

UNILEÃO
CENTRO UNIVERSITÁRIO LEÃO SAMPAIO CURSO DE GRADUAÇÃO EM
BIOMEDICINA

BRENO LUCCA SOBREIRA PINHO

**PERFIL QUÍMICO, CITOTOXIDADE, CITOPROTEÇÃO, AÇÃO
ANTIBACTERIANA E MODULADORA DO EXTRATO ETANÓLICO DAS FOLHAS
SECAS DE *Turnera subulata* (Charles Plumier).**

Juazeiro do Norte – CE
2022

BRENO LUCCA SOBREIRA PINHO

**PERFIL QUÍMICO, CITOTOXIDADE, CITOPROTEÇÃO, AÇÃO
ANTIBACTERIANA E MODULADORA DO EXTRATO ETANÓLICO DAS FOLHAS
SECAS DE *Turnera subulata* (Charles Plumier).**

Artigo apresentado à Coordenação do Curso de Graduação em Biomedicina do Centro Universitário Leão Sampaio, em cumprimento às exigências para a obtenção do grau de bacharel em Biomedicina.

Orientador: Prof. Me. José Walber Gonçalves Castro.

Juazeiro do Norte – CE

2022

**PERFIL QUÍMICO, CITOTOXIDADE, CITOPROTEÇÃO, AÇÃO
ANTIBACTERIANA E MODULADORA DO EXTRATO ETANÓLICO DAS
FOLHAS SECAS DE *Turnera subulata* (Charles Plumier).**

Artigo apresentado à Coordenação do Curso de Graduação em Biomedicina do Centro Universitário Leão Sampaio, em cumprimento às exigências para a obtenção do grau de bacharel em Biomedicina.

Orientador: Prof. Me. José Walber Gonçalves Castro.

Data de aprovação: / /

BANCA EXAMINADORA

Prof. Me. José Walber Gonçalves Castro
Orientador

Prof^ª. Esp. Vanessa Lima Bezerra
Examinador 1

Prof^ª. Me. Maria Karollyna do Nascimento Silva Leandro
Examinador 2

“Dedico este trabalho a todos os meus amigos que estiveram comigo durante a realização de todo o estudo, tanto de forma indireta quanto indireta, deixo aqui meu muito obrigado a todos”.

AGRADECIMENTOS

Meu agradecimento inicial se dá aos deuses e ao universo, que sempre estiveram comigo, ajudando minha matéria espiritual, me fortalecendo e encorajando, dando sempre forças para prosseguir firme e forte.

Agradeço a minha tia, Marciana, minha mãe e minha avó Duquinha, que estiveram comigo desde que o que está sendo colocado em prática era apenas um sonho distante, sempre me ajudando financeiramente e agindo como pilares, sempre com palavras de apoio, em especial a tia, pelo abrigo que me cedeu durante esses quatro anos, bem como ensinamentos sobre a vida que carregarei durante ela.

Agradeço a todos os meus colegas, que disponibilizaram seu tempo para me ajudar na realização deste estudo, deixo meu muito obrigado a Wallison, Sayonara, José Victor, Bruna, Arthur.

Agradeço infinitamente a Nayane e a Sabrina, minhas amigas, minhas irmãs, obrigado pelas palavras e principalmente pela audição voltada a mim, amo muito vocês.

Agradeço as Técnicas do laboratório de microbiologia, Luzia e Karol e a do laboratório multidisciplinar Amanda, por todo o aparato que foi essencial para a realização do presente estudo.

Agradeço ao meu orientador José Walber Gonçalves Castro, que com suas cobranças e exigências me fez crescer, orientou muito mais que este artigo, me deu norte para a vida pessoal e profissional. Walber atuou muito mais do que um professor, meu pai esteve ausente no auxílio deste trabalho, mas você se fez como um pai pra mim nesse período, obrigado!

Muitos nomes poderiam ser listados aqui, entretanto tenho que ser breve, então deixo aqui os meus mais sinceros agradecimentos a todos os que tiveram de alguma forma me auxiliando e dando apoio nesta longa caminhada.

**PERFIL QUÍMICO, CITOTOXIDADE, CITOPROTEÇÃO, AÇÃO
ANTIBACTERIANA E MODULADORA DO EXTRATO ETANÓLICO DAS FOLHAS
SECAS DE *Turnera subulata* (Charles Plumier).**

Breno Lucca Sobreira Pinho¹; José Walber Gonçalves Castro²

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo realizar a análise do perfil químico e atividades biológicas do extrato etanólico das folhas de *Turnera subulata* (Charles Plumier). O extrato etanólico obtido foi submetido as análises que qualificarão os parâmetros a respeito da composição fitoquímica desta espécie e seus efeitos moduladores. Suas folhas serão colhidas na zona rural da cidade de Acopiara- CE e direcionadas para o município de Juazeiro do Norte-CE para as devidas avaliações sejam realizadas. O apanhado etanólico será produzido por meio de técnicas de trituração, com posterior dissolução e passara por processos de filtragem para ser analisado o perfil químico, em especial os seus compostos secundários e as atividades biológicas. Na prospecção fitoquímica o extrato etanólico das folhas secas de *Turnera subulata* (EETS) evidenciou a presença de princípios ativos como os flavonóides (antocianinas, antocianidinas, flavonóis; xantonas, chalconas, auronas, flavononóis e leucoantocianidinas), Fenóis (taninos catequicos). No presente estudo evidencias uma grande capacidade hemolítica do extrato e apresentou uma apresentou uma CL 50 de 250 µg/ mL, o que pode ser explicado pelo trânsito que ocorre devido a interação do EETS com a difusão e regulação do transporte através da membrana dos eritrócitos. Apartir das análises realizadas o EETS se manifestou com uma concentração inibitória mínima de 1024 µg/ mL e efeito modulador frente a antibióticos da classe dos aminoglicosídeos nas cepas bacterianas *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442, *Staphylococcus aureus* 10 (multirresistente), *Klebsiela pneumoneae* (multirresistente) e a Beta-Lactamicos frente as cepas *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442, *Staphylococcus aureus* 10 (multirresistente), *Klebsiela pneumoneae* (multirresistente) e *Escherichia coli* ATCC 25922. Neste estudo, concluiu-se que os parâmetros químicos e biológicos do extrato estudado, evidenciou-se com atividade antimicrobiana na concentração de 1024 µg/ mL e moduladora frente as cepas supracitadas com ação sinérgica em soma benzilpenicilina frente a *Pseudomonas aeruginosa*, diminuindo a CIM de 512 µg/ mL para 32 µg/ mL e o perfil químico condizente com a atividade moduladora, visto a análise qualitativa da presença de compostos como Terpenos e Flavonóides, justificando a atividade antimicrobiana, bem como a atividade citotóxica apresentou uma apresentou uma CL 50 de 250 µg/ mL, que o extrato possui alta atividade microbiológica e celular.

Palavras-chave: Antibacteriano. Atividade toxicológica. Modulação. Resistência. *Turnera subulata*.

1 Discente do curso de Biomedicina. brenoluccabmls@gmail.com. Centro Universitário Leão Sampaio.

2 Docente do curso de Biomedicina. josewalber@leaosampaio.edu.br. Centro Universitário Leão Sampaio.

CHEMICAL PROFILE, CYTOTOXICITY, CYTOPROTECTION, ANTIBACTERIAL AND MODULATING ACTION OF ETHANOLIC EXTRACT OF DRIED LEAVES OF *Turnera subulata* (Charles Plumier).

