

QUANTIFICAÇÃO DE POLIFENÓIS E ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO
EXTRATO ETANÓLICO DA CASCA DO FRUTO DE *Hymenaea courbaril*
(JATOBÁ)

Ana Maria Fernandes Duarte¹, Cícera Alane Coelho Gonçalves², Fázia
Fernandes Galvão Rodrigues³, Geane Gabriele de Oliveira Souza⁴, Ana Cecília
Calixto Donelardy⁵, Lariza Leisla Leandro Nascimento⁶, José Walber Gonçalves
Castro⁷, Fabíola Fernandes Galvão Rodrigues⁸, José Galberto Martins da
Costa⁹

Resumo: Este estudo tem como objetivo quantificar o teor de fenóis e flavonoides e avaliar as propriedades antibacterianas da casca do fruto da espécie vegetal *Hymenaea courbaril* (Jatobá). Para a quantificação de fenóis empregou-se o método de Folin-Ciocalteu, e o Cloreto de alumínio (AlCl₃) para quantificação dos compostos flavonoides. Já para análise da atividade antibacteriana, avaliou-se a concentração inibitória mínima (CIM) do extrato etanólico das cascas do fruto (EECF) de *H. courbaril* frente a *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, pelo método de microdiluição. Os resultados obtidos demonstraram um baixo teor de fenóis totais (0,028% mg de EAG/g do extrato) e flavonoides totais (0,013% mg de EQ/g do extrato). Já para os ensaios microbiológicos, o EECF apresentou CIM de 512µg/mL frente ao patógeno, além de potencializar a atividade antibacteriana do antibiótico gentamicina. Através deste estudo, foi possível observar que este produto natural apresentou atividade antibacteriana promissora, e demais estudos são necessários.

Palavras-chave: Produto natural. *Pseudomonas aeruginosa*. Polifenóis.

1 INTRODUÇÃO

A grande diversidade vegetal presente no Brasil torna-o importante fonte de produtos naturais. Nesse contexto, destacam-se as plantas medicinais que há muito tempo vêm sendo usadas no tratamento e prevenção das mais variadas enfermidades (VALLI; BOLZANI, 2019).

Nesse contexto, o gênero *Hymenaea* pertencente à família Fabaceae, possui 14 espécies amplamente distribuídas pelas regiões tropicais e subtropicais do mundo (Luz *et al.*, 2023) sendo a espécie vegetal *Hymenaea courbaril* a de maior destaque econômico e na medicina popular, além de possuir frutos nutritivos que são fontes de alimentos para diversos seres vivos (Souza; Funch; de Queiroz, 2014). Ademais, a casca do fruto desse vegetal têm sido empregados no

1 Universidade Regional do Cariri, email: ana.fernandes@urca.br

2 Universidade Regional do Cariri, email: alane.goncalves@urca.br

3 Universidade Regional do Cariri, email: fazia.galvao@urca.br

4 Universidade Regional do Cariri, email: geane.souza@urca.br

5 Universidade Regional do Cariri, email: cecilia.donelardy@urca.br

6 Universidade Regional do Cariri, email: lariza.leandro@urca.br

7 Universidade Regional do Cariri, email: josewalber.castro@urca.br

8 Universidade Regional do Cariri, email: fabiolafer@gmail.com

9 Universidade Regional do Cariri, email: galberto.martins@urca.com

tratamento de doenças como reumatismo, artrite, e problemas respiratórios (Jayaprakasam *et al.*, 2007). Essa planta é popularmente conhecida como Jatobá, e é comumente utilizada para tratamento de doenças do trato gastrointestinal e respiratório, anemia, e para fins depurativos (Silva-Silva *et al.*, 2023).

O patógeno oportunista *Pseudomonas aeruginosa* é uma bactéria Gram-negativa que possui uma fina camada de peptidoglicano e uma membrana externa composta de lipopolissacarídeos, sendo conhecida por sua resistência a muitos antibióticos. Devido esse fator, pacientes com fibrose cística, queimaduras, doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), entre outras doenças respiratórias, tem dificuldade no tratamento e alta taxa de infecção. Nesse contexto, tornam-se importantes pesquisas que visam propor novas formas de tratamento capazes de resolver ou minimizar essa problemática (WHU, 2015).

