

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
ESCOLA DE ENFERMAGEM-EENF
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENFERMAGEM (PPGENF)

DANIGLAYSE SANTOS VIEIRA

**ATIVIDADES ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA DO LÁTEX *IN NATURA* E
LIOFILIZADO DA *Jatropha multifida* L.: estudo *in vitro*.**

MACEIÓ
2021

DANIGLAYSE SANTOS VIEIRA

**ATIVIDADES ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA DO LÁTEX *IN NATURA* E
LIOFILIZADO DA *Jatropha multifida* L.: estudo *in vitro*.**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Enfermagem da Universidade Federal de Alagoas como requisito para obtenção do título de Mestre em Enfermagem.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Lysete de Assis Bastos

Área de Concentração: Enfermagem no Cuidado em Saúde e Promoção da Vida.

Linha de Pesquisa: Enfermagem, ciência, tecnologia e inovação para o cuidado.

MACEIÓ
2021

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecário: Marcelino de Carvalho Freitas Neto – CRB-4 – 1767

- V658a Vieira, Daniglayse Santos.
Atividades antioxidantes e antimicrobiana do látex *in natura* e liofilizado da *Jatropha multifida* L. : um estudo *in vitro* / Daniglayse Santos Vieira. - 2021.
60 f. : il.
- Orientadora: Maria Lysete .
Dissertação (Mestrado em Enfermagem) – Universidade Federal de Alagoas.
Escola de Enfermagem. Maceió, 2021.
- Bibliografia: f. 54-60.
1. *Jatropha multifida*. 2. Antioxidantes. 3. Anti-infecciosos. I. Título.

CDU: 615.33

“Glória ao Senhor, o Autor da minha Fé”

AGRADECIMENTOS

Início meus agradecimentos ao autor da minha Fé: DEUS, que mais uma vez me guiou durante esta caminhada e me ensinou a contornar os obstáculos que surgiram no caminho, pois aquele que protege nunca dorme.

Aos meus pais, Dione Santos Vieira e Elizio Petrucio Dantas Vieira (*in memória*) meu infinito agradecimento.

Mãe, a senhora é minha fonte de inspiração, cresci vendo a senhora como uma mulher forte e guerreira que sempre me ensinou que o caminho de quem estuda é sempre o mais promissor. Sempre ao meu lado, acreditando no meu potencial, incentivando-me, segurando a minha mão em todos os momentos, enxugando as minhas lágrimas e confortando meu coração. Sempre pedindo a Deus, minha proteção nas estradas da vida e me abençoando. Mãe, meu amor incondicional, obrigada por ser minha companheira, minha amiga e minha confidente. Essa vitória mais uma vez também é sua, assim, como foi no meu primeiro título de mestra em Sociedade, tecnologia e políticas públicas, está sendo também nessa segunda titulação de mestra em Enfermagem.

Ao meu irmão Eliglay pelo incentivo e apoio.

Ao meu esposo Leanderson pela paciência e apoio, principalmente, nos momentos de ausência, enfrentamos uma batalha com seu acidente em meio a esse percurso do mestrado, mas vencemos juntos.

À minha filha, presente que Deus me deu Thayla, que esteve tão (literalmente) próxima de mim e foi tão presente no desenvolvimento deste estudo e que, agora, me inspira a querer ser mais do que fui até hoje! Eu te amo, filha.

À minha sogra Luzenira e meu sogro José Orlando que me tratam mais do que uma nora e sim como uma filha, cuidando tão bem de mim. Serei sempre grata por tudo que fazem por mim e pela minha filha.

Ao meu tio Leo e tia Dilma, meu primo Wesley e minha prima Mireli, que como sempre vibraram comigo desde a aprovação na seleção do mestrado e sempre fizeram “propaganda” positiva a meu respeito. Obrigada pela força!

À minha orientadora Dra. Lysete Bastos que acreditou em meu potencial de uma forma que eu não acreditava ser capaz de corresponder. Sempre disponível e disposta a ajudar, com suas palavras de motivação, acolhimento e carinho, querendo que eu aproveitasse cada segundo dentro do mestrado para absorver conhecimento. Saiba que ganhei mais que uma orientadora,

eu ganhei uma amiga, a senhora sempre será referência profissional e pessoal para meu crescimento. Obrigada por estar ao meu lado e acreditar tanto em mim!

Aos componentes da banca Professora Dra Rossana Teotônio de Farias Moreira, Professora. Dra. Patrícia de Albuquerque Sarmiento e Professor Dr Irinaldo Diniz Basílio Júnior pelas valorosas contribuições.

Aos meus amigos do mestrado pelos momentos divididos juntos, Marília, Roberto, Mariana, Amauri, Raiane, Larissa, pois se tornaram verdadeiros amigos e fizeram mais leve minha caminhada.

Aos amigos Rodrigo, Rafael e Valdemir pela transferência de conhecimento e suas valorosas contribuições para a realização dos testes experimentais.

Às minhas amigas Enfermeiras Cristiana Davino e Michelle pelos laços de amizade que existem entre nós, vocês sempre acreditaram no meu potencial e me impulsionaram e aconselharam a nunca desistir mesmo com as atribulações!

À minha equipe do Posto de Saúde – ESF VII, no município de Igreja Nova-AL e minhas amigas técnicas de enfermagem do G6 do hospital Nossa senhora de Fatima pela compreensão, paciência e companheirismo.

RESUMO

A *Jatropha multifida* ou *Adenoropium multifidum* (sinonímia), conhecida popularmente como planta-coral, coral, flor-de-coral, flor-de-sangue, bálsamo, mertiolate, um arbusto, cujas flores vermelhas com anteras amareladas, parecem pequenas peças de coral e caule com presença de látex. Muito usada na medicina popular, como purgativa, contra gonorreia, diurética, cicatrizante e anti-inflamatória. O objetivo desta pesquisa foi verificar a atividade antioxidante e antimicrobiana do látex *in natura* e liofilizado da *J. multifida*. O látex foi coletado no município de Igreja Nova/AL e posteriormente foi submetido ao processo de liofilização, originado assim os extratos *in natura* e liofilizado utilizados no estudo. Foram realizados os testes de prospecção fitoquímica, da atividade antioxidante e atividade antimicrobiana. A atividade fitoquímica dos extratos do látex realizada confirmou a presença de saponinas, flavonoides, antraquinonas e taninos. Os resultados mostraram que o extrato do látex *in natura* e liofilizado apresentaram atividade antioxidante moderada, podendo ser considerado como promissora fonte de combate aos radicais livres, porém os valores encontrados no látex liofilizado (73,1 µg/mL) foram mais expressivos na concentração a 5% do que o látex *in natura* (84,5 µg/mL). Para atividade antimicrobiana ambos os extratos apresentaram uma CIM de 15,6 µg mL⁻¹ e uma CBM de 125 µg mL⁻¹ frente *S. epidermidis* e *E. faecalis*, *E. aerogenes* mesmos valores para os extratos de CIM 125 µg mL⁻¹ e CBM de 125 µg mL⁻¹. Para *S. aureus* a CIM foi igual para ambos os extratos de 125 µg mL⁻¹ porém, a CBM foi melhor no liofilizado apresentando o mesmo valor da CIM, o mesmo aconteceu frente a *P. aeruginosa*. Diante da *E. coli* o látex liofilizado apresentou uma CIM melhor 125 µg mL⁻¹ mais na CBM o látex *in natura* apresentou uma melhor atividade CBM 125 µg mL⁻¹. Já frente a cepa fungica *C. albicans* ambos os extratos apresentaram atividade fraca tanto para CIM que foi de 500 µg mL⁻¹ e CBM de 1000 µg mL⁻¹. Conclui-se que o látex *in natura* e liofilizado da *J. multifida* podem ser considerados potenciais agentes antimicrobiano e antioxidante, porém o látex liofilizado mostrou-se com os melhores resultados nos testes realizados sendo um promissor para ser utilizado em pesquisas futuras.

Palavras-chave: *Jatropha multifida*, Atividade Antioxidante, Atividade Antimicrobiana.

ABSTRACT

Jatropha multifida or *Adenoropium multifidum* (synonymy), popularly known as coral plant, coral, coral flower, blood flower, balsam, mertiolate, a shrub whose red flowers with yellowish anthers look like small pieces of coral and stem with latex presence. Widely used in folk medicine, as a purgative, against gonorrhoea, diuretic, healing and anti-inflammatory. The aim of this research was to verify the antioxidant and antimicrobial activity of in natura and lyophilized latex from *J. multifida*. The latex was collected in the city of Igreja Nova/AL and was later submitted to the lyophilization process, thus originating the in natura and lyophilized extracts used in the study. Phytochemical prospection, antioxidant activity and antimicrobial activity tests were performed. The phytochemical activity of the latex extracts performed confirmed the presence of saponins, flavonoids, anthraquinones and tannins. The results showed that the in natura and freeze-dried latex extract showed moderate antioxidant activity, and can be considered as a promising source of fighting free radicals, but the values found in the freeze-dried latex (73.1 $\mu\text{g/mL}$) were more expressive in the concentration a 5% than in natura latex (84.5 $\mu\text{g/mL}$). For antimicrobial activity, both extracts presented a MIC of 15.6 $\mu\text{g mL}^{-1}$ and a CBM of 125 $\mu\text{g mL}^{-1}$ against *S. epidermidis* and *E. faecalis*, *E. aerogenes* same values for the MIC extracts of 125 $\mu\text{g mL}^{-1}$ and 125 $\mu\text{g mL}^{-1}$ CBM. For *S. aureus* the MIC was the same for both extracts of 125 $\mu\text{g mL}^{-1}$, however, the CBM was better in the lyophilized with the same MIC value, the same happened with *P. aeruginosa*. Against *E. coli*, the lyophilized latex showed a better 125 $\mu\text{g mL}^{-1}$ MIC, but in natura latex showed a better 125 $\mu\text{g mL}^{-1}$ CBM activity in CBM. Already against the fungal strain *C. albicans* both extracts showed weak activity for both MIC which was 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ and CBM 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$. It is concluded that the in natura and lyophilized latex of *J. multifida* can be considered potential antimicrobial and antioxidant agents, but the lyophilized latex showed the best results in the tests performed, being a promising one to be used in future researches.

