



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

UNIVERSIDADE REGIONAL DO CARIRI

UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ETNOBIOLOGIA E

CONSERVAÇÃO DA NATUREZA - PPGETNO

CICERA NATALIA FIGUEIRÊDO LEITE GONDIM

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE PLANTAS
MEDICINAIS COM INDICAÇÃO ANTIDIARREICAS CONTRA SOROTIPOS
DE *Escherichia coli*.**

RECIFE – PE

2020

CICERA NATALIA FIGUEIRÊDO LEITE GONDIM

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE PLANTAS
MEDICINAIS COM INDICAÇÃO ANTIDIARREICAS CONTRA SOROTIPOS
DE *Escherichia coli*.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Etnobiologia e Conservação da Natureza (UFRPE, UEPB, URCA E UFPE) como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Henrique Douglas Melo
Coutinho

Universidade Regional do Cariri – URCA.

RECIFE – PE

2020

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE PLANTAS
MEDICINAIS COM INDICAÇÃO ANTIDIARREICAS CONTRA SOROTIPOS
DE *Escherichia coli*.**

Grupo de pesquisa: Microbiologia Aplicada

Linha de Pesquisa: Sistemas Cognitivos e Uso dos Recursos Naturais

Cícera Natalia Figueirêdo Leite Gondim

Aluna do Mestrado em Etnobiologia e Conservação da Natureza

Prof. Dr. Henrique Douglas Melo Coutinho

Orientador

Prof^ª. Dra. MARIA FLAVIANA BEZERRA MORAIS BRAGA

Membro titular

Prof. Dr. SAULO RELISON TINTINO

Membro

Prof^ª. Dra. CELESTINA ELBA SOBRAL DE SOUZA

Suplente

RECIFE – PE

2020

Dedico este trabalho ao meu orientador, que acreditou em mim, mesmo eu estando com 39 semanas de gestação. A meu filho Erick para que ele possa ver que o estudo vale a pena, ao meu bebê Cauã, que mesmo com a sua microcefalia tem alegria em viver e me trouxe forças para encarar todos os desafios da vida. Meu esposo pelo companheirismo, minha família pelo apoio e principalmente minha irmã Nadghia, pelas horas de sono perdidas e dias de testes ao meu lado.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus que me deu subsídios necessários para minha jornada.

Aos meus pais, Marivaldo e Socorro, pela dedicação e presença em todos sentidos da minha vida.

As minhas irmãs, Nadghia, Naianne e Nagylla pelo amor, por sempre me ajudar, pela paciência nas minhas horas de estresses.

Em especial a minha irmã Nadghia, que além do companheirismo e cumplicidade, a orientação e ajuda em todo esse trabalho, sem ela eu não teria conseguido.

Ao meu esposo, Emanuel, por apoiar e incentivar meu crescimento intelectual.

Ao meu filho Erick, meu grande amor, razão da minha vida, por ser tão compreensivo em minhas ausências.

Ao meu segundo filho, Cauã, que é especial em todos os sentidos, vem me mostrando desde o ventre que os problemas são para serem encarados de cabeça erguida, que com a fé e arregaçando as mangas conseguimos ir longe.

Ao meu sogro Cícero, minha sogra Lourdes, minha comadre Maria dos Milagres (Iá) e minha cunhada Ana Luísa, pelo apoio, ajuda e confiança.

Aos meus cunhados Bruno, Junim e Matheus, por eu poder contar a qualquer momento.

A minha prima Taynan, por ter cedido sua casa em Recife, e me fazer sentir minha casa.

Ao meu querido tio Marivando (Lula), por sempre estar presente em minha vida, me ajudando.

Ao meu orientador, Dr. Henrique Douglas, por acreditar e incentivar meus estudos.

Ao meu amigo Roger Henrique pela dedicação e paciência no laboratório.

Ao meu amigo Saulo, por nunca colocar dificuldades em me ajudar em meus estudos.

Aos colegas do curso, Yedda sempre me orientando, Denise, Ana Karina, Cássio, Risoneide, Paulo Matheus, dentre outros, pela ajuda.

Ao professor Rodrigo Otávio Silveira Silva e sua orientanda Carolina Pantuzza Ramos, da Universidade Federal de Minas Gerais, por terem me cedidos as cepas bacterianas EPEC e ETEC estudadas.

Ao Programa de Pós-Graduação em Etnobiologia e Conservação da Natureza pela oportunidade de adquirir preciosos conhecimentos.

Aos Professores Dr. Henrique Douglas Melo Coutinho, Dr. Ângelo Giuseppe Chaves Alves, Dra. Elcida Lima Araújo, Dra. Taline Silva, Dr. Marcelo Alves Ramos, Dr. Nicola Schiel, Dr. Severino Mendes de A. Júnior, Dr. Ulysses Albuquerque Paulino, Dr Sérgio Lopes e Dr. Marta Regina Kerntopf pelos preciosos conhecimentos compartilhados.

À Universidade Regional do Cariri, casa na qual consolidei minha formação acadêmica desde a Graduação e onde realizo minhas atividades de docência e pesquisa.

Aos laboratórios LMBM, LFQM e LPPN da URCA que me proporcionaram realizar meus testes.

A Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico – FUNCAP, pelo suporte financeiro.

A todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a concretização dos meus objetivos.

“Desejo ver um mundo melhor, mais fraternal, em que as pessoas não queiram descobrir os defeitos das outras, mas sim, que tenham prazer de ajudar o outro”.

Niemeyer

Oscar

SUMÁRIO

RESUMO	ix
ABSTRACT	x
INTRODUÇÃO GERAL	11
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	12
1.1. OBJETIVOS E QUESTIONAMENTOS.....	12
1.2. ESTRATÉGIAS DE PESQUISA.....	13
1.3. ESTRUTURA DA DISSERTAÇÃO	15
CAPÍTULO 1	17
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	18
2.1. USO DE PLANTAS MEDICINAIS	18
2.2. PLANTAS COM POTENCIAL ANTIDIARREICOS	19
2.3. ESPÉCIES EM ESTUDO	19
2.3.1 <i>Anadenanthera colubrina</i>	19
2.3.2 <i>Carica papaya</i>	19
2.3.3 <i>Escherichia coli</i>	20
CAPÍTULO 2	21
4. ARTIGO 1: ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE <i>Anadenanthera colubrina</i> : UMA REVISÃO DE INTEGRATIVA	22
CAPÍTULO 3	35
5. ARTIGO 2: AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE <i>Carica papaya</i> L. CONTRA SOROTIPOS DE <i>Escherichia coli</i>	36
6. CONCLUSÃO	51
6.1. PRINCIPAIS CONCLUSÕES.....	51
6.2. CONTRIBUIÇÕES TEÓRICAS E/OU METODOLÓGICAS DA.....	51
6.3. PRINCIPAIS LIMITAÇÕES DO ESTUDO	51

6.4. PROPOSTAS DE INVESTIGAÇÕES FUTURAS	52
6.5. ORÇAMENTO.....	52
7. REFERÊNCIAS.....	53
ANEXOS	59

GONDIM, Cícera Natalia Figueirêdo Leite. Ma. Universidade Federal Rural de Pernambuco. 02/2020. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE PLANTAS MEDICINAIS COM INDICAÇÃO ANTIDIARREICAS CONTRA SOROTIPOS DE *Escherichia coli*. Henrique Douglas Melo Coutinho

RESUMO

Conhecimentos sobre plantas medicinais sempre serão de suma importância no processo de obtenção de dados para o estudo microbiológico e farmacológico das espécies. No intuito de amenizar ou curar enfermidades, utilizamos as plantas como opções terapêuticas. Essas podem ser usadas para o tratamento de doenças humanas básicas como exemplo a diarreia, que é uma das principais preocupações devido a contaminação pela *Escherichia coli* (*E. coli*). Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi comprovar a atividade antibacteriana de plantas medicinais utilizadas tradicionalmente no tratamento dos distúrbios intestinais. As plantas utilizadas para o tratamento da diarreia foram *Anadenanthera colubrina* (Vell.) BRENAN e *Carica papaya* L., selecionadas através de uma pesquisa etnodirigida. Em seguida foram preparados os extratos aquosos para testes químicos e microbiológicos. Os constituintes químicos foram revelados pela técnica HPLC-ESI-MS. As análises microbiológicas *in vitro* foram feitas para determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) e a avaliação da atividade moduladora de antibióticos foi realizada através da metodologia de microdiluição em caldo, onde utilizamos os antibióticos ciprofloxacina, sulfametoxazol trimetoprima e metronidazol. As cepas bacterianas foram as *E. coli* enteropatogênica (EPEC) e *E. coli* enterotoxigênica (ETEC). As análises estatísticas dos resultados microbiológicos foram feitas pelo software Graphpad Prism 7.0, seguida pelo pós-teste de Bonferroni com $p < 0,05$ para resultados com significância. Concluiu-se a partir deste trabalho que o uso dos vegetais, ou sua combinação com drogas antibacterianas, não oferecem uma alternativa para o combate às doenças diarreicas causadas pelos sorotipos EPEC e ETEC de *E. coli*.

Palavras-chave: *Escherichia coli*, ação antidiarreica, *Anadenanthera colubrina* (Vell.) BRENAN e *Carica papaya* L.

Cícera Natalia Figueirêdo Leite. MS. Universidade Federal Rural de Pernambuco. february in 2020. EVALUATION OF ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF MEDICINAL PLANTS INDICATED FOR ANTIDIARRECTICS AGAINST SEROTYPES OF *Escherichia coli*. Henrique Douglas Melo Coutinho.

ABSTRACT

Knowledge about medicinal plants is always going to be really important in the process of obtaining data for the microbiological and pharmacological study of species. In order to alleviate or cure diseases, we use plants as therapeutic options. These may be used to treat basic human diseases such as diarrhea, which is one of the major concerns due to contamination by *Escherichia coli* (*E. coli*). Therefore, the objective of this work was to prove the antibacterial activity of medicinal plants traditionally used in the treatment of intestinal disorders. The plants used for the treatment of diarrhea were *Anadenanthera colubrina* (Vell.) BRENAN and *Carica papaya* L., they were selected through an ethnodirected research. Then the aqueous extracts were prepared for chemical and microbiological tests. The chemical constituents will be revealed by the HPLC-ESI-MS technique. In vitro microbiological analyzes were performed to determine the Minimum Inhibitory Concentration (CIM) and the antibiotic modulating activity evaluation were performed using the broth microdilution methodology, using the antibiotics like ciprofloxacin, trimethoprim sulfamethoxazole and metronidazole. The bacterial strains were enteropathogenic *E. coli* (EPEC) and enterotoxigenic *E. coli* (ETEC). The statistical analyzes of microbiological results were performed using software known as Graphpad Prism 7.0, followed by Bonferroni post-test with $p < 0.05$ for significant results. It is concluded from this work that the use of vegetables, or their combination with antibacterial drugs, do not offer an alternative to combat diarrheal diseases caused by EPEC and ETEC serotypes of *E. coli*.

Keywords: *Escherichia coli*, antidiarrheal action, *Anadenanthera colubrina* (Vell.) BRENAN and *Carica papaya*.

INTRODUÇÃO GERAL

1. INTRODUÇÃO GERAL

1.1. OBJETIVOS E QUESTIONAMENTOS

Minha motivação em realizar esse trabalho foi devido ao encantamento que sempre tive pela natureza. Lembro da minha avó tratando as doenças dos filhos e netos, retirando partes das plantas para fazer chás e me surpreendendo com os benefícios obtidos. Então acho interessante à associação do conhecimento científico à medicina tradicional, porque assim há a promoção de novas investigações de plantas medicinais como potenciais fontes de compostos bioativos que, posteriormente, foram aprovados como produtos farmacêuticos (DIAS et al., 2012). Adoro nosso país, o Brasil, nos trazendo esse grande número de espécies vegetais, com poderes medicinais, que servem de matéria-prima para a confecção de fitoterápicos e outros medicamentos (FIRMINO; BINSFELD, 2013). Habitantes nativos já tinham nas plantas medicinais o principal meio de cura de suas enfermidades mesmo antes do processo de colonização (BRUNING et al., 2012).

