

DOI: <http://dx.doi.org/10.18265/1517-0306a2021id5036>

ARTIGO ORIGINAL

SUBMETIDO 04/11/2020

APROVADO 27/08/2021

PUBLICADO ON-LINE 29/08/2021

PUBLICADO 30/06/2022

EDITOR ASSOCIADO

Maria Angélica Ramos da Silva

Avaliação antimicrobiana *in vitro* das espécies vegetais *Coccoloba mollis*, *Triplaris americana* e *Coutarea hexandra*

 Davi Porfirio da Silva ^[1]

 Lívia Santiago Teixeira Vilela ^[2]

 Maria Lysete de Assis Bastos ^[3]

 Eliana Maria Mauricio da Rocha ^[4]

[1] daviporfirio14@hotmail.com.

[2] liviasantei@gmail.com.

[3] lysetebastos@gmail.com.

Universidade Federal de Alagoas (UFAL),
Brasil

[4] eliana.rocha@pq.cnpq.br.

Universidade Federal de São João del-Rei
(UFSJ), Brasil

RESUMO: O presente artigo consiste em um estudo experimental que investigou a atividade antimicrobiana *in vitro* de 68 amostras das espécies vegetais *Coccoloba mollis*, *Triplaris americana* e *Coutarea hexandra* contra os microrganismos *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans*. Com base nas análises, verificou-se que as três plantas, utilizadas na medicina popular para tratamento de infecções, apresentaram forte atividade microbicida frente ao *S. aureus* e nenhuma atividade para *P. aeruginosa* e *C. albicans*, sendo que as amostras mais promissoras foram a fração ácida em hexano e a subfração em acetato de etila das folhas de *T. americana* e a fração em metanol das raízes de *C. hexandra*. Esses resultados indicam a necessidade de continuação das investigações para futura inclusão dessas plantas na lista de fitoterápicos apoiados pelo Ministério da Saúde.

Palavras-chave: fitoterapia; plantas medicinais; quina-quina; *Staphylococcus aureus*.

In vitro antimicrobial evaluation of the plant species *Coccoloba mollis*, *Triplaris americana* and *Coutarea hexandra*

ABSTRACT: This article consists of an experimental study that investigated the *in vitro* antimicrobial activity of 68 samples of the plant species *Coccoloba mollis*, *Triplaris americana* and *Coutarea hexandra* against the microorganisms *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida albicans*. Based on the analyses, it was found that the three plants, used in folk medicine for the treatment of infections, showed strong microbicidal activity against *S. aureus* and no activity for *P. aeruginosa* and *C. albicans* and the acidic fraction in hexane and the subfraction in ethyl acetate from the leaves of *T. americana* and the fraction in methanol from the roots of *C. hexandra* were the most promising samples. The findings suggest the need for further investigations for

the future inclusion of these plants in the list of herbal medicines, supported by the Ministry of Health.

.....
Keywords: medicinal plants; quina-quina; *Staphylococcus aureus*; phytotherapy.
.....

1 Introdução

As plantas medicinais são consumidas amplamente em todo o mundo, sobretudo em regiões menos desenvolvidas e naquelas em que o acesso aos serviços de saúde é limitado, tornando esse o único recurso terapêutico disponível para uso, mesmo sem acompanhamento por profissionais de saúde e sem comprovação científica das atividades biológicas de determinadas espécies vegetais (ZENI *et al.*, 2017).

A utilização de plantas para fins medicinais não é recente; trata-se de uma cultura transferida entre as gerações ao longo do tempo. Desse modo, o uso de plantas medicinais faz parte da prática da medicina popular, constituindo um conjunto de saberes internalizados nos diversos usuários e praticantes (VALERIANO; SAVENI; SILVA, 2019).

O emprego das plantas da medicina popular como terapia complementar em território brasileiro emergiu no contexto das mudanças econômicas, políticas e sociais e tem procurado legitimar-se, enquanto remédio, na seara dos ditames da indústria farmacêutica. Seu fortalecimento tem sido apoiado pelo Ministério da Saúde com a criação de algumas ações, entre elas, a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF), em 2008. Assim, compete a essa Política decisões de caráter geral, com vistas à potencialização dos recursos disponíveis para introduzir o uso de plantas medicinais e fitoterápicos no Sistema Único de Saúde (SUS), de forma segura e inclusiva, para utilização sustentável da biodiversidade e desenvolvimento da cadeia produtiva nacional (BRASIL, 2016).

O uso de espécies vegetais para tratamento e prevenção de doenças é amplamente aceito e praticado pela população. O apoio a essa prática fortalece a medicina popular e auxilia na conservação da natureza. Nesse contexto, a enfermagem tem se aproximado dessa realidade para entender o cuidado numa perspectiva que considere o conhecimento popular das plantas, objetivando ampliar a integralidade da assistência (MATTOS *et al.*, 2018). Portanto, o tratamento com plantas medicinais deve ser estimulado entre os profissionais que atuam na Atenção Primária em Saúde (APS), considerando evidências científicas que confirmam segurança ao seu uso.