Key words: *Jatropha multifida*, Antioxidant Activity, Antimicrobial Activity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	<i>Jatropha multifida</i> L	21
Figura 2.	Flores e frutos da <i>Jatropha multifida</i> L	22
Figura 3.	Látex de <i>Jatropha multifida</i> L	23
Figura 4.	Estrutura química do Fenol	25
Figura 5.	Estrutura química básica do Flavonóide	25
Figura 6.	Avaliação da Umidade do látex da <i>Jatropha multifida</i> L	28
Figura 7.	Coleta do látex	29
Figura 8.	Látex depositado em Bandeja circular	29
Figura 9.	Liofilizador	30
Figura 10.	Extrato obtido por liofilização	30
Figura 11.	Preparação dos Extratos do látex liofilizado e <i>in natura</i> da <i>J. multifida</i>	31
Figura 12.	Volumes crescentes de solução extrativa da <i>J. multifida</i>	32
Figura 13.	Ensaio da atividade antioxidante do extrato do Látex <i>in natura</i> e liofilizado	34
Figura 14.	Leitura da atividade antioxidante no Espectrofotômetro	35
Figura 15.	Concentrações do extrato do látex de <i>J. multifida</i> L. distribuídas na microplaca de 96 poços para o ensaio de microdiluição em caldo	37
Figura 16.	Teste de Concentração Bactericida Mínima e Fungicida Mínima	38
Figura 17.	Anel de espuma nos extratos <i>in natura</i> e liofilizado do látex da <i>J. multifida</i>	40
Figura 18.	Taninos no extrato <i>in natura</i> e liofilizado do látex <i>J. multifida</i>	40
Figura 19.	Flavonoides nos extratos <i>in natura</i> e liofilizado do látex <i>J. multifida</i>	41
Figura 20.	Reação positiva para antraquinonas coloração rósea-vermelho	41
Figura 21.	Reação negativa para alcaloides em ambos os extratos.	42
Figura 22.	Reação Antioxidante da <i>Jatropha multifida</i> L	42

LISTA DE QUADROS

Quadro 1.	Teor de Umidade, após a secagem, do látex da <i>J. multifida</i> L	39
Quadro 2.	DPPH de frações do látex da <i>J. multifida</i> L.	42
Quadro 3.	CIM e CBM do extrato do látex <i>in natura</i> de <i>J. multifida</i> L	43
Quadro 4.	CIM e CBM do extrato do látex liofilizado de <i>J. multifida</i> L.	43
Quadro 5.	Metabólitos secundários no látex <i>in natura</i> e liofilizado da <i>J. multifida</i>	46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Relação do volume de extrato para determinação de saponinas no extrato aquoso do látex liofilizado e <i>in natura</i> da <i>Jatropha multifida</i> .	32
Tabela 2.	Alturas da espuma dos tubos após agitação e adição de HCl a 2M do extrato aquoso <i>in natura</i> e liofilizado do látex da <i>J. multifida</i> .	39

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

APS	Atenção Primária à Saúde
CBM	Concentração Bactericida Mínima
CIM	Concentração Inibitória Mínima
MSP	Metabólito Secundário de Plantas
RENISUS	Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse do SUS
RESME	Relação Estadual de Medicamentos Essenciais
REMUNE	Relação Municipal de Medicamentos
ESF	Estratégia Saúde da Família
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
DPPH	Sequestro do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil
FRAP	Poder Antioxidante de Redução do Ferro
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
OMS	Organização Mundial de Saúde
PNS	Política Nacional de Saúde
PNPIC	Programa Nacional de Práticas Integrativas e Complementares
PNPMF	Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos
RENAME	Relação Nacional de Medicamentos Essenciais
SUS	Sistema Único de Saúde
ORAC	Capacidade de Absorção de radicais de oxigênio
SUS	Sistema Único de Saúde
AHM	Ágar Mueller-Hinton

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. OBJETIVOS	15
2.1 Objetivo Geral	15
2.2 Objetivos Específicos	15
3. REVISÃO DA LITERATURA	16
3.1 As Plantas Medicinais e Fitoterápicos no âmbito do SUS	16
3.2 Feridas	18
3.3 Microrganismos	19
3.4 Considerações sobre a <i>Jatropha multifida</i> L	21
3.5 Metabólitos Secundários	24
3.6 Atividade Antioxidante	26
4. METODOLOGIA	27
4.1 Tipo de Estudo	27
4.2 Locais dos experimentos	27
4.3 Coleta e identificação do material	27
4.4 Teste de Umidade	27
4.5 Obtenção do extrato	28
4.6 Triagem Fitoquímica	30
4.7 Avaliação da Atividade Antioxidante	34
4.8 Ensaio Biológico <i>in vitro</i>	36
5. RESULTADOS	39
6. DISCUSSÃO	45
7. CONCLUSÃO	53
REFERÊNCIAS	54

1 INTRODUÇÃO

Ao longo da história da existência humana, surgiram inúmeras sociedades, as quais, firmaram diferentes tipos de relação com o meio ambiente, em que cada uma delas, o meio ambiente apresentou um significado próprio, de acordo com os valores e objetivos de seus habitantes. Entretanto, dentre as imensas possibilidades de exploração do meio ambiente, ele sempre foi visto como fonte de alimento e de cura das doenças. Dessa maneira, o acúmulo de informações empíricas, sobre os benefícios das plantas, para o equilíbrio da saúde, sempre foi de grande importância na cultura, na saúde e na alimentação das sociedades no mundo. As populações, por meio de seus curadores e do uso autônomo, acumularam experiências e vasto conhecimento a este respeito (ANTONIO, TESSER, PIRES, 2013).

Concomitantemente ao avanço científico, este tipo de sabedoria popular é resgatado e explorado pelos estudos etnobotânicos e etnofarmacológicos entre outros, os quais permitem investigar e analisar o uso das plantas com finalidades terapêuticas por determinado grupo populacional (ALVES e POVH, 2013). Ao discorrer sobre o uso de plantas para o tratamento de doenças, vale ressaltar que no Brasil, o Ministério da Saúde aprovou em 2006 a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF) que se constitui como parte essencial das políticas públicas de saúde, meio ambiente, desenvolvimento econômico e social, elementos fundamentais de transversalidade na implementação de ações capazes de promover melhorias na qualidade de vida da população brasileira (BRASIL, 2006).

Em sua mais nova edição publicada pela portaria nº 3.047 de 28 de novembro de 2019, a Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME) 2020, considerada um instrumento oficial que norteia a definição das políticas públicas referentes ao acesso aos medicamentos no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS), apresenta fitoterápicos (referindo sua indicação/ação e apresentação) para uso no SUS, entre os quais, se encontra a cáscara-sagrada (*Rhamnus purshiana* DC.), a alcachofra (*Cynaras colymus* L.), a aroeira (*Schinustere benthifolius*), a babosa (*Aloe vera* L.) *Burm. f.*), a espinheira-santa (*Maytenus officinalis*), o guaco (*Mikaniaglomerata* Spreng.), a garra-do-diabo (*Harpagophytum procumbens*), a hortelã (*Mentha x piperita* L.), a isoflavona-de-soja (*Glycine max* L.), o plantago (*Plantago ovata*), o salgueiro (*Salix alba* L.) e a unha-de-gato (*Uncaria tomentosa*) (BRASIL, 2020).

A RENAME é uma ferramenta fundamental para a construção da Assistência Farmacêutica de qualidade e o conhecimento dessa lista é importante, tanto para nortear os profissionais que atuam no segmento clínico, quanto aos que atuam na gestão. Vale ressaltar que cabe aos estados e municípios elaborarem as Relações Estaduais de Medicamentos

Essenciais (RESME) e Relações Municipais de Medicamentos Essenciais (REMUNE) que contemplem as necessidades da população local e as finalidades terapêuticas a que se destinam os medicamentos (CHIAROTI, OLIVEIRA, UETA, 2017). Essa atualização acontece a cada dois anos e nessa edição de 2020 houve a inclusão de 39 itens, sendo 37 medicamentos e 2 insumos, porém, não foram contemplados os fitoterápicos, permanecendo assim, os 12 referenciados na lista anterior (BRASIL, 2020).

O uso de plantas medicinais e fitoterápicos na Atenção Primária a Saúde (APS) foi incitada por movimentos populares, conferências nacionais de saúde, diretrizes e por recomendações da Organização Mundial da Saúde (OMS) entretanto, tenta sobreviver aos olhares de profissionais de saúde e gestores relutantes à adesão dessa prática, pois ainda não é frequente nos serviços de saúde (GRIBNERL, RATTMAMN, GOMES, 2019). Contudo, as plantas medicinais utilizadas em comunidades tradicionais têm despertado cada vez mais interesse de pesquisadores, principalmente, por ser uma terapia complementar à saúde e ter uma boa aceitação pela população (ANDRADE *et al.*, 2017).

