



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

CENTRO DE BIOCÊNCIAS

CURSO DE BIOMEDICINA

ROGER LUIS DA SILVA

**Efeito antioxidante, antimicrobiano e avaliação da hemotoxicidade de uma
planta endêmica da Caatinga: *Pseudobombax simplicifolium***

RECIFE

2022

ROGER LUIS DA SILVA

Efeito antioxidante, antimicrobiano e avaliação da hemotoxicidade de uma planta endêmica da Caatinga: *Pseudobombax simplicifolium*

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Biomedicina da Universidade Federal de Pernambuco, Campus Recife, como pré-requisito para a obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

Orientador: João Victor de Oliveira Alves

RECIFE

2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Silva, Roger Luis da.

Efeito antioxidante, antimicrobiano e avaliação da hemotoxicidade de uma planta endêmica da Caatinga: *Pseudobombax simplicifolium* / Roger Luis da Silva. - Recife, 2022.

46 p. : il., tab.

Orientador(a): João Victor de Oliveira Alves

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Biomedicina, 2022.

1. Atividade microbicida. 2. Radicais livres. 3. Conhecimento popular. I. Alves, João Victor de Oliveira. (Orientação). II. Título.

500 CDD (22.ed.)

ROGER LUIS DA SILVA

Efeito antioxidante, antimicrobiano e avaliação da hemotoxicidade de uma planta endêmica da Caatinga: *Pseudobombax simplicifolium*

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Biomedicina da Universidade Federal de Pernambuco, Campus Recife, como pré-requisito para a obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

Aprovado em: 27/06/2022.

BANCA EXAMINADORA

Msc. João Victor de Oliveira Alves (Orientador)
Universidade Federal de Pernambuco

Msc. Irivania Fidelis da Silva Aguiar (Membro 1)
Universidade Federal de Pernambuco

Msc. Maisa Fernanda dos Santos Barbosa (Membro 2)
Universidade Federal de Pernambuco

Dedico esse trabalho a todos que, de alguma forma, possibilitaram a conclusão desta incrível jornada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus pela minha vida e por mais essa conquista, o mérito todo d'Ele. Agradeço à minha mãe e à minha irmã por todo o amor incondicional e por toda força recebida, obrigado por acreditarem em mim, vocês são minha inspiração. Neste longo e curto trecho percorrido da minha história, tive o privilégio de encontrar pessoas incríveis que me impulsionaram e estenderam a mão quando mais precisei.

Agradeço à Prof^a Dr^a Márcia Vanusa da Silva por possibilitar minha introdução à pesquisa científica. Agradeço à Elys Karine Carvalho da Silva por ser minha “mãe científica” e me ensinar, com todos os puxões de orelha necessários, a ser mais organizado, assim como um pesquisador e uma pessoa melhor a cada dia. Agradeço grandemente aos meus amigos do Departamento de Bioquímica da UFPE, que me acolheram e ilustraram o significado de cooperação e amizade. Muito obrigado à João Victor de Oliveira Alves, meu orientador, pela força durante todos esses anos de Iniciação Científica e também na orientação deste trabalho, sempre serei grato por todo carinho.

Agradeço a todos os meus colegas de curso, entretanto, um agradecimento especial à minha amiga Chyrlayne Marinho Silva Melo, um presente que a graduação me deu. Layne foi meu apoio dentro durante todos esses anos, a pessoa com quem comemorei as vitórias, compartilhei medos e que também sempre esteve ao meu lado nos piores momentos do curso. Chyrlayne, obrigado por tornar tudo mais fácil.

Agradeço também ao meu excelentíssimo namorado Gustavo Melicio da Silva. Obrigado por ser o ombro que eu tive nos momentos que mais precisei, obrigado por estar do meu lado nas minhas escolhas, por me encorajar a enfrentar meus medos e acreditar no meu potencial. Obrigado por toda resiliência e por todo amor, saiba que você foi e sempre será uma peça fundamental para o meu crescimento.

Por último, obrigado a todos que não citei, mas que sempre estiveram comigo e me encorajaram na vida. Obrigado por ajudarem a escrever cada letinha deste trecho da história.

*"Vem por aqui" - dizem-me alguns com os
olhos doces*

Estendendo-me os braços, e seguros

De que seria bom que eu os ouvisse

Quando me dizem: "vem por aqui!"

Eu olho-os com olhos lassos,

E cruzo os braços,

E nunca vou por ali...

José Régio

RESUMO

Atualmente, devido à persistência e elevação dos quadros de infecções na saúde, existe a busca de novos agentes com propriedades antioxidantes e antibióticas, inclusive em plantas da Caatinga devido às suas maiores concentrações de metabólitos secundários, assim, o presente trabalho teve o intuito de avaliar o potencial bioativo do extrato aquoso das cascas da *Pseudobombax simplicifolium*. A planta utilizada é utilizada popularmente para a resolução de quadros patológicos como infecções urinárias, bronquites, problemas renais, inflamação entre outras doenças. Na triagem fitoquímica, através da Cromatografia em Camada Delgada (CCD) foi possível quantificar a expressividade de metabólitos secundários como proantocianidinas condensadas, leucoantocianidinas, flavonóides, terpenos e esteróides; também foi realizada a quantificação do teor de flavonóides (116,6 µg/g Ext) compostos fenólicos totais (335,2 µg/g Ext) que possuem indicações para atividades antioxidantes e antimicrobianas. Para avaliar a capacidade antimicrobiana do extrato, foi realizada a determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) sob cepas de *Staphylococcus aureus* multirresistentes, classificando o extrato um inibidor forte, moderado e fraco. Apresentando CIM de 0,078 mg/mL e 0,312 mg/mL foi possível classificar a inibição do extrato como forte, entretanto, também a atuação do extrato sob outras cepas obteve os índices de 0,625 e 1,25 mg/mL, assim, exibindo resultados moderados e fracos, respectivamente. A atividade antioxidante foi avaliada utilizando 3 metodologias, a metodologia do DPPH foi possível obter o IC₅₀ de 58,1, enquanto que pela metodologia do CAT o IC₅₀ apresentou o valor de 607,4. A metodologia do ABTS obteve 98,9% de capacidade de eliminar os radicais do ABTS. Em comparação com os compostos padrão-ouro, o extrato apresentou excelentes resultados antioxidantes em todas as metodologias testadas, também não apresentou hemólise nas concentrações testadas. dessa forma, fica evidente o potencial bioativo do extrato aquoso da *Pseudobombax simplicifolium*. Apesar dos resultados obtidos, estudos mais aprofundados são necessários para um melhor entendimento dos resultados obtidos pelo presente estudo.

Palavras-chave: atividade microbica; radicais livres; conhecimento popular.

ABSTRACT

Currently, due to the present health solutions, the work of health aid mechanisms exists to search mechanisms for new goods with antioxidant and anti-biotic properties, including, due to Caatinga plants with secondary bioactive potential of the aqueous extract of *Pseudobombax simplicifolium* bark. The plant used is popularly used for the resolution of pathological conditions such as urinary infections, bronchitis, kidney problems, inflammation among other diseases. In the phytochemical screening, through Thin Layer Chromatography (TCD) it was possible to quantify the expressiveness of secondary metabolites such as condensed proanthocyanidins, leucoanthocyanidins, flavonoids, terpenes and steroids; A quantification of the flavon content (116 µg/g Ext) and total phenolic compounds (335.2 µg/g Ext) was performed, which also have properties for antioxidant and antimicrobial activities. To evaluate the antimicrobial capacity of the extract, the determination of the Minimal Concentration (MIC) was performed under multidrug-resistant *Staphylococcus* strains, classifying the extract as a strong, moderate and weak test. Presenting 0.00 and 0.312 mg/mL, it was possible to classify 7 mg/mL of class as strong, although the extract's performance under other strains also obtained rates of 0.625 and 25 mg/mL, thus showing moderate results. and weak, respectively. The activity was carried out using 3 methodologies, using the DPPH methodology it was possible to obtain an IC₅₀ of 58.1, while using the CAT methodology the IC₅₀ presented a value of 6.4. The ABTS methodology achieved a 98.9% ability to eliminate ABTS radicals. In comparison with the gold standard compounds, the extract excellent in all tested antioxidants, did not present hemolysis in the substances presented as well. Thus, the bioactive potential of the aqueous extract of *Pseudobombax simplicifolium* is evident. of the results obtained, in-depth studies despite being more a better understanding of the results obtained by the present study.