O aumento de alternativas terapêuticas, como acesso a plantas medicinais e serviços relacionados à fitoterapia oferecidos aos usuários do SUS, é uma importante estratégia com vistas à melhoria da atenção à saúde e à inclusão social da população (BRASIL, 2016).

No presente estudo utilizaram-se plantas da Mata Atlântica do estado de Alagoas pertencentes às famílias Polygonaceae (*Coccoloba mollis* e *Triplaris americana*) e Rubiaceae (*Coutarea hexandra*). A família Polygonaceae está constituída por 49 gêneros, com mais de 1.200 espécies distribuídas nas regiões tropicais, temperadas e subtropicais, geralmente cultivadas como plantas ornamentais. No Brasil, há 9 gêneros e aproximadamente 100 espécies. Desses gêneros, os mais representativos são *Coccoloba*, *Triplaris*, *Antigonum* spp. e *Polygonum*. Muitas das espécies de Polygonaceae apresentam propriedades medicinais (TABOSA *et al.*, 2016).

O gênero *Coccoloba* é o mais representativo no Brasil: possui 400 espécies, das quais 45 ocorrem de norte a sul do país, encontradas especialmente em florestas estacionais, ciliares, campos rupestres, restingas e várzeas, presentes nos biomas Mata Atlântica, Amazônia, Cerrado e Caatinga. Algumas delas são úteis no tratamento de febre, estresse, insônia, anemia, diarreia, problemas menstruais, gonorreia e hemorroida (CARVALHO *et al.*, 2018; MELO, 2018).

A espécie *C. mollis* (Polygonaceae) é conhecida popularmente como “folha larga”, “pajeú”, “coaçu” ou “falso-novateiro” e encontra-se distribuída da América Central ao Brasil (com exceção da Região Sul). Tem sido relatado que essa espécie é popularmente utilizada para tratar inflamação, diabetes e como antimicrobiano (PERERA; ALVES, 2018).

A espécie *T. americana* (Polygonaceae) é uma árvore endêmica das Américas que, quando adulta, mede em torno de 16 metros de altura. É popularmente conhecida como pau-formiga, pau-de-novato, formigueiro ou novateiro. É uma planta com relatos do uso medicinal para tratamento de várias doenças; na medicina popular peruana é usada a decocção ou infusão das cascas do caule, por via oral, para curar infecções intestinais, febre, diarreia e feridas. A quantificação de fenóis totais do extrato etanólico das cascas do caule identificou a presença de taninos condensados, o que sugere uma possível atividade anti-inflamatória, antimicrobiana e antioxidante desse extrato (PIRES *et al.*, 2015).

A família Rubiaceae compreende aproximadamente 650 gêneros e 13.000 espécies, distribuídas globalmente nas regiões tropicais. No Brasil, sua ocorrência engloba 220 gêneros e 5.000 espécies, aproximadamente (FERREIRA JÚNIOR; VIEIRA, 2015). É uma família botânica com grande potencial químico e biológico. Estudos com espécies desse gênero evidenciam a presença de compostos químicos das classes dos alcaloides, esteroides, fenóis simples, flavanonas e flavanonóis, com potencial atividade biológica (MESQUITA *et al.*, 2015).

A *C. hexandra* (Rubiaceae) é uma espécie conhecida no Brasil como quina-quina, e sua casca é utilizada na medicina popular para febre, infecções bacterianas e virais, inflamações e como analgésico. Estudo fitoquímico identificou a presença de compostos fenólicos, com comprovada atividade antioxidante (MARTINS; NUNEZ, 2015).

A investigação do potencial biológico dessas plantas, amplamente usadas na medicina tradicional, é uma importante ferramenta para resguardar as pessoas que fazem uso delas. Além disso, a investigação da atividade antimicrobiana é endossada pela necessidade de novos agentes antimicrobianos em decorrência do aparecimento de microrganismos resistentes e de infecções oportunistas letais. Essas pesquisas contribuem significativamente para o desenvolvimento na área da saúde, uma vez que a diversidade vegetal pode contribuir para descoberta de novos antibióticos (MIRANDA *et al.*, 2015).

Em face dessas considerações, o objetivo deste estudo foi investigar a atividade antimicrobiana *in vitro* de 68 amostras das espécies vegetais *C. mollis*, *T. americana* e *C. hexandra*.

2 Método da pesquisa

Pesquisa experimental caracterizada pela utilização de ensaios antimicrobianos *in vitro*, realizados no Laboratório de Pesquisa Química de Produtos Naturais (LPqPN) do Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas (UFAL) e no Laboratório de Pesquisa em Tratamento de Feridas (LpTF) da Escola de Enfermagem da UFAL, no período de fevereiro de 2017 a maio de 2018, com apoio do Conselho Nacional

de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e da Fundação de Amparo à Pesquisa no Estado de Alagoas (FAPEAL).