No que diz respeito ao uso de plantas, para tratamento de doenças, o Brasil se destaca como um celeiro, entre os países que apresentam a chamada megadiversidade, possuindo, aproximadamente, 120.000 espécies vegetais, dentre elas a pertencente à ordem Geraniales, dentro da família Euphorbiaceae, que agrupa 317 gêneros e mais de 8.000 espécies. Os principais centros de dispersão das Euphorbiaceae são a América e a África. No Brasil, sobrevêm 63 gêneros e cerca de 1.000 espécies, entre árvores, arbustos, subarbustos e ervas, sendo uma das principais famílias da flora brasileira e uma das mais complexas, quanto às suas características taxonômicas (SÁTIRO e ROQUE, 2008; BONFIM e TORRES, 2016).

As Euphorbiaceae apresentam-se como uma família com grande potencialidade medicinal devido às suas propriedades biológicas, e algumas espécies são utilizadas pelas suas propriedades antissépticas e citotóxicas. No tocante ao gênero *Jatropha*, a maioria das atividades biológicas relacionadas na literatura, são atribuídas aos compostos fenólicos, incluindo flavonóis, dos quais uma grande variedade estão presentes nessas espécies. Estas propriedades incluem efeitos anti-influenza e anti-inflamatória (SHOJI *et al.*, 2017; ANANI *et al.*, 2016), antimicrobiana e atividade cicatrizante (SILVA *et al.*, 2018), atividade hipoglicemiante (DAYLIN, 2018), antioxidante (QUEIROZ, 2018), entre outras.

Assim, o gênero *Jatropha* representa o quinto lugar entre os mais representativos da família Euphorbiaceae e existem no mundo 175 espécies. As espécies podem ser monóicas (plantas que produzem flores com estruturas masculinas e femininas, ou seja, hermafroditas) ou dioicas (plantas que produzem flores com estruturas masculinas ou femininas) incluindo

árvores, arbustos e ervas (MWINE e DAMME, 2011). Este gênero é considerado morfológicamente diverso e apresenta importância econômica e etnofarmacológica. No Brasil, as espécies de *Jatropha* são muito comuns no Nordeste, onde são bem adaptadas ao clima seco (xerofilia) (ROCHA e DANTAS, 2009).

Neste contexto, muitas espécies de *Jatropha* são vastamente empregadas na medicina popular, sendo usadas com ações purgativa, contra gonorreia, diurética, cicatrizante e anti-inflamatória e se apresentam como fontes de investigação científica uma vez que, muitas espécies deste gênero, comprovadas na literatura, apresentam grande potencial químico e biológico. Pereira *et al.* (2015) realizou um estudo bibliométrico dos últimos 10 anos em bases de artigos e patentes, revelando que as espécies mais citadas foram *Jatropha curcas* possuindo um número bem expressivo de citações (669), seguido das espécies *Jatropha gossypifolia* (37) e *Jatropha multifida* (13).

A *Jatropha multifida* é conhecida pelo sinônimo *Adenoropium multifidum* ou pelos nomes populares Planta-coral, Coral, Flor-de-coral, Flor-de-sangue, Bálsamo, Mertiolate. Apresenta-se como uma pequena árvore com flores vermelhas com anteras amareladas, parecendo pequenas peças de coral; possui látex no caule e se reproduz pela semente ou por mudas. O fruto é uma pequena cápsula que quando maduro fica amarelo. *Jatropha multifida* no latim significa multifidus, fendido em muitas partes, uma alusão às fendas observadas em suas folhas. Estes arbustos medem cerca de 1,30 m de altura, podendo chegar a 7 metros de altura (BUCH, ARANTES, CAMPELO, 2008).

O interesse no estudo desta espécie surgiu, após observações de uma prática comum dos moradores da área de abrangência de uma equipe da Estratégia de Saúde da Família no município de Igreja Nova-Alagoas, que faz parte da farmacopéia natural do local, onde estes recorrem ao exudado incolor extraída da folha e do caule após sua retirada aplicando-a diretamente sobre as lesões e alcançando a cicatrização. As folhas também são usadas para tratamentos de ferimentos infectados e dores estomacais.

Diante desta prática popular indagou-se como ocorre esse processo de cura relatado pelos moradores após o uso da planta e se de fato estas substâncias presentes nela contribuem tanto para cicatrização quanto para diminuir a infecção da ferida.

De tal modo, a relevância científica desta pesquisa parte da importância dessa prática cultural de utilização dos recursos vegetais e o crescente interesse acadêmico de diversas áreas do conhecimento a respeito desse saber popular para criar procedimentos terapêuticos.

2 OBJETIVOS

Objetivo Geral

Verificar a atividade antioxidante e antimicrobiana do látex *in natura* e liofilizado da *Jatropha multifida*.

Objetivos Específicos

- Realizar a triagem fitoquímica, do látex *in natura* e liofilizado;
- Identificar a atividade antioxidante do látex *in natura* e liofilizado;
- Avaliar a atividade antimicrobiana *in vitro* do látex *in natura* e liofilizado obtido da espécie vegetal selecionada, frente às bactérias Gram-positivas *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e *Enterococcus faecalis*, Gram-negativas *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e *Enterobacter aerogenes* e a cepa fúngica *Candida albicans*.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Plantas Medicinais e Fitoterápicos no âmbito do SUS

O Brasil é considerado um dos países com maiores perspectivas para a exploração econômica da biodiversidade do planeta, tendo o maior número de espécies animais e vegetais, dentre os demais países. Grande parte das plantas existentes é encontrada nas regiões tropicais do mundo, estimando-se que aproximadamente 25% das espécies ocorram originalmente no Brasil (RODRIGUES, 2016).

Vale ressaltar, que o Ministério da Saúde aprovou em 2006 a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF), que se constitui não só como parte essencial das políticas públicas de saúde, meio ambiente, desenvolvimento econômico e social, mas também como um dos elementos fundamentais para transversalidade na implementação de ações capazes de promover melhorias na qualidade de vida da população brasileira. A PNPMF tem como premissas o respeito aos princípios de segurança e eficácia na saúde pública, o favorecimento do desenvolvimento socioeconômico e a educação ambiental, que abrange tanto nacional, quanto local, bem como o respeito às diversidades e particularidades regionais e ambientais (BRASIL, 2006).

Tal política tem como objetivo geral garantir à população brasileira a obtenção e o uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos, fomentando o uso sustentável da biodiversidade, o desenvolvimento da cadeia produtiva e da indústria nacional (BRASIL, 2006). Um dos objetivos específicos da PNPMF é promover pesquisa, desenvolvimento de tecnologias e inovações em plantas medicinais nas diversas fases da cadeia produtiva. Corroborando com o objetivo da PNPMF, o Ministério da Saúde implementou a Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS) composta por 71 espécies vegetais utilizadas com fins medicinais, nas diversas regiões do território nacional. Dentre as espécies listadas, constam plantas usadas pela sabedoria popular cientificamente (BRASIL, 2017).

A prática do uso das plantas medicinais permite à população o contato com sua história, resgatando costumes tradicionais e culturais. Segundo Sá, et al. (2018), a transição da fitoterapia empírica para a científica possibilitou aos profissionais de saúde brasileiros as bases para uma prescrição segura, racional e acessível. A introdução das plantas medicinais e da Fitoterapia no SUS para o tratamento dos distúrbios da saúde teve início a partir da Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) publicada pelas Portarias Ministeriais nº 971/2006, e nº 1.600/2006. Tal política legitimou o uso de plantas medicinais, o que favorece

o cuidado em saúde, numa perspectiva holística, tornando possível, o estabelecimento do crescimento dessas práticas terapêuticas na APS (BRASIL, 2006).

Vale salientar que este conhecimento sobre plantas medicinais significa, muitas vezes, o único recurso terapêutico ao qual as comunidades tradicionais, locais e grupos étnicos têm acesso, ainda hoje, nas regiões mais pobres do país e até mesmo nas grandes cidades. E que, diferentes interrelações entre o homem e o meio ambiente originam saberes diversificados de cuidado em saúde (ALMEIDA *et al.*, 2020).

Segundo dados do Ministério da Saúde, serviços institucionalizados envolvendo a fitoterapia são ofertados, em sua maioria, na APS, por meio da Estratégia Saúde da Família (ESF). Dentre os principais motivos levantados pelo Ministério da Saúde para a implantação de projetos de fitoterapia apontados pelos estados/municípios foram: a) a ampliação do acesso da população aos medicamentos; b) grande aceitação da população/resgate da cultura popular/solicitação da comunidade; c) baixo custo; d) necessidade de orientação à população quanto ao uso correto das plantas medicinais; e) baixo número de efeitos colaterais) eficácia comprovada (BRASIL, 2006).

As diretrizes da PNPMF devem promover e reconhecer as práticas populares de uso de plantas medicinais e remédios caseiros, bem como, auxiliar na inclusão da agricultura familiar nas cadeias e nos arranjos produtivos das plantas medicinais, insumos e fitoterápicos. Nessa perspectiva nasce a idealização do Projeto Farmácia Viva (Portaria nº 866/2010) que cultiva, prepara e orienta o uso de plantas medicinais para a população, visa favorecer a redução da medicalização e o uso inadequado das ervas medicinais, sendo assim, é uma importante ferramenta na Atenção Básica, no entanto, há poucos municípios que se utilizam dessa prática (ALMEIDA *et al.*, 2018).