À vista disso, a casca do fruto desta espécie vegetal se mostra promissora, dado que a literatura reporta a presença de constituintes bioativos no jatobá. Ainda assim, existem inúmeras lacunas relacionadas aos seus efeitos farmacológicos, como as propriedades antibacterianas da casca de seu fruto, bem como a caracterização química.

2 OBJETIVOS

Avaliar a atividade antibacteriana direta e o seu efeito potencializador de antibióticos do extrato etanólico das cascas do fruto da espécie *Hymenaea courbaril* frente à *P. aeruginosa* 27853, e realizar a quantificação de fenóis e flavonóides totais.

3 METODOLOGIA

O material vegetal foi coletado no Parque de Exposições Pedro Felício Cavalcante, Crato, Ceará, Brasil. As cascas do jatobá foram pesadas, apresentando massa de 918.g, e secas em temperatura ambiente, trituradas, para preparação do extrato, as cascas foram submersas em etanol por 72 h, filtradas e o solvente destilado em evaporador rotativo.

3.1 QUANTIFICAÇÃO DE POLIFENÓIS TOTAIS

A metodologia empregada para avaliar o teor de compostos fenólicos presentes no extrato foi a de Waterman *et al.*, (1994). Foram preparadas 04 amostras do extrato com concentrações de 0,05mg diluídas em 1ml de etanol, e a composição do meio reacional foi utilizado por 200µL do extrato, 600µL de etanol 70%, 400µL do reagente folin-ciocalteu e 200µL da solução Na₂CO₃ (20% m/v). A mistura foi homogeneizada e adicionado 800µL da solução Na₂CO₃ 15 (20% m/v). Em sequência, as amostras foram incubadas por 20 minutos em banho maria a uma temperatura de 45°C e centrifugadas por 3 minutos a 14.000 rpm, que seguiram em repouso sob temperatura ambiente. O teste foi realizado em triplicata e o ácido gálico foi o padrão de referência e leitura em espectrofotômetro UV-visível a 735nm. Para flavonóides, foi usada a mesma concentração, e a composição reacional foi feita com 200µL do extrato, 1,9mL de etanol, 1,0mL de AlCl₃ a 15% e 2,0mL de etanol, logo após a adição de todas as soluções, aguarda o tempo de reação de 30min para leitura em espectrofotômetro UV - vis a 425nm.

3.2 DETERMINAÇÃO CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM)

IX SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXVII Semana de Iniciação Científica da URCA

04 a 08 de NOVEMBRO de 2024



Tema: "CIÊNCIA, TECNOLOGIA E AMBIENTE: MÚLTIPLOS SABERES E FAZERES"

Para a determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM), após a incubação, uma solução 1:10 de cada cultura bacteriana foi preparada em tubos de ensaio, adicionando 150 μL de inóculo e 1.350 μL de BHI 10%. A alíquota de 100 μL desta solução foi transferida para cada poço de placa de 96 poços. Em seguida, cada poço foi adicionado com 100 μL do tratamento correspondente diluído em série (1:2) em concentrações que variaram de 512 a 8 $\mu\text{g/mL}$. Poços contendo apenas o inóculo em BHI foram usados como controle de crescimento. O crescimento bacteriano foi analisado adicionando 25 μL de resazurina sódica a cada poço e incubado a placa em temperatura ambiente por 1h. A CIM foi definida como a menor concentração capaz de inibir o crescimento bacteriano, observada pela mudança na cor da solução. Todos os experimentos foram realizados em triplicata (Javadvipour et al. 1996; CLSI 2013).