ABSTRACT

The present work aimed to carry out the analysis of the chemical profile and biological activities of the ethanolic extract of the leaves of *Turnera subulata* (Charles Plumier). The obtained ethanolic extract was submitted to analyzes that will qualify the parameters regarding the phytochemical composition of this species and its modulating effects. Its leaves will be collected in the rural area of the city of Acopiara-CE and directed to the municipality of Juazeiro do Norte-CE for the necessary evaluations to be carried out. The ethanolic collection will be produced through grinding techniques, with subsequent dissolution and will go through filtering processes to analyze the chemical profile, in particular its secondary compounds and biological activities. In the phytochemical prospection, the ethanolic extract of the dried leaves of *Turnera subulata* (EETS) showed the presence of active principles such as flavonoids (anthocyanins, anthocyanidins, flavonols; xanthones, chalcones, aurones, flavononols and leucoanthocyanidins), Phenols (catechin tannins). In the present study, evidence is shown of a great hemolytic capacity of the extract and presented a CL 50 of 250 µg/ mL, which can be explained by the transit that occurs due to the interaction of EETS with the diffusion and regulation of transport through the erythrocyte membrane. Based on the analyzes carried out, the EETS manifested itself with a minimum inhibitory concentration of 1024 µg/mL and a modulating effect against antibiotics of the aminoglycoside class in the bacterial strains *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442, *Staphylococcus aureus* 10 (multiresistant), *Klebsiella pneumoneae* (multiresistant) and Beta-Lactams against the strains *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442, *Staphylococcus aureus* 10 (multi-resistant), *Klebsiella pneumoneae* (multi-resistant) and *Escherichia coli* ATCC 25922. In this study, it was concluded that the chemical and biological parameters of the studied extract showed activity antimicrobial at a concentration of 1024 µg/mL and modulator against the aforementioned strains with synergistic action in addition to benzylpenicillin against *Pseudomonas aeruginosa*, reducing the MIC from 512 µg/mL to 32 µg/mL and the chemical profile consistent with the modulating activity, given the qualitative analysis of the presence of compounds such as Terpenes and Flavonoids, justifying the activity antimicrobial, as well as cytotoxic activity showed a CL 50 of 250 µg/ mL, which the extract has high microbiological and cellular activity.

Keywords: Anti-bacterial. Modulation. Resistance. Toxicological activity. *Turnera subulata*.

1 INTRODUÇÃO

Uma parcela importante das plantas possui uma grande quantidade de compostos químicos, de classe orgânica e inorgânica, que são capazes de atingir diferentes partes do metabolismo humano. Os compostos nomeados de secundários atuam em diversas plantas na proteção contra insetos, fungos e raios ultravioletas. Estas substâncias também podem possuir ação antibacteriana frente a diferentes cepas sendo fontes promissoras na formulação de novos antibióticos (CARVALHO et al., 2017; NIAZIAN, 2019)

O perfil químico, compreende metabolitos como os terpenos, flavonóides e polifenóis, estes em consorcio ou isoladamente podem ser utilizados na terapia complementar, bem como, forma terapêutica instruída, com dosagens e intervalo de administração com controle, conhecimento esse, advindo de forma cultural, hereditária ou por indicação no tratamento frente a diferentes classes de bactérias. (JUTTE et al., 2017; SZERWIENSKI et al., 2017; WENEGER, 2017).

As plantas possuem também propriedades tóxicas, que estão ligadas justamente aos compostos bioativos da planta, contudo, para que estas propriedades surtam efeitos nocivos é necessário levar em consideração aspectos como a quantidade do composto, a tolerância e a intolerância desse frente ao organismo e condições de caráter ambiental. A intoxicação se torna perceptível ao momento em que se surgem os sinais e sintomas, uma vez que originados são indicativos diretos que a atividade do princípio tóxico já está provocando interferência biológica (SILVA, 2019).

O uso de fitoterápicos como fonte optativa de tratamento em contrapartida aos medicamentos de natureza sintética se dá principalmente devido a sua composição de químicos bioativos. Determinadas ervas produzem compostos químicos para sua proteção frente a possíveis estresses causados por agentes bióticos, como insetos ou microrganismos e abióticos como os fatores ambientais, estas substâncias são mensuradas como metabólitos secundários (LI, 2020).

Os metabólitos secundários estão presentes em plantas da família Turneraceae, como por exemplo: a *Turnera subulata* (Charles Plumier), difundida popularmente como chanana ou flor do guarujá. As plantas que compõem esta família possuem na sua constituição química, compostos da classe dos terpenos, flavonóides, ácidos graxos e estéricos que juntos justificam as propriedades, anti-inflamatória, antimicrobianas e antioxidantes, que pode ser explicada pela capacidade lipofílica da substância evidenciada, podendo com este traço ser capaz de

aumentar as interações químicas(ZELENSKI & LOUZADA, 2019).

Com o uso incorreto de antibióticos, podem se originar processos de formação de mecanismos de resistência nas bactérias, facilitando ainda a transferência destas para outras cepas, disseminando este mecanismo. Assim, é necessária a pesquisa de novos fitoterápicos para usar em sinergismo com outros fármacos, devido a atividades moduladoras fitoterápicas. Além disso, as plantas medicinais são fontes de moléculas promissoras nesse eixo que possuem menor custo se comparada frente a estudos com moléculas sintéticas (IANCK et al., 2017; COSTA et al., 2017).

Turnera subulata (Charles Plumier) apresenta atividade antimicrobiana, sendo assim, capaz de combater determinados patógenos, podendo contribuir posteriormente no desenvolvimento de novos fármacos. Os componentes bioativos como os terpenos, flavonóides e polifenóis presentes no extrato desta são capazes de gerar inúmeras respostas no organismo humano, apresentando efeito agonista e antagonistas emreceptorese atividades metabólicas, que ocasionam benéficos como sua atividade moduladora, além da capacidade antimicrobiana, antitussígena, expectorante, diurética e anticoagulantes. Diante disso, o objetivo do presente estudo é analisar o perfil químico e atividades biológicas do extrato etanólico das folhas secas de *Turnera subulata* (Charles Plumier), atividades essas as de citoproteção e citotoxicidade.

2 MATERIAS E MÉTODOS

2.1 TIPO E LOCAL DE ESTUDO

Esta pesquisa trata-se de um estudo experimental, que inclui uma pré-tese para testar uma hipótese. Os resultados obtidos neste artigo são de suma importância e contribuição para o aprimoramento e desenvolvimento de novas técnicas científicas na descoberta do novo. Os experimentos foram realizados nos laboratórios de Microbiologiae Bromatologia do Centro Universitário Doutor Leão Sampaio-UNILEÃO, *Campus* Saúde, Juazeiro do Norte-CE.

2.2 COLETA E IDENTIFICAÇÃO DO MATERIAL VEGETAL

As folhas frescas de *Turnera subulata* foram coletadas no Sitio Serraria II, Nº 246, localizado no distrito de Trussu no município de Acopiara, CE com as coordenadas localizadas em 6° 06'03" S 39° 43'25"W e levadas para o municípiode Juazeiro do Norte, CE para realização do presente estudo. Uma exsicata do material botânico foi depositada no herbário

Dárdaro de Andrade Lima da Universidade Regional do Cariri (URCA), cujo qual, se obteve o número de registro do tombamento 15.183.

2.3 SELEÇÃO DO EXTRATO

As folhas de *Turnera subulata* (Charles Plumier) foram selecionadas, secas a temperatura ambiente e em seguida trituradas para aumentar a superfície de contato, submersas em Éter P.A para extração a frio por um período de 72 horas, de acordo com Simões et al. (2010). A mistura foi submetida a filtração com a finalidade de remover as possíveis impurezas contidas no material, e a destilação do solvente ocorreu em evaporador rotativo sob pressão reduzida a temperatura controlada entre 30-40 °C. O rendimento obtido do extrato fora 3,32% em relação ao peso das folhas de 85,79 g antes da extração, se obtendo assim, um total de 2,85 g de rendimento.

2.3.1 Prospecção fitoquímica

A prospecção fitoquímica foi realizada de acordo com a metodologia de Matos (2009) e Simoes et al. (2010) com um princípio elucidativo das classes de metabólitos secundários como flavonóides, alcalóides, taninos, dentre outros, baseiando-se em uma observação de caráter visual, com foco e interpretação na intensificação da cor ou formação de precipitado após adição de reagentes específicos nas soluções das amostras.