Keywords: microbicidal activity; free radicals; popular knowledge.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 - Cobertura do Bioma Caatinga.....	17
FIGURA 2 - Vegetação da Caatinga.....	18
FIGURA 3 - Distribuição da <i>Pseudobombax simplicifolium</i> A. Robyns no Brasil.....	23
FIGURA 4 - Redução tetravalente do oxigênio molecular (O ₂).....	26
FIGURA 5 - Cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> sob Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	28
FIGURA 6 - Capacidade hemolítica do extrato aquoso da <i>Pseudobombax simplicifolium</i>	40

LISTA DE TABELAS

TABELA 1.	Informações etnobotânicas da <i>Pseudobombax simplicifolium</i> ..	24
TABELA 2.	Sistemas, reveladores e padrões utilizados na CCD.....	30
TABELA 3.	Presença dos compostos metabólitos do extrato aquoso da <i>P. simplicifolium</i>	36
TABELA 4.	Dosagem de flavonóides e compostos fenólicos totais.....	36
TABELA 5.	Perfil de susceptibilidade das cepas multirresistentes de <i>S. aureus</i> aos antibióticos.....	37
TABELA 6.	Concentração Inibitória Mínima do extrato frente à cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> expressa em mg/mL.....	38
TABELA 7.	Expressão das atividades antioxidantes.....	39

LISTA DE ABREVIações

ATP	Adenosina Trifosfato
CAT	Catalase
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CFU	Unidade Formadora de Colônia
ERO	Espécie Reativa de Oxigênio
GPOX	Glutathione Peroxidase
IPP	Isopentenil Difosfato
MEP	Metilerytritol Fosfato
MHA	Mueller-Hinton Agar
MIC	Concentração Inibitória Mínima
MVA	Ácido Mevalônico
NaCl	Cloreto de Sódio
NADPH	Fosfato de dinucleótido de nicotinamida e adenina
OMS	Organização Mundial da Saúde
PAL	Fenilalanina amônia lipase
PNPIC	Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares
PNPMF	Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos
RPM	Rotações por minuto
SOD	Superóxido desmutase
SUS	Sistema Único de Saúde

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1	Bioma Caatinga.....	17
2.2	Plantas medicinais e conhecimento tradicional.....	19
2.3	Metabolismo secundário.....	20
2.4	<i>Pseudobombax simplicifolium</i>	22
2.5	Estresse oxidativo e atividade antioxidante.....	24
2.6	Resistência microbiana.....	27
2.7	<i>Staphylococcus aureus</i>	27
3	OBJETIVOS	29
3.1	Objetivo Geral.....	29
3.2	Objetivos Específicos.....	29
4	METODOLOGIA	29
4.1	Material vegetal e preparação dos extratos.....	29
4.2	Triagem do perfil fitoquímico.....	30
4.2.1	Determinação de compostos fenólicos totais.....	30
4.2.2	Determinação de flavonóides.....	31
4.3	Atividade Antimicrobiana.....	32
4.4	Atividade Antioxidante.....	33
4.4.1	Inibição do Radical ABTS.....	33
4.4.2	Redução do Radical DPPH.....	33

4.4.3	Capacidade Antioxidante Total.....	34
4.5	Capacidade Hemolítica.....	34
4.6	Análise Estatística.....	35
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	35
5.1	Triagem Fitoquímica.....	35
5.2	Atividade Antimicrobiana.....	37
5.3	Atividade Antioxidante.....	39
5.4	Capacidade Hemolítica.....	39
6	CONCLUSÃO.....	41
	REFERÊNCIAS.....	42

1 INTRODUÇÃO

Os conhecimentos deixados através das tradições indígenas, quilombolas e de demais etnias, foram de grande importância para disseminar o saber empírico das plantas medicinais, sendo fundamental para o descobrimento de novas substâncias terapêuticas (FERREIRA 2019; EDZIRI, 2018).

As plantas são conhecidas por produzir uma grande variedade de moléculas de interesse, tanto para o ramo alimentício ou industrial, os metabólitos secundários mostram-se valiosos para a indústria medicinal e farmacêutica. Diversos estudos utilizando plantas medicinais indicaram sua eficácia quanto à existência de agentes com potencial antimicrobiano que podem interagir em diversos alvos presentes nas bactérias como a membrana celular, proteínas de síntese, inibir bombas de efluxo e reduzir sua virulência (FILHO et al., 2020).

Um dos biomas que vem sendo bastante estudados com esta finalidade é o bioma Caatinga, o qual corresponde a uma área que engloba 912.529 km², uma das maiores e mais distintas formações vegetacionais brasileira, caracterizada pela forte sazonalidade com estações chuvosas e secas irregulares. O período chuvoso é curto, de 3 a 5 meses de duração, enquanto que o período seco ou estiagem ocorre, na maior parte do ano, de 7 a 9 meses, nessa época a temperatura do solo pode chegar a 60°C (TABARELLI, et al., 2018; ASSOCIAÇÃO CAATINGA, 2022)

Com enorme potencial biotecnológico, a Caatinga contém uma das maiores fontes de moléculas bioativas do Brasil, possuindo espécies vegetais indicadas para a resolução de quadros patológicos relacionados aos sistemas respiratório, digestivo, genital, urinário, cardiovascular entre outros (MAGALHÃES et al., 2019).

No início do século XX, as infecções causadas por *Staphylococcus aureus* representavam uma taxa de mortalidade maior que 80%, todavia, mesmo passado mais um século, atualmente ela ainda representa uma taxa considerável nos índices de morbidade e mortalidade (ASGEIRSSON et al., 2017); parte dos desses números está correlacionada a realização incorreta da antibioticoterapia por pacientes e uso indiscriminado de antibióticos, que com o passar dos anos ocasionou na seleção de microrganismos, tornando-os refratários à ação das drogas existentes na indústria farmacêutica (MCNIEL & FRITZ, 2019).

A espécie *Pseudobombax simplicifolium* A. Robyns, da família Malvaceae, é, geralmente, conhecida pelo nome comum Imbiraçu ou Imbiruçu, sendo bastante presente nos estados da região Nordeste. Diversos estudos envolvendo outras espécies da família Malvaceae puderam comprovar a pluralidade da família em relação à capacidade bioativa dos metabólitos secundários como atividade anticâncer (SWAMINATHAN et al., 2020), cicatrizante (PEARMAN et al., 2019), anti-inflamatório (THABET et al., 2018) entre outras.

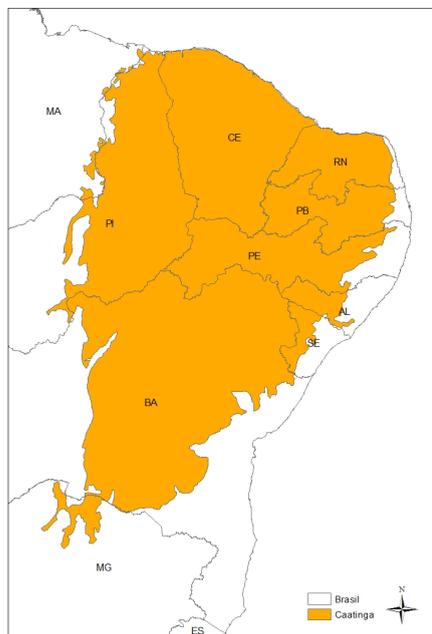
Dessa forma, levando em consideração as indicações literárias, o estudo do potencial bioativo das cascas da *P. simplicifolium* torna-se bastante promissor e necessário para o desenvolvimento de possíveis alternativas terapêuticas para a resolução de diversos quadros patológicos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Bioma Caatinga

Um bioma pode ser definido e estudado de acordo com o seu tipo de vegetação, capacidade de se adaptar aos fatores ambientais, assim como sua interação entre os fatores abióticos e os seres vivos que habitam na localidade. O conjunto dessas informações possui a função de ilustrar a relação histórica entre o bioma e os traços característicos das populações que o habitam, sejam elas animal ou humana (FREIRE, 2020). A Caatinga é caracterizada por, dentre os cinco biomas brasileiros (Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica, Pampa e Amazônia), ser exclusivamente brasileiro encontrado predominantemente nos estados do Nordeste como Pernambuco, Maranhão, Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Alagoas, Bahia, Sergipe e o Norte de Minas Gerais como ilustrado na figura 1.

Figura 1. Cobertura do Bioma Caatinga



Fonte: Sistema Nacional de Informações Florestais (2020)

Em relação à extensão territorial, segundo a Fundação Joaquim Nabuco (2018) a Caatinga abrange cerca de 11% de todo território nacional, sendo ele em

sua grande parte com clima semiárido, temperaturas médias elevadas e baixa precipitação anual.

Em resposta à intensa escassez hídrica e aos elevados índices de incidência solar que acometem grande parte da Caatinga, as espécies vegetais nativas apresentam propriedades xerofíticas como mecanismo de sobrevivência e alterações morfológicas (FIGURA 2). Como adaptações, as plantas apresentam espinhos, aumento do tamanho das raízes e aumento da área de condução de água, perda de folhas e fechamento estomático para evitar a perda de água, entre outras alterações como a produção de metabólitos secundários. (BIANCHI, 2016; SEYFFARTH, 2017).

Figura 2. Vegetação da Caatinga



Fonte: SOUSA (2022)

Apesar de possuir extensas áreas ainda não exploradas ou pouco estudadas, no contexto biogeográfico, a Caatinga possui espécies de vegetais endêmicos que não podem ser encontrados em qualquer outra região. Estudos apontam que existam um total de 3.150 espécies endêmicas no Bioma, distribuídas em 950 gêneros e 152 famílias (FERNANDES, 2018; TABARELLI, 2018).