Visando auxiliar e assegurar a PNPMF, foi elaborada a Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME), um instrumento de ação do SUS, que contempla um elenco de produtos necessários ao tratamento e controle da maioria das morbidades prevalentes no País. A edição publicada pela portaria nº 3.047/2019, apresenta os fitoterápicos para uso na APS, entre os quais, se encontra a cáscara-sagrada (*Rhamnus purshiana* DC.), a alcachofra (*Cynaras colymus* L.), a aroeira (*Schinustere benthifolius*), a babosa (*Aloe vera* L.), a espinheira-santa (*Maytenus officinalis*), o guaco (*Mikania glomerata* Spreng.), a garra-do-diabo (*Harpagophytum procumbens*), a hortelã (*Mentha x piperita* L.), a isoflavona-de-soja (*Glycinemax* L.), o plantago (*Plantago ovata*), o salgueiro (*Salix alba* L.) e a unha-de-gato (*Uncaria tomentosa*) (BRASIL, 2020).

Os 12 fitoterápicos contemplados estão registrados na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Logo, é pertinente dizer que a incorporação desses medicamentos é feita a partir da análise da sua efetividade, custo-benefício e eficácia, permitindo aos profissionais de saúde orientar a conduta de forma adequada, além de garantir a segurança dos pacientes (BRASIL, 2020). Entretanto, estudo realizado por Nascimento *et al.* (2016) demonstrou uma certa resistência, bem como o desconhecimento por parte dos profissionais da saúde ligados à ESF, de um município da região nordeste. O referido estudo concluiu que grande parte dos prescritores não está preparada para indicar o uso de plantas medicinais ou prescrever fitoterápicos para população, necessitando, portanto, de capacitação.

Barreto (2015) verificou que o quadro nacional da graduação em saúde na área da fitoterapia se constitui entrave às práticas no país, atentando para o fato de não haver uma uniformidade de conteúdo, metodologia e carga horária ideais para esse ensino, como ocorre para outras disciplinas relacionadas aos alopáticos. Tais constatações reforçam que as universidades brasileiras devem ter um papel importante na PNPMF apoiando assim a diretriz dessa política que orienta a promover a formação técnico-científica e a capacitação no setor de plantas medicinais e fitoterápicos para os profissionais da saúde.

3.2 Feridas

A pele é um órgão vital indispensável à vida também chamado de tegumento, que cobre toda superfície corporal e continua nos orifícios naturais como mucosa. No organismo, a pele desempenha quatro funções básicas, quais sejam: proteção, termorregulação, percepção e excreção. Para exercê-las a pele precisa estar fisiologicamente saudável. Logo, quando ocorre qualquer agressão de natureza física ou química ao tecido, sua integridade é rompida, formando a ferida (ARAÚJO *et al.*, 2015).

Atualmente estamos vivenciando grandes avanços na compreensão dos processos e fenômenos envolvidos na regeneração tecidual, mas embora ocorram grandes investimentos nessa área, é alta a incidência e prevalência de feridas crônicas.

A infecção tem ganhado destaque nas pesquisas científicas ao avaliar a atividade antimicrobiana de espécies de plantas medicinais utilizadas no tratamento de feridas, no qual este conhecimento poderá ter impacto nas decisões de tratamento.

O estudo aqui proposto tinha como objetivo avaliar a atividade cicatrizante na espécie *Jatropha multifida* porém, devido o momento epidemiológico da pandemia do COVID-19, esse tipo de teste não foi realizado. No entanto, alguns microrganismos que habitam as feridas principalmente no âmbito hospitalar foram investigados nesse estudo, bem como a triagem

fitoquímica, que permite identificar a presença dos metabólitos secundários existentes na parte da espécie vegetal estudada.

3.3 Microrganismos

Nas membranas e anexos da pele vivem uma grande quantidade de microrganismos potencialmente patogênicos, e assim que uma ferida é produzida a pele ao perder sua integridade e permite a entrada de microrganismos (TORRA *et al.*, 2012). Santos *et al.* (2016) identificou a microbiota de feridas operatórias infectadas descritas em produções científicas entre 1960 e 2013, onde os principais microrganismos infectantes foram as bactérias, seguidas pelos fungos. As referidas infecções foram causadas principalmente por: *Staphylococcus aureus* (39,3%), *Escherichia coli* (30,4%), *Pseudomonas aeruginosa* (19,6%), *Staphylococcus epidermidis* (17,8%), *Klesbsiella* spp (12,5%) e *Enterobacter* spp (10,7%).

Vários estudos têm sido conduzidos para a descoberta de novas plantas com atividade antimicrobiana, para que possam ser utilizados em produtos farmacêuticos, cosméticos e na indústria alimentícia. Assim, procurou-se, no presente estudo, verificar a atividade da *Jatropha multifida* frente a microrganismo de grande relevância para a clínica médica como as cepas padrões de bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e *Enterococcus faecalis*), Gram-negativas (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e *Enterobacter aerogenes*) e o fungo leveduriforme *Candida albicans*. *Staphylococcus aureus* é uma bactéria Gram positiva responsável por grande parte das infecções nosocomiais e adquiridas na comunidade, com taxas relevantes de morbidade e mortalidade cujo controle é um desafio na saúde pública mundial. É o agente etiológico mais comum em infecções da pele como foliculite, furunculose, celulite, impetigo e carbúnculo (HOLLAND *et al.*, 2014).

O grupo das enterobactérias são microrganismos Gram negativos, encontradas no trato gastrointestinal de humanos, reino animal, na água, solo e vegetais, os quais se tornam um potencial reservatório para esses agentes patogênicos. As bactérias da família Enterobacteriaceae são as principais responsáveis pelas infecções intestinais, cerca de 70% das infecções urinárias e 50% das infecções nosocomiais (LAVAGNOLI *et al.*, 2017).

Escherichia coli é uma bactéria Gram-negativa, que faz parte do grupo das enterobactérias e está presente no lúmen intestinal de seres humanos e de animais, sua colonização no trato intestinal de mamíferos ocorre a partir de fontes ambientais logo após o nascimento. Apesar de a maioria das cepas serem comensais, algumas cepas de *E. coli* adquiriram modificações genéticas (genes de virulência) que resultaram num aumento da patogenicidade para humanos e animais (PETER *et al.*, 2016).

Pseudomonas aeruginosa é um bacilo Gram-negativo, aeróbio, em que sua mobilidade é feita por flagelos, logo, um microrganismo versátil, ubiquamente distribuído em diferentes ambientes, incluindo terra, água, vegetais e animais, considerado um agente patogênico oportunista, isto é, determina infecção em pacientes hospitalizados ou imunocomprometidos. Pode determinar também infecções do trato urinário e gastrointestinal, infecções da pele, otite média e ceratite (TURNER *et al.*, 2014).

O gênero *Candida* constitui o principal grupo de leveduras que causam infecções oportunistas no ser humano. Este gênero compõe-se de cerca de 150 a 200 espécies, muitas das quais podem habitar o trato gastrointestinal, sistema urogenital, pele, e mucosa do trato respiratório de seres humanos. Dentre as espécies, a *Candida albicans* continua sendo a espécie mais comum e as manifestações clínicas na candidíase apresentam grande diversidade de quadros, como candidíase cutâneo-mucosa e candidíase invasiva ou sistêmica (VIEIRA e SANTOS, 2016).

Várias pesquisas têm sido desenvolvidas e direcionadas no descobrimento de novos agentes antimicrobianos provenientes de extratos de plantas, sendo assim, a atividade antimicrobiana de extratos vegetais é avaliada por meio da determinação de uma pequena quantidade da substância necessária para inibir o crescimento do microrganismo a ser testado. Em seu trabalho, Silva *et al.* (2018) avaliou o potencial antimicrobiano de extratos das folhas, galhos e caule da *Jatropha gossypifolia* L., e observou-se que, os extratos testados não foram capazes, em nenhuma das concentrações usadas, de promover a inibição do microrganismo *E. coli*, já para as bactérias *S. aureus*, *S. epidermidis* e *P. aeruginosa*, os extratos foram capazes de causarem a inibição do crescimento destes patógenos.

Nessa perspectiva, Minh *et al.* (2019) avaliaram a atividade antibacteriana dos extratos das cascas do caule de *Jatropha podagrica* frente a seis cepas bacterianas, incluindo *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus subtilis* e *Proteus mirabilis* tendo como resultado as seguintes Concentrações Inibitórias Mínimas respectivamente, (MIC = 5, 20, 30, 20, 25, e 20 mg/mL.).

Outra espécie de relevância etnofarmacológica é a *Jatropha neo pauciflora* usada popularmente, para aliviar doenças bacteriana, fúngica e viral. O extrato metanólico de suas folhas foi avaliado frente 11 cepas bacterianas (cinco Gram-positivas e seis Gram-negativas) dentre elas: *S. aureus* e *S. epidermidis*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Vibrio cholerae*, *Enterobacter aerogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter aerogenes* e *cloacae*. E também, frente a cepas fúngicas, como: *C. albicans*, *Aspergillus niger* e *Trichophyton mentagrophyte*. Os resultados revelaram que as

cepas testadas foram mais sensíveis a *S. aureus* e *E. coli* e *Trichophyton mentagrophytes* (HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ *et al.*, 2016).

Sendo assim, bactérias e fungos estão presentes em todos os ambientes naturais, e historicamente, os produtos naturais têm um papel importante na síntese de muitos antibióticos. As plantas também produzem moléculas orgânicas que estão envolvidas na proteção contra bactérias, vírus, fungos, insetos e animais, por isso, o emprego de plantas medicinais para tratamento da saúde vem evoluindo ao longo dos tempos.

