



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS I- CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

THALITA GONÇALVES MARINHO

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO DAS FOLHAS
DE *Hymenaea courbaril* L. FRENTE A CEPAS DE IMPORTÂNCIA CLÍNICA, A
PARTIR DO CONHECIMENTO POPULAR**

**CAMPINA GRANDE
2019**

THALITA GONÇALVES MARINHO

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO DAS FOLHAS
DE *Hymenaea courbaril* L. FRENTE A CEPAS DE IMPORTÂNCIA CLÍNICA, A
PARTIR DO CONHECIMENTO POPULAR**

Trabalho de Conclusão de Curso (Artigo)
apresentado a Coordenação do Curso de
Biologia da Universidade Estadual da Paraíba,
como requisito parcial à obtenção do título de
Bacharela em Ciências Biológicas.

Área de concentração: Botânica Aplicada

Orientador: Prof. Dr. Delcio de Castro Feslismino

**CAMPINA GRANDE
2019**

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

M338a Marinho, Thalita Gonçalves.
Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato das folhas de *Hymenaea courbaril* L. frente a cepas de importância clínica, a partir do conhecimento popular [manuscrito] / Thalita Gonçalves Marinho. - 2019.
24 p. : il. colorido.
Digitado.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2019.
"Orientação : Prof. Dr. Delcio de Castro Felismino, Departamento de Biologia - CCBS."
1. Atividade antimicrobiana. 2. Resistência microbiana. 3. Plantas medicinais. 4. Jatobá. I. Título
21. ed. CDD 581.634

THALITA GONÇALVES MARINHO

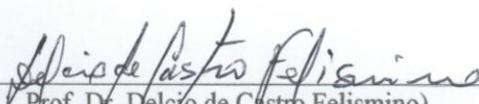
**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO DAS FOLHAS
DE *Hymenaea courbaril* L. FRENTE A CEPAS DE IMPORTÂNCIA CLÍNICA, A
PARTIR DO CONHECIMENTO POPULAR**

Trabalho de Conclusão de Curso (Artigo)
apresentado a Coordenação do Curso de
Biologia da Universidade Estadual da Paraíba,
como requisito parcial à obtenção do título de
Bacharela em Ciências Biológicas.

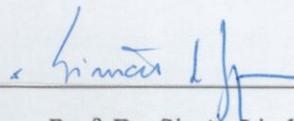
Área de concentração: Botânica Aplicada

Aprovada em: 26/06/2019.

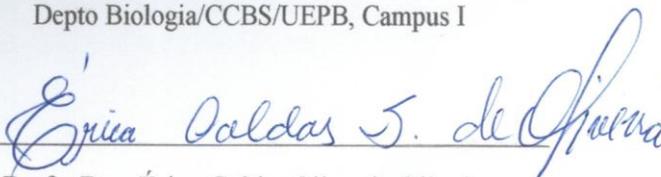
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Delcio de Castro Felismino)
Depto Biologia/CCBS/UEPB, Campus I
Orientador



Prof. Dr. Simão Lindoso de Souza
Depto Biologia/CCBS/UEPB, Campus I



Profa. Dra. Érica Caldas Silva de Oliveira
Depto Biologia/CCBS/UEPB, Campus I

Aos meus avós Gilberto e Lusinete, por todo amor e dedicação para comigo, por terem sido peça fundamental para que eu tenha me tornado a pessoa que sou hoje, **DEDICO**.

AGRADECIMENTOS

Sempre foi um sonho me formar, concluir uma graduação. O tempo voa e só Deus sabe o quanto eu precisei caminhar para estar aqui escrevendo essas palavras. Foram muitas lutas, uma batalha enfrentada a cada dia ao longo desses anos, e eis que chega o momento final dessa etapa.

Agradeço em primeiro lugar a Deus, que me concedeu a vida para que pudesse estar aqui realizando esse sonho. Por ter me dado forças para enfrentar o caminho e por ter me iluminado para que eu pudesse concluir mais essa etapa da minha vida. O meu Pai, meu Senhor, o centro da minha vida, que por incontáveis vezes me colocou em Seu colo nos momentos de aflição e angústia, que confortou os meus anseios quando pensei em desistir. E a Virgem Maria, minha mãe, que consolou as lágrimas que insistiam em rolar pelo meu rosto nos momentos de aflição e incerteza.

Aos meus avós Gilberto e Lusinete, por serem a minha fortaleza, por todo amor e dedicação direcionados a mim todos os dias de minha vida, por serem as pessoas que me apoiam e acreditam junto comigo nos meus sonhos, que ouviram cada desabafo e me consolaram em meio às lágrimas, moveram céus e terra para que eu fosse quem sou hoje, e para que eu estivesse exatamente onde estou. Pelos momentos que estiveram do meu lado me fazendo acreditar que para Deus nada é impossível. Pessoas de um caráter único e que eu sigo como exemplo de ser humano, família e amor. A minha eterna gratidão e amor aos melhores avós/pais que Deus poderia ter me dado.

Aos meus pais Gilberto e Lourdes por toda confiança e amor. Por serem motivadores e amigos mesmo com a distância física muitas vezes presente. Minha eterna gratidão pelas horas em que ficaram ao meu lado não me deixando desistir e me mostrando que sou capaz de chegar onde desejo. Nosso laço de amor será eterno.

Aos meus irmãos Victor e Letícia, e demais familiares que acreditaram e torceram pelo meu sucesso, meu agradecimento.

Aos amigos que fiz durante o curso, que se tornaram uma família no meio acadêmico, pelo verdadeiro laço que construímos durante o curso. Em particular aqueles que estavam sempre ao meu lado, Ingrid, Augusto, Joyce, Ketley e Igor, por todos os momentos que compartilhamos juntos durante esses quase 5 anos. Por todas as vezes que um incentivou o outro, segurou a mão e seguiu junto, sempre adiante sem deixar que ninguém desistisse. Por todos os momentos de choro e de riso compartilhados, meu agradecimento especial. Sem vocês essa trajetória não teria sido tão divertida e inesquecível. De maneira especial, torno a citar Ingrid e Augusto, que foram meu braço direito nessa reta final, participando comigo desde a coleta ao resultado final deste trabalho, e até mesmo me cobrindo nos dias que precisei me ausentar, sem vocês tudo teria sido mais difícil.