Os conhecimentos tradicionais são utilizados como ponto de partida para direcionar as pesquisas que levam ao estudo do potencial farmacológico (ou comestível) de determinada planta (BARBOSA, 2003). Esse conhecimento estabelece a percepção empírica do homem sobre a natureza, evidenciando a utilização de plantas medicinais para a manutenção e a recuperação da saúde (BADKE et al., 2011). Alguns casos de adoecimento são tratados sem a solicitação de serviços de saúde, e quando isto ocorre nem sempre o fornecimento de medicamentos após a prescrição é uma opção, e as pessoas não dispõem de recursos para adquiri-los (FIGUEIREDO et al., 2014). Apesar da disseminação do uso do remédio sintético, ainda é grande o percentual daqueles que preferem as plantas medicinais, isoladamente ou juntamente com ele, e isto ocorre com base no conhecimento popular (BRUNING et al., 2012). Concordando com Lopes et al. (2012) onde afirmam que devemos preservar os grupos culturais para preservar seu conhecimento sobre uso de plantas medicinais como recurso terapêutico. A sabedoria empírica colabora para a Ciência, uma vez que a descoberta da utilização das plantas é através de entrevistas com a população que detém estas informações, e após algumas análises podemos confirmar o efeito de algumas substâncias através dos estudos dos seus constituintes químicos (MESSIAS et al., 2015). Assim, o objetivo desse trabalho foi analisar a ação antimicrobiana do extrato aquoso de *Anadenanthera colubrina* e *Carica papaya* frente as cepas da *E. coli* diarreiogênicas, da *E. coli* enteropatogênica (EPEC) e da *E.*

coli enterotoxigência (ETEC) como também avaliar a atividade moduladora dos antibióticos ciprofloxacina, sulfametoxazol + trimetoprima e metronidazol utilizados na prática clínica para o tratamento de doenças diarreicas.

Acredito que por meio dessa pesquisa, pude contribuir com a comunidade científica, como mais uma pesquisa fundamentada e testada. Salientando que, na minha opinião, ainda são necessários muitos trabalhos nessa linha de pensamento e pesquisa. Muitas das riquezas naturais do Brasil ainda são pouco conhecidas e menos ainda estudadas, e se forem exploradas de uma forma consciente e compartilhadas com a população mais necessitada, certamente poderão contribuir para a cura ou amenização de sintomas para diversas enfermidades que afetam a população geral e em especial os menos favorecidos economicamente. Portanto, não tenho dúvidas quanto a importância, e por que não dizer urgência, quando estamos nos referindo ao poder da interação da medicina tradicional milenar com o conhecimento que foi obtido através de hipóteses testadas e comprovadas por inúmeros pesquisadores, muitas vezes de áreas diferentes, porém que contribuíram e continuam a contribuir para o avanço científico. Foi avaliado também o potencial modulador de drogas antimicrobianas, e os fármacos escolhidos foram: sulfametoxazol+trimetoprima, metronidazol e ciprofloxacina, devido a utilização no tratamento das doenças diarreicas. Entretanto os testes mostraram que os extratos não potencializaram a ação das drogas.

1.2. ESTRATÉGIAS DE PESQUISA

A escolha do tipo de extrato ocorreu na forma de critérios, dos quais o primeiro deles foi pesquisar na literatura científica trabalhos referentes a pesquisas relacionadas a plantas que tivessem sido estudadas como forma de combater os efeitos colaterais da diarreia devido a presença da *Escherichia coli*.

A busca bibliográfica foi feita na Biblioteca Virtual de Saúde (BVS-BIREME) e o PubMed (Oferecido pela Biblioteca Nacional de Medicina dos Estados Unidos como parte de Entrez), entre os anos de 2018 e 2019, utilizando-se os descritores *Escherichia coli*, antidiarrheal action, *Anadenanthera colubrina* (Vell.) BRENNAN and *Carica papaya* L. Foram selecionados artigos de 2002 a 2019 e que tinham um dos descritores.

Adotou-se os seguintes critérios de inclusão: artigos escritos em inglês, com disponibilidade de texto completo em suporte eletrônico e teses. Os critérios de exclusão: artigos não condizentes com o assunto abordado ou com referências anteriores a 2002.

Após uma pesquisa minuciosa foi constatado por mim que até o presente momento ainda não havia sido estudada se haveria a possibilidade das espécies de plantas, conhecidas popularmente como angico e mamão, teriam algum efeito benéfico capaz de solucionar ou amenizar os efeitos de tal enfermidade. Sendo assim foi decidido que a nossa hipótese seria a de confirmar se existe algum efeito benéfico no tratamento da diarreia por meio da utilização do angico ou do mamão, na forma de infusão ou decocto, e caso a eficácia de ambos fosse confirmada, qual seria a mais eficaz.

A doença diarreica é a segunda maior causa de morte em crianças menores de cinco anos. Há quase 1,7 bilhão de casos, no mundo, de doenças diarreicas na infância a cada ano. Atualmente, causas como infecções bacterianas sépticas provavelmente são responsáveis por uma proporção crescente de todas as mortes associadas à diarreia (WHO, 2017). É preocupante essa temática, já que nos países em desenvolvimento, a morbidade e a mortalidade relacionadas à diarreia bacteriana pediátrica são amplamente atribuídas à forma diarreiogênica de *Escherichia coli* (DEC) (GOMES et al., 2016). E como as plantas medicinais são usadas desde o início da vida humana com fins terapêuticos, para amenizar ou curar enfermidades (BERG, 2010). As pesquisas científicas iniciam com o conhecimento popular, fundamentado em plantas que têm compostos bioativos, o que coopera na busca por novos fármacos. Estudos recentes sobre plantas medicinais visam avaliar uma comunidade específica, suas definições locais de saúde e doença, visando o modo com que cada um emprega e manuseia os recursos naturais para cura de moléstias e enfermidades (SIRQUEIRA et al., 2015; MENEZES et al., 2016). Assim, seria possível responder o questionamento: Os chás de angico e mamão são utilizados para combater diarreia porque existe a crença de que os mesmos conseguem combater as bactérias patogênicas do intestino? A descoberta, comercialização e administração rotineira de compostos antimicrobianos para tratamento de infecções revolucionaram a medicina moderna e mudaram o paradigma terapêutico. Os antibióticos tornaram-se uma das intervenções médicas mais primordiais e necessárias para o desenvolvimento de abordagens médicas complexas, como procedimentos cirúrgicos de ponta, transplante de órgãos sólidos, tratamento de pacientes com câncer, entre outros. O aumento da resistência antimicrobiana entre patógenos bacterianos comuns está ameaçando essa realização terapêutica, comprometendo os resultados bem-sucedidos de pacientes críticos. Por esse motivo, a Organização Mundial da Saúde nomeou a resistência à antibióticos como uma das três mais importantes ameaças à saúde pública do século XXI (WHO, 2014). Partindo dessa premissa acreditamos que uma solução possível e acessível para

o atual e crescente problema seria o ingresso da cultura milenar e medicinal, na forma da ingestão de chás, objetivando uma melhora na saúde dos enfermos acometidos pela diarreia, salientando que não estamos afirmando ou de forma alguma questionando a eficácia do uso dos antibióticos, porém ressaltamos que o uso indiscriminado dos mesmos pode acarretar prejuízos na ordem de propensão de outras futuras enfermidades.

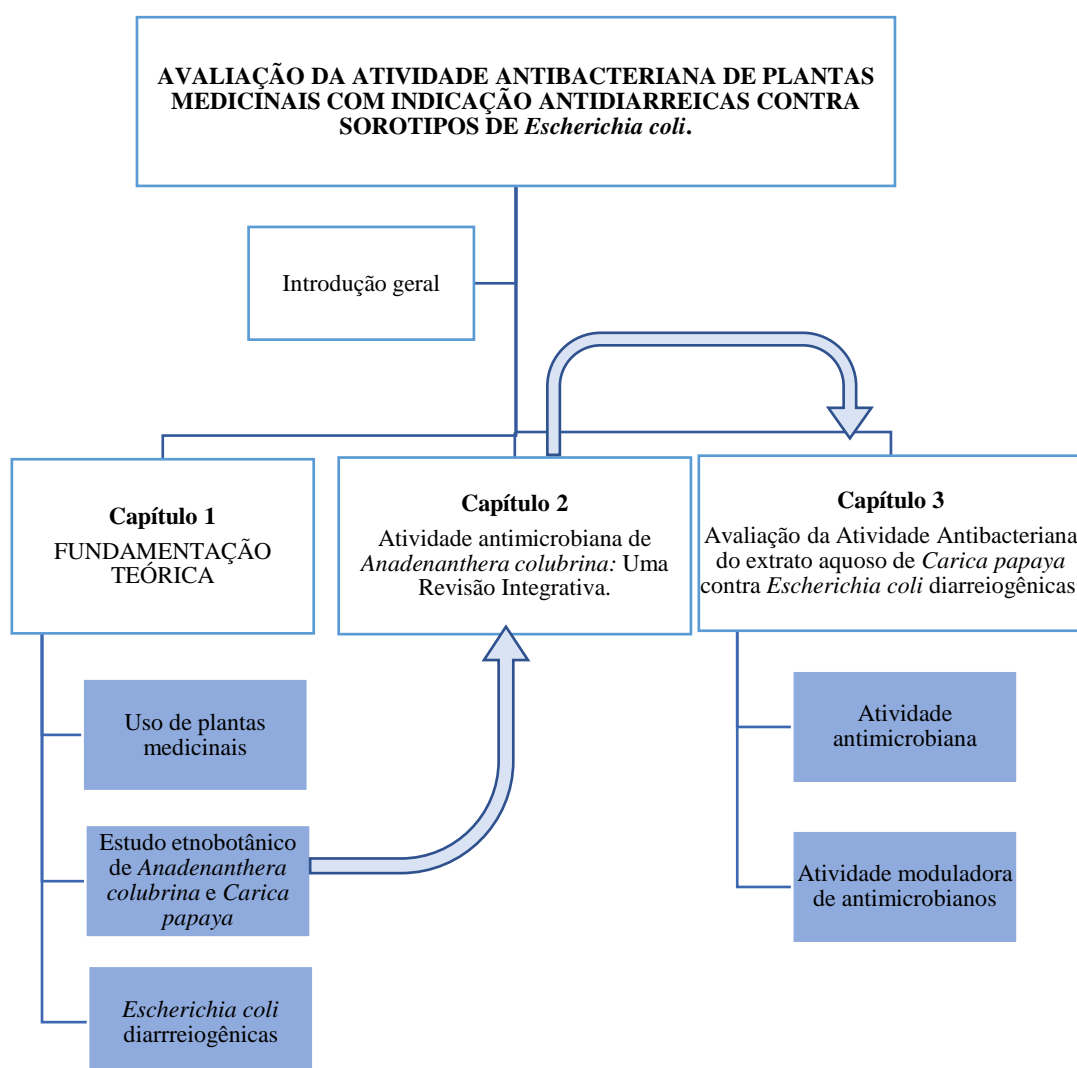
Após a análise da atividade antibacteriana da *Anadenanthera colubrina* (Vell.) BRENAN e *Carica papaya* L., podemos afirmar que não apresentam atividade nas concentrações testadas contra os sorotipos de *E. coli*, sendo assim podemos concluir que seu benefício pode estar ligado a outros mecanismos.

1.3. ESTRUTURA DA DISSERTAÇÃO

A referida dissertação apresenta uma introdução geral onde aborda assuntos como a resistência microbiana às drogas usadas nos tratamentos de infecções, a utilização de plantas medicinais por parte da população para tratamento de diversas patologias e a busca por substâncias com ação antimicrobiana. Já que o surgimento de resistência antimicrobiana é uma resposta evolutiva natural à exposição antimicrobiana. Para sobreviver, as bactérias, em um processo provavelmente pressionado pelo aumento do uso de antimicrobianos na prática clínica, desenvolveram estratégias complexas e criativas para contornar o ataque de antibióticos. Outros fatores que vem aumentando a prevalência de microrganismos resistentes a antimicrobianos são decorrentes do uso na agricultura e da poluição do meio ambiente (HOLMES et al., 2016; MUNITA e ARIAS, 2016). Leite et al. (2018) realizaram um levantamento das plantas medicinais utilizadas no tratamento de problemas gastrointestinais através de uma revisão na literatura científica e relataram diversas plantas utilizadas com tal finalidade pela população. Também afirmaram que muitas plantas medicinais atuam no sistema digestivo, sendo sua atividade bastante conhecida devido à prática na medicina popular de remédios para alívio do desconforto gástrico, melhora da digestão e estimulante do apetite. A fundamentação teórica deste trabalho descreve mais detalhadamente utilização de plantas medicinais dando importância as espécies com potencial antidiarreico, nesse sentido duas plantas foram selecionadas devido ao seu uso popular no combate a distúrbios intestinais, como a diarreia. Uma revisão etnodirigida foi realizada em busca de plantas usadas no combate a diarreia, sendo a seleção feita através de uma análise das plantas que já têm a análise antibacteriana, mas ainda não existem estudos analisando a ação frente às cepas diarreio gênicas. Os vegetais escolhidos foram *Anadenanthera colubrina* e *Carica papaya*. Os

resultados da pesquisa estão apresentados em capítulos disponibilizados após a revisão de literatura. O capítulo inicial traz um artigo de revisão sobre a etnobiologia e a validação científica das atividades antimicrobianas da espécie *Anadenanthera colubrina* e *Carica papaya*. Na sequência, é apresentado um artigo abordando a atividade antimicrobiana de cada uma das plantas.