3.4 Considerações sobre a Euphorbiaceae e a espécie *Jatropha multifida* L.

Nesta família, estão gêneros e espécies que se distribuem por todo o mundo, principalmente nas regiões tropicais, sendo considerada a terceira com maior número de espécies vegetais na caatinga, apresentando potencial agrícola na produção de biocombustível, alimento animal e uso medicinal.

Esta planta cresce facilmente em solos poucos férteis, sendo cultivada em pleno sol, onde floresce melhor ou a meia sombra se desenvolvendo bem nos climas semiárido e tropical, o que corrobora o crescimento favorável desta espécie em solos brasileiros. Nesse sentido, estudos brasileiros, em especial da Região Nordeste, por ser uma região ainda muito carente de assistência à saúde, as pessoas recorrem a esses recursos populares e possuem um espaço geográfico propício à proliferação da *J. multifida*, são essenciais (PEREIRA *et al.*, 2014).

A *Jatropha multifida* (Figura 1) é conhecida pelo sinônimo *Adenoropium multifidum* ou pelos nomes populares Planta-coral, Coral, Flor-de-coral, Flor-de-sangue, Bálsamo, Merthiolate.

Figura 1. *Jatropha multifida* L.

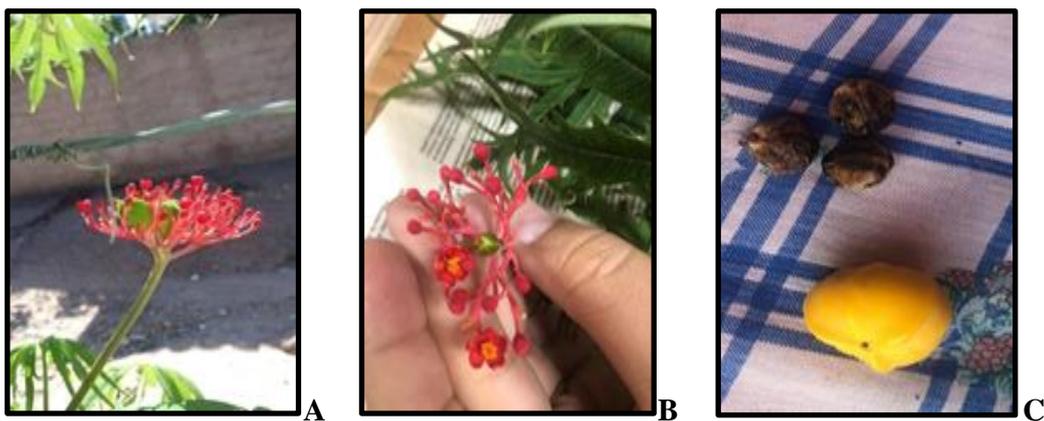


Fonte: Autora, 2021.

Orienta-se seu cultivo, sob meia sombra ou, preferencialmente, sol pleno, em solo fértil, bem drenável, enriquecido com matéria orgânica e irrigado a intervalos regulares. Entretanto, após seu pleno estabelecimento torna-se bastante tolerante à seca. No inverno frio convém reduzir as regas, para prevenir o apodrecimento das raízes. Neste período é normal a planta perder as folhas. Não suporta a salinidade de regiões litorâneas e a preservação da espécie ocorre por estacas e sementes postas a enraizar na primavera (BORGES, 2016; JUN-SHENG *et al.*, 2018).

A cor da inflorescência é vermelha (Figura 2A), e dela surgem pequenas flores com o centro amarelo (Figura 2B). Os frutos que se seguem são do tipo cápsula, amarelos quando maduros e contém cerca de 3 sementes (Figura 2C). Trata-se de uma pequena árvore cujas flores parecem pequenas peças de coral, apresentando látex no caule (Figura 3A e 3B) e se reproduz pela semente ou por mudas. Essa espécie vegetal, utilizada popularmente como planta medicinal, possui estudos relatados pela literatura nas regiões tropicais e subtropicais da Ásia, África e América por se revelar como fonte de moléculas de interesse farmacológico (BORGES, 2016; JUN-SHENG *et al.*, 2018).

Figura 2. Flores e Fruto da *Jatropha multifida* L.



Fonte: A Autora, 2021.

Orienta-se seu cultivo, sob meia sombra ou, preferencialmente, sol pleno, em solo fértil, bem drenável, enriquecido com matéria orgânica e irrigado a intervalos regulares. Entretanto, após seu pleno estabelecimento torna-se bastante tolerante à seca. No inverno frio convém reduzir as regas, para prevenir o apodrecimento das raízes. Neste período é normal a planta perder as folhas. Não suporta a salinidade de regiões litorâneas e a preservação da espécie ocorre por estacas e sementes postas a enraizar na primavera (BORGES, 2016; JUN-SHENG *et al.*, 2018).

Figura 3. Látex da *Jatropha multifida* L.



Fonte: A Autora, 2021.

No século XVII, as propriedades medicinais das plantas foram reconhecidas como “princípios ativos” contidos no interior dos vegetais; desde então, diversas delas foram catalogadas e utilizadas como fonte de produtos naturais biologicamente ativos para síntese de medicamentos. A *J. multifida* tem sido usada, popularmente, para tratar diversas afecções, tais como febre, dor, infecção, feridas, úlceras e diversas doenças infecciosas de pele. Assim, vários estudos têm se debruçado sobre as propriedades biológicas da planta, e pesquisas iniciais demonstram que essa espécie vegetal tem apresentado atividade antioxidante, antibacteriana, anti-inflamatória, antifúngica, gastroprotetora, cicatrizante, analgésica, imunomoduladora, entre outras (HIROTA *et al.*, 2010; BORGES, 2016).

Barbosa *et al.* (2016) investigaram o mecanismo de ação a nível molecular para Labaditin (Lo), um péptido cíclico de 10 aminoácidos da *J. multifida* com atividade bactericida conhecida contra o *Streptococcus mutans*, e mostrou que Lo é eficaz contra o *Staphylococcus aureus*, além disso, não requer alvos metabólicos específicos, o que torna os péptidos cíclicos promissores para antibióticos sem resistência bacteriana. Outro estudo, ao investigar os efeitos hemostáticos da seiva de *J. multifida* mostrou sua eficácia para parar hemorragias em distúrbios normais e de coagulação oferecendo assim perspectivas interessantes para seu uso no tratamento de hemorragias na presença ou ausência de distúrbio de hemostasia (KLOTOE *et al.*, 2017).

Além disso, já foram comprovadas algumas ações farmacológicas a partir de extratos da planta, tais como, a ação anti-inflamatória e anti-leishmanial (FALODUN *et al.*, 2014; ANANI *et al.*, 2016). Franyoto *et al.* (2018) detectou o potencial antioxidante dos caules de *Jatropha multifida* L esse potencial antioxidante do extrato foi avaliado por ensaio de eliminação de radicais 2, 2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH). Nas atividades de eliminação de radicais DPPH, o extrato tinha atividade antioxidante ($IC_{50} = 72 \pm 0,01 \mu\text{g/mL}$).

3.5 Metabólitos Secundários de plantas (MSP)

O metabolismo dos vegetais consiste em um processo complexo por envolver diversas vias biossintéticas, a partir dos mecanismos de metabolismo primário e secundário. Os metabólitos primários são moléculas importantes para o crescimento e desenvolvimento dos organismos, como as proteínas, os carboidratos, os lipídios e os aminoácidos. Já os metabólitos secundários têm sua função relacionada principalmente à defesa contra patógenos, ou em resposta ao estresse. Esses metabólitos secundários de plantas (MSP) são estudados há séculos, para diversas funções, tais como a produção de alimentos, aditivos fitoquímicos na alimentação animal e, em meados do século XX, na indústria farmacêutica e de cosméticos (AZMIR *et al.*, 2013; LÓPEZ-PALACIOS, PÊNA VALDIVIA, 2020).

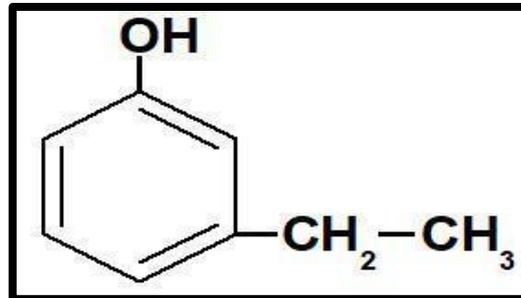
Os metabólitos secundários dividem-se em três grandes grupos: compostos fenólicos, terpenos e alcalóides. A síntese dessas moléculas se dá por quatro vias diferentes: a via do ácido mevalônico e a via do não-mevalonato que promovem a produção dos terpenos; a via do ácido chiquímico, no qual, observa-se a síntese dos compostos fenólicos e alcalóides; e a via do ácido malônico, responsável pela síntese dos compostos fenólicos (AZMIR *et al.*, 2013). O estudo de Fabani *et al.* (2013) identificou a alta atividade antioxidante de *Pistacia vera* L. (pistache) com o seu teor de compostos fenólicos e o de Silva *et al.* (2013), a atividade antimicrobiana de alguns frutos com polifenóis na sua composição vem ganhando destaque pois, buscam relacionar as atividades biológicas com a presença de determinados metabólitos secundários em plantas.