2.1 Coleta e identificação do material estudado

A espécie *C. mollis* foi coletada no final do mês de março de 2017, na Área de Proteção Ambiental (APA) de Santa Rita, município de Marechal Deodoro-AL/Brasil, situada a 27 km de Maceió (coordenadas geográficas 9°37'30"S e 35°49'00"O). As espécies *T. americana* e *C. hexandra* foram coletadas em abril de 2017, na APA da Usina Coruripe, município de Coruripe-AL/Brasil, situada a 85 km de Maceió (coordenadas geográficas 10°08'53"S e 36°10'86"O). Todo material vegetal foi coletado e identificado por uma botânica do Instituto do Meio Ambiente do Estado de Alagoas, onde as exsicatas foram depositadas sob os números MAC17274, MAC22953 e MAC22943, respectivamente.

2.2 Preparo das amostras vegetais

O material coletado foi levado ao Laboratório de Pesquisa Química de Produtos Naturais, no qual caules, folhas, frutos e raízes foram submetidos à secagem em temperatura ambiente, em sala com desumidificador, por 15 dias, para se obter peso constante. Em seguida, foram triturados e individualmente macerados em C_6H_{14} (hexano) ou C_3H_6O (acetona) ou CH_2Cl_2 (diclorometano) ou C_2H_6O (etanol/EtOH) a 90%.

Os sete extratos brutos (EB) obtidos foram: um da *C. mollis* (caule em EtOH); cinco da *T. americana* (folhas em C_6H_{14} e C_3H_6O , cascas do caule e raízes em EtOH, frutos em C_6H_{14}) e um da *C. hexandra* (raízes em CH_2Cl_2). Após eliminação do solvente em rotaevaporador, eles foram submetidos ao particionamento fitoquímico, pelo método de separação líquido/líquido, obtendo-se 32 frações de amostras vegetais mais purificadas. Em seguida, essas amostras foram submetidas à cromatografia, em camada delgada, para rastreamento de metabólitos secundários. As frações que apresentaram maior poder de isolamento desses componentes foram submetidas a fracionamento pelo método de cromatografia em coluna, utilizando-se gel de sílica (70-230 mesh), extraídos em C_6H_{14} , CH_2Cl_2 , $CHCl_3$ (clorofórmio), $C_4H_8O_2$ (acetato de etila/AcOEt) e CH_4O (metanol/MeOH), resultando em 29 subfrações (MATTE; AK; MATA, 2015).

Ao final dessa marcha química, obteve-se 68 amostras vegetais, que foram submetidas aos ensaios antimicrobianos *in vitro*.

2.3 Difusão em disco

A técnica de difusão em disco foi realizada para triagem investigativa da atividade antimicrobiana das 68 amostras vegetais, oriundas das três plantas em estudo. Os microrganismos utilizados nos ensaios antimicrobianos procederam do *American Type Cell Collection* (ATCC) e consistiram nas bactérias *S. aureus* (25923) e *P. aeruginosa* (27853) e no fungo *C. albicans* (10231), que foram escolhidos pela dificuldade em tratar infecções causadas por eles, em decorrência da resistência aos antimicrobianos padrões.

No preparo dos discos testes, solubilizou-se 50 mg de cada amostra em 1 mL de MeOH, obtendo uma solução estoque de 5.000 µg/mL. Discos de papel Whatman nº 1

de 6 mm foram depositados em placas de poliestireno de 96 orifícios e impregnados com 20 µL da solução estoque, obtendo-se uma amostra teste de 1.000 µg/mL (CLSI, 2019).

Os microrganismos foram solubilizados em Solução Salina Tamponada (SST) até obter $1,5 \times 10^8$ UFC/mL. Usando um *swab* estéril, semeou-se as placas de Petri com essa solução microbiana. Cada placa recebeu três discos testes; um disco de controle negativo impregnado com 20 µL de MeOH e outro disco de controle positivo. O controle positivo frente ao *S. aureus* foi a gentamicina (10 µg), enquanto para a *P. aeruginosa* usou-se a ciprofloxacina (5 µg) e para a *C. albicans* padronizou-se o miconazol (50 µg) (CHRISTENSON; KORGENSKI; RELICH, 2018).

As placas foram levadas à estufa por 24 horas a 35 °C para as bactérias e por 48 horas a 28 °C para o fungo. Após esse período, em capela de fluxo laminar mediu-se a olho nu, com auxílio de paquímetro, os halos de inibição, em milímetros. Adotou-se a seguinte classificação conforme a inibição do crescimento microbiano: a) Suscetível: halo de inibição maior que 18 mm; b) Intermediário: halo entre 9 e 18 mm; e c) Resistente: halo de inibição menor que 9 mm indica microrganismo resistente ao extrato (BOUYAHYA *et al.*, 2017).