2.2 Plantas medicinais e conhecimento tradicional

Desde os primórdios da humanidade, as plantas com propriedades medicinais são utilizadas em prol da saúde humana, atrelando a cultura e o saber empírico transmitido de geração em geração. O uso terapêutico das plantas é difundido por todo o mundo, contudo, sua maior utilização é evidenciada nos países em desenvolvimento pelo fato de grande parte da população ser de baixa renda (DANTAS & TORRES, 2019; FERREIRA, 2019; BRITO, 2020).

As áreas da etnobotânica e da farmacologia possuem a responsabilidade de validar, através da ciência, os saberes populares das comunidades tradicionais em relação às aplicações das plantas medicinais na saúde, através de estudos da relação entre o homem e a natureza (SALES et al., 2015; DAVID & PASA, 2017).

Estudos realizados com populações tradicionais adeptas à utilização das plantas medicinais, indicaram que as formas mais usadas para o preparo dos remédios são os lambedores, xaropes, banhos de assento, compressas e chás com água, álcool, cachaça e/ou vinho. Em relação às partes utilizadas da planta, as folhas foram as preferidas, seguidas das cascas do caule, flores, raízes, sementes e frutos (SILVA, 2015; COSTA, 2016).

A Caatinga possui uma ampla variedade de moléculas bioativas de interesse médico, chamadas de metabólitos secundários, possuindo espécies de plantas indicadas para a resolução de diversas doenças como as relacionadas aos sistemas respiratório, digestivo, genital, urinário, cardiovascular, entre outros (SANTOS, 2016; MAGALHÃES, 2019).

Grande parte do conhecimento sobre as propriedades medicinais das plantas é passado geralmente de forma oral por mulheres idosas com baixo grau de escolaridade. Por ser caracterizada como uma prática majoritariamente empírica, informações sobre a quantidade do material vegetal utilizado, modo de preparo e possíveis efeitos na saúde, podem apresentar variações de acordo com o passar das informações (MESSIAS, 2015; ZENI, 2017).

No final da década de 70, a OMS criou o Programa de Medicina Tradicional com o intuito de regulamentar a prática na sociedade. No Brasil, a regulamentação da utilização das plantas medicinais ocorreu na década de 80, após a criação do Sistema Único de Saúde (SUS). Neste sentido, destaca-se a implementação da Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no SUS, e da Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF), ambas aprovadas no ano de 2006 (BRASIL 2015).

Com o passar dos anos e com a legislação bem fundamentada, o Brasil passou a ser referência mundial na área de práticas integrativas e complementares na atenção básica. Atualmente, o SUS oferece, de forma integral e gratuita, 29 procedimentos que utilizam recursos terapêuticos baseados em conhecimentos tradicionais (BRASIL, 2015).

2.3 Metabolismo secundário

No metabolismo vegetal, os produtos das reações químicas podem possuir as mais variadas funcionalidades como a produção de alimentos através da fotossíntese, hormônios ou síntese de metabólitos primários e secundários; é este metabolismo que permite todo o desenvolvimento das plantas (SCHAAF et al., 1995). Na produção metabólica vegetal, são sintetizadas moléculas como proteínas, ácidos graxos, polissacarídeos e clorofila, já no metabolismo secundário, os processos bioquímicos estão relacionados à resposta da espécie vegetal aos fatores ambientais, sendo eles físicos ou biológicos (MARASCHIN & VEPOORTE, 1999).

Segundo estudos realizados por Raskin (2002), os metabólitos secundários possuem um caráter fundamental para a sobrevivência e adaptação da planta ao ambiente o qual a mesma está inserida. Existem três grandes grupos que incluem todos os metabólitos secundários, os compostos fenólicos, nitrogenados e terpenos. Morfologicamente, as espécies de plantas podem ser classificadas em grupos de acordo com a quantidade de água disponível à elas, o que resulta diretamente em suas alterações morfofisiológicas. As hidrófitas são plantas que crescem parcial ou totalmente submersas, as mesófitas são que possuem uma disponibilidade hídrica

intermediária, enquanto que as xerófitas são adaptadas à regiões de seca, como a Caatinga (PRINCÍPIOS DE FISIOLOGIA VEGETAL, 2020).

As diversas categorias químicas incluídas dentro do grupo dos compostos secundários podem ser correlacionados ao princípio ativo presente nas plantas, que comprovadamente podem possuir atividade antiviral, antifúngica, antitumoral, antihelmíntica, analgésica, anti-inflamatória, antibacteriana, entre outras (TORO, et al., 2017).

Os compostos fenólicos representam uma vasta diversidade molecular em suas estruturas químicas, o que lhes confere as mais diversas funcionalidades metabólicas como os flavonóides, ligninas e taninos que atuam defendendo a planta contra ataques de animais herbívoros e microrganismos patogênicos (ÖZEKER, 1999.; REYES-SILVA, 2020).

Os compostos nitrogenados são oriundos de duas diferentes rotas: ácido tricarbóxico e do ácido chiquímico, que formam os aminoácidos de cadeias alifáticas e os de cadeia aromática, respectivamente. Após a síntese dos aminoácidos, são originados compostos nitrogenados como os alcalóides, glicosídeos e os glucosinatos (PAGARE et al., 2015).

Segundo estudos realizados por Niinemets (2015), Ghosh (2018) e Sytar (2018) em casos de alta incidência luminosa, estresse hídrico e danos causados à célula vegetal por excesso de sais no solo, são fatores que estimulam a síntese acentuada dos compostos nitrogenados em plantas, principalmente os alcalóides que são representados por nicotina, cocaína, cafeína e morfina, todos com atuações sedativas e estimulantes do sistema nervoso central (CABRAL & PITA, 2015).

Além dos alcalóides, dentro dos compostos nitrogenados também existe os glicosídeos e os glucosinolatos que após a planta sofrer alguma lesão mecânica, se decompõem e existe a liberação de ácido cianídrico, uma substância extremamente tóxica (TAIZ e ZEIGER, 2009).

Os terpenos são classificados quimicamente como hidrocarbonetos, sendo eles produzidos por uma diversidade substancial de plantas e animais, apresentando mais de 55.000 moléculas conhecidas cientificamente, o que lhe confere o título de

maior e mais complexo grupo dentro dos produtos naturais (BROCK e DICKSCHAT, 2013; KORTBEEK et al., 2019).

Os terpenóides são sintetizados a partir de duas vias metabólicas distintas: a rota do ácido mevalônico (MVA) e a rota do metileritritol fosfato (MEP) que tomam como molécula base três moléculas de Acetil-CoA para que o ácido mevalônico, no caso da MVA, e gliceraldeído-3-fosfato para a rota do MEP. Ambas as vias metabólicas em um determinado momento originam um composto chamado isopentenil difosfato (IPP) que é uma base para a síntese dos terpenos (HENRY et al., 2018).

Segundo Khan (2018) e Kortbeek (2019), os terpenos são moléculas com capacidade de inibir muitos insetos como besouros, vespas, mariposas, abelhas e herbívoros, atuando diretamente na defesa das plantas e por isso é amplamente utilizado nos inseticidas comerciais.

Dentro dos terpenos, existem os óleos essenciais que são moléculas compostas pela junção de monoterpenos e sesquiterpenos, amplamente presente principalmente nas folhas plantas medicinais (SHARIFI-RAD et al., 2017). Biologicamente, esses terpenos apresentam indicações contra insetos, microrganismos patogênicos, repelente, anti-oviposição de vetores e também contra (FONSECA et al., 2015; SINGH e PANDEY, 2018).

2.4 *Pseudobombax simplicifolium*

Pertencente à família Malvaceae, gênero *Pseudobombax* e espécie *simplicifolium*, a *P. simplicifolium* é uma planta endêmica do Brasil conhecida popularmente como imburauçu ou imbiruçu e concentra-se predominantemente na região Nordeste. Adaptada ao clima e as condições ambientais hostis do bioma Caatinga, a *P. simplicifolium*, como ilustrado na figura 3, pode ser encontrada nos estados de Pernambuco, Alagoas, Bahia, Piauí, Sergipe e também na região Norte do estado de Minas Gerais (BOCAGE & SALES, 2002; CARVALHO-SOBRINHO, 2020).

Figura 3. Distribuição da *Pseudobombax simplicifolium* A. Robyns no Brasil



Fonte: Carvalho-Sobrinho (2020)

Levando em consideração suas características botânicas, a *Pseudobombax simplicifolium* é uma árvore com altura variando entre 6 e 8m, seu tronco não possui tumescência e nem espinhos e também pode ser caracterizado de acordo com sua coloração, que apresenta-se em um tom acinzentado com estrias verdes, enquanto que as suas folhas e flores encontram-se agrupadas nas extremidades dos braquiblastos (LIMA et al., 2019).

Segundo Albergaria (2019), a planta *Pseudobombax simplicifolium*, também conhecida pela população pelos nomes Imbiraçu ou Imbiruçu, possui as mais diversas indicações terapêuticas na sua utilização popular como nos quadros patológicos de pneumonias, infecções urinárias e bronquites, como mostra a tabela 1.

Cientificamente, ainda não há estudos que comprovem a existência de atividades biológicas para a espécie *Pseudobombax simplicifolium*, entretanto, estudos realizados Thiombiano (2019), utilizando as espécies *Wissadula amplissima* e *Abutilon grandifolium* puderam exemplificar o potencial antioxidante e anti-inflamatório das espécies da família Malvaceae, enquanto que Vignesh (2018)

utilizando a espécie *Hibiscus rosa-sinensis* pode comprovar o potencial antimicrobiano, assim, trabalhos como esses são um importante indicativo das possíveis bioatividades presentes na *P. simplicifolium*.