Assim, dentre os metabólitos secundários, menciona-se as substâncias fenólicas que são amplamente distribuídas em plantas e estão presentes na alimentação humana e animal. Esses compostos fenólicos possuem ação antioxidante, por meio de diversos mecanismos, entre eles incluem-se a sua capacidade para a remoção de radicais livres e a inibição da formação de espécies reativas durante o curso normal do metabolismo, prevenindo a ocorrência de danos nos lipídios, proteínas e ácidos nucleicos e consequentes lesões celulares e morte (JUSTIN *et al.*, 2014).

Dentro de cada espécie, a natureza, quantidade e distribuição destes compostos depende essencialmente de dois tipos de fatores: os fatores biológicos e os fatores abióticos. Os fatores biológicos incluem a espécie botânica, o genótipo, as diferentes partes morfológicas da planta, bem como o seu estágio de desenvolvimento, enquanto os fatores abióticos incluem o estado dos nutrientes do solo, incidência solar, temperatura, pH do solo, disponibilidade da água, entre outros (PEREIRA e CARDOSO, 2012). Atualmente estão descritos cerca de 200.000 metabólitos secundários, sendo que 20% destes são substâncias fenólicas que são substâncias

formadas por, no mínimo, um anel aromático (Figura 4), em que pelo menos um hidrogênio é substituído por um grupo hidroxila, são metabólitos secundários das plantas e dos fungos (CAI *et al.*, 2015).

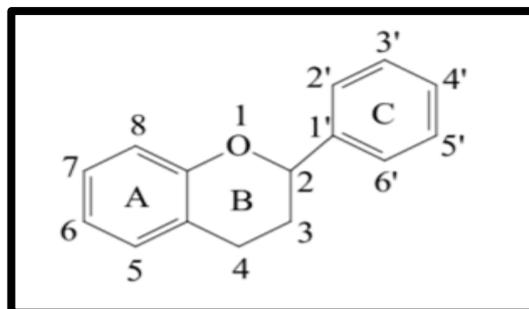
Figura 4. Estrutura química do Fenol



Fonte: Goolge Imagens, 2021.

Um outro grupo de metabólitos secundários que merece destaque são os flavonóides que estão distribuídos nas partes aéreas de plantas dos mais diversos ecossistemas, e podem ser considerados metabólitos estáveis uma vez que são capazes de resistir a altas temperaturas, variações de pH e oxidação. A estrutura química (Figura 5) básica destes metabólitos, também conhecida como flavilium, é composta de dois anéis aromáticos (anéis A e C), os benzenos, ligados a uma estrutura heterocíclica central, o pirano (anel B), onde o primeiro benzeno é condensado com o sexto carbono do pirano, que na posição 2 carrega um grupo fenila (KUMAR & PANDEY, 2014).

Figura 5. Estrutura química básica do flavonóide



Fonte: Google Imagens, 2021.

3.6 Atividade Antioxidante

As pesquisas em busca de agentes antioxidantes, produzidos por plantas medicinais, tem sido de crescente interesse, dando origem à escolha de possíveis candidatos a estudos farmacológicos vinculados a esta propriedade bioquímica. Moléculas antioxidantes podem estar presentes em diversas classes de compostos químicos e auxiliar os mecanismos biológicos

combatendo a produção das espécies reativas de oxigênio (EROS) que o processo fisiológico normal não consegue inibir ou degradar (DIAS *et al.*, 2015).

Assim sendo, os antioxidantes são substâncias com a habilidade de retardar ou inibir a oxidação de substratos orgânicos, protegendo as células contra os efeitos danosos dos radicais livres e espécies reativas de oxigênio. Os radicais livres são definidos como todas as moléculas ou átomos comuns ou mais elétrons desemparelhados, sendo geralmente instáveis e altamente reativos. Logo, sendo altamente instáveis, os elétrons dos radicais livres são capazes de reagir com substratos orgânicos como proteínas, lipídios e DNA, causando danos a função normal destas biomoléculas, o que leva a um amplo número de doenças relacionadas ao estresse oxidativo como câncer, doenças neurodegenerativas, cardiovasculares, diabetes mellitus e doença renal aguda e crônica (SHAHIDI e AMBIGAIPALAN, 2015; LIGUORI *et al.*, 2018).

Os antioxidantes naturais são substâncias bioativas que englobam os tocoferóis, flavonoides, ácidos fenólicos, terpenos, antocianinas e carotenóides. Os fenóis são um dos grupos mais importantes, presentes em vegetais e protegem mais facilmente constituintes oxidáveis. Os polifenóis possuem ótima estrutura química para eliminação de radicais livres, por sua alta reatividade como doadores de hidrogênio ou elétron e demonstraram ser mais eficazes do que os tocoferóis e ácido ascórbico (BODOIRA *et al.*, 2017; DEVI *et al.*, 2018).

Nesse sentido, a atividade do potencial antioxidante de produtos naturais pode ser avaliada recorrendo a alguns métodos, que são mais utilizados nos estudos *in vitro* como DPPH (2,2-difenil-1-picril hidrazina), FRAP (Poder Antioxidante de Redução do Ferro), ORAC (Capacidade de Absorção de Radicais de Oxigênio), Sistema β - caroteno/ácido linoléico e o ABTS (2,2'-azinobis-3-etil-benzotiazolina-6-sulfonado) (BOROSKI *et al.*, 2015).

A atividade antioxidante do gênero *Jatropha* tem ganhado destaque nas pesquisas científicas, por apresentar importância etnofarmacológica com várias atividades biológicas, dentre elas, o potencial antioxidante. Vale destacar um estudo que avaliou o extrato metanólico das folhas da *Jatropha variegata* usando o ensaio de eliminação de radicais livres 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH), no qual esse extrato exibiu forte atividade antioxidante com um valor de IC₅₀ de 16,7 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (MOHARRAM *et al.* 2020). Em outro estudo comprovou-se que, a *Jatropha multifida* poderia ser uma fonte de antioxidante natural pois o extrato metanólico das folhas exibiu o menor potencial de eliminação de DPPH com valores de IC₅₀ de 46,9 $\mu\text{g/mL}$, seguido pelo extrato hexânico de folhas com valores de IC₅₀ de 59,2 $\mu\text{g/mL}$, indicando que essas frações têm um bom potencial como captadores de radicais livres (FABRI *et al.*, 2015).

4 METODOLOGIA

4.1 Tipo de estudo

Trata-se de uma pesquisa de abordagem quantitativa, do tipo experimental, no qual foram avaliadas as propriedades antimicrobiana e antioxidante, a partir da coleta e testes laboratoriais do látex da espécie da *Jatropha multifida* L. Para realização deste estudo foram realizados os seguintes testes: método de microdiluição em caldo para atividade antimicrobiana e fúngica, com a determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida e fungicida mínima (CBM) (CLSI, 2018). Para a atividade antioxidante, utilizou-se o método de sequestro de radicais livres do látex (SALES, 2012).

4.2 Locais dos experimentos

Os testes foram realizados nos Laboratórios de Pesquisa em Tratamento de Feridas/LPTF da Escola de Enfermagem, no laboratório de Laboratório de Tecnologia e Controle de Medicamentos do Instituto de Ciências Farmacêuticas-LQM/ICF, no Laboratório de Farmacognosia do Instituto de Ciências Farmacêuticas (ICF) todos pertencentes à Universidade Federal de Alagoas/UFAL.

4.3 Coleta e Identificação do material vegetal

A coleta foi realizada no mês de janeiro de 2021, no horário matinal as 08h:00m, sob clima tropical, temperatura do momento 30°, na comunidade do povoado Fazenda Nova localizada no município de Igreja Nova, no estado de Alagoas com as coordenadas 10°03'18.522" Sul e uma longitude 36°38'37.9356" Oeste. A amostra da planta foi identificada pelo Instituto do Meio Ambiente (IMA) do Estado de Alagoas, a exsicata encontra-se catalogada no herbário do referido instituto com o número de registro 65229.

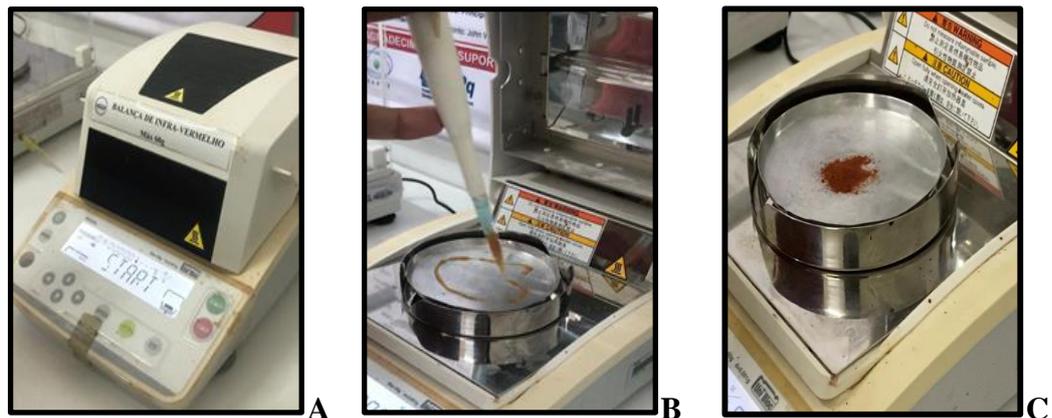
4.4 Teste de Umidade

O teste de umidade serve para determinar a quantidade de água em uma determinada substância e é de extrema importância, pois pode afetar a vida útil, usabilidade, processabilidade e qualidade de um produto. Para determinação do índice de umidade utilizou-se a Balança Analisador de Umidade Infravermelho modelo MOC63u, marca Shimadzu (Figura 6A).

