os efeitos

neuroquímico e neuroendócrino do extrato etanólico de *Curcuma longa* L. em ratos e verificaram que o extrato pode ter ação antidepressiva mediada por estes efeitos.

Apisariyakul et al. (1995) compararam o óleo essencial com a curcumina em alguns fungos e verificaram atividade antifúngica do óleo em dermatófitos, porém não exerceu nenhuma atividade sobre as leveduras e a curcumina não apresentou nenhuma atividade antifúngica.

CONCLUSÃO

A oleoresina e o óleo essencial de cúrcuma apresentaram toxicidade sobre *Artemia salina*, quando submetidos à avaliação tóxica nas concentrações de até

100 e 500 µg/mL, respectivamente. As concentrações letais de 50% referentes à oleoresina e ao óleo essencial evidenciaram que ambos os extratos possuem princípios ativos ou bioatividades através de seus constituintes.

A oleoresina e o óleo essencial de cúrcuma apresentaram atividade moluscicida quando submetidos à avaliação nas concentrações de até 80 e 70 µg/mL, respectivamente, sobre caramujos adultos da espécie *Biomphalaria glabrata*. As atividades moluscicidas, expressas em concentrações letais de 10, 50 e 90% para a oleoresina e para o óleo essencial revelam que ambos os extratos podem constituir uma alternativa no controle da população desses caramujos e na redução da esquistossomose.

Com relação às características químicas da cúrcuma em pó, a mesma apresentou alto teor de curcumina, podendo ser comparada às variedades indianas com maiores teores. Apresentou ainda baixo teor de óleo volátil, o que pode direcionar a sua utilização à obtenção do pigmento purificado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alves TMD, Silva AF, Brandão M, Grandi TSM, Smânia EFA, Smânia A, Zani, CL 2000. Biological screening of Brazilian medicinal plants. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 95: 367-373.
- Apisariyakul A, Vanittanakom N, Buddhasukh D 1995. Antifungal activity of turmeric oil extracted from *Curcuma longa* (Zingiberaceae). *J Ethnopharmacol* 3: 163-169.
- Araújo CAC, Leon LL 2001. Biological activities of *Curcuma longa* L. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 96: 723-728.
- Cecilio Filho AB, Souza RJ, Braz LT, Tavares M 2000. Cúrcuma: planta medicinal, condimentar e de outros usos potenciais. *Cienc Rural* 1: 171-175.
- Govindarajan VS 1980. Turmeric-chemistry, technology and quality. *Crit Rev Food Sci* 3: 199-301.
- Joe B, Vijaykumar M, Lokesh BR 2004. Biological properties of curcumin-cellular and molecular mechanisms of action. *Crit Rev Food Sci* 44: 97-111.
- Koehn FE, Carter GT 2005. The evolving role of natural products in drug discovery. *Nat Rev Drug Discov* 3: 206-220.
- Lima NMF, Santos AF, Profirio Z, Goulart MOF, Sant'ana AEG 2002. Toxicity of lapachol and their potassium salts against *Biomphalaria glabrata*, *Schistosoma mansoni* cercariae, *Artemia salina* and *Tilapia nilotica*. *Acta Trop* 83: 43-47.
- Mata AR, Nelson DL, Afonso RJCF, Glória MBA, Junqueira RG 2004. Identificação de compostos voláteis da cúrcuma empregando microextração por fase sólida e cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. *Cienc Tecnol Aliment* 1: 151-157.
- Matos FJA 2000. *Plantas medicinais: guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil*. Fortaleza: Imprensa universitária UFC.
- Oliveira VP, Ghlraldni JE, Sacramento CK 1992. O cultivo de plantas produtoras de corantes. *Rev Bras Cor Nat* 1: 232-237.
- Silva TMS, Silva TG, Martins RM, Maia GLA, Cabral AGS, Camara CA, Agra MF, Barbosa-Filho JM 2007a. Molluscicidal activity of six species of Bignoniaceae from the Northeast Brazil on *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) under laboratory conditions. *Ann Trop Med Parasit* 101: 359-365.
- Silva TMS, Coutinho DF, Dias CS, Barbosa-Filho JM, Agra MF, Martins RM 2007b. Composition and molluscicidal activity of essential oils from stem bark of *Ocotea bracteosa* (Meisn.) Mez. *J Essent Oil Res* 19: 282-284.
- Silva TMS, Batista MM, Camara CA, Agra MF 2005. Molluscicidal activity of some Brazilian Solanum spp. (Solanaceae) against *Biomphalaria glabrata*. *Ann Trop Med Parasit* 4: 419-425.
- Souza CRA 1993. *Cúrcuma: caracterização, extração e estabilidade*. Belo Horizonte, 79 p. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais.
- Vasconcellos MLAA, Silva TMS, Camara CA, Martins RM, Lacerda KL, Souza ROMA, Crespo LTC, Lopes HM 2005. Baylis-Hillman adducts with molluscicidal activity against *Biomphalaria glabrata*. *Pest Manag Sci* 3: 288-292.
- Xia X, Cheng G, Pana Y, Xia ZH, Kong LD 2007. Behavioral, neurochemical and neuroendocrine effects of the ethanolic extract from *Curcuma longa* L. in the mouse forced swimming test. *J Ethnopharmacol* 2: 356-363.
- Yunes RA, Pedrosa RC, Cechinel Filho V 2001. Fármacos e fitoterápicos: A necessidade do desenvolvimento de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. *Quim Nova* 1: 147-152.