3.3 ANÁLISE DA MODIFICAÇÃO DA RESISTÊNCIA À ANTIBACTERIANOS

A análise dos efeitos do extrato de *H. courbaril* (EECF) na resistência aos antibióticos aminoglicosídeos (amicacina e gentamicina), seguiu a metodologia de Coutinho et al. (2008) com adaptações. Para tanto, soluções com inóculo bacteriano foram preparadas em meio BHI com cada extrato em concentração equivalente à CIM/8. Os poços da placa de 96 poços foram preenchidos com 100 μL destas soluções e, em seguida, antibióticos foram microdiluídos, por diluição em série, aos poços em sistemas variando de 512 a 0,5 $\mu\text{g/mL}$. A redução na CIM dos antibióticos pelos extratos foi interpretada como aumento da atividade antibiótica (modulação da resistência aos antibióticos). Os controles experimentais e os valores de CIM para cada antibiótico, na presença ou ausência dos extratos, foram determinados conforme anteriormente.

4 RESULTADOS

4.1 QUANTIFICAÇÃO DO TEOR DE POLIFENÓIS TOTAIS

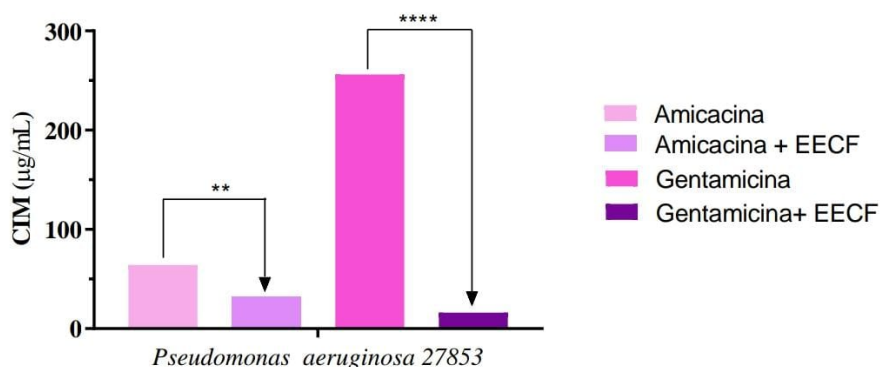
A quantificação do teor de fenóis totais foi expressa em miligrama (mg) equivalentes de ácido gálico (EAG) por (l) grama (g) do extrato, e o teor de flavonoides foi expresso em miligrama (mg) equivalentes de quercetina (EQ) por (l) grama (g) do extrato. Conforme as curvas de calibração do ácido gálico ($y = 95.091x + 0.0638$, $R^2 = 0.9986$) e quercetina ($y = 208.34x - 0.1113$, $R^2 = 0.9856$), foi constatado um baixo teor de fenólicos (0,028% mg de EAG/g do extrato) e flavonóides (0,013% mgde EQ/g do extrato).

No estudo de prospecção fitoquímica da casca do fruto de *Hymenaea courbaril* realizado por Cabral et al., (2022), através do método qualitativo, não foi observada a presença dos polifenóis, o que justifica a baixa quantidade encontrada nesta pesquisa.

4.2 DETERMINAÇÃO CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM)

Os resultados obtidos demonstraram que o extrato etanólico das cascas do fruto de *H. courbaril* exibiu baixa atividade antibacteriana direta, com uma CIM de 512 μL . Porém, quando o ensaio foi realizado junto aos antibióticos, observou-se uma redução na CIM de 256 μL para 16 μL utilizando amicacina associada ao extrato, demonstrando um efeito potencializador do antibiótico. Quando o extrato foi associado a gentamicina, houve redução na CIM de 64 μL para 32 μL , demonstrando baixa atividade. Estes resultados são observados na figura 1.

Figura 1. Potencialização da resistência aos antibióticos pelo EECF em associação com antibióticos frente a cepa de *Pseudomonas aeruginosa* 27853. **** $p < 0.0001$ indica diferenças significativas entre os grupo; ns: não significativo.