Após definida as condições de medição (modo automático, temperatura, nível do analisador) a balança foi tarada, e cerca de 1mL do látex foi colocado no prato (Figura 6B) de forma que a amostra ficasse bem espalhada. A referida balança permite a pesagem inicial da

amostra, no qual, o volume de 1ml do látex correspondeu a 1,11 gramas. Em seguida, foi iniciada a medição da amostra, o tempo de medição foi de 0h:24m:06s e temperatura corrente 105 °C. Para calcular o valor de umidade do pó liofilizado foram pesados 0,2g (Figura 6 C), e o tempo de medição foi de 0h:35m:08s. Após esse tempo, foi evidenciado na tela da balança infravermelho o valor referente à umidade da amostra avaliada. O referido teste para ambos os extratos da *Jatropha multifida* foi realizado em triplicata.

Figura 6. Avaliação da Umidade do látex e do pó liofilizado da *Jatropha multifida* L.



Nota: A Balança Analisadora em Infravermelho; B- Látex espalhado no prato de pesagem; C- Pó liofilizado no prato de pesagem. Fonte: A Autora, 2021.

4.5 Obtenção do extrato

4.5.1 *In natura*

Para obtenção do látex *in natura* utilizado neste estudo foi seguido como referencial teórico a técnica de extração utilizada pelos seringueiros, conforme Souza (2013), com algumas adaptações visto que, a estrutura da espécie *Jatropha multifida*, bem como, as características do seu látex, a velocidade de drenagem e a consistência são diferentes a da seringueira. Para tanto, foi realizada a sangria no período matinal entre 06h:00m e 09h:00m com auxílio de uma lâmina de bisturi em aço carbono nº 24 (Figura 7A).

Em seguida, foram feitos três a quatro cortes oblíquos com tamanhos de três a quatro centímetros no caule da planta, de forma que foi conseguido alcançar os vasos lactíferos presentes no caule, vale ressaltar que os cortes foram rasos para não danificar a planta, o látex escorrido foi coletado com auxílio de uma seringa estéril e descartável slip de 20 mL sem agulha, sendo posteriormente transferido para armazenamento em potes coletores de 80 mL (Figura 7B), de cor branco leitoso estéril e armazenado em geladeira.

Figura 7- Coleta do látex



Fonte: A Autora, 2021.

4.5.2 Liofilizado

Para a produção de extratos secos a partir da matéria vegetal na forma líquida, são utilizadas algumas técnicas conhecidas para total retirada de solvente dos extratos líquidos, obtendo-se assim, o material vegetal na forma de pó. Para esta pesquisa foi utilizado o método de desidratação do material por liofilização.

A primeira etapa foi o pré- congelamento do látex. Dessa forma, separou-se 160 mL do látex, o qual foi distribuído em duas bandejas circulares (Figura 8), e colocadas, em freezer horizontal à temperatura de $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ de modo que a água presente no material fosse convertida em gelo no qual permaneceu por um período de 24 horas.

Figura 8. Látex depositado em Bandeja circular

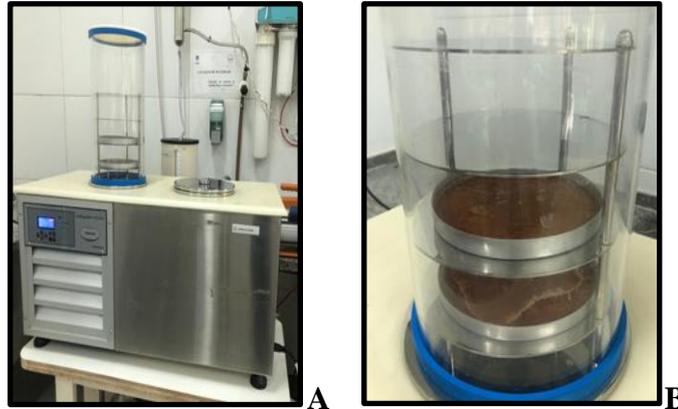


Fonte: A Autora, 2021.

No dia seguinte, as bandejas circulares contendo o látex pré-congelado foram retiradas do freezer e levadas ao Liofilizador de Bancada (Figura 9A e 9B), com capacidade de remoção de 3,0 até 5,0 litros de gelo por ciclo de 24 horas, modelo LD 1500, marca Terroni. O tempo

total de liofilização foi 26:28 horas, sob vácuo e temperatura de 44 °C e o critério para considerar o processo finalizado foi a observação do aspecto do produto final.

Figura 9. Liofilizador



A: Liofilizador de Bancada; B: Bandejas circulares. Fonte: A Autora, 2021.

O extrato obtido por liofilização apresentou coloração marrom (Figura 10), o material foi em seguida macerado, depois pesado na balança apresentando um valor de 240 gramas, por fim foi preservado em frasco hermeticamente fechado.

Figura 10. Extrato obtido por liofilização



Fonte: A Autora, 2021.

4.6 Triagem Fitoquímica

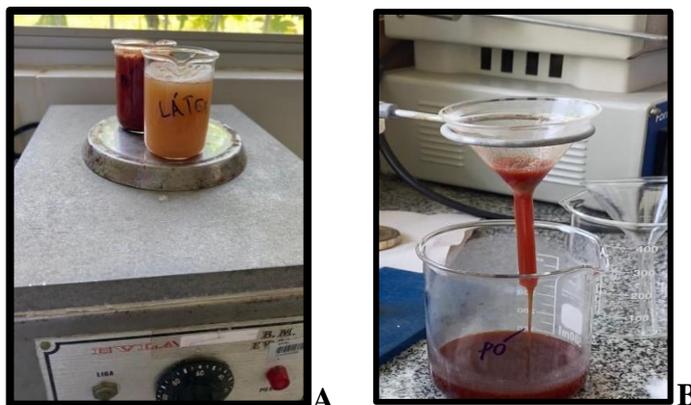
A pesquisa de metabólitos secundários foi realizada a partir do extrato do látex *in natura* e liofilizado da *Jatropha multifida*, com testes para: saponinas, taninos, flavonoides, antraquinonas e alcaloides, segundo o proposto pela Sociedade Brasileira de Farmacognosia (2021), com alterações. Os testes foram executados no Laboratório de Farmacognosia do Instituto de Ciências Farmacêuticas (ICF) da Universidade Federal de Alagoas.

4.6.1 Preparação dos extratos

O extrato aquoso do látex liofilizado da *Jatropha multifida*, foi preparado pesando-se 5 g do extrato dissolvendo em 100 mL de água estéril contida em um béquer de mesmo volume. Em seguida, este foi levado para chapa aquecedora (Figura 11A) para melhorar o processo extrativo e potencializar a sua dissolução na água, sendo está observada manualmente. Depois do processo de fervura, o extrato foi filtrado em funil de vidro (Figura 11B) para a retirada do material não solubilizado e ao final, obteve-se uma solução cuja concentração inicial foi de 5% (p/v).

Para a preparação do extrato aquoso do látex *in natura*, foi pipetado um volume de 5 mL do látex, completados para 100 mL de água estéril, chegando-se à concentração final 5% (v/v). Este foi preparado de forma análoga ao primeiro extrato. Após a preparação de ambos os extratos, estes foram diluídos até se chegar ao volume final de 200 mL para realização dos testes fitoquímicos.

Figura 11 –Preparação dos Extratos do látex liofilizado e *in natura* da *J. multifida*



Nota: A: Aquecimento dos extratos; B:Processo filtração do extrato. Fonte: A Autora, 2021.

4.6.2 Saponinas

Para a determinação de saponinas foi feito o teste de produção de espuma e da análise do índice afrosimétrico – determinação semiquantitativa do índice de espuma. Para tal, foram selecionados 10 tubos de ensaio, de mesmas proporções, sendo em seguida adicionados com auxílio de pipeta graduada, volumes crescentes de solução extrativa (Figura 12), começando de 1 mL e terminando com 10 mL, sendo os tubos de 1-9 preenchidos com água estéril até o volume final de 10 mL (Tabela 1).

Realizado isto, todos volumes em cada tubo foram marcados com marca texto e na sequência, agitados vigorosamente por 15 segundos, sendo observado o tempo de finalização

de cada tubo de ensaio. A presença positiva se daria devido a formação de espuma. A altura de cada tubo (cm) após a agitação foi marcada, assim como decorridos os 15 minutos de agitação.

Figura 12- Volumes crescentes de solução extrativa da *J. multifida*



Fonte: A Autora, 2021.

Tabela 1. Relação do volume de extrato para determinação de saponinas no extrato aquoso do látex liofilizado e *in natura* da *Jatropha multifida*

Volume	Tubos									
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
V_i (mL)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
V_{adc} (mL)	9	8	7	6	5	4	3	2	1	-
V_t (mL)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10

Nota: V_i = volume de extrato; V_{adc} = volume de água estéril adicionada; V_t = volume final em cada tubo. Fonte: A Autora, 2021.

Procedidos os 15 minutos de repouso dos dez tubos, altura de cada tubo foi medida com régua e as mesmas marcadas com marcador de texto. Depois, foi adicionado um volume de 1mL de HCl a 2M, sendo também verificada a altura/permanência de espuma após a adição do ácido mineral diluído. O índice afrosimétrico, que faz uma projeção semiquantitativa da quantidade de saponinas presentes em dada droga vegetal, foi calculada através da seguinte fórmula:

$$IA = \frac{1000}{A}$$

Em que: IA= Índice afrosimétrico; A= volume (em mL) do extrato usado na preparação do tubo mais diluído onde a espuma foi observada.