Aos meus queridos amigos da vida, que para não ser injusta e esquecer de algum, não citarei nomes. Por toda fé depositada em mim, por todas as orações, por todas as palavras de apoio, e por entenderem muitas vezes a minha ausência e estresse, e estarem sempre presentes em minha vida, cada um à sua maneira. Vocês são presentes vindos do céu.

Ao meu querido orientador, professor Dr. Delcio de Castro Felismino, por ter confiado no meu potencial, por ter aceitado a missão de me orientar ao longo desses anos, por ter me concedido tantas oportunidades, por todo conhecimento compartilhado e até mesmo por todos os puxões de orelha, que foram fundamentais para meu crescimento profissional.

Aos professores do Departamento de Biologia da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), em especial a Avany Gusmão, Joseline Molozzi, Aline de Maman, André Pessanha, Sérgio Lopes, Michelle Garcia, Joan Bruno, Livia Poliana, José Valberto, Shirley Rangel, Érica Caldas, Simão Lindoso, Roberta Smania, José Mourão, Iranildo Melo, Danuza Campos, Valéria Veras, Thelma Dias, Adrienne Barros, Beatriz Ceballos, Carla Bicho, Karla Luna, Eduardo Lira, Iane Azevedo, Vanessa Almeida, Karina Saraiva, Camila Almeida, Walber Belo, Mathias Weller, Walclécio Lira, Maria José, Sandra Maria, Dilma Trovão e José Cavalcanti, por todo ensinamento compartilhado ao longo dessa caminhada. Minha gratidão.

Agradeço a todos da Coordenação de Biologia, chefes, coordenadores e secretários, pelo apoio.

Ao meu querido colega João, que me auxiliou com a coleta de todo material vegetal necessário para a realização desse trabalho. Sem você tudo teria sido mais difícil. Minha gratidão por sua amizade e colaboração.

Ao Laboratório de Fitoquímica do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (CCBS) da UEPB, na pessoa do professor Dr. Harley Alves, onde realizei boa parte da minha pesquisa, pelo espaço disponibilizado e pelo apoio.

Ao Laboratório de Microbiologia – CCBS/UEPB, que foi fundamental para realização da minha pesquisa, por todo apoio e espaço disponibilizado. De maneira especial ao técnico e colega Luís Augusto, por toda ajuda direcionada a mim e para o sucesso do meu trabalho, que foi de fundamental importância.

Aos técnicos do CCBS/UEPB, pelo apoio. E em especial a Maria, que sempre nos tratou com tanto carinho.

Agradeço a toda equipe de limpeza da UEPB, em especial à Luciana, Sílvia e Didida. por cuidarem tão bem do nosso lugar de estudo, que por vezes acaba se tornando nossa casa, por nos possibilitarem um ambiente mais limpo e acolhedor.

A Marli e Raul, que me alimentaram muitas vezes durante esses anos, e foram um ouvido amigo em momentos de desabafo, estresse e felicidade.

A Universidade Estadual da Paraíba por disponibilizar o espaço físico, recursos humanos e a estrutura técnica dos seus laboratórios para a realização deste trabalho, pelo suporte durante todo o curso e pelas oportunidades de crescimento na vida acadêmica e profissional.

A todos aqueles que desacreditaram de mim, que tentaram me diminuir ou desmotivar, expresse aqui o meu agradecimento. Vocês foram molas propulsoras para o meu sucesso, me mostraram que a minha crença em mim mesma me leva muito longe, que a minha resiliência está presente em mim assim como o ar que eu respiro. E além de tudo, me mostraram que eu não preciso passar ninguém pra trás pra chegar onde cheguei, porque o melhor mesmo é caminhar lado a lado com quem quer o nosso bem e é apenas isso que importa.

Por fim, a todos aqueles que fazem parte da minha vida, que contribuíram direta ou indiretamente para a realização desse trabalho e para que eu chegasse até aqui, meu agradecimento.

“A percepção do desconhecido é a mais fascinante das experiências. O homem que não tem os olhos abertos para o misterioso passará pela vida sem ver nada.”

(Albert Einstein)

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO DAS FOLHAS DE *Hymenaea courbaril* L. FRENTE A CEPAS DE IMPORTÂNCIA CLÍNICA, A PARTIR DO CONHECIMENTO POPULAR

MARINHO, T.G.¹

RESUMO

Durante as últimas décadas os microrganismos tem se tornado resistentes a diversos antimicrobianos que antes eram utilizados nos tratamentos de diversas infecções. Atualmente, tem se tornado crescente a quantidade de trabalhos que buscam investigar o verdadeiro potencial biológico de plantas medicinais. A *Hymenaea courbaril* L.(jatobá), é utilizada na medicina popular para o tratamento de doenças infecciosas. Portanto, este estudo teve como objetivo avaliar o conhecimento empírico sobre a atividade antimicrobiana do extrato etanólico das folhas de *H. courbaril* L frente a cepas de importância clínica. As folhas foram coletadas no distrito de São José da Mata/Município de Campina Grande/Paraíba, sendo o extrato obtido por processo de maceração a frio, com álcool etanólico a 96%, e rotaevaporação. Para a análise microbiológica foram utilizadas cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans* e *Candida krusei*, através da técnica de difusão em meio sólido, utilizando-se placas de Petri com meios de cultura específicos, sendo inoculadas pela técnica de espalhamento em superfície, e as diluições seriadas (100%; 50%; 25%; 12,5% e 6,25%) do extrato foram testadas pelo método cavidade-placa. Verificou-se que o extrato etanólico das folhas de *H. courbaril* L. apresentou atividade antimicrobiana frente à *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* nas concentrações de 100% a 6,25%, com halos de 16 a 6,0 mm, respectivamente. Portanto, comprova-se cientificamente o conhecimento popular ao indicar a *H. courbaril* L. para o tratamento de infecções. Sugerem-se investigações para identificar, fracionar e purificar os fitoquímicos das folhas, e testar frente a outros microrganismos.