2.4 AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA E CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM)

A atividade antimicrobiana foi avaliada através do método de microdiluição com base no CLSI (2012). Foram utilizadas bactérias padrões e cepas resistentes destas, sendo três Gram positivas: *Staphylococcus aureus* ATCC 12624 e *Enterococcus faecalis* ATCC 4083 e as Gram negativas: *Escherichia coli* ATCC 10536, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442, bem como as multiresistentes *Staphylococcus aureus* 10 e *Klebsiella Pneumoniae Carbapenemase*. Todas as linhagens foram concedidas pelo Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais – LPPN da Universidade Regional do Cariri – URCA.

As linhagens bacterianas foram ativadas em meio *Brain Heart Infusion Broth* (BHI 3,8 %) e mantidas na estufa por 24 horas. Após o primeiro cultivo o inóculo foi padronizado a partir

da concentração de aproximadamente de 1×10^8 UFC/mL (turbidezda escala de McFarland). Em seguida, esta suspensão será diluída em caldo BHI a 10 % e volumes de 100 μ L serão adicionados e homogeneizados nos poços de uma placa de microdiluição acrescido da concentração de 1024 μ g/ mL do produto vegetal. As placas serão incubadas a 37°C por 24 horas. Os experimentos serão realizados em triplicata.

A atividade antibacteriana foi detectada através do método colorimétrico utilizando 25 μ L de resazurina sódica (0,01%) após o período de incubação. A concentração inibitória mínima (CIM) e determinada como a menor concentração do extrato capaz de inibir o crescimento bacteriano (SALVAT, 2001).

2.5 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE MODULADORA

O teste de modulação sucedeu realizado na presença e na ausência do composto natural através de microdiluição em triplicata. Para avaliar a atividade moduladora realizou a utilização da CIM, do extrato etanólico frente aos antibióticos da classe aminoglicosídeos (gentamicina e amicacina) e beta-lactâmicos (benzilpenicilina e cefalotina).

A quantidade do extrato etanólico deu-se calculada pela concentração sub inibitória (CIM/8). Os inóculos bacterianos em BHI a 10 % foram distribuídos na microplaca seguido da microdiluição de 100 μ L das soluções de antibióticos (1024 μ g/ mL). Transcorreu-se a realização de seguidas diluições obtendo as concentrações do antibiótico que variam de 512 a 0,5 μ g/ mL (COUTINHO et al., 2008).

O teste deu-se monitorado com um controle positivo contendo apenas os antibióticos e os microrganismos. As placas microdiluídas foram incubadas a 37 °C por 24horas e a leitura evolui procedida com auxílio resazurina sódica como descrito anteriormente (COUTINHO et al., 2008).

2.6 AVALIAÇÃO DO EFEITO TOXICOLÓGICO

2.6.1 Toxicidade frente a *Artemia Salina*

No que se relaciona a toxicidade da planta, foi avaliada frente ao microcrustáceo *Artemia salina* (Leach). O teste foi efetuado em triplicata, com as concentrações de 10, 25, 50, 100, 250 e 500 μ g/mL, em consórcio a um controle positivo contendo dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$), bem como um controle negativo com água marinha. Após 24 horas foi realizada a leitura de

cistos sobreviventes. O cálculo da Concentração Letal de 50 % (CL₅₀) será realizado por regressão linear, sendo considerado significativo quando CL₅₀ < 1000 µg/mL (MEYER et al., 1982; HIROTA et al., 2012).

2.6.2 Atividade citotóxica em hemácias

As amostras sanguíneas contendo as hemácias utilizadas durante o ensaio foram colhidas em um tubo com o anticoagulante Citrato de Sódio presente nele, bem como efetuou-se uma média de 6 lavagens com centrifugação de 3500 rpm por 15 seg cada. Para a análise e a realização dos testes relacionados a atividade citotóxica do extrato etanólico de *Turnera subulata* em hemácias humanas, o presente estudo foi submetido ao Comitê de Ética da instituição via Plataforma Brasil, cujo qual se obteve a numeração 62719522.5.0000.5048 do CAAE.

O ensaio tem como base em Freitas et al (2017), com os protocolos referentes de adaptação. As hemácias e a solução de estoque foram expostas a diferentes concentrações de solução salina de 10, 25, 50, 100, 250, 500 e 1000 µg/ mL.

Após as formulações das concentrações, foram realizadas a incubação das mesmas no Banho Maria a 37 °C de 15 a 30 minutos. Após essa etapa de incubação, foi adicionada solução salina, cujo qual, também fora para o banho maria, entretanto a um período de 30 minutos a 1 hora. Após as etapas anteriores, efetuou-se lavagens das amostras que foram concentradas, centrifugando-as a 3500 rpm por 15 segundos, com isso, foi coletado o sobrenadante e levado a análise pelo espectrofotômetro com o filtro de absorvância em 540 nm (BARROS, 2018).

A análise do precipitado foi indispensável, esta é realizada com a retirada de uma alíquota deste material, realizar o esfregaço sanguíneo e realizar a coloração nomeada de *May grunwald- giemsa* ou *Leishman*, após esse processamento as lâminas são levadas a microscopia com observância na objetiva de 100x (TAVARES, 2021).

2.6.3 Atividade citoprotetora em hemácias

As amostras sanguíneas contendo as hemácias utilizadas durante o ensaio foram colhidas em um tubo com o anticoagulante Citrato de Sódio presente nele, bem como efetuou-se uma média de 6 lavagens com centrifugação de 3500 rpm por 15 seg cada. Para a análise e a realização dos testes relacionados a atividade citoprotetora do extrato etanólico de *Turnera subulata* em hemácias humanas, o presente estudo foi submetido ao Comitê de Ética da

instituição via Plataforma Brasil, cujo qual, se obteve a numeração 62719522.5.0000.5048 do CAAE.

As hemácias foram expostas a diferentes concentrações de NaCl em 0,12%, 0,24%, 0,36%, 0,48%, 0,60%, 0,72% e 0,9%. Foi realizada incubação no Banho Maria a 37°C, de 30 minutos a 1 hora. Após esse período de incubação foi efetuada a centrifugação das amostras que foram concentradas, centrifugando-as a 3500 rpm por 15 segundos, com isso, foi coletado o sobrenadante e levado a análise pelo espectrofotômetro com o filtro de absorvância em 540 nm. Para o controle positivo foi utilizado solução salina a 0,9 %, preparada a partir da diluição de 0,9 gramas de NaCl em 100 ml de água destilada (BARROS, 2018).

2.7 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os resultados dos ensaios toxicológicos foram avaliados através do modelo de regressão linear e teste de Tukey por comparação múltipla. Os testes microbiológicos foram analisados pelo ANOVA bidirecional seguida pelo teste de Bonferroni utilizando software GraphPad Prism 7.0. Os resultados em $p < 0.05$ foram considerados estatisticamente significativos.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA

A prospecção fitoquímica do extrato etanólico das folhas secas de *Turnera subulata* (EETS) evidenciou a presença de princípios ativos como os flavonóides (antocianinas, antocianidinas, flavonóis; xantonas, chalconas, auronas, flavononóis e leucoantocianidinas) e Fenóis (taninos catequicos) (Tabela 1).

Tabela 1. Resultado da prospecção fitoquímica do Extrato Etanólico das folhas de *Turnera subulata*.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
EETS	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-

Fonte: própria do autor. 1: Fenóis; 2: Taninos hidrolisáveis; 3: Taninos condensados; 4: Antocianinas; 5: Antocianidinas; 6: Flavonas; 7: Flavonóis; 8: Xantonas; 9: Chalconas; 10: Auronas; 11: Flavononóis; 13: Catequinas; 14: Leucoantocianidinas; 15: Saponinas. (+) presente; (-) ausente.