Fluxograma 1: Estrutura da dissertação



CAPÍTULO 1

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. USO DE PLANTAS MEDICINAIS

É presumível que o uso de plantas como finalidade terapêutica seja tão antiga quanto o próprio homem. O emprego de plantas esteve por muito tempo associado à práticas mágicas, místicas e ritualísticas, por esse motivo existe uma dificuldade em delimitar com precisão a evolução da medicina. No Brasil, o uso das plantas como medicamento teve influência de diversas culturas dentre elas a indígena, a africana e a europeia (JORGE, 2012).

O consumo de plantas medicinais perdeu espaço para os medicamentos sintéticos devido aos avanços científicos, a expansão da indústria farmacêutica e o aumento da oferta de medicamentos (BRASILEIRO et al., 2008). Entretanto, houve um ressurgimento do uso de plantas medicinais devido ao alto custo dos fármacos, o difícil acesso, os efeitos colaterais, bem como, nos dias atuais, ao uso crescente de produtos de origem natural (BALBINOT; VELASQUEZ; DUSMAN, 2013). Quando se tem o conhecimento prévio da finalidade, riscos e benefícios no uso de plantas medicinais, acredita-se que o seu consumo seja favorável à saúde humana. Cabe aos profissionais de saúde a responsabilidade de orientar a população quanto à utilização segura e racional dos fitoterápicos/plantas medicinais (BADKE et al., 2011). Um estudo feito por De Oliveira (2017) verificou por meio dos artigos analisados que as populações utilizam plantas medicinais com regularidade, que existe grande quantidade de espécies citadas como sendo promissoras e eficazes no tratamento de enfermidades e que o conhecimento é adquirido através da família. Foi apresentado também que a maioria dos artigos utilizados como referência para esta revisão integrativa é da região Nordeste.

A utilização de plantas, pelos seres humanos, para fins medicinais se dá devido à grande quantidade de compostos químicos produzidos pelas mesmas (PETROVSKA, 2012). No interior das células tem um conjunto de reações químicas, denominado de metabolismo. Nos vegetais, o mesmo está dividido em dois tipos: o metabolismo primário e o secundário (TAIZ; ZEIGER, 2013).

A identificação de metabólitos secundários em espécies vegetais pode ser uma fonte de informação de grande interesse terapêutico, com grande potencial para aplicação em estudos que envolvem a saúde humana, como a Farmácia, Bioquímica e Biotecnologia (AIRES; LIMA, 2014). Diante disso, é necessário realizar prospecções fitoquímicas a fim de identificar metabólitos secundários de interesse médico. Afinal, as plantas possuem um grande potencial biossintético, porém, o percentual deste potencial utilizado atualmente é apenas uma fração do

que as plantas podem nos oferecer, uma vez que a biossíntese de metabólitos secundários é restrita a alguns tipos de células e tecidos especializados (SOUZA et al., 2018).

2.2. PLANTAS COM POTENCIAL ANTIDIARREICOS

A diarreia é caracterizada pelo aumento no número de evacuações e/ou pela diminuição da consistência das fezes. A patogenia se dá pela alteração da função intestinal com perda excessiva de água e eletrólitos pelas fezes e/ou vômitos (BRASIL, 2012). Existem diversos fármacos comercializados, assim como vegetais usados contra a diarreia, mas a comprovação desses vegetais ainda estão em andamento, e suas partes ainda tem que ser investigadas para identificar os compostos químicos e biológicos, para poder comprovar sua eficácia (EZEJA et al., 2012). Algumas plantas são citadas na literatura para o tratamento de diarreia, a exemplo de *Anadenanthera colubrina* (Vell.) e *Carica papaya* L.

2.3. ESPÉCIES EM ESTUDO

2.3.1 Anadenanthera colubrina

A. colubrina é referida como o vegetal mais solicitado para o uso público, por conseguir eficácia no tratamento das vias aéreas, inflamação, desarranjo intestinal, violenta liberação de ar dos pulmões, inflamação dos brônquios, gripe e aflição de dente (AGRA et al., 2007; AGRA et al., 2008; ALMEIDA et al., 2006; DE SOUSA ARAÚJO et al., 2008; MONTEIRO et al., 2006). A procura maior é pela casca, já que a sua disponibilidade não é afetada pelas variações climáticas (ALBUQUERQUE et al., 2006).

Os brasileiros usam várias plantas como medicamentos, entre estas a *A. colubrina*, pertencente à família Fabaceae. Seu nome vulgar é conhecido como angico, angico vermelho, entre outras denominações, sendo natural da América do Sul e no Nordeste do Brasil, cuja altura da planta pode chegar a até 7m (BARRETTO; FERREIRA, 2011).

2.3.2 Carica papaya

A função medicinal do fruto, sementes e folhas de *C. papaya* encontradas na literatura são fatores que induzem a uma observação das atividades antimicrobianas de extratos de *C. papaya*. Sendo mais uma opção contra a resistência aos agentes antimicrobianos, pode impulsionar o desenvolvimento de novas fontes de antibióticos que precisam ser não só mais eficazes, como também mais acessíveis à população como recurso terapêutico alternativo (KRISHNA et al., 2008; NAYAK et al., 2012). Em países tropicais e

industrializados, usa-se o mamão para distúrbios intestinais. A diminuição do "inchaço" e "flatulência" é explicado devido à presença da papaína, que tolera digestão e amortiza os sintomas relacionados à indigestão (MUSS et al, 2012). Extratos metanólicos e etanólicos de raízes e casca da *C. papaya* apresentaram boas atividades antioxidantes, além de extratos de folhas e polpa; porém o metanol e o extrato etanólico da polpa e folhas apresentaram atividades antibacterianas, além do potencial antioxidante (ASGHAR et al., 2016). Os extratos da folha da *C. papaya* foram estudados por Baskaran et al. (2012), pelo método de difusão, em diferentes bactérias (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella*) aponta atividade antibacteriana.

2.3.3 *Escherichia coli*

A *Escherichia coli* é considerada como um microrganismo comensal do trato gastrointestinal dos seres humanos e de muitos animais, mas por possuir genes de resistência antimicrobiana pode causar doenças ou ser usada como um biomarcador de contaminação ambiental (CALDORIN et al., 2013). A principal forma de contágio de certas cepas de *E. coli* é a transferência fecal-oral, com um grau elevado de virulência causando morbidades graves em pessoas, como intoxicações alimentares, infecções do trato urinário, meningite e septicemia, dentre outras (CDC, 2017).

A *Escherichia coli* tem patótipos que causam diarreia como a *E. coli* enteropatogênica (EPEC) e a *E. coli* enterotoxigênica (ETEC). A EPEC desenvolve uma lesão histopatológica intestinal característica, conhecida como fixação e apagamento, acometendo uma diarreia aquosa no doente. A ETEC, também atua na diarreia aquosa, coloniza o epitélio do intestino delgado e produz enterotoxinas, termolábil e/ou termoestável, que interferem nos processos de absorção e secreção intestinal (CROXEN, 2013). Alguns processos como a mutação, a transdução, a transformação e a transposição, facilitam a propagação de genes bacterianos elevando seu potencial de resistência, e as bactérias da família Enterobacteriaceae são as mais pesquisadas por conseguirem aumentar seu nível de resistência antibacteriano por esses métodos (FERREIRA, 2015; SILVA et al., 2016). A *E. coli* tem grande importância nos processos de investigação clínica e de resistência, por conseguirem receber e perpetuar os genes que formam estirpes multirresistentes (MARINHO, 2013; FERREIRA, 2015).

CAPÍTULO 2

4. ARTIGO 1: ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE *Anadenanthera colubrina*: UMA REVISÃO DE INTEGRATIVA

Cícera Natalia Figueiredo Leite Gondim, Nadghia Figueirêdo Leite Sampaio, Henrique Douglas Melo Coutinho.

Artigo a ser submetido na Revista Cubana de Plantas Medicinales

Fator de impacto: 0.13

Guia para autores:

<http://www.revplantasmedicinales.sld.cu/index.php/pla/about/submissions#authorGuidelines>

ARTIGO 1: ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE *Anadenanthera colubrina*: UMA REVISÃO INTEGRATIVA

Cícera Natalia Figueirêdo Leite Gondim, ^{1*}; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3939-2078>

Nadghia Figueiredo Leite Sampaio, ²; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2378-2570>

Henrique Douglas Melo Coutinho, ³. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6634-4207>

¹Discente do curso de Pós-graduação em Etnobiologia e Conservação da Natureza da Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, Recife, PE, Brasil.

² Discente do curso de Pós-graduação em Química Biológica da Universidade Regional do Cariri- URCA. Crato, CE, Brasil

³Docente do curso de Pós-graduação em Etnobiologia e Conservação da Natureza da Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE. Recife, PE, Brasil.

*Autor para correspondência: cnattalia.leite@gmail.com

RESUMO

Introdução: Conhecida popularmente como angico ou angico branco, *Anadenanthera colubrina* é uma espécie da Família Fabaceae. Ele ocorre em todos os estados do Nordeste Brasileiro e apresenta-se principalmente em regiões de clima semiárido, além de outros estados do Sudeste e do Centro-oeste do Brasil. O angico possui várias utilidades, a casca é utilizada como no combate a diarreias, dismenorreias, úlceras e como anti-inflamatório, o caule produz uma resina avermelhada que é indicada no tratamento de afecções do sistema respiratório, como tosse e bronquite.

Objetivo: Realizar uma revisão e reunir artigos que comprovassem a ação antimicrobiana de *Anadenanthera colubrina*.

Metodologia: O estudo foi realizado através de uma revisão integrativa em busca de artigos publicados entre 2015 a 2019 que mostrassem a atividade antimicrobiana de *Anadenanthera colubrina* obtendo-se uma amostra de 12 artigos, após a análise dos critérios de inclusão e exclusão. Com isso efetuou-se uma apreciação crítica verificando os principais temas abordados e quais conclusões de maiores relevâncias para o estudo. **Resultados:** De acordo

com os dados coletados, a casca de *A. colubrina* é a parte da planta mais investigada mostrando que, além do potencial efeito antibacteriano e antifúngico, a espécie exibe também atividade potencializadora de drogas já usadas na prática médica no tratamento de infecções. A presença de determinados componentes químicos pode justificar a atividade antimicrobiana observada nos testes realizados com os extratos brutos.

Conclusão: *A. colubrina* se revela como uma espécie promissora na busca por drogas que possam auxiliar no tratamento de infecções e/ou reverter o quadro de resistência a antimicrobianos.

Palavras-chave: Angico; *Anadenanthera colubrina*; Atividade antimicrobiana.

RESUMEN

Introducción: Conocida popularmente como angico o angico blanco, *Anadenanthera colubrina* es una especie de la familia Fabaceae, se encuentra en todos los estados del noreste de Brasil y se encuentra principalmente en climas semiáridos, así como en otros estados del sudeste y medio oeste. de Brasil. Angico tiene varios usos, la corteza se usa para combatir la diarrea, la dismenorrea, las úlceras y como antiinflamatorio, el tallo produce una resina rojiza que está indicada en el tratamiento de trastornos del sistema respiratorio como la tos y la bronquitis.

Objetivo: realizar una revisión y reunir artículos que prueben la acción antimicrobiana de *Anadenanthera colubrina*.

Metodología: El estudio se realizó a través de una revisión integradora que buscaba artículos bombeados de 2015 a 2019 que mostraran la actividad antimicrobiana de *Anadenanthera colubrina*, obteniendo una muestra de 12 artículos, luego de analizar los criterios de inclusión y exclusión. Así, se realizó una evaluación crítica, verificando los principales temas abordados y qué conclusiones de mayor relevancia para el estudio. **Resultados:** Según los datos, la corteza de *A. colubrina* es la parte más investigada de la planta, y además del potencial efecto antibacteriano y antifúngico, la especie también exhibe una actividad potenciadora de los medicamentos ya utilizados en la práctica médica en el tratamiento de infecciones. La presencia de ciertos componentes químicos puede justificar la actividad antimicrobiana observada en las pruebas realizadas con extractos crudos.

Conclusión: Por lo tanto, *A. colubrina* se muestra como una especie prometedora en la búsqueda de medicamentos que pueden ayudar a tratar infecciones y / o revertir la resistencia a los antimicrobianos.

Palabras llave: Angico; *Anadenanthera colubrina*; Actividad antimicrobiana.