Palavras-chaves: Resistência. Medicina popular. Jatobá. Concentração Inibitória Mínima.

¹ Graduanda do curso de bacharelado em Ciências Biológicas/UEPB/CCBS/Departamento de Biologia, Campus I.

**EVALUATION OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF THE LEAVES EXTRACT OF
Hymenaea courbaril L. AGAINST THE STRAINS OF CLINICAL IMPORTANCE,
FROM POPULAR KNOWLEDGE.**

MARINHO, T.G.¹

ABSTRACT

During the last decades the microorganisms have become resistant to several to antimicrobials that was used before in treatments of many infections, from this, have become crescent the quantity of works who look for investigate the real biological potential of medicine plants. The *Hymenaea courbaril* L. (jatobá) is used in folk medicine for the treatment of infectious diseases. Therefore, this study aimed to evaluate the empirical knowledge about the antimicrobial activity of the ethanolic extract of the leaves of *H. courbaril* L against strains of clinical importance. The leaves was collected at the district of São José da Mata/City of Campina Grande/Paraíba, the extract was obtained by the process of cold maceration with with 96% ethanolic alcohol, and rotoevaporation. For the microbiological analysis was used clinical strains of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans* and *Candida krusei*, by the solid medium diffusion technique, using Petri dishes with specific culture media, being inoculated by the surface spreading technique, and the serial dilutions (100%; 50%; 25%; 12,5% e 6,25%) of the extract was tested by the cavity-plate method. Was verified that the ethanolic extract from *H. courbaril* L. presents antimicrobial activity on *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* on the concentrations of 100% to 6.25% with halos of 16 to 6,0 mm respectively. and was ineffective against the other strains. Therefore was scientifically proved the folk knowledge indicating *H. courbaril* L. to the treatment of infections. It is suggested investigations to identify, fractionate and purify the phytochemicals of the leaves, and test against other microorganisms.

Keywords: Resistance. Folk medicine. Jatobá. Minimal inhibitory concentration.

¹ Bachelors of Biological Sciences/UEPB/CCBS/Department of Biology, Campus I.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1 Microrganismos e resistência	13
2.2 Plantas medicinais: Da Utilização Popular à Investigação Científica	13
2.2.1 <i>Hymenaea courbaril</i> L.	14
3 METODOLOGIA	16
3.1 Local do estudo	16
3.2 Obtenção do material vegetal	16
3.3 Obtenção do extrato	17
3.4 Análise microbiológica	17
3.4.1 Cepas microbianas	17
3.4.2 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)	18
3.5 Análise dos dados	18
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	18
5 CONCLUSÃO	21
REFERÊNCIAS	21

1 INTRODUÇÃO

Durante os últimos anos tem ocorrido um aumento de microrganismos patógenos resistentes face ao uso indiscriminado de substâncias antibióticas, para tratamento e prevenção de doenças. Tal fato, tem provocado a seleção destes microrganismos e dificultado a gestão do tratamento e da prevenção das mesmas (BRUNING *et al.*, 2012).

Plantas medicinais têm sido utilizadas desde os primeiros relatos da história do homem na terra (BRAGA, 2011). Essa prática, passada de geração para geração, tem sido utilizada na prevenção e tratamento de determinadas doenças (ZENI *et al.*, 2017). O uso tem sido propagado e conservado entre as culturas principalmente em países em desenvolvimento, onde os altos custos com tratamentos médicos e internações representam um problema (FIRMO *et al.*, 2012).

Entre a grande variedade de plantas com potencial terapêutico, o gênero *Hymenaea* que apresenta como representantes os jatobás, têm sido amplamente utilizadas em países sul-americanos (BONIFACE; FERREIRA; KAISER, 2017). A polpa da fruta apresenta potenciais terapêuticos para distúrbios pulmonares. De sua casca se obtém um chá contra gripe, bronquite, cistite, catarro no peito, diarreia, vermes, fraqueza, cólicas, infecções na bexiga, para ajudar na digestão e no tratamento de câncer de próstata. A seiva representa um tônico, remédio para problemas respiratórios e urinários além de ser indicado como um fortificante (SHANLEY; MEDINA, 2005; SILVA, 2015).

Estudos envolvendo o potencial da bioprospecção dessa planta têm sido realizados, entre eles, a busca por compostos com atividade antimicrobiana devido o surgimento de bactérias resistentes à antibióticos (DUARTE, 2006; ALEIXO *et al.*, 2013). Após tal descoberta, a Organização Mundial da Saúde (OMS) elencou e divulgou em fevereiro de 2017, doze famílias de bactérias. O grupo de bactérias que apresenta maior relevância são resistentes, uma ameaça particular em hospitais, lares de idosos e entre pacientes cujo cuidado requer dispositivos como ventiladores e cateteres de sangue.

Assim, o extrato etanólico bruto da folha de *H. courbaril* L. demonstra apresentar atividade antimicrobiana contra o isolado clínico meticiclina-resistente de *Staphylococcus aureus* (MRSA) (ALEIXO *et al.*, 2013). Entretanto, é altamente perceptível a relevância na continuidade da exploração de tais potenciais e de outras formulações de extratos a base das partes de *Hymenaea*, bem como ensaios que relatem sua toxicidade.

Com base no exposto, o presente estudo teve como objetivo avaliar o potencial antimicrobiano do extrato etanólico das folhas de *H. courbaril* L., com foco no conhecimento empírico dos raizeiros frente a cepas de importância clínica.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Microrganismos e Resistência

A utilização exacerbada e negligenciada de antibióticos tem ocasionado o aparecimento de microrganismos resistentes, o que representa um sério risco para a saúde da população devido à baixa nas opções de fármacos efetivos para tratar distúrbios infecciosos, levando, conseqüentemente a complicações clínicas de pacientes hospitalizados e prolongamento do período de internação hospitalar, elevando os custos com a saúde pública, direcionados à recuperação dos pacientes (SHARMA *et al.*, 2016).