De acordo com Carvalho (2017), os metabólitos secundários são substâncias que atuam em diversas plantas na proteção contra insetos, fungos e raios ultravioletas, compostos esse como os flavonóides. No organismo humano, possuem funções como, as de agonistas e antagonistas de processos bioquímicos. Estas substâncias também podem possuir ação antibacteriana frente a diferentes cepas, essa atividade microbiológica é promissora e as propriedades relacionadas a ela vinculadas as plantas são fontes de estudos a respeito da formulação de novos antibióticos.

O EETS apresentou uma ampla variabilidade de fenólicos em sua composição química secundária, que atuam em sua proteção física estrutural em resposta a presença em seus âmbitos de bactérias que possam prejudicar sua conjuntura e seu pleno funcionamento, atuando como antibacterianos naturais. Segundo os estudos de Zelenski & Louzada (2019) as plantas da família Tuneraceae são portadoras de compostos da classe dos terpenos e flavonóides, que justificam as propriedades anti-inflamatória, antimicrobianas e antioxidantes, que pode ser explicada pela capacidade lipofílica da substância evidenciada, podendo com este traço ser capaz de aumentar as interações químicas.

Outros compostos secundários encontrados que são pertencentes as classes dos

polifenóis, foram os Taninos, estes também funcionam como mecanismo de defesa e possuem ação adstringência, causando sabor amargo ao ser ingerido. Rockenbach et al. (2018) ressalva que os polifenóis são deveras importantes para a polinização da planta, proteção contra insetos e raios ultravioletas. Outros produtos acondicionados a planta são os Terpenos, cujo quais apresentam propriedades bactericidas, fungicidas e fitoterápicas e matéria prima de todos os óleos essenciais, uma vez que intensificam os sensoriais dos alimentos.

Os flavonóides são os metabolitos secundários mais abundantes na *Turnera subulata*, segundo Azevedo (2019), os flavonóides são conhecidos como bioflavonoides ou vitamina P que é um dos compostos bioativos desta, componente este que é um metabólico secundário da classe dos polifenóis, possui atividade antioxidante em decorrência dos radicais fenólicos que estão presentes em sua estrutura, podendo também ser eficaz na profilaxia de doenças neurodegenerativas.

3.2 ENSAIOS ANTIBACTERIANOS E CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM).

O Extrato Etanólico de *Turnera subulata* apresentou atividade inibitória contra as bactérias dos gêneros Gram positivas e Gram negativas. Os microrganismos das linhagens padrão das bactérias Gram positivas apresentaram uma CIM $\geq 1.024 \mu\text{g/mL}$, as pertencentes a classe padrão das Gram negativas se obteve uma CIM semelhante a anterior, obtendo resultados também $\geq 1.024 \mu\text{g/ mL}$. Os organismos resistentes testados frente ao EETS manifestaram uma CIM $\geq 1.024 \mu\text{g/ mL}$ (Tabela 2).

Tabela 2. Concentração inibitoria minima do EETS frente as cepas bacterianas Gram negativas e Gram positivas.

EEAS	
BACTÉRIAS	CIM ($\mu\text{g/mL}$)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 12624	≥ 1024
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 4083	≥ 1024
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 15442	≥ 1024
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	≥ 1024
<i>Staphylococcus aureus</i> 10 multirresistente	≥ 1024
<i>Klebsiela pneumoneae</i> ATCC 4352	≥ 1024

Fonte: própria do autor

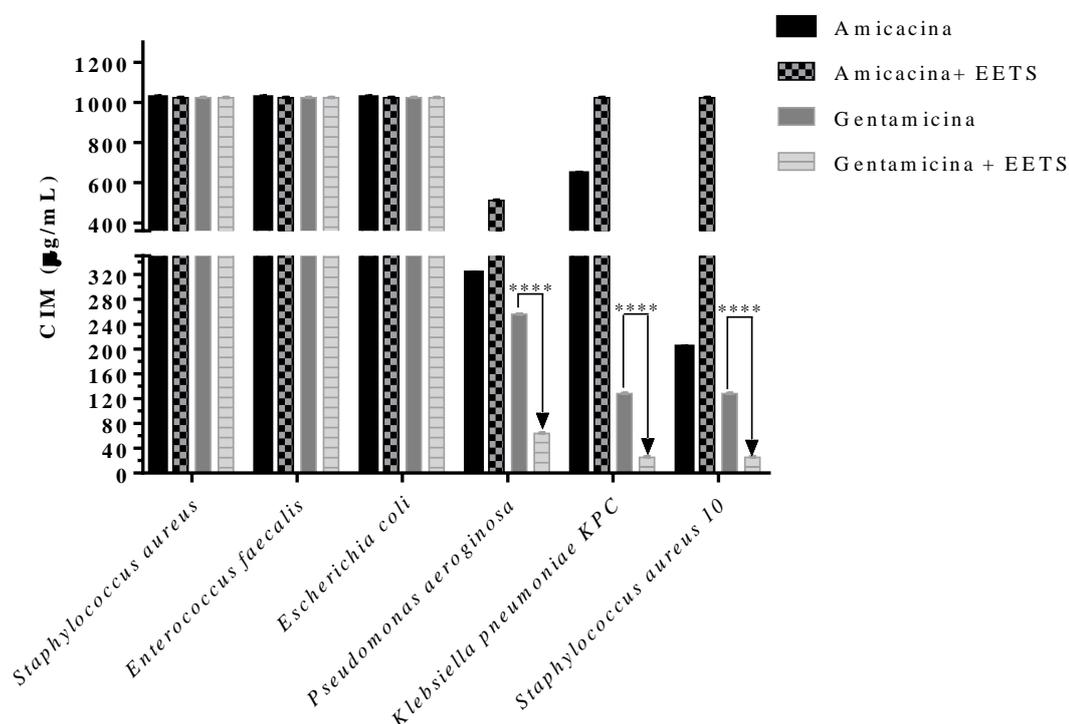
O produto vegetal não demonstrou um nível clínico confiável, o que ocorreu em ambas as bactérias estudadas, demonstrando baixa efetividade na atividade antibacteriana com a presença de baixas quantidades de extrato frente aos organismos Gram positivos e Gram negativos. No que se diz respeito as bactérias multirresistentes estudadas, como a *Staphylococcus aureus* 10 multirresistente, manifestou-se uma concentração inibitória maior ou igual 1.024 µg/mL, evidenciando resultados semelhantes as cepas padrão, o que também evidencia uma baixa resposta ao microrganismo no que se diz respeito a atividade antibiótica do EETS (Gráfico 2).

Borges (2017) explana sobre a baixa atividade clínica implementada pelo EETS contra diferentes cepas de *S. aureus* e *E. coli*, apresentando sua faixa de controle de crescimento bacteriano, evidenciando uma concentração, média de 3.125 µg/ mL, cujo qual, nesta concentração os microrganismos pararam seu crescimento.

Existem inúmeros trabalhos que visam a explanação e a comprovação de dados científicos concretos a respeito da atividade antibacteriana das espécies da família *Turneraceae*, esses estudos apresentam algumas diferenciações de testes em relação ao presente estudo. Os testes de Borges (2017) e Luz et al. (2021), que fazem o uso de extratos provenientes da *Turnera subulata*, exibiram resultados deveras relevantes e elevada atividade antimicrobiana contra outras cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus* MRSA. No presente estudo a CIM das cepas bacterianas estudadas fora menos significativa em relação as abrangidas pelos autores descritos.

3.3 ATIVIDADE MODULADORA

Gráfico 1. Resultado do potencial modulador do EETS na atividade antibiótica de aminoglicosídeos frente as cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 12624, *Enterococcus faecalis* ATCC 4083, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* 10 (multirresistente), *Klebsiella pneumoniae* KPC (multirresistente).



Fonte: própria do autor. ANOVA bidirecional seguida pelo pós-teste de Bonferroni, usando o software GraphPad Prism 7.0. ****p < 0,0001.