2.4 Concentração inibitória mínima

As amostras vegetais que apresentaram inibição do crescimento microbiano dos tipos suscetível ou intermediário na difusão em disco foram submetidas ao teste de microdiluição em caldo BHI (*Brain Heart Infusion*) para a determinação da CIM (Concentração Inibitória Mínima). Uma quantidade de 4,4 mg de cada amostra foi solubilizada em 1 mL de MeOH, obtendo-se uma solução estoque de 4.400 µg/mL. O teste foi realizado em placas estéreis de poliestireno com 96 orifícios (8 linhas e 12 colunas), em triplicata (CLSI, 2019).

Os poços foram preenchidos com 100 µL de BHI duas vezes concentrado. Adicionou-se 100 µL da amostra vegetal aos poços da primeira linha. Após homogeneização foi realizada a diluição em série nos poços seguintes, e ao final o excedente foi descartado (BOUYAHYA *et al.*, 2017). Em todos os poços foram adicionados mais 100 µL de meio para obtenção das concentrações teste de 1000 µg/mL até 0,5 µg/mL. Adicionou-se 20 µL do inóculo solubilizado em SST na concentração de $1,5 \times 10^8$ UFC/mL.

Três colunas foram reservadas para os controles. No controle de crescimento utilizou-se 150 µL de BHI duas vezes concentrado, 50 µL de SST e 20 µL do inóculo microbiano (CLSI, 2019). Para o controle negativo usou-se 150 µL de meio, 20 µL de inóculo e 50 µL de MeOH, e no controle positivo colocou-se 150 µL de meio, 20 µL de inóculo e 50 µL do antibiótico na forma líquida. O volume final dos poços foi de 220 µL. As placas foram levadas à estufa e, após 24 horas, adicionou-se 20 µL do revelador CTT (cloreto de 2,3,5 trifeniltetrazólio) a 0,5%. Após a reincubação em estufa, por mais três horas, foi realizada a leitura. O revelador confere a coloração vermelha na presença do microrganismo. A ausência de coloração foi interpretada como atividade da amostra avaliada. O grau de atividade antimicrobiana foi determinado segundo os critérios: CIM < 500 µg/mL: forte atividade; CIM > 500 e < 1000 µg/mL: atividade moderada; e CIM > 1000 µg/mL: baixa atividade (BOUYAHYA *et al.*, 2017; CLSI, 2019).

3 Resultados e discussão da pesquisa

Nesta seção, os resultados e a discussão destes são apresentados, de acordo com a metodologia indicada na Seção 2.

3.1 Difusão em disco

Nesta pesquisa, 68 amostras vegetais foram avaliadas, sendo 7 EB, 32 frações e 29 subfrações, oriundas dos referidos extratos, contra *S. aureus*, *P. aeruginosa* e *C. albicans* na concentração de 1000 µg/disco. Ressalta-se que, entre as amostras testadas, 10 mostraram atividade somente frente ao microrganismo *S. aureus*, e as demais foram inativas frente a todos os microrganismos testados.

De acordo com os parâmetros de classificação da inibição do crescimento microbiano de Uzair *et al.* (2017), das 32 frações, 3 mostraram-se ativas. Foram elas uma fração em MeOH oriunda do EB em CH₂Cl₂ das raízes da *C. hexandra* e duas procedentes da *T. americana*, sendo a fração C₆H₁₄ ácida derivada do EB em C₆H₁₄ das folhas e a fração em CH₂Cl₂ resultante do EB em EtOH das cascas do caule (Tabela 1).

Entre as 29 subfrações, 7 evidenciaram inibição microbiana. Foram elas: a) AcOEt oriunda do EB em EtOH do caule da *C. mollis*; b) C₆H₁₄:AcOEt (1:1) e em AcOEt resultantes do EB em C₃H₆O (folhas); c) a subfração em CH₂Cl₂ vinda do EB em EtOH (raízes); d) as subfrações em CHCl₃:AcOEt (1:1) e AcOEt:MeOH(1:1) oriundas do EB em C₆H₁₄ (frutos); e e) uma outra que apresentou inibição do tipo suscetível, que foi a subfração em AcOEt oriunda do EB em C₆H₁₄ (folhas), todas da espécie vegetal *T. americana* (Tabela 1).