Fonte: Própria do autor (2024)

5 CONCLUSÃO

O extrato etanólico das cascas do fruto de *H. courbaril* demonstrou que apesar da baixa atividade antibacteriana direta frente à cepa avaliada, houve uma potencialização do efeito quando associado ao antibiótico amicacina. Essa potencialização do efeito está diretamente relacionada à presença de fenóis e flavonóides, embora tenha sido evidenciada pouca quantidade, bem como a demais classes de compostos químicos que podem estar presentes.

Inúmeras bioatividades de extratos de partes desta espécie vegetal tem sido investigada e reportada na literatura, destacando-se a atividade antimicrobiana de extratos hidroalcoólicos da semente do fruto e das cascas, frente a diversas bactérias multirresistentes de interesse clínico como *P. aeruginosa*, e essas bioatividades estão relacionadas à presença de compostos polifenólicos (Scaramussa; Soares; Santana, 2024), o que corrobora com os resultados desta pesquisa.

Assim, mais estudos como este são necessários a fim de investigar outras bioatividades, a toxicidade e o perfil químico tanto da casca do fruto quanto de outras partes do jatobá.

6 AGRADECIMENTOS

Agradeço a Universidade Regional do Cariri - URCA, ao Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais - LPPN e ao Programa de extensão de bolsa CNPq.

7 REFERÊNCIAS

CABRAL, D. S.; CASTRO, G. S.; YAMAGUCHI, K. K. L. Prospecção Fitoquímica Do Fruto De Jatobá Da Amazônia (*Hymenaea Courbaril* L.) E Elaboração De Um Sabonete Artesanal. **Revista Agri-Environmental Sciences**, Palmas-To, V. 8, E022002,2022.Doi:<https://doi.org/10.36725/Agries.V8i1.6873>.
<https://Revista.Unitins.Br/Index.Php/Agri-Environmental-Sciences/Index>.

COUTINHO HDM, COSTA JG, LIMA EO, FALCÃO-SILVA VS, SIQUEIRA-JÚNIOR JP. 2008. Enhancement Of The Antibiotic Activity Against A Multiresistant

IX SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXVII Semana de Iniciação Científica da URCA

04 a 08 de NOVEMBRO de 2024



Tema: "CIÊNCIA, TECNOLOGIA E AMBIENTE: MÚLTIPLOS SABERES E FAZERES"

Escherichia Coli By Mentha Arvensis L. And Chlorpromazine. **Chemotherapy** 54: 328 - 330

JAYAPRAKASAM, B ET AL. Terpenoids From Stinking Toe (Hymenaea Courbaril) Fruits With Cyclooxygenase And Lipid Peroxidation Inhibitory Activities. Food Chemistry, [S. L.], V. 105, N. 2, P. 485–490, 2007. Disponível Em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S030881460700338x>.

LUZ, LUANA M. ET AL. Distinct Physiological Mechanisms Underpin Growth And Rehydration Of Hymenaea Courbaril And Hymenaea Stigonocarpa Upon Short Term Exposure To Drought Stress. **Journal Of Forestry Research**, [S. L.], V. 34, N. 1, P. 113–123, 2023. Disponível Em: <https://doi.org/10.1007/S11676-022-01558-2>.

SCARAMUSSA, SIMONE APARECIDA DE LIMA; SOARES, LARISSA DE ALMEIDA; SANTANA, LUCIANA CRISTINA LINS DE AQUINO. Extracts From Jatobá (Hymenaea Courbaril L.) Peel And Seeds: Antioxidant And Antimicrobial Activities And Synergistic Effect Of Extract Combinations. **Food Science And Technology International**, [S. L.], V. 30, N. 2, P. 128–136, 2024.

SILVA-SILVA, TÂNIA PATRÍCIA ET AL. Biosynthesis Of Ag@Au Bimetallic Nanoparticles From Hymenaea Courbaril Extract (Jatobá) And Nonlinear Optics Properties. **Journal Of Molecular Liquids**, [S. L.], V. 389, N. July, 2023.

VALLI, M; BOLZANI, Vs.2019. Natural Products: Development, Perspectives And Challenges For The Brazilian Plant Species And The Bioeconomy. **An Acad Bras Cienc** 91: 1-7.