Tabela 1. Informações etnobotânicas da *Pseudobombax simplicifolium*.

Família/ Espécie	Nome Popular	Parte Utilizada	Forma de Uso	Indicações Terapêuticas
<i>Pseudobombax simplicifolium</i>	Imbiraçu/ Imbiruçu	Casca do caule, casca da raiz, entrecasca	Chá, cataplasma, tintura	Gripe, inflamação, pneumonia, bronquite, tosse, febre, diarreia, anticoagulante, infecção urinária, problemas renais, cicatrização, tuberculose.

Fonte: Adaptado de Albergaria et al. (2019)

Além dos estudos envolvendo espécies da mesma família que a *P. simplicifolium* indicarem o seu possível potencial bioativo, dados obtidos por Santos (2018), utilizando as cascas da *P. marginatum* conseguiu-se comprovar atividade antibacteriana contra cepas de *Bacillus cereus* e *Staphylococcus aureus*.

2.5 Estresse oxidativo e atividade antioxidante

Radicais livres é um termo utilizado em referência aos átomos ou moléculas eletronicamente instáveis, tendo em vista que possuem um ou mais elétrons desemparelhados na Camada da Valência, conferindo-lhes uma alta reatividade. Quando a reação de oxi-redução dos radicais livres envolve uma molécula de oxigênio, forma-se as espécies reativas de oxigênio (ERO) (FERREIRA & MATSUBARA, 1997).

Durante o metabolismo fisiológico, são produzidos os radicais livres para atuarem como mediador nas transferência de elétrons nas reações químicas, como a geração de ATP, ativação gênica, regulação do crescimento e sinalização celular, defesa contra infecções e síntese de hormônios. Entretanto, suas atuações no organismo não se limitam somente aos efeitos benéficos ao organismo (BARBOSA et al., 2010; VASCONCELOS, et al., 2014).

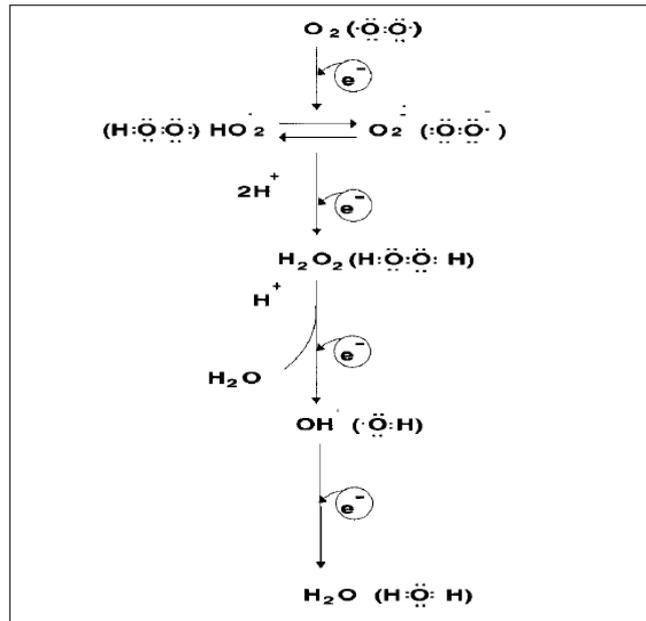
Uma das funções da mitocôndria no organismo é a de respiração celular através da fosforilação oxidativa, que consiste em reduzir o oxigênio molecular até a formação de água (Figura 4). Durante o processo, diversas ERO são produzidas, como como os radicais superóxido ($O_2^{\cdot-}$), hidroperoxila (HO_2^{\cdot}) e hidroxila (OH), e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (FERREIRA & MATSUBARA, 1997).

Segundo Silva & Ferrari (2011), com o envelhecimento celular também existe uma defasagem no metabolismo mitocondrial, o que resulta em uma fosforilação oxidativa ineficiente. Devido a redução incompleta do oxigênio, as mitocôndrias tornam-se as principais responsáveis pelo acúmulo de ERO no organismo.

Além da produção mitocondrial de ERO, pela via endógena também podem ser formadas pelo NADPH oxidase, peroxissomos e xantina oxidase, enquanto que pela via exógena, podem ser formadas pela radiação UV, infecções causadas por patógenos, agentes poluentes e produtos oxidantes (FILIPPIN et al., 2008).

Nas situações em que há acúmulo de ERO no organismo, ocorre a interação dessas moléculas altamente reativas com as moléculas biológicas como as proteínas, carboidratos e os ácidos graxos e nucléicos, o que resulta em modificações tanto na morfologia, quanto nas reações bioquímicas e fisiológicas das células (RADI, 2018).

Figura 4. Redução tetravalente do oxigênio molecular (O_2)



Fonte: Ferreira & Matsubara (1997)

Durante infecções bacterianas, apesar da produção de ERO ser essencial no combate aos patógenos, a produção exacerbada de ERO pelas células do sistema imune, pode culminar em um quadro de estresse oxidativo no organismo, resultando em danos citotóxicos aos tecidos e órgãos, podendo até causar o surgimento de doenças (NOVAES, et al., 2019).

Estudos a respeito das propriedades medicinais dos metabólitos secundários vegetais mostram que diversas espécies de plantas podem possuir a capacidade bioativa de reduzir a concentração de radicais livres. Dentre os componentes metabólicos das plantas que apresentam atividade antioxidante comprovada, os flavonóides e os compostos fenólicos em geral apresentam-se como os principais para tais bioatividades (TORRES, et al., 2018; OLIVEIRA, et al., 2020).

2.6 Resistência microbiana

Em 1943, o britânico Alexander Fleming foi o responsável pelo registro de um marco histórico na saúde mundial, a descoberta da molécula que seria o primeiro antibiótico para a resolução dos problemas decorrentes das infecções bacterianas. Posteriormente, diversos outros antibióticos também foram formulados, o que apesar de resultar em efeitos benéficos para a população, iniciou uma enorme problemática para a saúde pública, o uso indiscriminado de antibióticos (GAYNES, 2017; GARCIA, 2021).

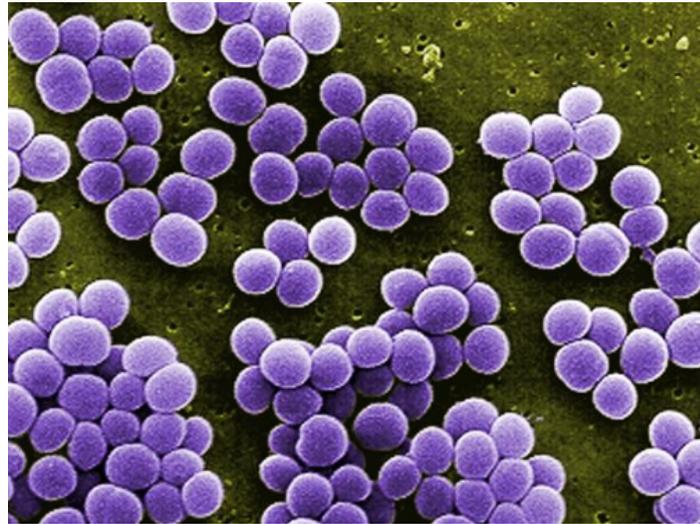
As bactérias, assim como outros microrganismos como parasitas, vírus e fungos, possuem a habilidade de se adaptar geneticamente aos antibióticos, o que resulta em casos de ineficiência e infecções mais duradouras. A utilização inadequada das drogas antibióticas pela população é classificada como uma das principais razões para o desenvolvimento de resistência (HAY et al., 2018).

Atualmente, a resistência microbiana aos antibióticos é um grande desafio que apresenta uma alta taxa de morbidade e mortalidade em todo o mundo, pois devido ao processo evolutivo bacteriano concomitante à utilização liberal e desnecessária de antibióticos, os índices de resistência da *S. aureus* aos antibióticos elevou-se consideravelmente (AKOVA, 2016); o que torna o manejo clínico cada vez mais difícil, complexo e até intratável em alguns casos (GUO et al., 2020).

2.7 *Staphylococcus aureus*

Os *Staphylococcus* são cocos Gram positivos (Figura 5) que apresentam paredes celulares compostas por ácido teicóico e peptidoglicano, são microrganismos imóveis e em relação à conformação celular das colônias, apresentam-se em aglomerados. Quanto à necessidade de oxigênio, são bactérias anaeróbias facultativas e apresentam catalase positiva (GHERARDI; DI BONAVENTURA; SAVINI, 2018).

Figura 5. Cepas de *Staphylococcus aureus* sob Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)



Fonte: Food Safety

Bactérias coagulase positiva, como a *Staphylococcus aureus*, classificam-se como as espécies de microrganismos mais patogênicos em relação às demais do gênero, sendo indicadas como os agentes causadores de quadros como infecções hospitalares, traumas cutâneos, pacientes imunocomprometidos, entre outros (KRAWCZYK; KUR, 2018).