ABSTRACT

Introduction: *Anadenanthera colubrina* is a species of the Fabaceae Family, it is popularly known as angico or white angico. It occurs in every states of northeastern Brazil and is mainly found in semi-arid climates regions, as well as other Southeastern and Midwestern states of Brazil. Angico has several uses, the bark is used to combat diarrhea, dysmenorrhea, ulcers and as anti-inflammatory, the stem produces a reddish resin that is indicated in the treatment of respiratory system disorders such as cough and bronchitis.

Objective: Conducting a review and gather articles that prove the antimicrobial action of *Anadenanthera colubrina*.

Methodology: The study was conducted through an integrative review searching articles published from 2015 to 2019 that showed the antimicrobial activity of *Anadenanthera colubrina*, obtaining a sample with 12 articles, after analyzing the inclusion and exclusion criterion. Thus, a critical appraisal was made, verifying the main topics covered and which were the most relevant conclusions for the study.

Results: According to the data, the bark of *A. colubrina* is the most investigated part of the plant showing that in addition to the potential antibacterial and antifungal effect, the species also exhibits potentiating activity of drugs already used in medical practice in the treatment of infections. The presence of certain chemical components may justify the antimicrobial activity observed in the tests performed with crude extracts.

Conclusion: Thus, *A. colubrina* reveals itself as a promising species in the search for drugs that can help in the treatment of infections and/or reverse the antimicrobial resistance.

Keywords: Angico; *Anadenanthera colubrina*; Antimicrobial activity.

INTRODUÇÃO

O gênero *Anadenanthera* é encontrada ao sul da linha do Equador ^(1,2), e é usado para fins terapêuticos em comunidades do Brasil, Argentina, Venezuela e Bolívia ⁽²⁾.

Conhecida popularmente como angico ou angico branco, *Anadenanthera colubrina* é uma espécie da Família Fabaceae ⁽³⁾, apresentando-se esta com grande necessidade de exposição solar e característica caducifolia ⁽⁴⁾. Sua casca do caule faz parte da medicina popular como recurso para desordens do fígado, gonorreia, infecção dos ovários, ajudam a desinflamar os brônquios e da angina e como anti-inflamatório ^(5,6).

Esta espécie tem sua ocorrência em todos os estados do Nordeste Brasileiro e apresenta-se principalmente em regiões de clima semiárido, além de outros estados do Sudeste e do Centro-oeste do Brasil, ocorrendo principalmente nas regiões onde as matas se configuram como mais secas ⁽⁷⁾.

Outros nomes podem ser relatados para indicar *Anadenanthera colubrina* e são considerados sinônimos como: *Acacia cebil* Griseb; *Peptadenia macrocarpa* Benth, *Peptadenia macrocarpa* var *cebil* (Griseb.) e *Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan ^(2,8).

O angico possui várias utilidades, a casca é utilizada como no combate a diarreias, dismenorreias, úlceras e como anti-inflamatório, o caule produz uma resina avermelhada que é indicada no tratamento de afecções do sistema respiratório, como tosse e bronquite⁽⁹⁾. Estudos relatam a presença de compostos importantes na casca do caule do angico que podem justificar sua ampla utilização pela população, tais como taninos e polifenóis totais ^(10, 11). Devido ao uso popular em infecções, o objetivo desse trabalho foi reunir artigos que comprovassem a ação antimicrobiana de *Anadenanthera colubrina*.

METODOLOGIA

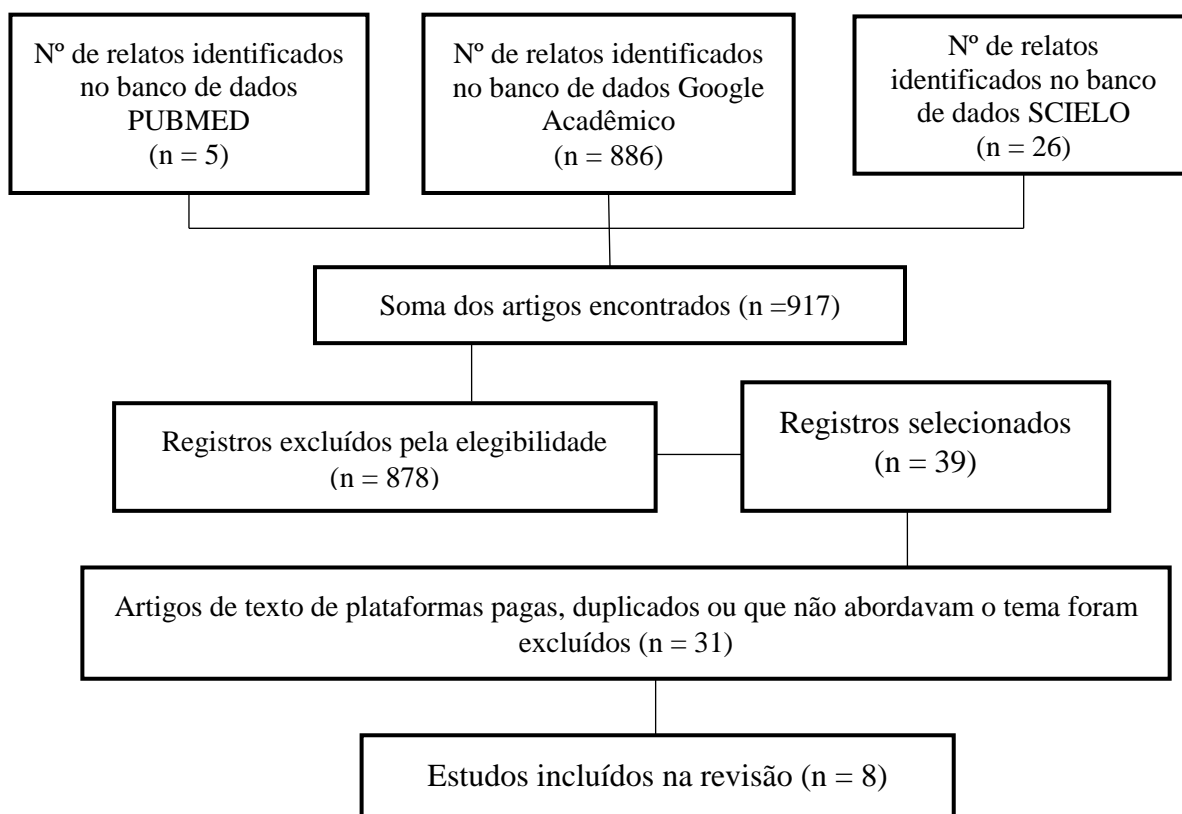
O estudo foi realizado através de uma revisão integrativa sobre as atividades antimicrobianas de *Anadenanthera colubrina*. Os descritores utilizados na consulta nas bases de dados foram: *Anadenanthera colubrina* e ação antimicrobiana. Realizou-se o levantamento bibliográfico na base de dados: GOOGLE ACADÊMICO, SCIELO e PUBMED. Os critérios de inclusão dos artigos para análise foram: todos os artigos científicos disponibilizados com texto completo, gratuito em português e em inglês, publicados no período de 2015 a 2019, nas bases de dados consultadas e foram considerados todos os artigos

que houvessem relação com o propósito da pesquisa. Os critérios de exclusão foram: dissertações ou teses, artigos que mencionavam ser de revisões sistemáticas, integrativas ou em plataformas pagas, artigos que não estavam associados diretamente com o tema apresentado e trabalhos duplicados.

RESULTADOS

Para a pesquisa com *Anadenanthera colubrina* foram encontrados na base de dados PUBMED 5 artigos, GOOGLE ACADÊMICO foram encontrados 886 e na base SCIELO 26, após aplicado os critérios de exclusão, obtivemos os resultados de 3 artigos no PUBMED, 36 no GOOGLE ACADÊMICO e 0 no SCIELO, após essa análise foi realizada uma leitura prévia dos mesmos e selecionados apenas os que tratavam efetivamente da temática estudada, obtendo-se uma amostra de 12 artigos, com isso efetuou-se uma análise crítica verificando os principais temas abordados e quais conclusões de maiores relevâncias para o estudo (Figura 1):

Figura 1- Fluxograma do processo de seleção dos estudos



Os artigos selecionados estão reunidos na Tabela 1, onde mostram os tipos de extrato e parte da planta avaliada em cada estudo, como também os resultados obtidos pelos autores. As informações estão reunidas por ordem decrescente do ano de publicação.

Tabela 1 – Ações antimicrobiana de *Anadenanthera colubrina*.

AUTORES/ ANO	PARTE UTILIZADA	TIPO DE EXTRATO	TÍTULO DO ARTIGO	ATIVIDADES ANTIMICROBIANAS COMPROVADAS
Lima et al, 2019 ⁽¹²⁾	casca	Extrato hidroalcoólico	Atividade antimicrobiana e anti-inflamatória da <i>Anadenanthera colubrina</i> (Vell.) Brenan	Atividade anti-inflamatória e potencial anti- <i>Candida</i> .
Araújo et al, 2017 ⁽¹³⁾	Folhas e frutos	ciclo-hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol	Effects of Rainfall on the Antimicrobial Activity and Secondary Metabolites Contents of Leaves and Fruits of <i>Anadenanthera colubrina</i> from Caatinga Area	Atividade antimicrobiana contra <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> e <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
De Souza Sales et al., 2017 ⁽¹⁴⁾	Casca	Extrato hidroalcoólico	Antifungal Activity, Phytochemical Characterization and Thermal Profile of <i>Anadenanthera colubrina</i> (Vell.) Brenan	Atividade fungistática contra espécies de <i>Candida</i> e uma interação sinérgica quando combinada com nistatina.
Barreto et al., 2016 ⁽¹⁵⁾	casca	Extrato etanólico e fração hexânica	Enhancement of the antibiotic activity of aminoglycosides by extracts from <i>Anadenanthera colubrina</i> (Vell.) Brenan var. cebil against multi-drug resistant bacteria	Não apresentou atividade antimicrobiana contra as cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Escherichia coli</i> multiresistentes. Atividade de moduladora de neomicina, amicacina e clorpromazina contra a cepa <i>Staphylococcus aureus</i> SA10.
Araújo et al., 2015 ⁽⁶⁾	casca	Extrato hidroalcoólico e aquoso	Avaliação do potencial antimicrobiano de extrato hidroalcoólico e aquoso da espécie	Atividade antimicrobiana contra <i>S. aureus</i> . Não houve ação frente a <i>E. coli</i> .

			<i>Anadenanthera colubrina</i> frente à bactérias gram negativa e gram positiva	
Colacite, 2015 ⁽¹⁶⁾	casca	Extrato hidroalcoólico	Triagem fitoquímica, análise antimicrobiana e citotóxica e dos extratos das plantas: <i>Schinus terebinthifolia</i> , <i>Maytenus ilicifolia</i> Reissek, <i>Tabebuia avellanedae</i> , <i>Anadenanthera colubrina</i> (Vell.) Brenan.	A atividade antimicrobiana frente a <i>Salmonela typhi</i> , <i>Micrococcus luteus</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Escherichia coli</i>
Nunes et al., 2015 ⁽¹⁷⁾	casca	Extrato hidroalcoólico	In vitro evaluation of antifungal activity and interactive effect of <i>Anadenanthera colubrina</i> (Benth)	Atividade antifúngica do extrato hidroalcoólico contra <i>Candida</i> e sinérgica quando associado com fluconazol.
Lima Neto et al, 2015. ⁽¹⁸⁾	Entrecasca	Extrato etanólico	Quantification of secondary metabolites and antimicrobial and antioxidant activities of some medicinal plants from the Cerrado of the Mato Grosso.	<i>Candida albicans</i> ; <i>Candida krusei</i> ; <i>Candida neoformans</i> ; <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ; <i>Staphylococcus aureus</i> .

DISCUSSÃO

A presença de determinados componentes químicos pode justificar a atividade antimicrobiana observada nos testes realizados com os extratos brutos. Estas substâncias são resultantes do metabolismo secundário das plantas, que no vegetal têm a função de defesa ou atração, mas também apresentam atividades biológicas interessantes⁽¹⁹⁾.

Na prospecção fitoquímica realizada por De Souza Sales et al.⁽¹⁴⁾, foram identificados polifenóis totais, taninos e flavonoides. O alto conteúdo de compostos fenólicos encontrados no extrato de *A. colubrina* podem ser responsáveis por seu potencial antifúngico. Esses compostos são capazes de causar instabilidade metabólica em *C. albicans* e destruir a atividade enzimática dos proteassomas, contribuindo assim para a redução da taxa de crescimento de microrganismos, bem como formação e maturação de biofilme. Já os taninos fazem parte do grupo de compostos fenólicos e possuem atividade antimicrobiana devido à capacidade de precipitar proteínas^(20, 21).