Tabela 1 ▼

Média dos halos das amostras ativas oriundas das três espécies vegetais contra *S. aureus* (1000µg/disco). Maceió, AL, Brasil, 2018. Fonte: dados da pesquisa

Planta	Parte	EB	Fração	Subfração	MH (mm)*
<i>C. mollis</i>	Caule	EtOH	AcOEt	AcOEt	9,3
<i>T. americana</i>	Folhas	C ₆ H ₁₄	C ₆ H ₁₄ Ácida	-	13,7
		C ₃ H ₆ O	AcOEt	C ₆ H ₁₄ :AcOEt (1:1)	11,7
		C ₃ H ₆ O	CHCl ₃	AcOEt	9,7
		C ₆ H ₁₄	C ₆ H ₁₄ Neutra	AcOEt	19,0
	Cascas do caule	EtOH	CH ₂ Cl ₂	-	9,0
	Raízes	EtOH	CH ₂ Cl ₂	CH ₂ Cl ₂	10,0
	Frutos	C ₆ H ₁₄	CHCl ₃	CHCl ₃ :AcOEt (1:1)	12,0
C ₆ H ₁₄		AcOEt	AcOEt:MeOH(1:1)	12,3	
<i>C. hexandra</i>	Raízes	CH ₂ Cl ₂	MeOH	-	33,7
Controle positivo			Gentamicina 10 µg/disco		27,4

* média do halo (triplicata em mm). Suscetível: > 18. Intermediário: ≥9 e ≤18. Resistente: < 9.

3.2 Concentração inibitória mínima

Tabela 2 ▼

CIM obtida pela técnica de microdiluição em caldo BHI, das amostras vegetais ativas contra *S. aureus*. Maceió, AL, Brasil, 2018.

Fonte: dados da pesquisa

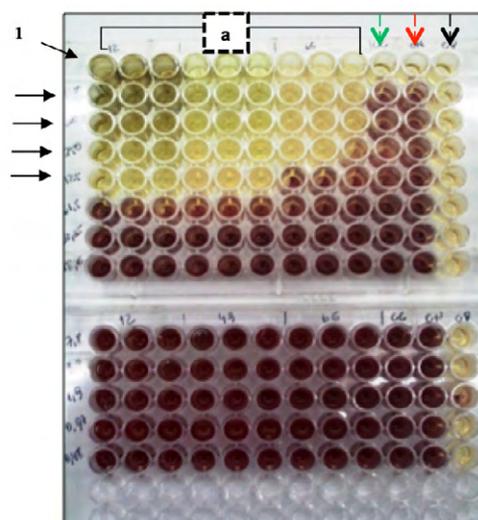
Das dez amostras submetidas ao teste de microdiluição em caldo BHI, para determinação da CIM, observa-se na Tabela 2 que todas apresentaram uma forte inibição do crescimento para *S. aureus*, justificando o uso popular dessas plantas para infecção (MARTINS; NUNEZ, 2015; PERERA; ALVES, 2018; PIRES *et al.*, 2015).

Planta	Parte	EB	Fração	Subfração	CIM (µg/mL)
<i>C. mollis</i>	Caule	EtOH	AcOEt	AcOEt	500
		C_6H_{14}	C_6H_{14} Ácida	-	125
	Folhas	C_3H_6O	AcOEt	C_6H_{14} :AcOEt (1:1)	250
		C_3H_6O	$CHCl_3$	AcOEt	500
		C_6H_{14}	C_6H_{14} Neutra	AcOEt	125
<i>T. americana</i>	Cascas do caule	EtOH	CH_2Cl_2	-	500
	Raízes	EtOH	CH_2Cl_2	CH_2Cl_2	500
	Frutos	C_6H_{14}	$CHCl_3$	$CHCl_3$:AcOEt (1:1)	250
		C_6H_{14}	AcOEt	AcOEt:MeOH (1:1)	500
		C_6H_{14}	AcOEt	AcOEt:MeOH (1:1)	500
<i>C. hexandra</i>	Raízes	CH_2Cl_2	MeOH	-	250

A Figura 1 indica as concentrações da CIM em triplicata. Colunas de 1 a 6 com 125 µg/mL, 7 a 9 com 250 µg/mL. Colunas 10, 11 e 12 correspondem aos controles de crescimento, negativo e positivo, respectivamente.

Figura 1 ►

Microplaca da Concentração Inibitória Mínima com duas amostras da *T. americana* (folhas) e uma das raízes da *C. hexandra* frente ao *S. aureus*. Fonte: dados da pesquisa



(a) indica ausência de crescimento de *S. aureus*; setas pontilhadas verde, vermelha e preta representam os controles de crescimento, negativo e positivo, respectivamente; (1) indica a solução estoque das amostras avaliadas; setas pretas à esquerda indicam as concentrações de 1000, 500, 250 e 125 µg/mL, respectivamente.

O uso das plantas medicinais pelo homem é uma prática milenar, baseada na sabedoria do senso comum, cuja prática se tornou objeto de pesquisa em decorrência do seu amplo uso e nos possíveis riscos envolvidos no uso de espécies vegetais. Várias são as evidências terapêuticas resultantes de estudos envolvendo as plantas da medicina popular; entre elas, a antimicrobiana (FEITOSA *et al.*, 2015).