Frente as cepas padrão de *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* e *Escherichia coli* não foram apresentadas mudanças significativas quanto a CIM destes em relação a ação moduladora dos aminoglicosídeos testados, permanecendo a concentração inibitória de 1024 µg/mL. Em contrapartida, frente a cepa de *Pseudomonas aeruginosa* o extrato mostrou-se com efeito antagônico com a amicacina, aumentando a CIM de 128 µg/mL para 512 µg/mL, o que pode estar associado a uma nutrição da bactéria pelo extrato, entretanto a para gentamicina o efeito causado pelo EETS foi sinérgico, reduzindo a CIM de 256 µg/mL para 64 µg/mL.

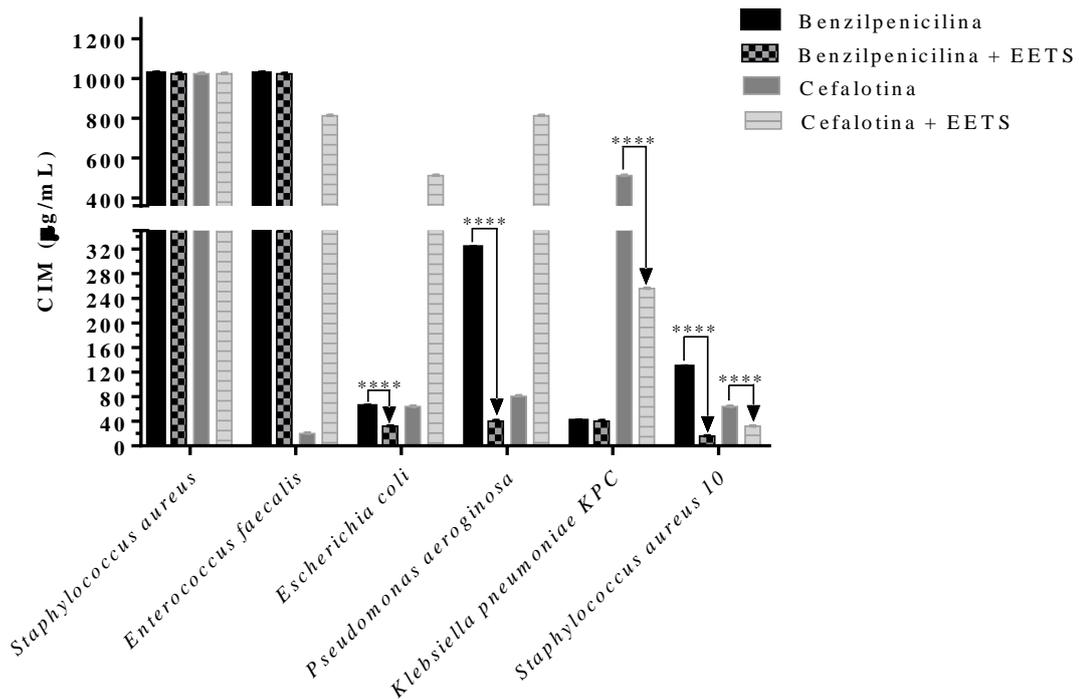
A amicacina + EETS se manifestou com ação antagônica contra as cepas multirresistentes de *Staphylococcus aureus* 10 e *Klebsiella pneumoniae*, aumentando a CIM de 512 µg/mL para 1024 µg/mL respectivamente, o que pode se correlacionar com a múltipla resistência que estas cepas apresentam, o que ocasiona limitações terapêuticas no tratamento. Segundo Dienstmann (2010) a *Klebsiella pneumoniae* pode desenvolver resistências por meio de produção de mecanismos de resistência enzimáticos, sendo atribuída a presença de betalactamases cromossômicas e permeabilidade dos canais de porina, uma vez que as cepas de *S. aureus* multirresistentes podem adicionar plasmídeos de resistência.

A solução gentamicina + EETS evidenciou ação sinérgica, diminuindo a CIM das cepas multirresistentes de 128 µg/mL para 64 µg/mL. É de conhecimento farmacológico que os antibióticos pertencentes a classe dos aminoglicosídeos como a gentamicina possuem deveras uma forte ação de penetração na parede celular bacteriana, bem como podem interferir na síntese proteica da mesma, possuindo essa atividade em especial nas cepas pertencentes a família das Enterobactereaceae.

Os aminoglicosídeos, segundo Ribeiro (2017), são de uma das classes mais antiga de antibióticos, apresentando grande espectro de ação, com atividade em bactérias aeróbicas Gram-negativas, sendo moderadamente ativos contra bactérias aeróbicas Gram positivas, bem como não apresentam efetividade em anaeróbicas estritas. São capazes de inibir a síntese proteica, uma vez que se ligam-se aos ribossomos das bactérias de forma irreversível.

Segundo Cicero (2018), o extrato etanólico de *Turnera subulata* (Charles Plumier) apresenta efeitos potencialmente antibacterianos e até mesmo moduladores de determinados antibióticos na forma *in vitro*, modulação essa associada principalmente aos taninos e flavonóis presentes no extrato, como também em associação a aminoglicosídeos, bem como na sua forma isolada, entretanto essa capacidade antimicrobiana está correlacionada com a cepa bacteriana associada ou não a presença de taninos e flavonóis, o que pode justificar o sinergismo que ocorreu entre o fármaco desta classe e o EETS.

Gráfico 2. Resultado do potencial modulador do EETS na atividade antibiótica de beta lactâmicos frente às cepas *Staphylococcus aureus* ATCC 12624, *Enterococcus faecalis* ATCC 4083, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* 10 (multirresistente), *Klebsiella pneumoniae* KPC (multirresistente).



Fonte: própria do autor. ANOVA bidirecional seguida pelo pós-teste de Bonferroni, usando o software GraphPad Prism 7.0. ****p <0,0001.

Frente a cepa padrão de *Staphylococcus aureus*, não houve ação moduladora do extrato sobre os fármacos empregados no teste, não havendo assim mudanças significativas na CIM deste, o que ocorreu também com a *Enterococcus faecalis* padrão, que não ocorreu mudança na CIM quando o fármaco implementado ao extrato foi a Benzilpenicilina.

Foi observado um efeito antagônico muito expressivo do extrato em conjunto com cefalotina no combate a cepa padrão de *Enterococcus faecalis*, aumentando a CIM de 64 µg/mL para 512 µg/mL, fato esse que também ocorreu na cepa padrão de *Pseudomonas aeruginosa*, ocorrendo um aumento da CIM que se encontrava em 64 µg/mL e se elevou para 1024 µg/mL.

Os betas lactâmicos são antibióticos altamente toleráveis pelo organismo humano, entretanto o uso indiscriminado destes, podem ocasionar resistência em determinados microrganismos, o que vem a justificar a fortificação destas cepas em relação a solução

empregada, de modo que estas acharam em um dos componentes do extrato, uma molécula capaz de dar nutrientes que a torne mais forte e resistente contra o antibiótico.

Em contrapartida aos casos de antagonismo ou de permanência da CIM entre a conjuntura extrato + Fármaco em relação ao antibiótico isolado, se teve casos de sinergismo bem aparentes, como o que ocorreu com a Benzilpenicilina frente a *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e a multirresistente *Staphylococcus aureus* 10, reduzindo a CIM de 64 µg/mL para 32 µg/mL, de 512 µg/mL para 32 µg/mL e 64 µg/mL para 32 µg/mL respectivamente.