A alta pressão seletiva modulada pelo uso exacerbado de antibióticos na medicina humana foi elencado como o fator chave que desencadeou resistência das bactérias nos últimos 70 anos. O resultado foi uma expansão incontrolável de organismos resistentes as drogas (MDROs) em escala mundial. Esses MDROs, predominantemente bacilos gram-negativos, *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus* sp., estão associados a morbidade e mortalidade em seus hospedeiros (MEDERNACH; LOGAN, 2018).

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) em 27 de fevereiro de 2017, foram estipuladas 12 famílias de bactérias, "patógenos prioritários" resistentes a antibióticos, que representam a maior ameaça à saúde humana. Essas bactérias têm habilidades embutidas para encontrar novas maneiras de resistir ao tratamento e podem repassar material genético que permita que outras bactérias também se tornem resistentes aos medicamentos.

O grupo de bactérias que apresenta maior relevância são resistentes, que representam uma ameaça particular em hospitais, lares de idosos e entre pacientes cujo cuidado requer dispositivos como ventiladores e cateteres de sangue. São as *Pseudomonas*; várias *Enterobacteriaceae* (incluindo *Klebsiella*, *Escherichia coli*, *Serratia* e *Proteus*) resistentes. Eles podem causar infecções graves e muitas vezes mortais, como infecções da corrente sanguínea e pneumonia (OMS, 2019).

2.2 Plantas Medicinais: Da Utilização Popular à Investigação Científica

Segundo Camargo (1976) a medicina popular tem oferecido uma contribuição gradativa às ciências do homem, devido a um grande leque de práticas médicas e

conhecimentos de caráter empírico, diretamente influenciadas pelo contexto em que estão inseridos.

Existe uma carência muito grande de levantamentos etnobotânicos (FELFILI *et al.*, 1998), mas, considerável parte da flora vem sendo amplamente explorada nos últimos anos, pelo conhecimento popular. A população brasileira possui um saber bastante significativo acerca de métodos alternativos para prevenção e cura das doenças mais comuns e frequentes (AMOROSO, 1996)

A utilização de plantas medicinais tem sido relatada desde os primórdios da civilização humana. Seu uso na prevenção e/ou na cura de doenças é atribuído ao hábito cultural, passado de geração para geração (BADKE *et al.*, 2012). Essa prática terapêutica, caracterizada pela utilização de plantas medicinais em suas diversas formas e combinações farmacêuticas tem recebido o nome de fitoterapia. Ademais, a fitoterapia tem sido amplamente utilizada como recursos primários para a saúde, com finalidade preventiva ou para cura de determinadas patologias (BRUNING; MOSEGUI; VIANNA, 2012).

Estimativas indicam que um grande percentual de toda a população mundial utilize esta prática, que apresenta maior intensidade em países em desenvolvimento, que apresentam déficits nos cuidados primários de saúde por parte do governo ou sistemas de saúde em geral, maior aceitabilidade, vivência e prática cultural e acessibilidade aquelas plantas categorizadas como próprias para um determinado tratamento (PAREKH *et al.*, 2005; Roy *et al.*, 2013). Por exemplo, a aplicação etnofarmacológica das espécies sul-americanas e africanas do gênero *Hymenaea* tem sido ampla. Evidências experimentais confirmaram que o *Hymenaea spp.* poderiam ser usados no tratamento de distúrbios inflamatórios, asma, diarreia e algumas infecções microbianas. No entanto, os relatórios sobre a toxicidade das espécies de *Hymenaea* permanecem escassos (BONIFACE; FERREIRA; KAISER, 2017).

2.2.1 *Hymenaea courbaril* L.

Os representantes do gênero *Hymenaea* pertencem à família das Fabaceae - Leguminosae, subfamília Caesalpinioideae, conhecidas popularmente como “jatobás”, são árvores que apresentam troncos retos de forma cilíndrica. Apresentam um súber liso e de coloração cinza. Os frutos possuem formato de vagem unicarpelar, com sabor adocicado, polpa amarelada e farináceo. Quanto a parte aérea da planta, suas folhas são compostas, bifolioladas, com filotaxia alterna com estípulas e pecíolo livre do lado interno. As flores são diclamídeas, pentâmeras, hermafroditas com pétalas de coloração branca (SOUZA *et al.*, 2017).

São consideradas como uma das plantas medicinais brasileiras de maior destaque seja pelo uso da casca, da entrecasca, das folhas ou do fruto, que são utilizados na forma de chá, infusão, decocção, lambedor e xarope como indicação terapêutica da gripe, béquico, anemia e depurativo (SILVA, 2015).

Segundo Shanley e Medina (2005), o jatobá apresenta uma grande importância medicinal, em suas diferentes partes, em especial a folha, devido apresentar substâncias químicas, como terpenóides, que apresentam efeito tóxico e serve como repelente para lagartas; mata fungos e repele as saúvas, onde se merece mais estudos sobre tais propriedades.

As plantas do gênero *Hymenaea* se encontram distribuídas pela América Central, América do Sul, oeste das Índias e uma espécie de ocorrência no leste da África (LEE; LANGENHEIM, 1975). No Brasil, a *Hymenaea courbaril* L. possui uma distribuição ampla, ocorrendo desde a floresta amazônica até a floresta estacional semidecidual no sudeste do país, sob a forma de diversas variedades, sendo *H. courbaril* var. *altissima*, *H. courbaril* var. *courbaril*., *H. courbaril* var. *longifolia*, *H. courbaril* var. *stilbocarpa*, *H. courbaril* var. *subsessilis*, *H. courbaril* var. *villosa* (LEE; LANGENHEIM, 1975; CASTELLEN, 2005).

Dentre as diversas espécies do gênero *Hymenaea* pode ser destacada *Hymenaea courbaril* L., cujo nome popular jatobá é originalmente brasileira. *H. courbaril* L. pode ser encontrada em quase todos os estados. Bontempo (2000) identificou no súber dessa espécie, eficácia no tratamento de hemoptises, hematúria (emissão de urina com sangue), diarreia, disenteria, e cólicas ventrais. Adicionalmente, o autor constatou ainda que o vinho de jatobá, produzido a partir do caule, apresenta atividade fortificante para os músculos e ossos. Martins *et al.* (2010) verificaram que o extrato etanólico bruto do ritidoma e a farinha do fruto de *H. courbaril* possuem atividade antimicrobiana.