CONCLUSÃO

Os resultados demonstram que a casca de *A. colubrina* é a parte da planta mais investigada mostrando além do potencial efeito antibacteriano e antifúngico a espécie exibe também atividade potencializadora de drogas já usadas na prática médica no tratamento de infecções. Assim, a espécie se revela como uma espécie promissora na busca por drogas que possam auxiliar no tratamento de infecções e/ou reverter o quadro de resistência a antimicrobianos.

REFERÊNCIAS

1. Alstchul SRA taxonomic study of the genus *Anadenanthera*. *Contr Gray Herb* 1964, (193): 3-65.
2. Weber CR, Soares CML, Lopes ABD, Silva TS, Nascimento MS, Ximenes ECPA.. *Anadenanthera colubrina*: um estudo do potencial terapêutico. Artigo de revisão. *Revista brasileira de farmácia*, 2011, 92(4): 235-244.
3. Lima BG. *Caatinga: espécies lenhosas e herbáceas*. Mossoró: EdUfersa, 2011.
4. Guimarães RC. Anatomia do lenho de *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan em diferentes fitofisionomias da Floresta Atlântica no Estado do Rio de Janeiro, Ilha Grande e Itatiaia. Rio de Janeiro: Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2009. (Dissertação de Mestrado).
5. Araújo DRC. *Anadenanthera colubrina* var. *Cebil* (Griseb.) Altschul (Fabaceae: Mimosoideae): Potencial antimicrobiano e variações sazonais nos teores de metabólitos secundário. Dissertação (Mestrado - Área de Concentração em Ciências Biológicas) – Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2015.
6. Araújo ERD et al. Avaliação do potencial antimicrobiano de extrato hidroalcoólico e aquoso da espécie *Anadenanthera colubrina* frente a bactérias gram negativa e gram positiva. *Biota Amazônia (Biote Amazonie, Biota Amazonia, Amazonian Biota)* 2015, v. 5, n. 3, p. 66-71.
7. Araújo, JKP et al. Estrutura e padrão de distribuição espacial de *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan presente no estrato regenerante em área de mata ciliar no Cariri Ocidental paraibano. *Revista Brasileira de Gestão Ambiental e Sustentabilidade* 2018 v. 5, n. 9, p. 231-238.

8. Queiroz LP . Legumes of the Caatinga. Royal Botanic Garden Edinburgh, 2009. 443p.
9. Santos PB. Contribuição ao estudo químico, bromatológico e atividade biológica de Angico *Anadenanthera colubina* (Vell.) Brenan Var. *cebil* (Gris.) Alts. e Pereiro *Aspidosperma pyrifolium* Mart. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande – Patos PB. 2010. Disponível em: <http://dspace.sti.ufcg.edu.br:8080/jspui/handle/riufcg/3445> Acessado em: 11/11/2019.
10. Pessoa WS et al. Effects of angico extract (*Anadenanthera colubrina* var. *cebil*) in cutaneous wound healing in rats. *Acta Cirúrgica Brasileira* 2012, 27(10):655-670.
11. Lima RDF, Alves É P, Rosalen PL, Ruiz ALTG, Teixeira Duarte MC, Góes VFF, et al. Antimicrobial and antiproliferative potential of *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2014.
12. Lima, ARN et al. Antimicrobial and anti-inflammatory activity of *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan. *Research, Society and Development*, , 2019, v. 9, n. 1.
13. De Araújo DRC et al. Effects of Rainfall on the Antimicrobial Activity and Secondary Metabolites Contents of Leaves and Fruits of *Anadenanthera colubrina* from Caatinga Area. *Pharmacognosy Journal* 2017, v. 9, n. 4.
14. De Souza Sales EAL et al. Antifungal activity, phytochemical characterization and thermal profile of *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan. *Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada* 2017, v. 17, n. 1, p. 1-14.
15. Barreto HM et al. Enhancement of the antibiotic activity of aminoglycosides by extracts from *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan var. *cebil* against multi-

- drug resistant bacteria. *Natural product research* 2016, v. 30, n. 11, p. 1289-1292.
16. Colacite J. Triagem fitoquímica, análise antimicrobiana e citotóxica e dos extratos das plantas: *Schinus terebinthifolia*, *Maytenus ilicifolia* Reissek, *Tabebuia avellaneda*, *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan. *Saúde e Pesquisa* 2015, v. 8, n. 3, p. 509-516.
 17. Nunes LE et al. In vitro evaluation of antifungal activity and interactive effect of *Anadenanthera colubrina* (Benth). *African Journal of Microbiology Research* 2015, v. 9, n. 36, p. 2006-2012.
 18. Lima Neto, G. A. et al. Quantificação de metabólitos secundários e avaliação da atividade antimicrobiana e antioxidante de algumas plantas selecionadas do Cerrado de Mato Grosso. *Rev. bras. plantas med* 2015, v. 17, n. 4, supl. 3, p. 1069-1077.
 19. Simões CMO. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 6. Porto Alegre: Ed. UFRGS, 2010.
 20. Evensen NA, Braun PC. The effects of tea polyphenols on *Candida albicans*: inhibition of biofilm formation and proteasome inactivation. *Can J Microbiol* 2009; 55(9):1033-9. doi: 10.1139/w09-058. 35.
 21. Redondo LM, Chacana PA, Dominguez JE, Fernandez Miyakawa ME. Perspectives in the use of tannins as alternative to antimicrobial growth promoter factors in poultry. *FMICB* 2014; 27(5):1-7. doi: 10.3389/fmicb.2014.00118.\\

CAPÍTULO 3

5. ARTIGO 2: AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE *Carica papaya* L. CONTRA SOROTIPOS DE *Escherichia coli*.

**Cícera Natalia Figueiredo Leite GONDIM, Nadghia Figueiredo Leite SAMPAIO,
Denise Aline Casimiro BEZERRA, Maria Anésia Sousa de ALENCAR, Lucas
Silva ABREU, Josean Fechine TAVARES, Marcelo Sobral da SILVA , Henrique
Douglas Melo COUTINHO**

Artigo submetido ao periódico Food and Chemical Toxicology (Comprovante em anexo)

Fator de impacto: 3.775

QUALIS: A1 (Biodiversidade)

Guia para autores:

<https://www.elsevier.com/journals/food-and-chemical-toxicology/0278-6915/guide-for-authors>

**ARTIGO 2: CHEMICAL EVALUATION AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY
OF *Carica papaya* L. AGAINST *Escherichia coli* SEROTYPES.**

**Cícera Natalia Figueiredo Leite Gondim¹, Nadghia Figueiredo Leite Sampaio²,
Denise Aline Casimiro Bezerra⁴, Maria Anésia Sousa de Alencar⁴, Lucas Silva
Abreu⁵, Josean Fechine Tavares⁶, Marcelo Sobral da Silva⁶, Roger Henrique
Sousa da Costa², Henrique Douglas Melo Coutinho³**

¹Student of the Postgraduate course in Ethnobiology and Nature Conservation at the Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, Recife, PE, Brazil.

²Student of the Postgraduate course in Biological Chemistry at the Universidade Regional do Cariri- URCA. Crato, CE, Brazil

³Docent of the Postgraduate course in Ethnobiology and Nature Conservation at the Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE. Recife, PE, Brazil.

⁴Laboratory of Microbiology and Molecular Biology – LMBM at the Universidade Regional do Cariri- URCA. Crato, CE, Brazil

⁵Student of the Postgraduate Schema in Natural and Bioactive Synthetic Products at the Universidade Federal da Paraíba

⁶Professor of the Postgraduate Schema in Natural and Bioactive Synthetic Products at the Universidade Federal da Paraíba

* *Corresponding author: Cícera Natalia Figueiredo Leite Gondim,
natalia.leite@urca.br*

ABSTRACT

Medicinal and aromatic vegetables are well regarded by the pharmaceutical industries, for taste and varied smells as well as for the search for feedstock that has the possibility of an efficient therapeutic source, such as papaya fruits (*Carica papaya*) peel and leaves are used to treat various diseases such as constipation, amenorrhea and dyspepsia. Thus, the objectives of this work were to determine the chemical constituents, to evaluate the antibacterial activity of *Carica papaya* against *Escherichia coli*, EPEC and ETEC serotypes, as well as to evaluate the antibacterial modulating activity. 200g of fresh leaves of *C. papaya* were collected, then the aqueous extract was infused. The chemical composition was named by HPLC-DAD-ESIMS. The determination of the minimum inhibitory concentration and the modulation of antibiotic activity were performed by microdilution in broth in 96-well plates. It was detected the presence of 18 compounds. The extract had no antimicrobial action and was indifferent when associated with antibacterials, however, due to the high mortality and morbidity of humans, caused by the ETEC and EPEC strains, it is important to continuously search

for new sources of substances with antibacterial potential or modulator of the response of drugs used in the therapy of intestinal disorders.

Keywords: *Carica papaya*, antimicrobial activity and modulating activity.

1. INTRODUCTION

Diarrhea is one of the responsibilities of the Government, especially in regions of social misery. Several factors such as sociocultural, biological, and environmental factors are associated with the complexity of diarrhea. Thus, the solution to the problem cannot be analyzed reductively (Farthing et al., 2013; Walker and Walker, 2014).

The Kingdom Plantae has a range of vegetable diversities that can be used in medical clinics in Brazil, there is still a lot to explore about antimicrobial treatment (Lôbo et al., 2010; Ostrosky et al., 2008).

Traditional knowledge about the use of plant species to treat health problems is conserved from generation to generation, they are respected for their knowledge as they tend to know more about issues of fundamental interest to the Community (Battisti et al., 2013).

There is a growing demand for antimicrobial and agrochemical substances that are effective in controlling infectious diseases. Superior vegetables are one of the most important sources of natural products, significantly providing the development of new secondary metabolites, many of which are considered of great added value due to their applications as medicines, cosmetics, food and agrochemicals (Braz Filho, 2010)

The species *Carica papaya* L. (mamão) belongs to the family Caricaceae is a typical fruit plant of tropical and subtropical regions (Souza et al., 2012).

The fruits of *C. papaya*, as well as peel and leaves are used in the treatment of various diseases such as warts, callus, constipation, amenorrhea, general weakness, sinuses, eczema, cutaneous tubercles, glandular tumors, blood pressure, dyspepsia, cell growth carcinogens, diabetes, malaria, syphilis and gonorrhea, also act by expelling worms and stimulating reproductive organs (Aravind et al., 2013; Sinhalagoda et al., 2013).

In order to outline the profile of the potentiality of biodiversity assets, it is very important to conduct ethnobotanical and ethnopharmacological research. In these

studies are considered the main sources of indications for the study of plants as a therapeutic perspective, guiding phytochemical works and biological tests. The knowledge obtained through the cultural practices of the connection between the biota and the communities has the purpose of causing an enrichment regarding the use of biodiversity. Enabling better and more conscious use of its resources (De Gutiérrez et al., 2010).

The goals of this work were to determine the chemical constituents, to evaluate the antibacterial activity of *Carica papaya* against *Escherichia coli*, EPEC and ETEC serotypes, as well as to evaluate the antibacterial modulating activity.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1 RESEARCH PLACE

The extract preparation and microbiological tests were carried out at the Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais (LPPN) and at the Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular (LMBM) respectivamente, at the Universidade Regional do Cariri – URCA, Campus Pimenta, no Crato, Ceará.

The chemical evaluation was carried out at the Universidade Federal da Paraíba.

2.2 COLLECTION AREA

Through an ethnodirected study, plant species used in folk medicine to treat diarrhea were selected. The plants were obtained *in natura* in the Cedro municipality - PE. The area in which the *C. papaya* species is collected is located in a private property called Fazenda Timbaúba, Cedro municipality, (latitude: 07 ° 48.26742 'S, longitude: 39 ° 10.26135' W, 535.336m altitude), Cedro, Pernambuco, Northeast Brazil.

2.3 PLANT MATERIAL

Young and healthy leaves of the species *Carica papaya* were collected and transported to the Laboratory of Microbiology and Molecular Biology da Universidade Regional do Cariri – URCA. Exsiccata of the species were produced and deposited at the Herbário Dárdano de Andrade Lima of this University using the numbers HCDAL 8652 for a *C. papaya*. The collections were carried out in April, dry month, during the morning between 8:30 am and 10:30 am. The plant material was sorted and cleaned

before being weighed and stored using refrigeration. In total, 200g of *C. papaya* leaves were weighed to prepare the aqueous extract by infusion.