A *Staphylococcus aureus* é um membro da família Micrococcaceae, que se apresenta como cocos Gram-positivos em cachos, não apresentam motilidade nem esporos e também possuem uma pigmentação característica das suas colônias que formam-se na coloração dourada (LOWY, 1998). Sendo um dos principais patógenos em infecções hospitalares, a *S. aureus* também é responsável por causar diversos quadros infecciosos como infecções de pele, tecidos moles, endocardite, osteomielite, pneumonia e bacteremia (THOMER, et al., 2016).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar o potencial antioxidante, antimicrobiano e as dosagens seguras para o extrato aquoso das cascas da *Pseudobombax simplicifolium* frente às cepas bacterianas multirresistentes de *Staphylococcus aureus*.

3.2 Objetivos Específicos

- Coletar a espécie vegetal e produzir o extrato aquoso das cascas da *Pseudobombax simplicifolium*;
- Realizar triagem fitoquímica e dosar compostos fenólicos e flavonoides;
- Determinar a capacidade antioxidante do extrato *P. simplicifolium*;
- Determinar o perfil de sensibilidade das cepas de *S. aureus*;
- Avaliar o potencial antimicrobiano do extrato em cepas de *S. aureus*;
- Avaliar efeito hemotoxicológico do extrato da *P. simplicifolium*.

4 METODOLOGIA

4.1 Material vegetal e Preparação dos extratos

As cascas da *Pseudobombax simplicifolium* foram coletadas na Serra do Giz, que é localizada na cidade de Afogados da Ingazeira no Sertão Pernambucano e foi levada para o Departamento de Bioquímica – Campus Recife - UFPE, onde os tecidos passaram por uma secagem, por 48 horas, à 100° c na estufa para secagem e então trituradas. Após a obtenção do pó das cascas, foram pesados 10g do material vegetal e adicionou-se à 100 ml de água destilada, a qual foi utilizada como líquido extrator escolhido, onde ficaram por 15 minutos em um shaker e logo em seguida por 30 minutos em banho-maria à 100°c. O material, então, foi filtrado com o auxílio de uma bomba à vácuo e colocado em tubos de onde foi possível realizar o congelamento e posterior liofilização.

4.2 Triagem do perfil fitoquímico

As amostras foram preparadas com 2 g do material vegetal e 20 mL de metanol, sob refluxo à 85 °C por 30 minutos e filtradas com algodão. As amostras e os padrões de compostos fenólicos (1 mg/mL) foram aplicados manualmente em placas cromatográficas de sílica gel 60 - F254. As placas foram desenvolvidas em cubas após saturação com a fase móvel. A cuba foi saturada durante 30 minutos, aproximadamente, à temperatura ambiente. As bandas foram aplicadas com largura de 5 mm e com uma distância entre elas e das bordas das placas de 5 mm.

Após a eluição das placas as mesmas foram secas à temperatura ambiente, e observadas sob luz ultravioleta de 254 e 365 nm e luz visível, em seguida foram digitalizadas. Na sequência foram reveladas com reagentes específicos para cada metabólito (Tabela 2). As bandas obtidas foram comparadas às bandas dos padrões correspondentes.

Tabela 2. Sistemas, reveladores e padrões utilizados na CCD.

Classe de metabólitos secundários	Padrões	Sistema de eluição	Revelador
Flavonóides, derivados cinâmicos	Quercetina, rutina e ácido clorogênico	AcOEt-HCOOH-AcOH-H ₂ O (100:11:11:27 v/v)	NEU
Terpenos e esteróides	β-sitosterol	Tolueno:AcOEt (90:10 v/v)	Lieberman & Burchard
Alcalóides	Pilocarpina	AcOEt-HCOOH-AcOH-H ₂ O (100:11:11:27 v/v)	Dragendorff
Proantocianidinas condensadas e leucoantocianidinas	Catequina	AcOEt-HCOOH-AcOH-H ₂ O (100:11:11:27 v/v)	Vanilina clorídrica
Taninos hidrolisáveis	Ácido gálico	n-BuOH-H ₂ O-AcOH (40:50:10 v/v)	Alúmen de ferro 1%

Fonte: Autor

4.2.1 Determinação de compostos fenólicos totais

O método de dosagem dos compostos fenólicos foi realizado de acordo com a

metodologia previamente descrita por Hua-Bin (2007) com algumas modificações. Os extratos e o ácido gálico, utilizado como padrão, foram testados em concentração de 1 mg/mL.

Para realizar esse experimento são necessários dois reagentes, o reagente de Folin-Ciocalteu que permite a medição colorimétrica dos compostos e o carbonato de sódio (Na_2CO_3). Foi preparado com 1 mL do Folin diluído em 9 mL de água destilada e a diluição de 7,5 g do carbonato de sódio em 100 mL de água destilada.

Foram colocados 20 μL da solução dos extratos e do padrão em uma placa de 96 poços junto com 100 μL do reagente de Folin em ambiente escuro e após 3 min adicionou-se 80 μL do Na_2CO_3 . Após 30 min de incubação no escuro e à temperatura ambiente, as absorvâncias foram lidas no comprimento de onda de 765 nm.

Os fenóis totais contidos nas amostras foram calculados usando o ácido gálico como referência e os resultados foram expressos em microgramas por grama Equivalente de extrato ($\mu\text{g/g}^1\text{extrato}$).

4.2.2 Determinação de flavonóides

Os flavonóides contidos nos extratos foram mensurados através da metodologia descrita por Woisky e Salatino (1998). Para o preparo do reagente foi utilizado 100 mL etanol a 2% no qual foi adicionado 2g de cloreto de alumínio. Os extratos foram diluídos em água em uma concentração de 1 mg/mL.

O procedimento foi feito em triplicata em uma placa de 96 poços, onde foram pipetados 100 μL dos extratos, da curva padrão da quercetina (10 a 100 $\mu\text{g/mL}$) e dos controles juntamente com 100 μL do reagente. Após uma hora de incubação no escuro, as absorvâncias foram lidas em um comprimento de onda de 420 nm.

Os flavonóides contidos foram estimados usando a curva padrão da quercetina e os resultados foram expressos em microgramas por grama Equivalente de extrato ($\mu\text{g/g}^1\text{extrato}$).

4.3 Atividades Antimicrobiana

Para averiguar o perfil de susceptibilidade das cepas de *S. aureus* aos antibióticos existentes, foi realizado o antibiograma através da técnica de disco-difusão. A Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi determinada pelo método de microdiluição em caldo, que consiste no crescimento de colônias bacterianas em placas de petri com Mueller-Hinton Agar (MHA). Posteriormente foi feita uma suspensão bacteriana à $1,5 \times 10^8$ CFU/ml em solução salina (0,9% NaCl). O extrato (2,5 – 0,078 mg/mL) foi diluído em série nas microplacas contendo o caldo Mueller-Hinton (MH). Cada poço recebeu 10µL da suspensão bacteriana, exceto os poços utilizados como controle de esterilidade. As placas foram incubadas a 37°C e, após 24 h, os poços receberam 20µL de solução de Resazurina a 0,01% (p/v) para uma melhor verificação do crescimento bacteriano.

Foram utilizadas 6 linhagens de *Staphylococcus aureus* (UFPEDA 6538, 659, 662, 671, 672, 689) fornecidas pela coleção de microrganismos do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco. As bactérias foram cultivadas em placas contendo meio Mueller Hinton Ágar e após o período de incubação, colônias de cada linhagem foram transferidas para solução estéril de salina (0,8% NaCl). A turbidez das soluções foram padronizadas com o padrão 0.5 Mcfarland (10^8 CFU/mL).

Foram utilizadas placas de fundo plano de 96 poços para a realização do ensaio, sendo o extrato diluído em caldo Mueller Hinton, em seguida, foi adicionado o inóculo microbiano contendo aproximadamente 10^8 UFC/mL. As placas com as células bacterianas e a microdiluição do extrato foram então incubadas em agitador rotativo a 150 RPM a 37°C por 24 h para possibilitar o crescimento microbiano.

Após o período de incubação, foram adicionados 20 µL de resazurina a 0,001% para verificar a viabilidade das células bacterianas e então as placas foram novamente incubadas por 4 horas. O crescimento microbiano foi indicado por mudanças na coloração do corante, sendo a coloração roxa como indicativa de baixa/ausente atividade metabólica a coloração rosa/incolor como alta viabilidade celular.

4.4 Atividade Antioxidante

4.4.1 Inibição do Radical ABTS

O ensaio de eliminação de radicais ABTS (2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)) foi realizado de acordo com Sánchez-González et al. (2005) com pequenas modificações.

Foi preparada uma solução aquosa do radical ABTS dissolvendo 7 mM do ABTS em 2,45 mM de persulfato de potássio ($K_2S_2O_8$). A mistura foi deixada em repouso durante 16 horas (tempo necessário para a formação do radical) no escuro em um frasco âmbar e à temperatura ambiente antes da utilização.

Esta solução previamente preparada foi diluída em etanol para se obter uma absorvância de 0,70 a 734 nm. Foram misturados 20 μ L do extrato vegetal (1 mg/mL) com 2mL da solução de ABTS e deixados em repouso durante 6 minutos antes de se medir a absorvância a 734 nm contra uma solução controle (solução de trabalho adicionada a água) e o trolox foi aplicado como padrão. A eliminação dos radicais ABTS foi estimada em IC_{50} .