O gênero *Hymenaea* é elencado como uma fonte abundante de compostos fenólicos (MIRANDA; CASTRO; SILVÉRIO, 2014). Dentre os compostos fenólicos encontrados nas diversas partes da planta podem ser destacados os flavonoides, amplamente distribuídos nas folhas, sementes, cascas e flores das plantas. Esses flavonoides podem ser divididos em várias classes tais como, flavonóis (quercetina), flavonas (rutina), flavanóis (catequina), flavanonas (naringenina), isoflavonas (genistéina) e antocianinas (cianidina) (FIGUEIREDO, 2014; COSTA *et al.*, 2014; ALMEIDA *et al.*, 2012).

Assim, conforme a penúltima conjectura apresentada, produtos obtidos com diferentes partes de *H. courbaril* L. podem vir a revelar novas substâncias antimicrobianas que apresentam grande magnitude em saúde pública. Com a aplicação de antibióticos eficientes

para o tratamento das infecções ocorreu uma considerável redução das taxas de morbidade e mortalidade, permitindo grandes progressos na medicina (COSTA *et al.*, 2017).

3 METODOLOGIA

3.1 Local do estudo

A pesquisa foi efetuada nos Laboratórios de Botânica, Fitoquímica, e Microbiologia da Universidade Estadual da Paraíba/CCBS, Campus I.

3.2 Obtenção do material vegetal

As folhas de *Hymenaea courbaril* L. foram coletadas em fase vegetativa, em março de 2019, no distrito de São José da Mata/Município de Campina Grande na Paraíba, com latitude e longitude (7°11'55.522"S, 35°58'57.09"W), durante o período de 7:00 a 10:00h. Foram coletadas de planta matriz (Figura 1) as folhas adultas (Figura 2), com características da espécie, como auxílio de podão. Foi coletado um exemplar para a confecção de exsicata, sendo depositada no Herbário Manuel de Arruda Câmara/Universidade Estadual da Paraíba/CCBS, Campus I, com número de tombamento: 1932. Sendo a pesquisa cadastrada no SisGen (Patrimônio Genético) sob o número: A472513.

Figura 1: Espécie arbórea *Hymenaea courbaril* L.



Fonte: MARINHO, T. G, 2019

Figura 2: Folhas da *H. courbaril* L.



Fonte: MARINHO, T. G., 2019

3.3 Obtenção do extrato

As folhas foram submetidas à secagem em estufa de circulação de ar forçada a 50°C \pm 1 até obtenção de peso constante. Após este período, as folhas foram reduzidas a pó utilizando um moinho tipo faca, e peneira de 10Mesh.

Para obtenção do extrato etanólico das folhas de *H. courbaril* L. foi utilizada a técnica de maceração à frio, empregando a proporção de 100 g de pó das folhas para 0,5 L de etanol à 96%, 5 dias, sendo submetida a homogeneização, em seguida, foi submetida a filtração em papel de filtro. O produto filtrado foi submetido, novamente, ao processo de maceração e filtragem. Após o referido processo, ocorreu a redução do solvente em evaporador rotativo (Tecnal/TE-211) a 60°C à pressão reduzida, a 40rpm. Em seguida, foi armazenado a 4°C até a análise microbiológica.

3.4 Análise microbiológica

3.4.1 Cepas microbianas

Os microrganismos utilizados na análise de atividade antimicrobiana foram cepas clínicas Bacterianas Gram-Negativas (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*) e Gram-Positivas (*Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* - MRSA); e Fúngicas (*Candida albicans* e *Candida krusei*), pertencentes à coleção de cultura do

Laboratório de Microbiologia/Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/Universidade Estadual da Paraíba/Campus I.

3.4.2 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

Os microrganismos foram repicados e procedeu-se a sua incubação a $\pm 37^{\circ}\text{C}$ por 48 horas para bactérias e $\pm 26^{\circ}\text{C}$ por 24 horas para fungos, para a reativação. As suspensões foram obtidas pela adição do inóculo bacteriano a 3,0 mL de solução salina esterilizada a 0,9% até a obtenção de uma turvação equivalente à metade da escala 1 de MacFarland.

A determinação do CIM foi realizada pelo método de diluição em cavidade-placa. A partir do extrato a 100,0 % (v/v), ocorreu a diluição seriada em DMSO a 10%, sendo obtidas as demais concentrações a 50; 25; 12,5; 6,25 % (v/v).

Em placas de Petri estéreis, adicionaram-se 20 mL de ágar Mueller Hinton para cepas bacterianas e ágar Sabouraud Dextrose para cepas fúngicas, obtendo-se assim a camada-base. Após a solidificação confeccionaram-se poços com canalículas de ($\text{Ø}6,0$ mm), nas quais foram colocados 50 μL do extrato da planta, em triplicata. O DMSO (Vetec, Brasil) foi usado como controle negativo, e como controle positivo, foi utilizado o Ciprofloxacino, após estudo prévio através do antibiograma.

3.5 Análise dos dados

Após os tempos de incubação, verificou-se as zonas de inibição com o auxílio de halômetro e contador de colônias. O resultado final foi obtido através da média aritmética dos diâmetros dos halos (mm). Foi considerada como possuidor de atividade antimicrobiana aquela concentração do extrato que apresentou um halo de inibição de crescimento igual ou superior a 6,0 mm de diâmetro (SPRIGFIELD *et al.*, 2003).