2.4 PREPARATION OF THE AQUEOUS EXTRACT

Fresh extracts of *A. colubrina* and fresh leaves of *C. papaya* were collected to prepare the extracts, and then the aqueous extracts were performed. 399.9 g of leaves were used mixed with six liters of water (based on the proportion 10g/150 mL, equivalent to a cup of tea - 150 mL). For infusion, the water was boiled without the plant material, which was placed in the water after the fire was stopped. The pot was covered with a lid and the plant material remained until the tea had cooled (LORENZI and MATOS 2002).⁽¹¹⁾ The preparation was then filtered and then stored, also using refrigeration. The infusion was frozen and taken to the freeze dryer (-60 ° C) until all the water was removed. The powdered extract was stored for testing using refrigeration. After freeze-drying 16.6188g of Aqueous Extract were obtained by infusion of *C. papaya* (EAICP).

2.5 OBTAINING *Escherichia coli* SEROTYPES

The *E. coli* EPEC and ETEC serotypes were provided by the professor Dr. Rodrigo Otávio Silveira Silva, of Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

2.6 MICROBIOLOGICAL TESTS

2.6.1 Minimum Inhibitory Concentration (MIC)

Minimal Inhibitory Concentration (MIC) is defined as the lowest concentration is can inhibit bacterial growth in the cavities of the microdilution plate as detected macroscopically (Patel et al. 2012).

MIC was performed by broth microdilution method. The inoculum deposited in saline solution to form a suspension of 10^5 CFU/mL; the extracts concentrations ranged from 1024 to $8 \mu\text{g mL}^{-1}$.

Then, 100 μL of this solution was distributed into each cavity of the microdilution plate, and after that, 100 μL of the extract was added in the first cavity

and passed to the others through successive dilutions in the ratio of 1:1 to the penultimate cavity. The last cavity was reserved for the growth of microorganisms without interference from the evaluated substances. The plate will be placed in the oven at a temperature of approximately 37°C for a period of 24 hours, the plates containing bacteria developed with specific dye, resazurin, a calorimetric oxide-reduction indicator. To perform the test reading it was necessary to add 20 µL of the solution in each cavity of the plates and to incubate them for 1h at room temperature (SALVAT et al., 2001).

The disclosure of MIC considered as inhibition of growth for cavities that remained with blue staining and non-inhibition were those that obtained red staining.

2.6.2 Modulation of antibiotic activity by microdilution

The extract was tested in subinhibitory concentration (MIC/8). 1163 µL of a solution containing BHI, 150 µL of inoculum and 187 µL of the extract were distributed in each cavity identified as MIC. In the cavities identified as CONTROL, 1350 µL of BHI and 150 µL of inoculum were distributed. All distribution done in the alphabetical order of the plate. Subsequently, 100 µL of the antibiotic, in concentration of 5000 µL mL⁻¹ were mixed into the first cavity, acting the microdiluted in serie at a ratio of 1:1 to the penultimate cavity. Antimicrobial concentrations varied gradually from 5000 to 2.44 µg mL⁻¹.

2.7 CHEMICAL ANALYSIS

Analysis in High Performance Liquid Chromatography coupled to Mass Spectrometry of the infusion of fresh leaves of *Carica papaya* L. Instrumentation and conditions of the liquid chromatograph coupled to the mass spectrometer.

1.0 mg of the aqueous extract of the fresh leaves of *Carica papaya* L. obtained by infusion was used, dissolved in 1.0 mL of MeOH: H₂O (50:50) with the help of an ultrasound bath, filtered using a PVDF filter of 0, 45 µm and analyzed by HPLC-ESI-MS. HPLC-ESI-MS analysis was carried out using a UFLC (Shimadzu) containing two LC-20AD solvent pumps, SIL-20AHT auto-sampler, CBM-20A system controller, coupled with an ESI-Ion-Trap mass spectrometer (AmaZon X) or with an ESI-TOF

(microTOF II). The HPLC experiments were performed out using a C18 column (Kromasil - 250 mm x 4.6 mm x 5 μ m) with the elution gradient: solvent A = H₂O with formic acid (0.1% v/v); Solvent B = MeOH; Elution profile was an exploratory gradient of 60 minutes, injection volume of 20 μ L and flow of 0.6 mL/min. The parameters of analysis of the ESI were: capillary 4.5 kV, ESI in positive mode, offset of the final plate 500 V, nebulizer 50 psi, dry gas (N₂) with flow of 8 mL / min and temperature of 300 °C. CID fragmentation was carried out in auto MS / MS mode using the advanced resolution mode for MS and MS / MS mode. The spectra (m/z 50-3000) were recorded every 2s.

2.8 STATISTICAL ANALYZE

The statistical analyze of the microbiological results were performed using the Graphpad Prism 7.0 software, followed by the Bonferroni post-test with $p < 0.05$ for results with significance.

3. RESULTS AND DISCUSSIONS

3.1 Microbiological and Modifying Evaluation of Antibiotic Action

In the evaluation of the minimal inhibitory concentration (MIC), the extract of *C. papaya* did not show antimicrobial activity since the result was $\geq 2014 \mu\text{g/mL}$. Concentrations above this value are clinically irrelevant.

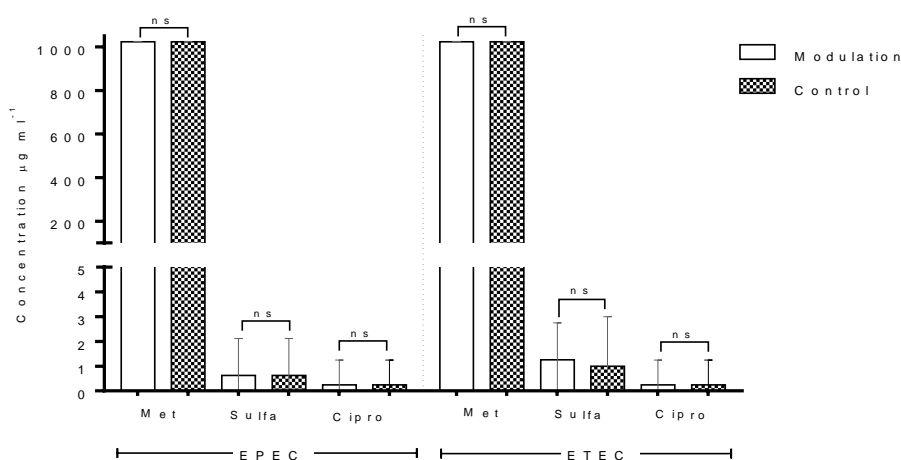


Figure 1: Evaluation of the modulating activity of the aqueous extract of *Carica papaya* against *Escherichia coli* Enterotoxigenic - ETEC and *Escherichia coli*

Enteropathogenic - EPEC. Met - metronidazole; Sulfa - Sulfamethoxazole + trimethoprine; Cipro – ciprofloxacin; ns – not significance.

Suresh, et al. (2008) reports through the disk diffusion methodology that the aqueous extract of *mamão* has antimicrobial activity against *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. Still in the same study, the phytochemical analysis of the aqueous extract reveals the presence of alkaloids, anthraquinone, flavonoids, saponins, steroids, tannins, triterpenoids, which may justify the action presented.

Corroborating with Suresh et al (2008), Saravanasingh, Ramamurthy, Parthiban (2016), reveal, from a qualitative analysis of the constituent phytochemicals, positive results for alkaloids, saponins, tannins and terpenoids for crude aqueous extracts of leaves, stem and root. In the literature, the results show that *mamão* has activity against *E. coli*, which is an important bacterium in the intestinal microbiota of animals. It is possible that most *E. coli* serotypes are devoid of virulence factors, however some strains may, during the evolutionary process, acquire different sets of genes that confer the ability to cause disease, a fact that determines the great pathogenic versatility of the species (Saravanasingh, Ramamurthy, Parthiban, 2016).

In this study, the strains evaluated are varieties of *Escherichia* considered pathogenic and are called diarrheal *E. coli* that are differentiated by the presence of virulence factors responsible for different clinical conditions.

In the literature consulted, ATCC strains and multi-resistant strains of *E. coli* are used. Tests with species of the genus *Carica* have not yet been registered against diarrhogenic *E. coli* serotypes, therefore, this study is a pioneer in the search for bioactive substances against pathogenic EPEC and ETEC strains.

3.2 Analysis in High Performance Liquid Chromatography coupled to Mass Spectrometry of the infusion of fresh leaves of *Carica papaya* L. Instrumentation and conditions of the Liquid Chromatograph coupled to mass spectrometer.

Through HPLC-DAD-ESIMS analyzes, the presence of 18 compounds in the aqueous extract obtained by infusing fresh leaves of *Carica papaya* L was detected, of which 9 were identified based on the mass of their molecular ions, retention time, models of fragmentation and data available in the literature. The identified compounds were: the piperidine alkaloid carpaine and the phenolic compounds Caffeoyl malate,

Quercetin-3-O-(2",6"-di-*O*-rhamnopyranosyl) Glucopyranoside (**manghaslin**), Cis- *p*- coumaric acid, *p*- Coumaroyl malate (Isomers 1 and 2), Kaempferol-3-*O*-rutinoside (**nicotiflorin**), quercetin-3-*O*-rutinoside (**rutin**), Kaempferol-3-*O*-(2",6"-di-*O*rhamnopyranosyl) glucopyranoside (**clitorin**). Table 1 presents the data obtained by mass spectrometry in the negative and positive modes of the compounds mentioned above.

Peak 5 showed a m/z value in $[M - H] + 478$ in the positive mode and $[M - H] - 477$ in the negative mode, with fragments resulting in in MS^2 and MS^3 m/z 240, 222 identified as the alkali piperidine carpaine compatible with data presented by Afzan et al. (2012) and Singh et al. (2011).

Peak 7 showed m/z $[M - H]^-$ in 295 and resulting fragments in MS^2 and MS^3 m/z 277,179, 133, 135, 155, 177, with retention time 28,5 min. which, according to data presented by Afzan et al (2012), was identified as the phenolic compound caffeyl malate.

Peak 14 showed a m/z $[M - H]^-$ value in 163 it presented fragments in MS^2 and MS^3 m/z at 137, 119, 93, compatible with the fragmentation of cis-*p*-cumáric acid, according to data presented by Jaitz et al. (2010).

Peaks 15a and 15b showed values of m/z $[M - H]^-$ in 279.90 and 279.98, respectively with fragmentations in MS^2 119,120,137 to 279,90 and 163, 133 both with retention times 32,1 min . compatible with the fragments of the isomers of *p*-cumaroyl malate isomer 1 and 2, respectively, reported by Afzan et al (2012) and Vanholme et al (2012).

Peak 17 with value m/z em $[M-H]^-$ in 593 and resulting fragments in MS^2 and MS^3 m/z 284, 285, 267, 255 and 163 with retention time 33.8 min. showed the loss of 308 a.m.u.), gerando o fragmento 285 característico da perda de uma ramnose (146a.m.u.) and and glucose (162a.m.u.) (Sancho et al., 2011) compatible with the Kaempferol-3-*O*-rutinoside (nicotiflorin) fragmentation, according to data presented by Afzan et al (2012), Brasil et al (2014) and Chua et al (2011) and molecular formula $C_{27}H_{29}O_{15}$ according to Brasil et al (2014). Peaks 11 and 18 showed values m/z $[M-H]^-$ in 755 and 609 respectively, they were identified as derivatives of quercetin presenting, in both cases, the loss of aglycone represented by the fragments in m/z $[M-H]^-$ 301 and 300, 179 and 151 according to data presented by Afzan et al. (2012), and corroborated by Chen et al. (2015). It was observed in m/z 609 the fragment $[M - H - 162 - 146]^-$

301 caracterizado pelas perdas de um resíduo glicosil neutro e um resíduo ramnosil confirmado por Singh et al. (2011).

Table 1 - Compounds detected in the aqueous extract (decoction) of the leaves of *Carica papaya* L. analyzed by HPLC-ESI-MS.