4.4.2 Redução do Radical DPPH

O método utilizado é baseado na metodologia de Blois (1958), utilizando o radical estável DPPH (Radical 2,2-difenil1-picrilhidrazil) que sofre redução pelos antioxidantes presentes nos extratos levando a uma mudança de coloração violeta para amarela, proporcional à concentração da substância redutora na amostra.

Para este procedimento, primeiro diluiu-se 0,008 g do DPPH em 1 mL de metanol para se obter a solução de trabalho onde a absorvância desta deve estar entre 0,6-0,7 utilizando-se o comprimento de onda de 517 nm.

Em seguida, 1 mg do extrato foi diluído em 1 mL de água destilada e realizada uma diluição seriada (1000 - 15,625 μ g/mL); 40 μ L destas diversas concentrações foram adicionadas a 250 μ L do reagente DPPH em uma placa de 96 poços e após 30 minutos de incubação no escuro à temperatura ambiente, as absorvâncias foram lidas no mesmo comprimento de onda mencionado anteriormente.

O controle corresponde à solução de DPPH sem a amostra e o padrão utilizado foi o ácido gálico. Os experimentos foram feitos em triplicata e expressos em IC₅₀.

4.4.3 Atividade Antioxidante Total (Fosfomolibdênio)

O método de fosfomolibdênio foi realizado seguindo a metodologia de Prieto et al.(1999) com pequenas modificações. Para este experimento, foi preparado o reagente de fosfomolibdênio que apresenta 0,498g de fosfato de sódio, 0,494 g de molibdato de amônio diluídos em 40 mL de água destilada e 60 mL de ácido sulfúrico.

A solução dos extratos testados e a solução do ácido ascórbico (C₆H₈O₆), considerada como padrão para o teste, foram utilizadas na concentração de 1 mg/mL. Após o preparo das soluções e do reagente, adicionou-se 1 mL da solução de fosfomolibdênio em 100 µL dos extratos, repetindo-se essa ação com o controle (solução de trabalho adicionada a água) e o ácido ascórbico, em triplicata. Foi necessário incubá-los por 90 min a 90°C no banho seco.

Para a determinação das absorbâncias, 200 µL de cada mistura previamente incubada foram colocadas em uma placa de 96 poços e a leitura foi feita no comprimento de onda de 695 nm.

A atividade antioxidante total (AAT) foi expressa em relação ao ácido ascórbico e calculada pela seguinte fórmula:

$$\text{AAT (\%)} = \frac{\text{Absorbância da amostra} - \text{Absorbância do controle}}{\text{Absorbância do ác. ascórbico} - \text{Absorbância do controle}} \times 100$$

4.5 Capacidade Hemolítica

O ensaio de atividade hemolítica foi realizado de acordo com Oliveira et al. (2012). O sangue utilizado para o experimento foi obtido a partir da coleta em tubo de citrato de um voluntário saudável e não fumante, após assinatura do documento de consentimento.

O tubo coletado foi centrifugado a 3000 rpm por 6 min. O plasma e a camada leucoplaquetária foram removidos, enquanto que os eritrócitos foram lavados por

três vezes com tampão fosfato-salino e ressuspendidos com a mesma solução. Cada eppendorf recebeu 1,1 mL da suspensão de eritrócitos e 0,4 mL do extrato em diferentes concentrações (250, 500 e 1000 µg/mL).

O controle negativo continha apenas o tampão fosfato-salina e 1,1mL de suspensão de eritrócitos e o controle positivo recebeu 0,4 mL de Triton X-100. Após incubação de 60 min a temperatura ambiente, os tubos foram centrifugados e o sobrenadante foi utilizado para medir a absorbância da hemoglobina liberada em um comprimento de onda de 540nm.

O teste foi feito em triplicata. A atividade hemolítica foi expressa qualitativamente em relação à atividade do Triton X- 100 e do tampão fosfato-salina.

4.6 Análise Estatística

Todos os ensaios foram realizados em triplicatas e os resultados obtidos estão expressos como média \pm desvio padrão (D.P). Para comparações múltiplas foi aplicada a análise de variância (ANOVA), sendo considerados estatisticamente significativos, os valores com $p < 0,05$.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Triagem fitoquímica

A presença dos metabólitos secundários presentes no extrato foi possível verificar uma forte presença de proantocianidinas condensadas e leucoantocianidinas, além de flavonóides, terpenos e esteróides sob fraca expressividade (tabela 3). Devido à ausência de relatos científicos utilizando a *P. simplicifolium*, no presente trabalho foram comparados dados obtidos a partir de espécies vegetais do mesmo gênero e família botânica que a espécie escolhida.

Estudos realizados por Paiva (2013) utilizando as cascas da *Pseudobombax marginatum* foi possível caracterizar compostos metabólitos como esteróides, flavonóides e taninos, o que ilustra a similaridade entre os metabólitos secundários encontrados no presente estudo.

Tabela 3. Presença dos compostos metabólitos do extrato aquoso da *P. simplicifolium*.

Classe de metabólitos secundários	EAC
Flavonóides	+
Derivados cinâmicos	-
Alcalóides	-
Terpenos e Esteróides	+
Proantocianidinas condensadas e leucoantocianidinas	+++
Taninos hidrolisáveis	-

Legenda: (+++) forte; (++) médio; (+) fraco; (-) ausente; (tr) traços

Fonte: Autor

Entretanto, com as cascas da *P. marginatum* não foi possível a detecção de leucoantocianidinas e nem de proantocianidinas condensadas, moléculas com propriedades antioxidantes comprovadas cientificamente (RAUF, 2019), assim, fica evidente que a tal bioatividade em questão, a utilização das cascas da *P. simplicifolium* apresenta melhores resultados.

Tabela 4. Dosagem de flavonóides e compostos fenólicos totais.

EAC	Flavonóides µg/g Ext	Fenóis Totais µg/g Ext
	116,6	335,2

Fonte: Autor

Respectivamente, as dosagens de flavonóides e compostos fenólicos alcançaram 116,6 µg/g e 335,2 µg/g do extrato aquoso da *P. simplicifolium* (Tabela 4). Estudos realizados por Chaves (2013) utilizando as cascas da *P. marginatum* exibiram 7,83µg/mL para flavonóides e 19,54µg/mL no período da seca, dessa

forma, fica evidente que os resultados envolvendo a *P. simplicifolium* obtiveram melhores resultados dos compostos analisados.

5.2 Atividade antimicrobiana

Com o intuito de avaliar o perfil de resistência das cepas de *Staphylococcus aureus* aos antibióticos utilizados na clínica médica para casos de infecções bacterianas, foi realizado o teste de disco-difusão descrito inicialmente por Bauer e Kirby (1966) e preconizado pela CLSI (2017). Na tabela 5 é possível observar o perfil de susceptibilidade das cepas de *S. aureus* nas classificações Sensível (S), Intermediário (I) e Resistente (R).

Tabela 5. Perfil de susceptibilidade das cepas multirresistentes de *S. aureus* aos antibióticos

Antibióticos/ Cepas	UFPEDA 662	UFPEDA 671	UFPEDA 659	UFPEDA 672	UFPEDA 689	UFPEDA 6538
Amicacina	S	R	S	S	S	S
Gentamicina	S	R	S	I	S	S
Oxacilina	S	R	S	S	S	R
Cefoxitina	S	S	S	S	S	R
Tetraciclina	S	R	S	R	S	S
Eritromicina	R	R	R	R	R	R
Clindamicina	R	R	R	R	R	R
Rifampicina	R	I	R	S	S	R
Linezolida	S	S	S	S	S	R
Teicoplanina	S	S	R	S	S	S
Clorafenicol	S	R	S	S	S	R
Ciprofloxacino	S	R	S	S	S	R

S - Sensível; R - Resistente; I - Intermediário

Fonte: Autor

Como pode ser visto na tabela 6, a cepa 6538 obteve 0,078 mg/mL como CIM, alcançando o melhor resultado dentre os espécimes testados, e classificado como uma forte inibição (CIM até 0,5 mg/mL) segundo proposto por Aligiannis (2001), assim como a cepa 689 com CIM de 0,312 mg/mL. As cepas 659 e 672 obtiveram CIM de 0,625, assim, apresentando uma inibição moderada (CIM 0,6 e 1 mg/mL), enquanto que as cepas 662 e 671 tiveram uma fraca inibição (CIM > 1 mg/mL) pois exibiram CIM de 1,25 mg/mL.

Tabela 6. Concentração Inibitória Mínima do extrato frente à cepas de *Staphylococcus aureus* expressa em mg/mL.

<i>Staphylococcus aureus</i> - UFPEDA	662	671	659	672	689	6538
CIM (mg/mL)	1,25	1,25	0,625	0,625	0,312	0,078

Fonte: Autor

Resultados publicados por Santos (2018) utilizando as cascas da *P. marginatum* contra cepas de *Staphylococcus aureus* sob extrato hidroalcoólico e exibiram CIM de 1 mg/mL. Assim como Santos, Chaves (2013) também utilizou a *P. marginatum* contra *S. aureus* e obteve o MIC de 12,5 mg/mL sob extrato etanólico. Em comparação com os resultados literários citados, o presente estudo, apresentou MIC de 0,078mg/mL, conseguindo exibir resultados mais promissores.