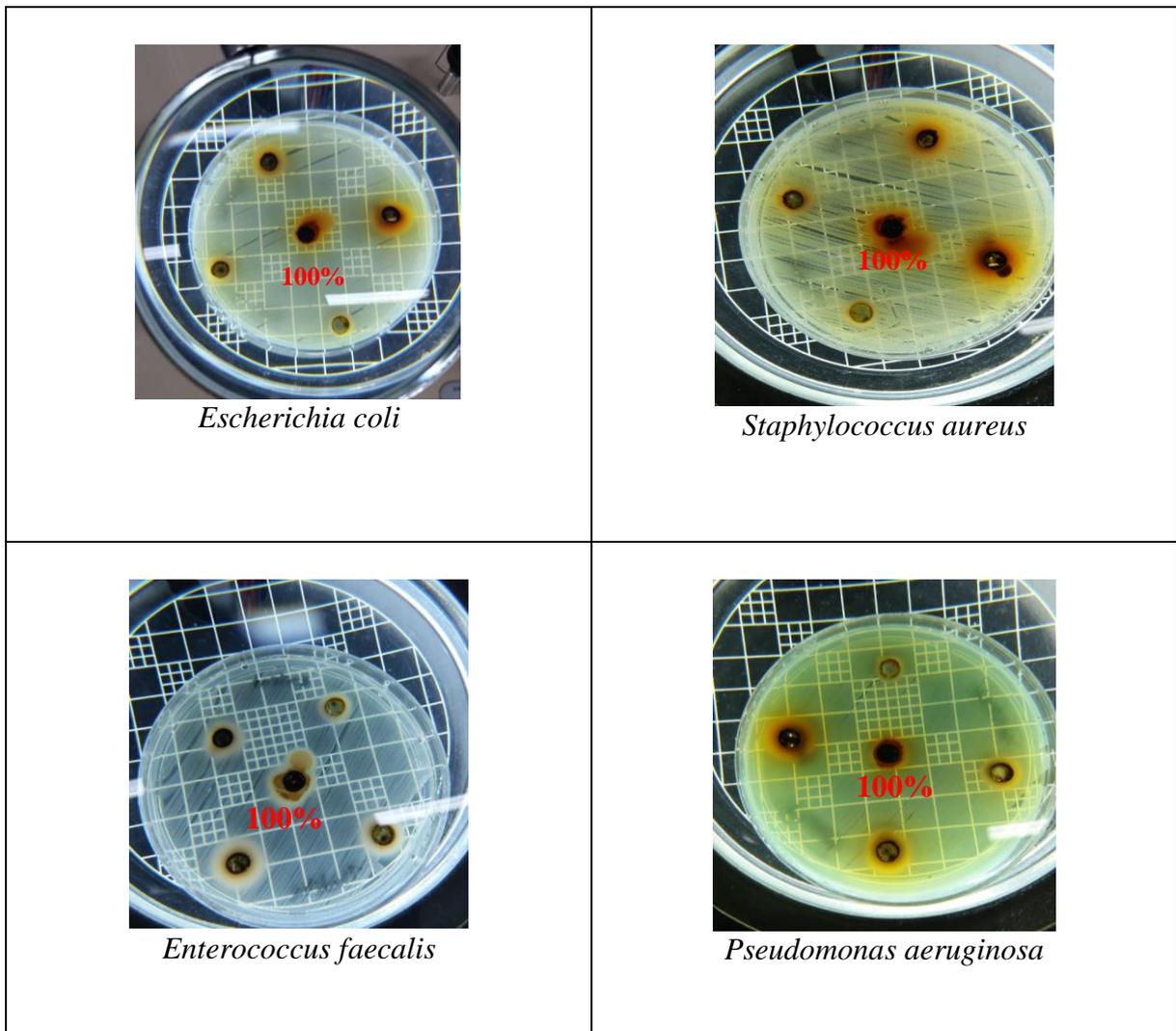
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise fitoquímica do extrato das folhas de *Hymenaea courbaril* L. não foi realizada nesse estudo, pois com base na literatura (CHATTOPADHYAY *et al.*, 2001, CUSHNIE; LAMB, 2011) verificou-se que os estudos de prospecção fitoquímica comprovaram e identificaram presença de metabólitos (MIRANDA; CASTRO; SILVÉRIO, 2014), e que esses metabólitos são eficazes frente a estirpes microbianas.

Após o período de incubação, verificou-se a formação de halos de inibição, Figura 3 e Tabela 1, provocados pelo extrato das folhas de *H. courbaril*. Observa-se na Tabela 1 que o

extrato apresentou atividade antimicrobiana frente à *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis* em todas as diluições, *Escherichia coli* até 50% e *Pseudomonas aeruginosa* somente em 100%, com formação de halos nas diluições de 100 a 6,25%, e com halos variando entre 16,0 até 6,0 mm. Apresentando maior atividade frente à *S. aureus* (16,0mm), e menor atividade frente à *E. coli* (6,0 mm).

Figura 3 Zonas de inibição do extrato etanólico das folhas de *Hymenaea courbaril* L. frente a cepas clínicas resistentes.



Fonte: MARINHO, T. G., 2019

O extrato das folhas de *Hymenaea courbaril* L. apresenta ação bactericida, frente a isolados de *S. aureus*. Onde os produtos naturais demonstram melhor ação sobre as bactérias gram-positivas, podendo atuar de modo diferenciado nos microrganismos (PALANIAPPAN; HOLLEY 2010, SÁ *et al.*, 2011).

Ao analisar o efeito do extrato frente às cepas gram-negativas observa-se uma ação para as bactérias *P. aeruginosa* e *E. coli*, Tabela 1 e Figura 3, as quais são conhecidas por sua resistência aos extratos vegetais devido a presença de dupla camada fosfolipídica (MEDERNACH; LOGAN, 2018).

. Resultados semelhantes foram observados por Garcia *et al.* (2011) ao estudar o extrato hidroalcolico da *H. courbaril* L. e comprovar a sua eficácia frente a *S. aureus*.

Sabe-se que as folhas e a casca possuem compostos terpênicos e fenólicos agindo como antifúngicos, antibacterianos e moluscicidas, alvo de diversos estudos, tendo validação sobre seu uso no tratamento de enfermidades ao longo da história (LORENZI; MATOS, 2002).

Tabela 1. Média aritmética dos halos de inibição (mm) da atividade da Concentração Inibitória Mínima (CIM) do extrato bruto da folha de *H. courbaril* L., frente a cepas clínicas. Campina Grande-PB, 2019.