No que se refere a sinergismo da cefalotina + EETS, ouve este efeito nas cepas multirresistentes *Klebsiela pneumoniae*, reduzindo a CIM anterior de 512 µg/mL para 256 µg/mL e *Staphylococcus aureus* 10, de 64 µg/mL para 32 µg/mL. Segundo Borges 2017, A *Turnera subulata* (Charles Plumier) apresenta grande potencial inibitório contra o crescimento bacteriano de algumas espécies, como *Staphylococcus spp.*

Os antibióticos pertencentes a classe dos betas- lactâmicos são capazes de atuar inibindo a biossíntese da parede celular bacteriana, estes por sua vez são os que possuem uma maior variabilidade em sua família, sendo a maior classe antibiótica do mercado. Possuem compostos naturais e sintéticos que são caracterizados pela presença de um anel beta- lactâmico com uma cadeia lateral variável, apresentando assim diferentes espectros de ação e padrões de resistência as beta-lactamases de cada fármaco dessa classe.

Em decorrência do uso indiscriminado de antibióticos de ordem Beta-lactâmicos, teve-se a formação de um novo mecanismo de resistência bacteriana, as bactérias produtoras de carbapenemases, que se funda em um princípio enzimático hidrolítico que é capaz de inativar o princípio ativo pertencente ao fármaco utilizado, como cita Rubio et al. (2017).

Os compostos bioativos presentes no manancial dos produtos naturais são capazes de disponibilizarem uma área mais enriquecida e que dispõe de mais disponibilidade de substâncias químicas em comparação por exemplo a compostos sintéticos catalogado e disposto no mercado, ou seja, é de grande valor para o combate da resistência bacteriana. Entretanto, com todas as vantagens e sucessos obtidos em estudos com este cunho, identificar as substâncias bioativas e conseguir isolar uma quantidade de material biológico suficiente pode ser deveras desafiador (ATANASOV, 2021).

3.4 ATIVIDADE TOXICOLÓGICA

3.4.1 Toxicidade em *Artemia salina*

Segundo Silva (2019), a atividade toxicológica de uma planta depende diretamente dos seus princípios metabólicos contidos em sua composição química, entretanto, estes compostos necessitam de outros fatores para apresentarem o metabolismo com esta característica, como por exemplo a quantidade a ser ingerida, tolerância, condições de caráter ambiental e a própria intolerância do organismo intoxicado.

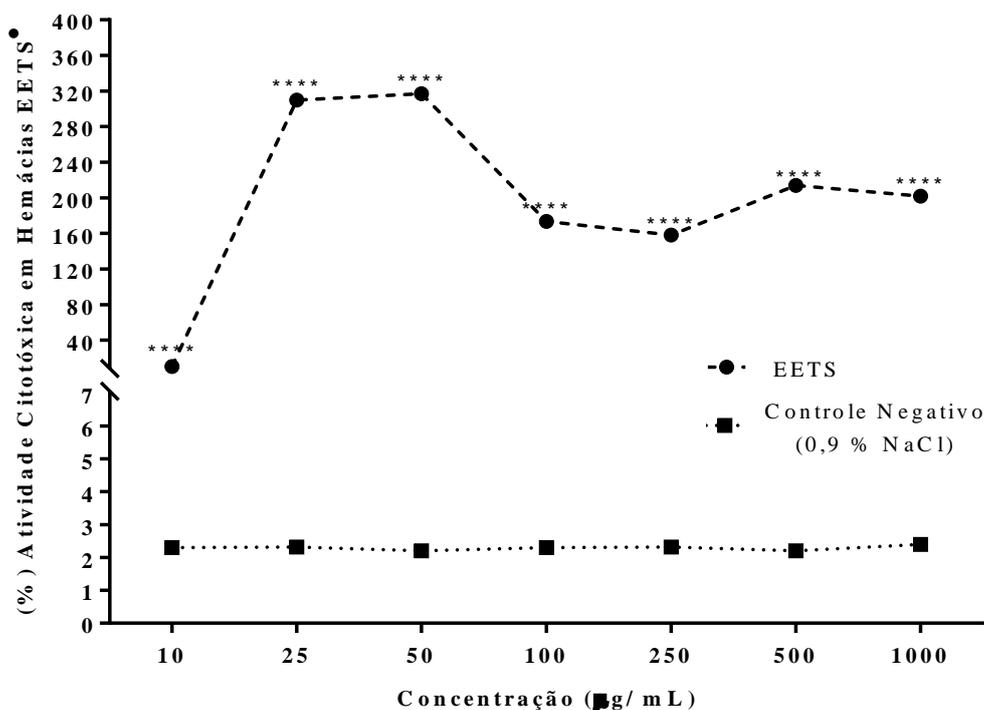
No quesito toxicidade, o EETS, apresentou uma CL_{50} de 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Segundo Hirota 2012, o ensaio relacionado a letalidade utilizando *Artemia salina* é uma prática amplamente utilizada para realizar estudos no que se diz respeito ao potencial tóxico de determinadas substâncias ou extratos de cunho natural, agindo e perdurando mesmo em meio ao avanço tecnológico no meio científico. Mesmo sendo considerada uma metodologia relativamente simples, esta é capaz de gerar informações imprescindíveis e que apresentam grande importância, de forma rápida, econômica e com reprodutibilidade.

Uma vez presente o estudo do efeito maléfico de certas plantas é possível a partir deste a interpretação dos sinais e sintomas que podem surgir, ou seja, se está presente sintomatologia no animal, é indicio direto que o princípio tóxico já está interferindo no metabolismo celular, interferência essa que é influenciada principalmente em decorrência da quantidade degustada do agente intoxicante pelo enfermo.

Com a CL_{50} de 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ estabelecida pelo estudo, pode se efetivar que o extrato do presente estudo se trata sim, de uma substância tóxica, uma vez que segundo Rodrigues 2020, os extratos brutos que apresentam uma CL_{50} inferior a 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ são classificados como altamente tóxicos, os que apresentarem valores entre 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ e 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ são moderadamente tóxicos, os que manifestarem valores entre 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ e 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ levemente tóxicos, e aqueles com valores de CL_{50} acima de 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ são considerados atóxicos.

3.4.2 Citotoxicidade e citoproteção em hemácias

Gráfico 3. Fragilidade osmótica (citotoxicidade) de amostras de sangue tratadas ou não com diferentes concentrações do Extrato Etanólico das folhas de *Turnera subulata* (EETS).



As amostras de sangue foram incubadas com diferentes concentrações do extrato com solução de cloreto de sódio (0,9% NaCl), como controle. A porcentagem de hemólise foi calculada e “curvas de fragilidade” foram traçadas plotando a porcentagem de hemólise (% de hemólise) para cada concentração de extrato (em relação a 100% do tubo de hemólise -0,12% NaCl). Os resultados foram analisados por ANOVA de duas vias seguido do Test Bonferroni. “a” vs controle negativo quando * = $p < 0,05$, *** = $p < 0,01$ e **** = $p < 0,0001$. Foi usado o programa GraphPad Prism 7.0.

O gráfico 3 demonstra a curva dose- resposta do EETS nas concentrações de 10 mg/mL, 25 mg/mL, 50 mg/mL, 100 mg/mL, 250 mg/mL, 500 mg/mL e 1000 mg/mL. Os resultados do teste empregado mostram que as doses do extrato que foram capazes de promover efeitos nocivos aos eritrócitos foram 25 mg/mL, 50 mg/mL, 100 mg/mL, 250 mg/mL, 500 mg/mL e 1000 mg/mL, evidenciando assim um análise mais intrínseca, onde se observa que a cada proporção aumentada da concentração do extrato, maior é sua capacidade hemolítica. A partir dos dados expressados no gráfico pode-se observar que a menor dose com potencial hemolítico foi de 25 mg/mL.

Segundo Silva (2019), a atividade toxicológica de uma planta depende diretamente dos

seus princípios metabólicos contidos em sua composição química, entretanto, estes compostos necessitam de outros fatores para apresentarem o metabolismo com esta característica, como por exemplo a quantidade a ser ingerida, tolerância, condições de caráter ambiental e a própria intolerância do organismo intoxicado. Uma vez presente o estudo do efeito maléfico de certas plantas é possível a partir deste a interpretação dos sinais e sintomas que podem surgir, ou seja, se está presente sintomatologia no animal, é indicio direto que o princípio tóxico já está interferindo no metabolismo celular, interferência essa que é influenciada principalmente em decorrência da quantidade degustada do agente intoxicante pelo enfermo.