O *screening* da atividade antimicrobiana das 68 amostras vegetais das espécies *C. mollis*, *T. americana* e *C. hexandra* pelo método da difusão em disco revelou a ausência dessa atividade para os microrganismos *P. aeruginosa* e *C. albicans*, levando a considerá-los resistentes. Apesar de não ter ocorrido atividade antifúngica no presente estudo, já foi detectada ação antifúngica de extratos de outras espécies do gênero *Coccoloba* em fitopatógenos (ASHMAWY *et al.*, 2020). No entanto, sete amostras apresentaram atividade contra *S. aureus*, com halos de inibição do crescimento bacteriano para a *C. mollis* de 9,3 mm e *T. americana* com halos que variaram entre 9,7 mm e 19 mm (Tabela 1). Entretanto, cabe salientar que todos os EB foram inativos.

O fato de as frações e subfrações apresentarem maior potencial de atividade biológica pode ser explicado pelo grau de pureza que estas apresentam em relação ao EB, uma vez que este é constituído de misturas complexas de substâncias e pigmento que podem causar efeito antagonista, interferindo no resultado do experimento (FEITOSA *et al.*, 2015). Além disso, Mendes *et al.* (2020) detectaram diferentes CIM, frente às cepas de *S. aureus*, de extratos de *Eugenia brasiliensis* em distintas estações do ano, com melhor desempenho em estações mais quentes, demonstrando que a sazonalidade influencia na bioatividade de espécies vegetais. Nesse sentido, como a coleta das plantas do presente estudo foi feita no outono, presume-se que estas apresentem menor teor de seus metabólitos, sugerindo-se que em estações mais quentes seja possível obter uma atividade antimicrobiana ainda melhor.

Da espécie vegetal *T. americana*, a amostra mais promissora foi a subfração AcOET oriunda do EB em C₆H₁₄ (folhas), com halo de 19 mm, e da *C. hexandra* foi a fração em MeOH proveniente de extrato em CH₂Cl₂ (raízes), com halo de 33,7 mm, sendo esta última superior ao halo do controle positivo (gentamicina), que foi de 27,4 mm, o que a caracteriza como muito promissora contra infecções estafilocócicas (Tabela 1). No entanto, ambas as amostras apresentaram forte atividade antimicrobiana.

O tamanho do halo de inibição é influenciado pela velocidade de difusão da amostra no meio. Portanto, as amostras apolares são mais lentas nesse processo, o que pode contribuir para que apresentem pouca ou nenhuma atividade antimicrobiana. Esse fato foi observado no presente estudo, uma vez que os maiores halos foram provenientes de amostras polares (UZAIR *et al.*, 2017).

Estudo realizado com o extrato hidroalcoólico das folhas de *Eugenia uniflora* (pitangueira) frente a cepas de *S. aureus* e *P. aeruginosa* evidenciou a atividade antibacteriana do referido extrato frente aos microrganismos supracitados, com diâmetro dos halos de inibição variando de 13,1 mm a 11,0 mm e de 16,1 mm a 11,5 mm, respectivamente (MIRANDA *et al.*, 2015). Constata-se que o *screening* antimicrobiano com amostras das plantas *C. mollis*, *T. americana* e *C. hexandra* corrobora esse experimento no que se refere à atividade contra *S. aureus* e difere com relação a *P. aeruginosa*, uma vez que o referido microrganismo foi resistente às amostras dessas plantas.

Outro estudo (ASHMAWY *et al.*, 2020), realizado com óleo de coco, também identificou atividade antimicrobiana para *S. aureus* do tipo intermediária e ausência dessa atividade para a bactéria Gram-negativa *P. aeruginosa* e para o fungo *C. albicans*, corroborando os dados da presente pesquisa. Esses resultados podem estar relacionados

às diferenças morfológicas entre esses microrganismos; *C. albicans*, por exemplo, pode apresentar pseudohifas e hifas verdadeiras em processos patogênicos, aumentando sua virulência e tornando mais complicado debelar a infecção provocada (ASHMAWY *et al.*, 2020).

Martins e Nunez (2015), ao investigarem a atividade antibacteriana de plantas pertencentes à família Rubiaceae, constataram o potencial antimicrobiano de 12 espécies pertencentes à referida família contra 24 bactérias, entre elas *S. aureus* e *P. aeruginosa* (com média dos halos de inibição de 18,7 mm e 18,1 mm, respectivamente), o que corrobora os resultados do presente estudo no que diz respeito à atividade da fração em MeOH das raízes da *C. hexandra*, a qual superou a média dos halos de inibição contra o *S. aureus*, que foi de 33,7 mm. Entretanto, os resultados obtidos com a *P. aeruginosa* não foram reproduzidos no atual estudo.

Em relação à avaliação da CIM, as dez amostras vegetais de *C. mollis*, *T. americana* e *C. hexandra* testadas apresentaram-se com ótima perspectiva para a continuação de ensaios *in vitro* para avaliação da toxicidade e *in vivo* para comprovação da atividade antimicrobiana, visando o desenvolvimento de fitoterápicos.

A partir dos resultados da CIM para *S. aureus* (Tabela 2 e Figura 1), observa-se que as amostras exibiram respostas compatíveis com uma forte atividade para *S. aureus* com suas concentrações, que variaram de 125 a 500 µg/mL (0,125 a 0,5 mg/mL). Esses resultados corroboram um estudo que indica o uso etnobotânico de plantas para o tratamento de infecções (MATTE; AK; MATA, 2015).