Peak N°	Rt min	[M-H] ⁻ Observed	[M-H] ⁺ Observed	Product Ions (MS/MS)	Empirical Formula	Assignment	References
1	5,2	377	nd	341, 215, 179, 61	Desconhecido	Unidentified	
2	5,2	439	nd	341, 421, 259, 179	Desconhecido	Unidentified	
3	18	408	nd	258, 274, 241, 212, 166, 169	Desconhecido	Unidentified	
4	26,4	239	nd	220,202,108	Desconhecido	Unidentified	
5	26,4	477	478	240, 222	C ₂₈ H ₅₀ N ₂ O ₄	Carpaine	28, 35
6	28,5	591	nd	295, 179, 133	Desconhecido	Unidentified	
7	28,5	295	nd	277,179, 133, 135, 155, 177	C ₁₃ H ₁₂ O ₈	Caffeoyl malate	28
8	30,3	559	nd	433, 327, 473, 357, 339, 295	Desconhecido	Unidentified	
9	32,5	589	nd	473, 357, 283, 265, 163, 377	Desconhecido	Unidentified	
10	30,9	559	nd	443, 327, 309, 265, 237, 163	Desconhecido	Unidentified	
11	30,9	755	nd	300, 301, 271, 255, 179	C ₃₃ H ₃₉ O ₂₀	Quercetin-3-O-(2",6"-di-O-rhamnopyranosyl) glucopyranoside (manghaslin)	28, 30, 31, 34, 37
12	33,1	739	nd	575, 284,	C ₃₃ H ₃₉ O ₁₉	Kaempferol-3-O-(2",6"-di-Orhamnopyranosyl) glucopyranoside (clitorin)	31
13	33,1	775	nd	739, 740, 575, 482,385,		Unidentified	

				469,595, 741, 575, 284			
14	31,8	163	nd	137, 119, 93	C₉H₈O₃	Cis- <i>p</i> -cumaric acid	26, 28
15a	32,1	279,9	nd	163, 119,120,137	C ₁₃ H ₁₁ O ₇	<i>p</i> -Coumaroyl malate (Isomer 1)	27,33
15b	32,1	279, 98	nd	163, 119, 133	C ₁₃ H ₁₁ O ₇	<i>p</i> -Coumaroyl malate (Isomer 2)	27,33
16	32,5	299	nd	271, 151, 179		Unidentified	
17	33,8	593	nd	447, 284, 285, 267, 255,163	C ₂₇ H ₂₉ O ₁₅	Kaempferol-3- <i>O</i> -rutinoside (nicotiflorin)	27, 30, 32
18	35,4	609	nd	301, 300, 271, 255, 179, 151	C ₂₇ H ₂₉ O ₁₆	Quercetin-3- <i>O</i> -rutinoside (rutin)	27, 30 , 31, 34

All MS² were in negative ion mode except for n° 5 peak in [M+H]⁺; Rt: Retention time; nd: not detected.

4. CONCLUSION

The extract of *C. papaya* showed no antimicrobial action and was indifferent when associated with antibacterials. The HPLC-DAD-ESIMS analyzes detected the presence of 18 compounds, of which 9 were identified by mass spectrometry in the negative and positive modes, and then confirmed from comparisons with data from the literature.

Despite the large amount of compounds found, their agglomeration did not show a significant result in relation to antimicrobial activity. But, due to the high mortality and morbidity caused by the ETEC and EPEC strains, it is important to continuously search for new sources of substances with antibacterial potential or modulator of the response of drugs used in the therapy of intestinal disorders.

Acknowledgement

Gonçalo Emanuel Carvalho Gondim for providing language help, writing assistance and proof reading the article.

Funding sources

This work was supported by the Cearense Foundation to Support Scientific and Technological Development (Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico – *FUNCAP*).

All authors of the manuscript state that there is no conflict of interest.

REFERENCES

- FARTHING, Michael et al. Acute diarrhea in adults and children: a global perspective. **Journal of clinical gastroenterology**, v. 47, n. 1, p. 12-20, 2013. DOI: 10.1097 / MCG.0b013e31826df662
- WALKER, Christa L. Fischer; WALKER, Neff. The Lives Saved Tool (LiST) as a model for diarrhea mortality reduction. **BMC medicine**, v. 12, n. 1, p. 70, 2014. DOI: 10.1186 / 1741-7015-12-70

- LÔBO, K. M. S. et al. Avaliação da atividade antibacteriana e prospecção fitoquímica de *Solanum paniculatum* Lam. e *Operculina hamiltonii* (G. Don) DF Austin & Staples, do semi-árido paraibano. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 12, n. 2, p. 227-235, 2010. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-05722010000200016>.
- OSTROSKY, Elissa A. et al. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 2, p. 301-307, 2008. DOI: 10.1590 / S0102-695X2008000200026
- BATTISTI, Caroline et al. Plantas medicinais utilizadas no município de Palmeira das Missões, RS, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 11, n. 3, 2013.
- BRAZ FILHO, RAIMUNDO. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 229-239, 2010. DOI: 10.1590 / S0100-40422010000100040
- SOUZA, José Thyago Aires et al. Análise sócio-econômica do consumo de mamão no Sertão paraibano. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v. 6, n. 2, 2012.
- ARAVIND, G. et al. Traditional and medicinal uses of *Carica papaya*. **Journal of Medicinal Plants Studies**, v. 1, n. 1, p. 7-15, 2013.
- SINHALAGODA, L. C. A. D. et al. Does *Carica papaya* leaf-extract increase the platelet count? An experimental study in a murine model. **Asian Pac. J. Trop. Biomed**, v. 3, n. 9, p. 720-724, 2013. DOI: 10.1016 / S2221-1691 (13) 60145-8.
- DE GUTIÉRREZ, Ingrid Estefania Mancía et al. **Plantas Mediciniais no Semiárido: conhecimentos populares e acadêmicos**. SciELO-EDUFBA, 2010. DOI:<https://doi.org/10.7476/9788523212179>
- LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. Plantas Mediciniais no Brasil, nativas e exóticas. Nova Odessa. **Brazil: Instituto Plantarum**, 2002.
- PATEL, J. B. et al. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically, vol. 32, NCCLS, 2012. **NCCLS approved standard M7-A9**.
- SALVAT, A. et al. Screening of some plants from northern argentina for their antimicrobial activity. *Letters in Applied Microbiology*. v. 32, p. 293-297, 2001. DOI: 10.1046 / j.1472-765x.2001.00923.x
- SURESH, K. et al. Investigação antimicrobiana e fitoquímica das folhas de *Carica papaya* L., *Cynodon dactylon* (L.) Pers., *Euphorbia hirta* L., *Melia azedarach* L. e *Psidium guajava* L. **Folhetos etnobotânicos** , v. 2008, n. 1, p. 157, 2008.

CHERNAKI-LEFFER, A. M. et al. Isolamento de enterobactérias em *Alphitobius diaperinus* e na cama de aviários no oeste do estado do Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 4, n. 3, p. 243-247, 2002. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-635X2002000300009>.

SARAVANASINGH, K.; RAMAMURTHY, M.; PARTHIBAN, P. Analysis of phytochemical constituents and Antimicrobial activity of *Carica papaya*. *Int. J. Adv. Res.*

Biol. Sci, v. 3, n. 2, p. 329-334, 2016.

AFZAN, Adlin et al. Repeated Dose 28-Days Oral Toxicity Study of *Carica papaya* L. Leaf Extract in Sprague Dawley Rats. **Molecules**, v.17, p. 4326-4342, 2012. DOI: 10.3390 / moléculas17044326

SINGH et al. Phytochemical and Antifungal Profiles of the Seeds of *Carica Papaya* L. *Indian. Journal of Pharmaceutical Sciences*, v, 739(4), p. 447-451, 2011. doi: [10.4103/0250-474X.95648](https://doi.org/10.4103/0250-474X.95648)

JAITZ, Leonhard et al. LC–MS/MS analysis of phenols for classification of red wine according to geographic origin, grape variety and vintage. **Food Chemistry**, v. 122 p. 366–372, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.02.053>

VANHOLME, Ruben et al. A Systems Biology View of Responses to Lignin Biosynthesis Perturbations in Arabidopsis. **The Plant Cell**, v.24, p. 3506–3529, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1105/tpc.112.102574>

SANCHO, Laura E. et al. Identification and quantification of phenols, carotenoids, and vitamin C from papaya *Carica papaya* L., cv. Maradol) fruit determined by HPLC-DAD-MS/MS-ESI. **Food Research International**, v. 44, p. 1284-1291, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.12.001>

BRASIL, Girlandia et al. Antihypertensive Effect of *Carica papaya* Via a Reduction in ACE Activity and Improved Baroreflex. **Planta Med**, v. 80, p.1580-1587, 2014. DOI: [10.1055/s-0034-1383122](https://doi.org/10.1055/s-0034-1383122)

CHUA, Lee et al. Flavonoids and phenolic acids from *Labisia pumila* (Kacip Fatimah). **Food Chemistry**, v. 127, p.1186–1192, 2011. DOI:[10.1016/j.foodchem.2011.01.122](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.01.122)

CHEN, Yeqing et al. Characterization and Quantification by LC-MS/MS of the Chemical Components of the Heating Products of the Flavonoids Extract in Pollen *Typhae* for Transformation Rule Exploration. **Molecules**, v. 20, p. 18352-18366, 2015. DOI: [10.3390/molecules201018352](https://doi.org/10.3390/molecules201018352)

6. CONCLUSÃO

6.1. PRINCIPAIS CONCLUSÕES

Concluiu-se que os extratos utilizados na avaliação não apresentaram atividade antimicrobiana nas concentrações testadas contra os sorotipos EPEC e ETEC de *E. coli*.

Mesmo com a associação dos extratos com cada antibiótico não foi possível potencializar a ação da droga.

Os vegetais analisados podem ter ação contra outro tipo de microrganismo que cause a diarreia, uma vez que só foi analisadas os sorotipos ETEC e EPEC.

Então os benefícios apontados na sabedoria popular podem estar ligados a outros mecanismos ou microrganismos, que necessitam ser investigados para esclarecer a afirmativa que tais vegetais atuam no combate a diarreia.

A investigação é de suma importância, já que as drogas antibacterianas não são atuais, e necessitam acoplarem algo que aumente o efeito desses fármacos.

6.2. CONTRIBUIÇÕES TEÓRICAS E/OU METODOLÓGICAS DA DISSERTAÇÃO

Foi possível comprovar que os vegetais analisados não tem ações antibacteriana, então outros fatores devem estar envolvidos para o uso na medicina popular.

6.3. PRINCIPAIS LIMITAÇÕES DO ESTUDO

Atrasos nos testes devido a complicações que foram surgindo ao longo da pesquisa. As cepas bacterianas foram difíceis de encontrar, uma vez que os pesquisadores resistiram em cedê-las. Atraso nas análises químicas que a EMBRAPA não aceitou realizar e a busca por uma instituição que pudesse ceder seu laboratório para essa identificação. O laboratório de química da Universidade Federal da Paraíba cedeu seu espaço para a análise dos constituintes químicos, porém os resultados finais ainda

não ficaram prontas, devido o software não é de fácil manuseio para com o grupo de pesquisadores, assim o trabalho continua em andamento por mais algumas semanas.

6.4. PROPOSTAS DE INVESTIGAÇÕES FUTURAS

Descobrir qual mecanismo está envolvido no distúrbio intestinal, abordando novas pesquisas que possam justificar seu uso na medicina popular para a diarreia. Visto que precisamos potencializar a ação dos antibióticos já existentes, ou até mesmo trocá-los por produtos naturais que apresentem eficácia e não tragam efeitos colaterais ou adversos. Analisar quais os microrganismos envolvidos na diarreia, bem como sua atuação e testar os produtos naturais isolados e em conjunto com antimicrobianos para sabermos se existe algum sucesso contra tais patógenos.

6.5. ORÇAMENTO

Este estudo foi financiado no segundo ano corrido da pós-graduação, pela Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP) por meio de Bolsa para a aluna Cícera Natalia Figueirêdo Leite Gondim. As despesas para amostragem incluíram a compra de material de papelaria e de campo, guia, aluguel de carro, estadia e alimentação, totalizando aproximadamente R\$ 3.000,00. Deslocamentos para outras cidades para estudo das disciplinas do programa em curso, valores que mensalmente são variáveis. Além de todo o material para dar procedimento aos testes realizados, tais como: ciprofloxacina, sulfametoxazol trimetoprima e metronidazol, no total de R\$ 69,00. Pipeta automática de 100 a 1000 μ L por R\$ 286,30. Caldo Brain Heart Infusion de 500g por R\$ 209,00. Placas de Microdiluição com o fundo em formato de U com 50 unidades por 300,00. Ponteiras para micropipetas 1 a 100 μ L, 03 Rack 100 por R\$ 62,00. Ponteiras para micropipetas 1 a 1000 μ L com 1000 unidades no valor de R\$ 53,31. Luvas para procedimento com 1000 unidades no valor de R\$ 250,00. 1 caixa de máscara por R\$ 8,00. 1000 Eppendorf por R\$ 58,00, somando esse material no total de R\$ 1.295,61.

REFERÊNCIAS

AGRA, Maria de Fátima et al. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. **Revista brasileira de farmacognosia**, v. 18, n. 3, p. 472-508, 2008.

AGRA, Maria de Fátima; FREITAS, Patrícia França de; BARBOSA-FILHO, José Maria. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 114-140, 2007.

AIRES, Isabel Cristina; LIMA, Renato Abreu. Potencial fungicida do extrato etanólico dos talos de *Piper aduncum* L.(Piperaceae) sobre *Candida albicans* in vitro. **Revista Eletrônica de Biologia (REB). ISSN 1983-7682**, v. 7, n. 3, p. 270-280, 2014.