Os benefícios das plantas medicinais são deveras inúmeros, entretanto conhecer seus princípios tóxicos é de extrema necessidade, uma vez que, é capaz de se medir o risco/benefício. Segundo Zelenski (2019), esses produtos naturais podem ser ingeridos de diversas maneiras, como na forma de infusão, chás ou a planta em natura, podendo aumentar as concentrações séricas de substâncias que estão presentes em sua conjuntura química como há exemplo temos os terpenos, polifenóis, flavonoides e terpenos.

Segundo Freitas et al. (2010), os compostos químicos dessa conjuntura podem apresentar efeitos tóxicos as hemácias, o teste de fragilidade osmótica (citotoxicidade) é capaz de dosar a concentração do extrato que em contato com os eritrócitos causara instabilidade na funcionabilidade da membrana destas células, analisando a ocorrência da lise de suas membranas plasmáticas por meio de concentrações expressas em porcentagem, visualizadas em diferentes concentrações de NaCl.

Segundo Barros (2018), o teste de citotoxicidade é realizado também com o intuito de verificar a interação do extrato com a membrana dos eritrócitos, essa ação pode ser manifestada com ação protetiva ou disruptiva, quando há o rompimento da membrana plasmática, dependendo da concentração do extrato implementado.

No presente estudo fora evidenciado uma grande capacidade hemolítica do extrato, o que pode ser explicado segundo Figueiredo (2018), uma vez que, o trânsito que ocorre devido a interação do pelo trânsito que ocorre devido a interação do EETS com a difusão e regulação do transporte através da membrana dos eritrócitos. A membrana plasmática é composta de uma bicamada lipídica, com inúmeras funções, dentre elas a de transporte de substâncias para dentro ou fora da célula, cujo qual, é a fonte de estudo deste trabalho correlacionando esta função a aplicação do EETS.

Segundo Figueiredo et al. (2018), os principais lipídeos de membrana são os fosfolipídios, colesterol e o glicerol, esses componentes são capazes de preservar a integridade física das células eucariontes animais e manter a termorregulação destas, podendo promover

também a difusão de substâncias que apresentam caráter lipossolúvel intracelular. Quando são os eritrócitos são expostos a substâncias lipossolúveis, como é o caso do EETS, os componentes presentes no extrato conseguem atravessar facilmente a membrana destas células, alterando assim a sua homeostase.

Uma outra explicação provável para o forte potencial penetrante do extrato na membrana dos eritrócitos é a presença de altas doses de terpenos presente no mesmo, que segundo Barros (2018), os terpenos são capazes de aumentar o fenômeno chamado de particionamento, esse princípio pode ser usado para a penetração de determinadas drogas nas membranas celulares. Os terpenos realizam essa atividade aceleradora por meio da partição lipídica/ proteica.

Segundo Barreiros (2006), os terpenos interagem com as estruturas intracelulares, permitindo um aumento na difusividade, podendo assim esse efeito não ser devido ao processo de partição, ocorrendo assim uma maior difusão de substâncias do meio intracelular em decorrência da capacidade lipossolúvel da membrana plasmática dos eritrócitos. O aumento do gradiente de concentração, que ocorre do meio hipotônico para o hipertônico, leva a hemólise, devido a permeação de compostos citoplasmáticos.

Outra vertente em tese do que pode levar essa lise é o rompimento grosseiro da membrana plasmática levando ao extravasamento e oxidação dos lipídeos. Segundo Barreiros (2006) a oxidação dos lipídeos de membrana interfere no transporte tanto de caráter passivo quanto ativo através da membrana celular, levando a sua ruptura e posteriormente a morte celular.

Gráfico 4. Citoproteção de amostras de sangue tratadas ou não com diferentes concentrações do Extrato Etanólico das folhas de *Turnera subulata* (EETS).

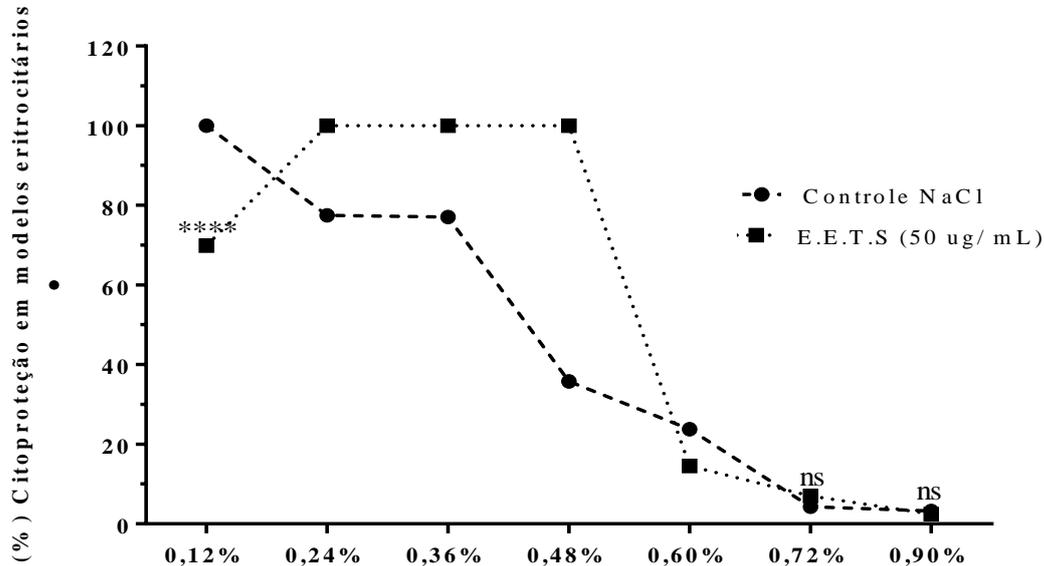


Gráfico da atividade citoprotetora do extrato etanólico das folhas de *T. subulata* na concentração de 50 ug/mL frente a variações de NaCl. Os resultados foram analisados por ANOVA de duas vias seguido do Test Bonferroni. “a” vs controle negativo quando * = $p < 0,01$, *** = $p < 0,001$ e **** = $p < 0,0001$. Foi usado o programa GraphPad Prism 7.0.

A concentração que evidenciou um quadro maior de citoproteção, como pode ser observado no gráfico 4, foi a de 50 $\mu\text{g/mL}$ obtida na concentração de 0,12 % de NaCl (0.12% NaCl + DMSO) no meio, evidenciando esta atividade na concentração de maior aporte do composto salino frente ao EETS. A citoproteção em modelos eritrocitários não foi passível de análise positiva nas concentrações de NaCl, sendo os mesmos não significativos em 0,60%, 0,72% e 0,90%.

Ao analisar a literatura, observou-se em Barros (2018) que quando as hemácias são expostas a meios hipertônicos, estas células são acometidas com um edema, esta dinâmica celular ocorre em resposta ao processo osmótico com o gradiente de concentração, esta ação previne a morte celular, entretanto em determinadas concentrações isotônicas esta metodologia seja comprometida e não seja passível de realização.

Nos estudos de Borges (2017) evidencia a presença de compostos bioativos como triterpenos, flavonóis e glicídios, estes compostos causam efeitos protetivos e potencializadores

proteicos e reacionais nas células. Nos estudos de Helander et al. (1998), afirma que compostos secundários como os flavonóis e os terpenos são capazes de provocar atividades de cunho citoprotetor como de citotoxicidade em células, dependendo das situações cujo qual, estão submetidas.