Comparando-se a Tabela 1 com a Tabela 2, pode-se notar que, de um modo geral, os menores halos de inibição promoveram uma CIM de 500 µg/mL, enquanto os maiores resultaram em uma CIM que variou de 125 a 250 µg/mL. Entre todas as amostras, o melhor resultado obtido foi com a subfração AcOEt oriunda do EB em C₆H₁₄ das folhas da *T. americana*, a qual exibiu um halo de 19 mm e uma CIM de 125 µg/mL. Apesar de a fração em MeOH proveniente do EB em CH₂Cl₂ das raízes da *C. hexandra* exibir um halo de 33,7 mm, superior ao do controle positivo (gentamicina com halo de 27,4 mm), sua CIM foi de 250 µg/mL, o que não condiz com o esperado, pois quanto maior o halo, menor será a CIM. No entanto, tal valor ainda configura uma forte atividade antimicrobiana dessa amostra.

4 Conclusão

As três espécies vegetais estudadas apresentaram forte atividade microbicida contra *S. aureus* e ausência de atividade para *P. aeruginosa* e *C. albicans*, sendo as amostras mais promissoras a fração ácida em C₆H₁₄ e a subfração em AcOEt das folhas de *T. americana*, bem como a fração em MeOH das raízes da *C. hexandra*.

Esses resultados satisfatórios implicam na continuação dos estudos para uso seguro, bem como isolamento e identificação de seus metabólitos secundários, para ser verificada a sua aplicabilidade na fitoterapia e futura inclusão dessas plantas na lista de fitoterápicos apoiados pelo Ministério da Saúde.

Agradecimentos

O presente estudo teve apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), da Fundação de Amparo à Pesquisa no Estado de Alagoas

(FAPEAL), bem como do Instituto de Química e Biotecnologia (IQB), da Escola de Enfermagem e Farmácia (ESENFAR) e do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (PPGCS) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL).

Referências

ASHMAWY, N. A.; SALEM, M. Z. M.; EL SHANHOREY, N.; AL-HUQAIL, A. A.; ALI, H. M.; BEHIRY, S. I. Eco-friendly wood-biofungicidal and antibacterial activities of various *Coccoloba uvifera* L. leaf extracts: HPLC analysis of phenolic and flavonoid compounds. **BioResources**, Raleigh, v. 15, n. 2, p. 4165-4187, 2020. Disponível em: https://bioresources.cnr.ncsu.edu/wp-content/uploads/2020/04/BioRes_15_2_4165_Ashmawy_SSAAB_EnvFriend_Wood_Biofungicide_Antibac_Activ_Leaf_Extract_Flavinoid_16808.pdf . Acesso em: 4 set. 2020.

BOUYAHYA A.; ET-TOUYS, A.; BAKRI, Y.; TALBAUI, A.; FELLAH, H.; ABRINI, J.; DAKKA, N. Chemical composition of *Mentha pulegium* and *Rosmarinus officinalis* essential oils and their antileishmanial, antibacterial and antioxidant activities. **Microbial Pathogenesis**, Londres, v. 111, p. 41-49, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.08.015> .

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. **Política e Programa Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2016. 190 p. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/politica_programa_nacional_plantas_mediciniais_fitoterapicos.pdf . Acesso em: 17 jun. 2022.

CARVALHO, R.; FETTER, B. Z.; MELO, E.; FARINACCIO, N. A. *Check-list de Plumbaginaceae e Polygonaceae do estado de Mato Grosso do Sul, Brasil*. **Iheringia**, Porto Alegre, v. 73, supl., p. 308-312, 2018. DOI: <https://doi.org/10.21826/2446-8231201873s308> .

CHRISTENSON, J. C.; KORGENSKI, E. K.; RELICH, R. F. Laboratory diagnosis of infection due to bacteria, fungi, parasites, and rickettsiae. *In*: LONG, S. S.; PROBER, C. G.; FISCHER, M. (ed.). **Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases**. 5. ed. Cambridge, MA: Elsevier, 2018. p. 1422-1434.e3. DOI: <https://doi.org/10.1016/C2013-0-19020-4> .

CLSI – CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Approved standard M-100**. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. 29. ed. Wayne, PA: CLSI, 2019.

FEITOSA, M. H. A.; SOARES, L. L.; FERREIRA, I. R.; ANDRADE, M. M.; DIAS, G. P. Plantas medicinais como recurso terapêutico entre funcionários do centro de ciências biológicas e da saúde da Unimontes. **Revista Unimontes Científica**, Montes Claros, v.

17, n. 1, p. 50-59, 2015. Disponível em: <https://www.periodicos.unimontes.br/index.php/unicientifica/article/view/1943/2067> . Acesso em: 4 set. 2020.