Microrganismos	Concentração do extrato (%) / Diâmetro dos halos de inibição (mm)				
	100%	50%	25%	12,5%	6,25%
<i>Escherichia coli</i>	8,0	6,0	SI	SI	SI
<i>Staphylococcus aureus</i>	16,0	14,0	12,0	9,5	7,5
<i>Enterococcus faecalis</i>	13,0	11,5	9,0	8,0	6,5
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	SI	SI	SI	SI	SI
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8,0	SI	SI	SI	SI
<i>Candida albicans</i>	SI	SI	SI	SI	SI
<i>Candida krusei</i>	SI	SI	SI	SI	SI

*SI: Não apresentou halo de inibição

Fonte: MARINHO, T. G., 2019

De acordo com Martins *et al.* (1998), os compostos fenóis estão entre os mais importantes metabólitos vegetais que dão origem a outros produtos como os taninos, substâncias químicas complexas, polifenólicas, ligadas a outros compostos aromáticos, e podem ser encontrados em todas as partes da planta para protegê-la contra herbívoros, ainda é possível encontrar o ácido salicílico, presente em diversas plantas que possui ação antisséptica, analgésica e anti-inflamatória.

Como observado o maior halo de inibição do extrato foi frente à *S. aureus*, sendo atribuída ao fato de ser uma gram-positiva, a qual é mais sensível por apresentar uma única camada de peptídioglicano.

A ausência de inibição em algumas cepas pode ser explicada devido à fatores como o método de avaliação, o tipo de extrato, a parte vegetal e procedência dos isolados fúngicos (GIORDANI; SANTIN; CLEEF, 2015). Como também a dificuldade existente da difusão de produtos naturais, o que pode estar relacionada à sua hidrossolubilidade e ao seu peso molecular. BANDEIRA *et al.*, 1998; RIOS *et al.*, 1988 que argumentaram que as pesquisas com atividade antimicrobiana de plantas encontram problemas devido à propriedade lipofílica de algumas amostras. Em alguns estudos os autores avaliaram que a insolubilidade de óleos essenciais e extratos não polares de plantas tornam difícil o uso de um meio aquoso no estudo da atividade antimicrobiana.

5 CONCLUSÃO

Constatou-se no referido estudo que o extrato bruto das folhas de *Hymenaea courbaril* L. é eficaz na inibição de microrganismos em diferentes concentrações, mostrando assim que os resultados obtidos corroboram para a comprovação da ação indicada pelos raizeiros para a espécie em estudo.

Portanto, *H. courbaril* L. apresenta perspectivas para a obtenção de antimicrobianos naturais. Futuras investigações dos resultados poderão identificar, purificar, fracionar os fitoquímicos presentes nas folhas, e testar frente a outros microrganismos, podendo ser explorado para tratamento de diversas enfermidades, recomendando-se estudos mais detalhados.

REFERÊNCIAS

- ALEIXO, A. A. *et al.* Propriedades antibióticas dos extratos de *Stryphnodendron adstringens* E *Hymenaea courbaril* (Fabaceae), frente ao isolado clínico meticiclina-resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA). **Biochemistry And Biotechnology Reports**, Minas Gerais, v. 2, n. 2, p.85-88, jun. 2013. Anual.
- ALMEIDA, J. R. G. S. *et al.* Analysis and antioxidant activity of *Hymenaea martiana* Hayne (Fabaceae). **Journal Of Chemical And Pharmaceutical Research**. Petrolina, p. 1160-1166. Mar. 2012.
- AMOROSO, M.C.M.. A abordagem etnobotânica na pesquisa de plantas medicinais. In: DI STASI, L.C. (Org.) **Plantas medicinais: arte e ciência**. Um guia de estudo interdisciplinar. São Paulo: UNESP, 1996. p.47-68.

BADKE, M. R. *et al.* Saberes e práticas populares de cuidado em saúde com o uso de plantas medicinais. **Texto & Contexto - Enfermagem**, [s.l.], v. 21, n. 2, p.363-370, jun. 2012.

BRAGA, C. M.. **Histórico da utilização de plantas medicinais**. 2011. 24 f. TCC (Graduação) - Curso de Biologia, Universidade de Brasília, Brasília, 2011.

BANDEIRA, M. F. C. L. *et al.* Estudo preliminar da atividade antibacteriana do óleo essencial e da resina da *Copaifera multijuga* (óleo de copaíba) associados ao óxidozinc e ao hidróxido de cálcio. **Brasclin Est Odontol**. São Paulo, p. 46-52. fev. 1998.

BATISTA, A. G. *et al.* Chemical composition of jatobá-do-cerrado (*Hymenaea stigonocarpa* Mart.) flour and its effect on growth of rats. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 22, n. 2, p.173-180, abr. 2011.

BONIFACE, P. K.; FERREIRA, S. B.; KAISER, C. R.. Current state of knowledge on the traditional uses, phytochemistry, and pharmacology of the genus *Hymenaea*. **Journal of Ethnopharmacology**, [s.l.], v. 206, p.193-223, jul. 2017.

BONTEMPO, M.. **Medicina Natural**. São Paulo: Nova Cultura, 2000. 584p.

BRUNING, M. C. R.; MOSEGUI, G. B. G.; VIANNA, C. M. M.. A utilização da fitoterapia e de plantas medicinais em unidades básicas de saúde nos municípios de Cascavel e Foz do Iguaçu - Paraná: a visão dos profissionais de saúde. **Ciência & Saúde Coletiva**, [s.l.], v. 17, n. 10, p.2675-2685, out. 2012.

CAMARGO, M.T.L. A.. **Medicina popular**. Rio de Janeiro: Campanha de Defesa do Folclore Brasileiro, 46p., 1976.

CASTELLEN, M. S.. **Avaliação do estado de conservação de populações naturais de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.) por meio de análises de estrutura genética e autocorrelação espacial**. 2005. 104 f. Tese (Doutorado) - Pós-graduação em Ecologia e Agroecossistemas, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

CHATTOPADHYAY, D. *et al.* Antimicrobial activity of *Alstonia macrophylla*: a folklore of bay islands. **Journal of Ethnopharmacology**, [s.l.], v. 77, n. 1, p.49-55, set. 2001.

COSTA, A. L. P.; SILVA JUNIOR, A. C. S.. Resistência bacteriana aos antibióticos e Saúde Pública: uma breve revisão de literatura. **Estação Científica (unifap)**, [s.l.], v. 7, n. 2, p.45-57, 23 ago. 2017. Universidade Federal do Amapá.