Concentrações inibitórias antimicrobianas significativas como as alcançadas pelo presente estudo podem ser justificadas através da análise do perfil fitoquímico da *P. simplicifolium*. Como descrito anteriormente, na triagem dos metabólitos secundários houve uma forte expressão de fitoquímicos como proantocianidinas condensadas, que segundo relatado por Rauf (2018), possuem uma alta correlação com as bioatividades antimicrobianas, antioxidantes e outras bioatividades.

5.3 Atividade Antioxidante

Para realização das atividades antioxidantes (Tabela 7), foram utilizados dois compostos como padrão-ouro para as metodologias escolhidas, tanto o Ácido Ascórbico quanto o Trolox são cientificamente reconhecidos pelas suas excelentes capacidades antioxidantes (NJUS et al, 2020 ; SOCRIER et al, 2019).

Tabela 7. Quantificação das atividades antioxidantes

	DPPH	ABTS	CAT
	IC ₅₀	%	IC ₅₀
EAC	58,1	98,9±0,01	607,4
Trolox	54,9	100	-
A. Ascórbico	-	-	414,2

Fonte: Autor

A respeito das metodologias antioxidantes, é possível constatar que em todos os métodos foi verificado resultados significativos em relação aos seus respectivos compostos padrão-ouro. Em comparação com outras espécies vegetais pertencentes à família *Malvaceae*, os resultados obtidos no presente estudo corroboram a indicação de um significativo potencial antioxidante nas espécies da família *Malvaceae* (HERNÁNDEZ-LÓPEZ et al, 2019; SOUSA et al., 2021).

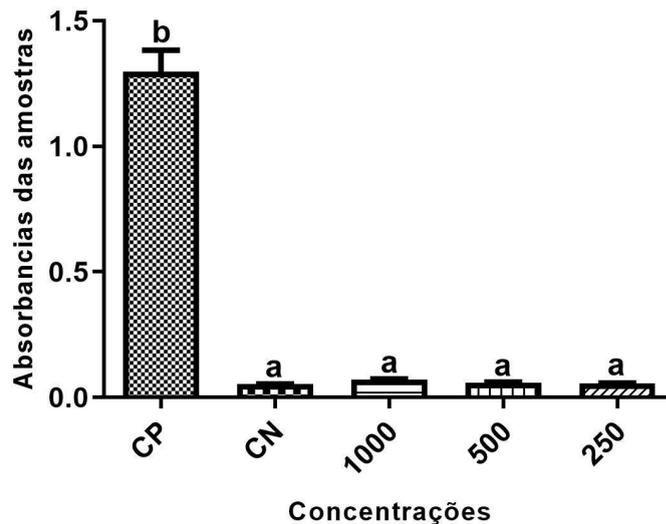
Estresse hídrico, elevados níveis incidência solar, déficit nutricional e ataques patogênicos e de herbívoros resulta no aumento da concentração de espécies reativas de oxigênio e como estratégia de adaptação, existe uma síntese reativa de compostos fenólicos, o que resulta na promissora bioatividade antioxidante encontrada na espécie estudada (CHALKER-SCOTT e FUCHIGAMI, 1989).

5.4 Capacidade Hemolítica

O teste de hemólise em eritrócitos humanos foi empregado para avaliar a toxicidade do extrato aquoso da *P. simplicifolium*. A figura 6 apresenta as

porcentagens de lise obtidas neste teste. Os dados demonstram que os extratos desta planta não apresentaram ação hemolítica nas concentrações testadas, sendo observada uma baixa porcentagem de lise das hemácias.

Figura 6. Capacidade hemolítica do extrato aquoso da *Pseudobombax simplicifolium* em mg/mL.



CP - Controle Positivo / CN - Controle Negativo

Fonte: Autor

Estudos realizados por Sousa (2009) utilizando o extrato etanólico das cascas da *Sterculia striata*, pertencente à família Malvaceae, também não foi observado hemólise nas concentrações estudadas (1 a 100 µg/ mL). A atividade hemolítica também não foi observada na avaliação do extrato das folhas de *Myracrodruon urundeuva* em um estudo realizado por (CARVALHO & OLIVEIRA, 2012). Resultados negativos são de grande interesse para estudos farmacológicos, pois possibilitam o uso seguro desses extratos.

6 CONCLUSÃO

Através da realização do screening fitoquímico do extrato aquoso da *Pseudobombax simplicifolium*, foi possível a detecção de metabólitos secundários significativos como compostos fenólicos, proantocianidinas condensadas e leucoantocianidinas, o que justificam os resultados alcançados no estudo em relação às bioatividades antioxidantes e antimicrobiana.

Além dos promissores resultados frente à inibição das cepas de *Staphylococcus aureus* e redução dos radicais livres nas atividades antioxidantes, o extrato da *P. simplicifolium* também não ocasionou quadros de hemólise quando exposto aos eritrócitos humanos nas concentrações testadas, exibindo assim, sua baixa/ausente toxicidade.

Dessa forma, é possível afirmar que o espécime avaliado no presente estudo possui características significativas que o tornam um produto promissor para possíveis formulações fitoquímicas com indicações antimicrobianos e antioxidantes. Entretanto, ainda são necessários estudos mais aprofundados sobre as características químicas e biológicas do extrato para investigar aspectos farmacodinâmicos e possíveis mecanismos bioquímicos subjacentes.

REFERÊNCIAS

- ALBERGARIA, E.T.; SILVA, M.V.; SILVA, A.G. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais em comunidades rurais localizadas na Unidade de Conservação Tatu-Bola, município de Lagoa Grande, PE - Brasil. **Revista Fitos**, Rio de Janeiro, v. 13, n. 2, p. 137-154, 2019.
- ASGEIRSSON, A.; THALME, A.; WEILAND, O. Staphylococcus aureus bacteraemia and endocarditis – epidemiology and outcome: a review. **Infectious Diseases**, p. 1-18, 2017.
- ASSOCIAÇÃO CAATINGA**, Bioma Caatinga, Bioma Caatinga 2022. Disponível em: <<https://www.acaatinga.org.br/sobre-a-caatinga/#:~:text=O%20per%C3%ADodo%20chuvoso%20%C3%A9%20curto,meses%2C%20entre%20junho%20e%20dezembro.>>. Acesso em: 08 de Jul. de 2022.
- BIANCHI, L.; GERMINO, G. H.; SILVA, M. A. Adaptação das Plantas ao Déficit Hídrico. **Acta Iguazu, Cascavel**, v. 5, n. 4, p. 15-32, 2016.
- BOCAGE, A.L.D.; SALES, M.F. A família Bombacaceae Kunth no estado de Pernambuco, Brasil. **Acta bot. bras.** v. 16, n. 2, p. 123-139, 2002.
- BRASIL. Política nacional de práticas integrativas e complementares no SUS : atitude de ampliação de acesso / Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. – 2. ed. – Brasília : **Ministério da Saúde**, 2015.
- BRITO, S.F.; EVANGELISTA, A.W.L. Plantas medicinais utilizadas na comunidade de Campo Preto, Arneiroz, Ceará. **Revista Verde**, v. 15, n. 4, p. 434-441, 2020.
- BROCK, N. L.; DICKSCHAT, J. S. Biosynthesis of Terpenoids. **Natural Products**, p. 2693–2732, 2013.
- CABRAL, C.; PITA, J.R. Ciclo de Exposições: Temas de Saúde, Farmácia e Sociedade: : 1. Alcalóides – Relevância na Farmácia e no Medicamento. **Pantone4**, Coimbra, 978-972-8627-59-1, 2015.
- CARVALHO-SOBRINHO, J.G.; YOSHIKAWA, V.N. Pseudobombax in Flora do Brasil 2020. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**, 2020. Available at: <<https://floradobrasil2020.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB25763>>. Acesso em: 08 Jul. 2022.
- COSTA, J.C.; MARINHO, G.V. Etnobotânica de plantas medicinais em duas comunidades do município de Picuí, Paraíba, Brasil. **Rev. Bras. Pl. Med. Campinas**, v. 18, n. 1, p. 125-134, 2016.
- DANTAS, J.I.M.; TORRES, A.M. Abordagem etnobotânica de plantas medicinais em uma comunidade rural do sertão Alagoano. **Diversitas Journal**, v. 4, n. 1, p. 39–48, 2019.

DAVID, M.; PASA, M.C. Articulações entre a etnobotânica e os conhecimentos da disciplina ciências da natureza. **Rede Amazônica de Educação em Ciências e Matemática**, v. 5, n. 2, p. 249–264, 2017.

EDZIRI, H.; et al. Phytochemical screening, butyrylcholinesterase inhibitory activity and anti-inflammatory effect of some Tunisian medicinal plants. **South African Journal of Botany**, v. 114, p. 84–88, 2018.