4 CONCLUSÃO

Tendo em vista os eventos e realizações metodológicas utilizadas no presente trabalho, foi possível identificar que o extrato evidenciou a atividade antibacteriana obtendo-se uma concentração inibitória mínima de 1024 µg/mL frente as cepas bacterianas estudadas, tanto padrões como as resistentes. A atividade moduladora ocorreu principalmente frente a cepa de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442, reduzindo a CIM de 512 µg/mL para 32 µg/mL com a benzilpenicilina, frente a gentamicina diminuindo a CIM sinergicamente das cepas multirresistentes de 128 µg/mL para 64 µg/mL. O perfil químico obtido evidenciou a presença de metabólitos secundários como, os terpenos e flavonóis que foram responsáveis por justificar a atividade antibacteriana, bem como, a alta toxicidade com a CL₅₀ de 250 µg/mL obtida e aumento do nível de hemólises desde a concentração de 10 µg/mL. O EETS também apresentou a capacidade citoprotetora em concentrações de NaCl a 0,12% com atividade deste cunho na proporção de 50 µg/ mL. Com tudo, é necessário estudos para quantificar o número de metabólitos secundários para elucidar da melhor maneira as atividades estudadas no presente artigo.

REFERÊNCIAS

ATANASOV A.G. International Natural Product Sciences Taskforce, Supuran CT. Natural products in drug discovery: advances and opportunities. **Nat Rev Drug Discov.** n. 20, v. 3, p. 200-216, 2021.

AZEVEDO, R. G. C. M. **Etnofarmacologia, Fitoquímica, propriedades terapêuticas e toxicidade do gênero *Turnera* (Passifloraceae): uma revisão sistemática.** 2019. 46f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Departamento de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2019.

BARROS, F. J. et al. Activity of essential oils of *Piper aduncum* and *Cinnamomum zeylanicum* by evaluating osmotic and morphologic fragility of erythrocytes. **Revista Europeia de Medicina Integrativa**, v. 8, n. 4, p. 505 – 512, 2018.

BARREIROS, A. L.B.S. Estresse oxidativo: Relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Quim. Nova**, v. 29, n. 1. 2006.

BORGES, A. L. O. Estudo etnofarmacológico relacionado ao uso de plantas na terapia de enfermidades em animais de produção no Submédio São Francisco. Anais e Memórias do IX Encontro Nordestino de Etnobiologia e Etnoecologia e do I Encontro de Etnobiologia e Etnoecologia do Piauí. Teresina-PI: Cadernos de Etnobiologia e Etnoecologia (CEE) da Revista Ethnoscintia - **Sociedade Brasileira de Etnobiologia e Etnoecologia**, 2017, p. 137. ISBN: 978-85-53002-00-9

CARVALHO, J. A. M. et al. Composição química e avaliação da atividade antimicrobiana do óleo de pimenta rosa (*Schinus terebinthifolius*). In: Semana de Engenharia química da UFES, 5., 2017, Espírito Santo. **Anais da V Semana de Engenharia química UFES**. Espírito Santo: Universidade Federal do Espírito Santo, 2017. p. 1-5.

CICERO, L. A. F et al. **Enhancement of antibiotic activity by phytochemicals of *Turnera subulata***, *Natural Product Research.*, p.2384-2388, 2018, DOI: 10.1080/14786419.2018.1537273.

COUTINHO, H. D. M. et al. Enhancement of the antibiotic activity against a multidrug-resistant *Escherichia coli* by *Mentha arvensis* L. and chlorpromazine. **Chemotherapy**, v. 54, n. 4, p. 1250-1318, 2008.

COSTA, A. P. M. et al. Resistência antimicrobiana e a implementação da RDC 20/2011. **Única cadernos acadêmicos**, v. 3, n. 3, p. 1-6, 2017. Disponível em: <http://co.unicaen.com.br:89/periodicos/index.php/UNICA/article/view/58>. Acesso em: 30 de abril 2022.

CLSI. **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard-**. Ninth Edition. CLSI document Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012.

FIGUEIREDO, N. D. S. R. F et al. Evaluación de la actividad moduladora y citotóxica del aceite esencial de las hojas de *Hyptis martiusii* Benth. **Revista Ciencias De La Salud**, v.16, p. 49-58, 2018.

FREITAS, A. L. et al. O uso de plantas medicinais em úlceras venosas: revisão sistemática com meta-análise. **Int Wound J**. v.14, n.6, p.1019-1024, 2017.

HIROTA, B. C. K. et al. Avaliação de toxicidade in vitro: aplicabilidade do ensaio de letalidade frente a *Artemia salina*. *Visão acadêmica*, v. 13, n. 2, p. 42-48, 2012.

IANCK, M, A. et al. Conhecimento e uso de plantas medicinais por usuários de unidades básicas de saúde na região de Colombo-PR. **Revista Saúde e Desenvolvimento**, Curitiba, v. 11, n. 8, p. 29-30, 2017.

JUTTE, R. et al. **Herbal medicinal products- Evidence and tradition from a historical perspective**. *Journal of Ethnopharmacology*, Limerick, v. 207, p. 220-225, 2017.

- LI Y. K. The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants. **Plant Physiol Biochem.** p. 148:80-89. 2020.
- LUZ J. R. D et al. **Thrombin inhibition: Preliminary Assessment of the Anticoagulant Potential of *Turnera Subulata* (Passifloraceae).** J Med Food. v.4, p 384-392. doi: 10.1089/jmf.2018.0141, 2021.
- MATOS, F. J. A. **Introdução a fitoquímica experimental**, 3^a. ed. Fortaleza: UFC, 2009.
- MEYER, B. N. et al. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta medicinal**, v. 45, n. 5, p. 31-34, 1982.
- NIAZIAN M. Application of genetics and biotechnology for improving medicinal plants. **Planta.** n. 249, v. 4, p. 953-973, 2019.
- RIBEIRO, A. M. A. Farmacologia dos antibióticos aminoglicosídeos. **Repositório Intitucional da Universidade Fernando Pessoa.** 2017.
- ROCKENBACH, P. A et al. Interferência entre plantas daninhas e a cultura: alterações no metabolismo secundário. **Revista Brasileira de Herbicidas.** v. 17, 2018.
- RODRIGUES, A. A. **Avaliação de plantas do sertão paraibano para a introdução na alimentação de animais.** Universidade Federal de Campina Grande. 2020.
- RUBIO, J. A. K et al. **Bactérias produtoras de carbapenemazes e sua importância para a saúde pública.** II simpósio de Produção Sustentável e Saúde Animal. UEM, Umuarama 2017.
- SALVAT A.A.; ANTONNACCI, L.; FORTUNATO, R.H.; SUAREZ, E.Y. Screenng of some plants from northern Argentina for their antimicrobial activty. **Letters in Applied Microbiology**, v. 32 p. 293-297, 2001.
- SZERWIESKI, L. L. D. et al. Uso de plantas medicinais por idosos da atenção primária. **Revista Eletrônica de Enfermagem**, Goiânia, v.19, p. 4, 2017.
- SILVA, S. **Plantas tóxicas: inimigos indigestos.** Ed. Viçosa. v. 2, p. 10-30, 2019.
- SIMOES, C. M. O. et al. **Farmacognosia da planta ao medicamento**, 6^a ed. Florianópolis. Editora da UFSC, 2010.
- TAVARES, Y. K. S. C. **Agentes antibacterianos da caatinga: um estudo fitoquímicoe biológico de *Lippia grata* e *Lantana cf. pohliana*.** TCC (Bacharelado em Agronomia) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sertão Pernambucano, Campus Petrolina Zona Rural, Petrolina, PE, 71 f., 2021.
- WEGENER, T. Patterns and Trends in the Use of Herbal Products, Herbal Medicine and Herbal Medicinal Products. **International Journal of Complementary and Alternative Medicine**, Edmond, v. 9, n. 6, p. 317, 2017.
- ZELENSKI, A & LOUZADA, R. The genera *Turnera* and *Piriqueta* (Passifloraceae

sensu lato) in the state of Pernambuco, Brazil. **Rodriguésia** n.70, 2019.