FERREIRA JÚNIOR, M.; VIEIRA, A. O. S. Espécies arbóreo-arbustivas da família Rubiaceae Juss. na bacia do rio Tibagi, PR, Brasil. **Hoehnea**, São Paulo, v. 42, n. 2, p. 289-336, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/2236-8906-10/2015> .

MARTINS, D.; NUNEZ, C. V. Secondary Metabolites from Rubiaceae Species. **Molecules**, Basel, v. 20, n. 7, p. 13422-13495, 2015. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules200713422> .

MATTE, A. K.; DEAK, A. R.; MATA, P. T. G. Triagem fitoquímica e avaliação da atividade antibacteriana de extratos das flores de *Sambucus nigra* L. (Caprifoliaceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Paulínia, v. 17, n. 4, supl. 3, p. 1049-1054, 2015 DOI: https://doi.org/10.1590/1983-084X/14_154 .

MATTOS, G.; CAMARGO, A.; SOUSA, C. A.; ZENI, A. L. B. Plantas medicinais e fitoterápicos na Atenção Primária em Saúde: percepção dos profissionais. **Ciência & Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 23, n. 11, p. 3735-3744, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1590/1413-812320182311.23572016> .

MELO, E. Flora das cangas da Serra dos Carajás, Pará, Brasil: *Polygonaceae*. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 69, n. 1, p. 189-195, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1590/2175-7860201869116> .

MENDES, F. L. R.; CARVALHO, E. M.; ABRANTE, J. A.; NOGUEIRA, J. M. R. Buscando novos antimicrobianos: avaliação da atividade antibacteriana de extratos de *Eugenia brasiliensis*. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, Rio de Janeiro, v. 52, n. 3, p. 228-234, 2020. DOI: <https://doi.org/10.21877/2448-3877.202002022> .

MESQUITA, D. W. O.; MESQUITA, A. S. S.; CURSINO, L. M. C.; SOUZA, E. S.; OLIVEIRA, A. C.; PINHEIRO, C. C. S.; NOVAES, J. A. P.; OLIVEIRA, J. A. A.; NUNEZ, C. V. Atividades biológicas de espécies amazônicas de Rubiaceae. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Paulínia, v. 17, n. 4, p. 604-613, 2015. DOI: https://doi.org/10.1590/1983-084X/12_153 .

MIRANDA, J. A. L.; ROCHA, J. A.; ARAÚJO, K. M.; QUELEMES, P. V.; MAYO, S. J.; ANDRADE, I. M. Atividade antibacteriana de extratos de folhas de *Montrichardia linifera* (Arruda) Schott (Araceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Paulínia, v. 17, n. 4, supl. 3, p. 1142-1149, 2015. DOI: https://doi.org/10.1590/1983-084X/14_169 .

PERERA, M. J.; ALVES, M. Flora da Usina São José, Igarassu, Pernambuco: *Polygonaceae*. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 69, n. 2, p. 465-476, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1590/2175-7860201869216> .

PIRES, E. M.; SILVA, L. C.; BATIROLA, L. D.; NOGUEIRA, R. M.; BARRETO, M. R.; CORASSA, J. N. *Triplaris americana* L. (Polygonaceae), a new host plant for *Aethalion reticulatum* (Linnaeus, 1767) (Hemiptera: Aethalionidae). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 58, n. 1, p. 31-33, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-8913201400039> .

TABOSA, F. R. S.; ALMEIDA, E. M.; MELO, E.; LOIOLA, M. I. B. Flora do Ceará, Brasil: *Polygonaceae*. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 67, n. 4, p. 981-996, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1590/2175-7860201667409> .

UZAIR, B.; NIAZ, N.; BANO, A.; KHAN, B. A.; ZAFAR, N.; IQBAL, M.; TAHIRA, R.; FASIM, F. Essential oils showing in vitro anti MRSA and synergistic activity with penicillin group of Antibiotics. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences**, Karachi, v. 30, n. 5, p. 1997-2002, 2017. Disponível em: https://applications.emro.who.int/imemrf/Pak_J_Pharm_Sci/Pak_J_Pharm_Sci_2017_30_5_supp_1997_2002.pdf . Acesso em: 25 out. 2020.

VALERIANO, F. R.; SAVANI, F. R.; SILVA, M. V. S. O uso de plantas medicinais e o interesse pelo cultivo comunitário por moradores do bairro São Francisco, município de Pitangui, MG. **Interações**, Campo Grande, v. 20, n. 3, p. 891-905, 2019. DOI: <https://doi.org/10.20435/inter.v0i0.1846> .

ZENI, A. L. B.; PARISOTTO, A. V.; MATTOS, G.; SANTA HELENA, E. T. Utilização de plantas medicinais como remédio caseiro na Atenção Primária em Blumenau, Santa Catarina, Brasil. **Ciência & Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 22, n. 8, p. 2703-2712, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1590/1413-81232017228.18892015> .