CUSHNIE, T. P. T.; LAMB, A. J.. Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. **International Journal of Antimicrobial Agents**, [s.l.], v. 38, n. 2, p.99-107, ago. 2011.

DIMECH, Gustavo Santiago *et al.* Phytochemical and Antibacterial Investigations of the Extracts and Fractions from the Stem Bark of *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne and Effect on Ultrastructure of *Staphylococcus aureus* Induced by Hydroalcoholic Extract. **The Scientific World Journal**, [s.l.], v. 2013, p.1-8, 2013. Hindawi Limited.

DUARTE, M. C. T.. Atividade Antimicrobiana de Plantas Medicinais e Aromáticas Utilizadas no Brasil. **Multiciência**, Campinas, v. 7, n. 1, p.1-16, out. 2006.

FELFILI, J.M.; SILVA JÚNIOR, M.C.; FILGUEIRAS, T.S.; NOGUEIRA, P.E. 1998. **Comparison of cerrado (sensu stricto) vegetation in central Brazil**. *Ciência e Cultura* 50(4): 237-243.

FIGUEIREDO, Patrícia Aparecida. **Avaliação do Potencial Antioxidante, Citotóxico e Fotoprotetor de Extratos de *Hymenaea courbaril* L. e *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne**. 2014. 70 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-graduação em Biociências, Faculdade de Ciências e Letras de Assis, Assis, 2014.

FIRMO, Wellyson da Cunha Araújo *et al.* Contexto histórico, uso popular e concepção científica sobre plantas medicinais. **Cadernos de Pesquisa**, São Luís, v. 18, n. 1, p.90-95, 2011.

GARCIA, C. S.; UEDA, S. M. Y.; MIMICA, L. M. J.. Avaliação da atividade antibacteriana in vitro de extratos hidroetanólicos de plantas sobre *Staphylococcus aureus* MRSA e MSSA. **Rev Inst Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 4, n. 70, p.589-598. 2011.

GIORDANI, C.; SANTIN, R.; CLEFF, M. B.. Levantamento de extratos vegetais com ação anti-Candida no período de 2005-2013. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, [s.l.], v. 17, n. 1, p.175-185, mar. 2015.

LEE, Y. T. & LANGENHEIN, J. H.. *Systematicsofthe genus Hymenaea L. (Leguminosae, Caesalpinioideae, Detarieae)*. Berkeley: University of California Press, 1975. 105p.

LORENZI, Harri; MATOS, Francisco José de Abreu. **Plantas Mediciniais No Brasil: Nativas e Exóticas**. 2. ed. Nova Odessa: Plantarum, 2002. 512 p.

MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M de; CASTELLANI, D. C.; DIAS, J. E. **Plantas mediciniais**. Viçosa, MG: UFV, 1998. 220p.

MARTINS, C. H. G., et al. Determinação in vitro da Atividade Antibacteriana dos Extratos Brutos da Casca e Polpa Farinácea de *Hymenaea courbaril* L. **Investigação**, 43, p. 10-37, 2010.

MEDERNACH, R. L.; LOGAN, L. K.. The Growing Threat of Antibiotic Resistance in Children. **Infectious Disease Clinics of North America**, [s.l.], v. 32, n. 1, p.1-17, mar. 2018.

MIRANDA, A. R.; CASTRO, C. F. S.; SILVÉRIO, M. D. O.. Avaliação da atividade antioxidante e inibição da tirosinase do extrato das folhas do jatobá (*Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, [s.l.], v. 16, n. 31, p.693-699, 2014.

MUNITA, Jose M.; ARIAS, Cesar A.. Mechanisms of Antibiotic Resistance. **Virulence Mechanisms of Bacterial Pathogens, Fifth Edition**, [s.l.], p.481-511, 2016. American Society of Microbiology.

PALANIAPPAN, K.; HOLLEY, R. A.. Use of natural antimicrobials to increase antibiotic susceptibility of drug resistant bacteria. **International Journal of Food Microbiology**, [s.l.], v. 140, n. 2-3, p.164-168, jun. 2010.

RIOS, J. L.; RECIO, M. C.; VILLAR, A.. Screening methods for natural products with antimicrobial activity: A review of the literature. **Journal of Ethnopharmacology**, [s.l.], v. 23, n. 2-3, p.127-149, jul. 1988.

SÁ, M. C. A. *et al.* Antimicrobial activity of caatinga biome ethanolic plant extracts against gram negative and positive bacteria. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, [s.l.], v. 18, n. 2-3, p.62-66, 2011.

SHARMA, V. K. *et al.* A review of the influence of treatment strategies on antibiotic resistant bacteria and antibiotic resistance genes. **Chemosphere**, v. 150, p. 702-714, 2016.

SHRIVASTAVA, S.; SHRIVASTAVA, P.; RAMASAMY, J.. World health organization releases global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics. **Journal of Medical Society**, v. 32, n. 1, p. 76-76, 2018

SOUZA, I. M.; FUNCH, L. S.; DE QUEIROZ, L. P.. Flora da Bahia: Leguminosae–*Hymenaea* (Caesalpinioideae: Detarieae). **Sitientibus série Ciências Biológicas**, v. 16, 2016.

SOUZA, A. O.; SILVA, M. J.; DANTAS, M. M.. The genera *Apuleia*, *Dimorphandra*, *Tachigali* (Caesalpinioideae), *Bauhinia*, *Schnella* (Cercidoideae), *Copaifera*, *Hymenaea* e *Peltogyne* (Detarioideae) (Leguminosae) in the Serra Dourada State Park, Goiás, Brazil. **Rodriguésia**, v. 68, n. 4, p. 1273-1286, 2017.

SPRINGFIELD, E. P.; AMABEOKU, G.; WEIZ, F.; MABUSELA, W.; JOHNSON, Q.. An assessment of two *Carpobrotus* species extracts as potential antimicrobial agents. **Phytomedicine** 10: 434-439. 2003.

TACCONELLI, Evelina *et al.* Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 18, n. 3, p. 318-327, 2018.

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

World Health Organization. WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed. 27 February 2017. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/detail/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>