FERNANDES, M. F.; QUEIROZ, L. P. Vegetação e flora da Caatinga. **Cienc. Cult.** São Paulo, v. 70, n. 4, p. 51-56, 2018.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Rev. Assoc. Med. Bras.** v. 43, n.1, 1997.

FERREIRA, E.T., et al. A utilização de plantas medicinais e fitoterápicos: uma revisão integrativa sobre a atuação do enfermeiro. **Braz. J. Hea. Rev.** Curitiba, v. 2, n. 3, p. 1511-1523, 2019. ISSN 2595-6825.

FILHO, C.M.B. et al. Antimicrobial and Antivirulence Action of Eugenia brejoensis Essential Oil in vitro and in vivo Invertebrate Models. **Front. Microbiol.** v. 11, n. 424, 2020.

FONSECA, M.C.M., et al. Potencial de óleos essenciais de plantas medicinais no controle de fitopatógenos. **Rev. bras. plantas med.** v. 17, n. 1, 2015.

FREIRE, N. C. F.; et al. Mapeamento e análise espectro-temporal das unidades de conservação de proteção integral da administração federal no bioma caatinga. **Braz. J. of Develop.** Curitiba, v. 6, n. 5, p. 24773-24781, 2020.

FUNDAÇÃO JOAQUIM NABUCO. Saiba quais são as características da Caatinga. Recife: **Fundação Joaquim Nabuco**, 2019. Disponível em: <https://www.fundaj.gov.br/index.php/conselho-nacional-da-reserva-da-biosfera-da-caatinga/9193-saiba-quais-sao-as-caracteristicas-da-caatinga>. Acesso em: 01 Jul. 2021.

GHOSH, S. et al. Speed Breeding in Growth Chambers and Glasshouses for Crop Breeding and Model Plant Research. **Nature Protocols**, v. 13, n. 12, p. 2944-2963, 2018.

HENRY, L. K. et al. Contribution of isopentenyl phosphate to plant terpenoid metabolism. **Nature Plants**, v. 4, p. 721–729, 2018.

KHAN S. A. et al. In Vitro Manipulations for Value Addition in Potent Herbal Insecticidal Activities of *Chrysanthemum cinerariaefolium*. In: Kumar N. (eds) *Biotechnological Approaches for Medicinal and Aromatic Plants*. **Springer**, Singapore, 2018. p. 395-416.

KORTBEEK, R. W. J.; VAN DER GRAGT, M.; BLEEKER, P. M. Endogenous plant metabolites against insects. **European Journal of Plant Pathology**, v. 154, n. 1, p. 67-90, 2019.

LIMA J.B., BOVINI M.G., CONCEIÇÃO A.S. Bombacoideae, Byttnerioideae, Grewioideae and Helicterioideae (Malvaceae s.l.) in the Raso da Catarina Ecoregion, Bahia, Brazil. **Biota Neotropica**, v. 19, n. 3, 2019.

MAGALHÃES, K.N., et al. Medicinal plants of the Caatinga, northeastern Brazil: Ethnopharmacopeia (1980–1990) of the late professor Francisco José de Abreu Matos. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 237, p. 314-353, 2019.

MARASCHIN, M.; VERPOORTE, R. Engenharia do metabolismo secundário: otimização da produção de metabólitos secundários em culturas de células vegetais. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v. 2, n. 10, p. 24-28, 1999.

MCNIEL, J. C.; FRITZ, S. A. Prevention strategies for recurrent community-associated *Staphylococcus aureus* skin and soft tissue infections. **Curr. Infect. Dis. Rep.**, v. 21, 2019.

MESSIAS, M.C.T.B.; et al. Uso popular de plantas medicinais e perfil socioeconômico dos usuários: um estudo em área urbana em Ouro Preto, MG, Brasil. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v. 17, n. 1, p. 76-104, 2015.

NIINEMETS, U. Uncovering the Hidden Facets of Drought Stress: Secondary Metabolites Make the Difference. **Tree Physiology**, v. 36, n. 2, p. 129-132, 2015.

OZEKER, E. Phenolic compounds and their importance. **Anadolu Journal of Aegean Agricultural Research Institute**, v. 9, p. 114-124, 1999.

PAGARE, S.; BHATIA, M.; TRIPATHI, N. Secondary Metabolites of Plants and Their Role: Overview. **Current Trends in Biotechnology and Pharmacy**, v. 9, n. 3, p. 293-304, 2015.

PEARMAN, N.; et al. Investigating potential wound healing properties of polysaccharides extracted from *Grewia mollis* Juss. and *Hoheria populnea* A. Cunn. (Malvaceae). **Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre**, v. 20, 2019.

RASKIN, I. et al. Plants and Human Health in the Twenty-First Century. **Trends Biotechnology**, v. 20, n. 12, p. 522-531, 2002.

REYES-SILVA, J. A.; SALAZAR-CAMPOS A.; RÍOS-CORTEZ H. H. Metabolitos secundarios de las plantas (angiospermas) y algunos usos interesantes. **Uno Sapiens Boletín Científico De La Escuela Preparatoria no 1**. v. 2, n. 4, p. 16-18, 2020. <https://repository.uaeh.edu.mx/revistas/index.php/prepa1/article/view/5122>.

SALES, M.D.C.; SARTOR, E.B.; GENTILLI, R.M.L. Etnobotânica e etnofarmacologia: medicina tradicional e bioprospecção de fitoterápicos. **Salus Journal of Health Sciences**, v. 1, n. 1, p. 17–26, 2015.

- SANTOS, A.B.N., et al. Plantas medicinais conhecidas na zona urbana de Cajueiro da Praia, Piauí, Nordeste do Brasil. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v. 18, n. 2, p. 442-450, 2016.
- SCHAAF, J.; WALTER, M. H.; HESS, D. Primary metabolism in plant defense. **Plant Physiol.** v. 108, p. 949-960, 1995.
- SEYFFARTH, J. A. C.; RODRIGUES, V. s. Impactos da seca sobre a biodiversidade da Caatinga. **Parc. Estrat.** Brasília-DF. v. 22, n. 44, p. 41-62, 2017.
- SHARIFI-RAD, J.; et al. Biological activities of essential oils: From plant chemoecology to traditional healing systems. **Molecules**, v. 22, n. 1, p. 02-55, 2017.
- SILVA, C.G., et al. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais em área de Caatinga na comunidade do Sítio Nazaré, município de Milagres, Ceará, Brasil. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v. 17, n. 1, p. 133-142, 2015.
- SINGH, G.; PANDEY, N. The determinants of green packaging that influence buyers' willingness to pay a price premium. **Australasian Marketing Journal**, v. 26, n. 3, 2018.
- SISTEMA NACIONAL DE INFORMAÇÕES FLORESTAIS. Perda da Cobertura Florestal - Caatinga - Mapas. **Sistema Florestal Brasileiro**, Brasília, 2020. Disponível em: <https://snif.florestal.gov.br/pt-br/component/content/article/130-florestas-e-recursos-florestais/dados-complementares-perda-da-cobertura-florestal/262-perda-da-cobertura-florestal-caatinga-mapas?Itemid=>. Acesso em: 03 Jul. 2021.
- SOUSA, R. Caatinga. **Brasil Escola**, 2022. Disponível em: <https://brasilecola.uol.com.br/brasil/caatinga.htm>. Acesso em: 08 de Jul. de 2022.
- SWAMINATHAN, A.; NANJIAN, R. Bioactive Compounds Isolated From In Vitro Callus and Wild Plant of Hibiscus Sabdariffa Linn. And Its Anticancer Activities. **SSRN**, 2021.
- SYTAR, O. et al. The Involvement of Different Secondary Metabolites in Salinity Tolerance of Crops. **Salinity Responses and tolerance in Plants**, v. 2, p. 21-48, 2018.
- TABARELLI, M. et al. Caatinga: legado, trajetória e desafios rumo à sustentabilidade. **Cienc. Cult.** São Paulo, v. 70, n. 4, p. 25-29, 2018.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia Vegetal 4ª Ed. **Artmed**, Porto Alegre, RS, 2009.
- THABET, A.A.; et al. Estudo da atividade antialérgica e anti-inflamatória das folhas de *Brachychiton rupestris* e *Brachychiton discolor* (Malvaceae), utilizando modelos in vitro. **BMC Complement Altern Med** v. 18, n. 299, 2018.
- THIOMBIANO, E.A.M. et al. Comparative study of in vitro antioxidant and anti-inflammatory potentials of two malvaceae used in folk medicine in Burkina Faso. **Int J Complement Alt Med**. 2019; v. 12, n. 5, p. 225-230, 2019.

TORO, D.M.; et al. Análisis preliminar de los metabolitos secundarios de polvos mixtos de hojas de plantas medicinales. **Rev. Cubana Plant. Med.** v. 22, n. 1, 2017.

VIGNESH, R.M.; BINDU, R.N. A study on the antioxidant and antibacterial potential of the mucilage isolated from *Hibiscus rosa-sinensis* Linn. (Malvaceae). **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 7, n. 2, p. 1633-1637, 2018.

ZENI, A.L.B.; et al. Utilização de plantas medicinais como remédio caseiro na Atenção Primária em Blumenau, Santa Catarina, Brasil. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 22, n. 8, p. 2703-2712, 2017.