ALBUQUERQUE, Ulysses P. et al. Evaluating two quantitative ethnobotanical techniques. **Ethnobotany Research and Applications**, v. 4, p. 051-060, 2006.

ALMEIDA, Cecília De Fátima C.B.R. et al. Medicinal plants popularly used in the Xingó region—a semi-arid location in Northeastern Brazil. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v. 2, n. 1, p. 15, 2006.

ASGHAR, Nazia et al. Compositional difference in antioxidant and antibacterial activity of all parts of the *Carica papaya* using different solvents. **Chemistry Central Journal**, v. 10, n. 1, p. 5, 2016.

BADKE, Marcio Rossato et al. Plantas medicinais: o saber sustentado na prática do cotidiano popular. **Escola Anna Nery Revista de Enfermagem**, v. 15, n. 1, p. 132-139, 2011.

BARBOSA, Denis Borges. Uma introdução à propriedade intelectual. 2003.

BALBINOT, S.; VELASQUEZ, P. G.; DÜSMAN, E. Reconhecimento e uso de plantas medicinais pelos idosos do Município de Marmeleiro—Paraná. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 15, n. 4, p. 632-638, 2013.

- BARRETO, Humberto M. et al. Enhancement of the antibiotic activity of aminoglycosides by extracts from *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan var. *cebil* against multi-drug resistant bacteria. **Natural product research**, v. 30, n. 11, p. 1289-1292, 2016.
- BARRETTO, Soraia Stefane Barbosa; FERREIRA, Robério Anastácio. Aspectos morfológicos de frutos, sementes, plântulas e mudas de Leguminosae Mimosoideae: *Anadenanthera colubrina* (Vellozo) Brenan e *Enterolobium contortisiliquum* (Vellozo) Morong. **Revista Brasileira de Sementes**, 2011.
- BASKARAN, C. et al. The efficacy of *Carica papaya* leaf extract on some bacterial and a fungal strain by well diffusion method. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v. 2, p. S658-S662, 2012.
- BERG, Maria Elisabeth Van Den. Plantas medicinais na Amazônia: contribuição ao seu conhecimento sistemático. 3. Ed. **Belém**: Museu Paraense Emilio Goeldi. p. 268. 2010.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Acolhimento à demanda espontânea: queixas mais comuns na Atenção Básica**. Cadernos de Atenção Básica n. 28, Volume II – Brasília, 2012. 290 p.: il.
- BRASILEIRO, Beatriz Gonçalves et al. Plantas medicinais utilizadas pela população atendida no " Programa de Saúde da Família", Governador Valadares, MG, Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 4, p. 629-636, 2008.
- BRUNING, Maria Cecilia Ribeiro; MOSEGUI, Gabriela Bittencourt Gonzalez; VIANNA, Cid Manso de Melo. 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**, v. 17, p. 2675-2685, 2012.
- CALDORIN, Marielle et al. Ocorrência de *Escherichia coli* produtora de toxina Shiga (STEC) no Brasil e sua importância em saúde pública. BEPA. **Boletim Epidemiológico Paulista (Online)**, v. 10, n. 110, p. 4-20, 2013.

CLSI. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Ninth Edition. CLSI document M07-A9. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012.

CDC - Centers of Disease Control and Prevention. **HAI Data and Statistics 2016**. Disponível em < <https://www.cdc.gov/hai/surveillance/>>. Acesso em 4 de maio de 2017.

CHAICOUSKI, Adeline et al. Determinação da quantidade de compostos fenólicos totais presentes em extratos líquido e seco de erva-mate (*Ilexparaguariensis*). **RBPA**, v. 16, p. 33-41, 2014.

CHERNAKI-LEFFER, A. M. et al. Isolamento de enterobactérias em *Alphitobius diaperinus* e na cama de aviários no oeste do estado do Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 4, n. 3, p. 243-247, 2002.

CROXEN, Matthew A. et al. Recent advances in understanding enteric pathogenic *Escherichia coli*. **Clinical microbiology reviews**, v. 26, n. 4, p. 822-880, 2013.

DE OLIVEIRA, Vania Jesus dos Santos. Caracterização das Produções Científicas Sobre Levantamento Etnobotânico de Plantas Medicinais: Revisão Integrativa. **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v. 21, n. 1, p. 42-47, 2017.

DE SOUSA ARAÚJO, Thiago Antônio et al. A new approach to study medicinal plants with tannins and flavonoids contents from the local knowledge. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 120, n. 1, p. 72-80, 2008.

DIAS, Daniel A.; URBAN, Sylvia; ROESSNER, Ute. A historical overview of natural products in drug discovery. **Metabolites**, v. 2, n. 2, p. 303-336, 2012.

EZEJA, I. Maxwell et al. Antidiarrheal activity of *Pterocarpus erinaceus* methanol leaf extract in experimentally-induced diarrhea. **Asian Pacific journal of tropical medicine**, v. 5, n. 2, p. 147-150, 2012.

FERREIRA, Rute Andreia Pereira. Resistência de Enterobacteriaceae a Antimicrobianos Beta-Lactâmicos. Dissertação (Mestrado), Curso de Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2015.

FIGUEREDO, Climério Avelino de; GURGEL, Idê Gomes Dantas; GURGEL JUNIOR, Garibaldi Dantas. A Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos: construção, perspectivas e desafios. **Physis: Revista de Saúde Coletiva**, v. 24, p. 381-400, 2014.

FIRMINO, FC BINSFELD; BINSFELD, Pedro Canisio. biodiversidade brasileira como fonte de medicamentos para o SUS. 2013.

GOMES, Tânia AT et al. Diarrheagenic escherichia coli. **brazilian journal of microbiology**, v. 47, p. 3-30, 2016.

HOLMES, Alison H. et al. Understanding the mechanisms and drivers of antimicrobial resistance. **The Lancet**, v. 387, n. 10014, p. 176-187, 2016.

JORGE, Schirlei da Silva Alves. **Plantas Medicinais: Coletânea de Saberes**. 2012. Disponível em: <<http://www.agronomiaufs.com.br/index.php/download-e-videos/category/75-downloads#>> (47825636 Plantas Medicinais.pdf). Acessado em: 12 mai. 2018.

KRISHNA, K. L.; PARIDHAVI, M.; PATEL, Jagruti A. Review on nutritional, medicinal and pharmacological properties of Papaya (*Carica papaya* Linn.). 2008.

LEITE, Anna Cecília Pinto et al. PLANTAS MEDICINAIS UTILIZADAS NOS DISTURBIOS GASTROINTESTINAIS: REVISÃO DE LITERATURA. **Mostra Científica da Farmácia**, v. 4, n. 2, 2018.

LOPES, Izabela Souza et al. Levantamento de plantas medicinais utilizadas na cidade de Itapetim, Pernambuco, Brasil. **Revista de Biologia e Farmácia-Biofar**, v. 7, n. 01, p. 115-121, 2012.

MARINHO, Catarina Andreia Moreira. Resistência a antimicrobianos em *Enterococcus* spp. e *Escherichia coli* de equinodermes: um problema ambiental e de saúde pública. 109 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestrado em Genética Molecular Comparativa e Tecnológica, Universidade de Trás-os-montes e Alto Douro, Vila Real, 2013.

MATOS, FJA. Living pharmacies. 4th edn. **Fortaleza: Publisher UFC**, 2002 (Português).

- MESSIAS, Maria Cristina Teixeira Braga et al. Uso popular de plantas medicinais e perfil socioeconômico dos usuários: um estudo em área urbana em Ouro Preto, MG, Brasil. 2015.
- MENEZES, Ana Paula Simões et al. Utilização de plantas medicinais em um município inserido no Bioma Pampa Brasileiro. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 14, n. 2, p. 206-219, 2016.
- MONTEIRO, Julio Marcelino et al. Use patterns and knowledge of medicinal species among two rural communities in Brazil's semi-arid northeastern region. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 105, n. 1-2, p. 173-186, 2006.
- MUNITA, Jose M.; ARIAS, Cesar A. Mechanisms of antibiotic resistance. **Microbiology spectrum**, v. 4, n. 2, 2016
- MUSS, Claus; MOSGOELLER, Wilhelm; ENDLER, Thomas. Papaya preparation (Caricol®) in digestive disorders. **Biogenic Amines**, v. 26, n. 1, p. 1-17, 2012.
- NAYAK, Bijoor Shivananda et al. Wound- healing potential of an ethanol extract of Carica papaya (Caricaceae) seeds. **International Wound Journal**, v. 9, n. 6, p. 650-655, 2012.
- PETROVSKA, Biljana Bauer. Historical review of medicinal plants' usage. **Pharmacognosy reviews**, v. 6, n. 11, p. 1, 2012.
- SARAVANASINGH, K.; RAMAMURTHY, M.; PARTHIBAN, P. Analysis of phytochemical constituents and Antimicrobial activity of Carica papaya. **Int. J. Adv. Res. Biol. Sci**, v. 3, n. 2, p. 329-334, 2016.
- SIRQUEIRA, BRUNO et al. ESTUDO ETNOBOTÂNICO DE PLANTAS MEDICINAIS UTILIZADAS PELA POPULAÇÃO ATENDIDA NO “PROGRAMA SAÚDE DA FAMÍLIA” NO MUNICÍPIO DE JUVENÍLIA, MINAS GERAIS. **Revista Brasileira de Pesquisa em Ciências da Saúde**, v. 1, n. 2, p. 39-45, 2015.
- SOUZA, Julio Cezar de et al. Produção de metabólitos secundários por meio da cultura de tecidos vegetais. 2018.

SILVA, Tarcísio Macedo et al. TRANSFERÊNCIA DE RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA ENTRE ENTEROBACTÉRIAS PATOGÊNICAS DE IMPORTÂNCIA AVIÁRIA-IMPACTOS EM SAÚDE PÚBLICA. **Archives of Veterinary Science**, v. 21, n. 2, 2016.

SURESH, K. et al. Antimicrobial and Phytochemical Investigation of the Leaves of *Carica papaya* L., *Cynodon dactylon* (L.) Pers., *Euphorbia hirta* L., *Melia azedarach* L. and *Psidium guajava* L. **Ethnobotanical Leaflets**, v. 2008, n. 1, p. 157, 2008.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2013.

World Health Organization. **Diarrhoeal disease**. 2 May 2017. Disponível em: <http://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/diarrhoeal-disease> Acessado em 28 Outubro, 2018

World Health Organization, 2014. Antimicrobial resistance: global report on surveillance 2014. Downloaded from <http://www.who.int/drugresistance/documents/surveillancereport/en/>, last accessed on March 4, 2015. [[Google Scholar](#)]

ANEXOS

28/01/2020

E-mail de Webmail da URCA - Submission Confirmation



Cícera Natália Figueiredo Leite <natalia.leite@urca.br>

Submission Confirmation

1 mensagem

Food and Chemical Toxicology <eesserver@eesmail.elsevier.com>
Responder a: Food and Chemical Toxicology <fct@elsevier.com>
Para: natalia.leite@urca.br, cnattalia.leite@gmail.com

28 de janeiro de 2020 22:34

*** Automated email sent by the system ***

Full Length Article

Dear Natalia,

Your submission entitled "CHEMICAL EVALUATION AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF *Carica papaya* L. AGAINST *Escherichia coli* SEROTYPES." has been received by Food and Chemical Toxicology

You may check on the progress of your paper by logging on to the Elsevier Editorial System as an author. The URL is <https://ees.elsevier.com/fct/>.

Your username is: natalia.leite@urca.br
Your password is: *****

Your manuscript will be given a reference number once an Editor has been assigned.

Thank you for submitting your work to this journal.

Kind regards,

Elsevier Editorial System
Food and Chemical Toxicology



Ministério do Meio Ambiente
CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO

SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

Comprovante de Cadastro de Acesso

Cadastro nº AFE5A0B

A atividade de acesso ao Patrimônio Genético, nos termos abaixo resumida, foi cadastrada no SisGen, em atendimento ao previsto na Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos.

Número do cadastro: AFE5A0B
Usuário: nadghia figueiredo leite
CPF/CNPJ: 026.996.683-89
Objeto do Acesso: Patrimônio Genético
Finalidade do Acesso: Pesquisa

Espécie

Lippia alba
Anadenanthera colubrina
Carica papaya

Título da Atividade: AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE PLANTAS MEDICINAIS COM INDICAÇÃO ANTIDIARREICAS CONTRA SOROTIPOS DE Escherichia coli.

Equipe

nadghia figueiredo leite	URCA
Natalia Figueiredo Leite Gondim	URCA
Henrique Douglas Melo Coutinho	URCA

Data do Cadastro: 03/01/2019 18:57:51

Situação do Cadastro: Concluído

Conselho de Gestão do Patrimônio Genético
Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em 14:56 de 11/11/2019.



SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO
DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL
ASSOCIADO - SISGEN