4.6.3 Taninos

Para a presença de taninos, foram feitos os testes de precipitação por gelatina e do cloreto férrico (FeCl_3). Para o primeiro, foram pipetados 2 mL do extrato em tubo de ensaio, sendo adicionadas 2 gotas de HCl diluído (0,1 M) e na sequência, solução de gelatina a 2,5% (peso/volume) gota a gota. A presença confirmatória se deu nos casos da formação de precipitado ao fundo do tubo após um período de repouso de 20 minutos.

O teste do cloreto férrico foi executado diluindo-se 2 mL da solução extrativa diluídos em 10 mL de água estéril, aplicando-se posteriormente 2-4 gotas de solução FeCl_3 a 1% em metanol. A confirmação se daria após a formação de coloração negro ou azul, indicativo para a presença de taninos hidrolisáveis, ou verde escuro, para taninos condensados ou catéquicos. Ambos os testes foram comparados com 5 mL dos extratos sem nenhuma adição de reativos em um terceiro tubo de ensaio (branco).

4.6.4 *Flavonoides*

A identificação genérica para flavonoides, foi feita pela Reação de Shinoda e da reação com cloreto de alumínio (AlCl_3). Para a reação de Shinoda, 2 mL de cada extrato foram colocados em tubos de ensaio distintos, sendo adicionados em cada um, seis fragmentos de Magnésio metálico (Mg^{2+}).

Após a inserção dos fragmentos ao interior de cada tubo, foi aplicado, vagarosamente, o volume de 1 mL de HCl concentrado. A reação se daria positiva, caso houvesse durante a aplicação do ácido o desenvolvimento de coloração rósea a vermelha.

A reação com AlCl_3 foi produzida, umedecendo-se áreas diferentes de uma tira de papel filtro com seus respectivos extratos, devidamente identificados. Em seguida, gotejou-se em cada uma das regiões do papel, uma gota de solução de AlCl_3 a 5% e sua fluorescência observada sob luz ultravioleta em aparelho TLC *Visualizer 2* (CAMAG®).

4.6.5 *Antraquinonas*

A reação de Bornträger direta foi operada pipetando-se 5 mL de cada extrato em tubos de ensaio e adicionado de 1 mL de solução de NaOH a 10%. A presença positiva para antraquinonas se daria a partir da formação de coloração rósea nos tubos.

4.6.6 *Alcaloides*

Para a presença de alcaloides foram produzidos novos extratos do extrato liofilizado e *in natura* do látex da *Jatropha multifida* em 20 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) a 1% a partir do

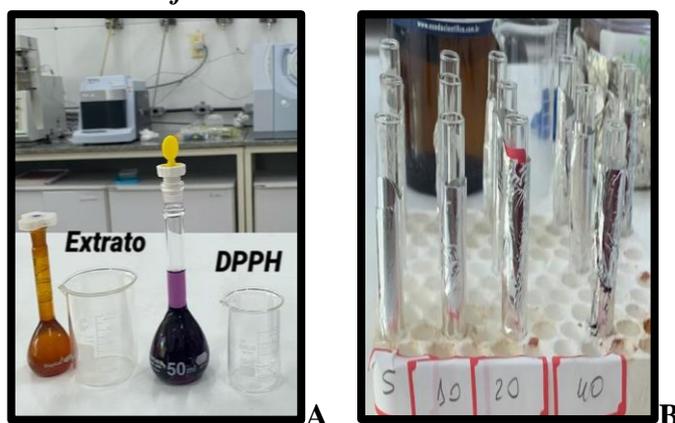
2 gramas do pó liofilizado e de 2 mL do látex. Sendo ambos fervidos em fonte aquecedora até sua completa dissolução e na sequência, filtrados.

Após o resfriamento, alíquotas de 10 mL do extrato *in natura* e do pó liofilizado foram despejadas em 2 tubos de ensaio, sendo um para realização do teste e outra para comparação (branco). A pesquisa direta, se deu pela aplicação do reagente de Bertrand, sendo positivo nos casos em que houve a ocorrência de turvação a precipitação.

4.8 Avaliação da Atividade Antioxidante

A atividade antioxidante foi realizada pela técnica de sequestro do 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH), conforme a metodologia descrita por Sales (2012), com algumas modificações. Inicialmente, uma solução etanólica de DPPH com concentração de 0,1 mmol/L foi preparada e armazenada em vidro âmbar mantida ao abrigo da luz em triplicata (Figura 13A). Em seguida, soluções dos extratos do látex *in natura* e liofilizado de *J. multifida* L. (Figura 11A) foram preparadas com concentrações de 5, 10, 20 e 40 µg/mL em triplicata (Figura 13B). Com a solução de DPPH em temperatura ambiente, colocou-se 2 mL em balões volumétricos âmbar de 5 mL, em seguida adicionou alíquotas do látex *in natura* e do pó liofilizado da *Jatropha multifida* nas concentrações preparadas.

Figura 13. Ensaio da atividade antioxidante do extrato do Látex *in natura* e do pó liofilizado da *J. multifida*



Nota: A: Solução do DPPH (coloração violeta) e do Extrato. B: Concentrações do extrato em triplicata. Fonte: A Autora, 2021.

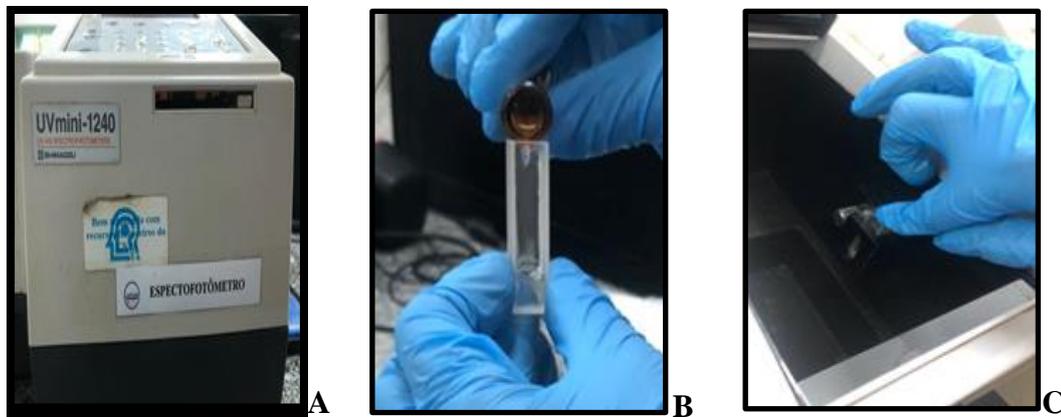
Após decorridos 30 min em temperatura ambiente e ao abrigo da luz, fez-se a leitura das absorvâncias em espectrofotômetro UV-vis, modelo Shimadzu 1240 (Figura 14A) em comprimento de onda 517 nm. Para tanto, as amostras dos extratos obtidas após reação com o DPPH foram colocadas em cubetas de vidro (Figura 14B e 14C), que foram preenchidas na quantidade que garantisse a passagem do feixe de luz UV pelas amostras colocadas nas cubetas.

Antes de iniciar o procedimento, o espectrofotômetro foi ligado para estabilização da luz do aparelho por um período de 5 minutos, ajustando-se o aparelho, para que pudesse descontar qualquer absorção de luz proveniente da cubeta ou do solvente utilizado.

Como controle branco utilizou-se a água destilada, a qual foi colocada em uma cubeta e depois levada ao aparelho, para então ser feita uma varredura dos comprimentos de onda. A dinâmica do ensaio consiste em identificar que, compostos antioxidantes são capazes de estabilizar o radical DPPH, dessa forma, as soluções com maior concentração de antioxidantes descolorem, diminuindo a absorbância a 517 nm.

De outro modo, as soluções com baixa atividade antioxidante tendem a permanecer com a coloração roxa característica do radical DPPH, apresentando, assim, maiores valores de absorbância.

Figura 14. Leitura da atividade antioxidante no Espectrofotômetro



Nota: A-Espectrofotômetro. B- colocação do extrato na cubeta. C- colocação da cubeta no aparelho para leitura. Fonte: A Autora, 2021.

Dessa forma, após a leitura dos resultados em espectrofotômetro a 517nm foi possível estipular a porcentagem de atividade antioxidante (AA%), que condiz com a quantidade de DPPH consumida pelo antioxidante, A porcentagem de radical DPPH remanescente, no tempo de 30 minutos foi calculada de acordo com base na seguinte equação abaixo:

$$\% \text{ DPPH.Remanescente} = \frac{(A_{\text{amostra}} - A_{\text{branco}})}{(A_{\text{controle}} - A_{\text{branco}})} \times 100$$

Onde: Aamostra = absorbância da reação entre a solução do radical de DPPH e a amostra antioxidante; Abranco = absorbância da solução de solvente utilizada para preparar a amostra antioxidante; Acontrole = absorbância do radical de DPPH com uma alíquota do solvente correspondente ao volume da maior concentração da amostra.

Após a determinação do radical DPPH Remanescente, determinou-se a porcentagem de inibição do radical DPPH, através da seguinte fórmula.

$$\% \text{ de inibição do radical DPPH Remanescente} = 100 - \% \text{ DPPH.Remanescente}$$

4.9 Ensaio Biológicos *in vitro*

4.9.1 Concentração Inibitória Mínima (CIM)

Para avaliação da atividade antimicrobiana foi utilizado ensaio de microdiluição em caldo para determinação da concentração inibitória mínima (CIM), conforme documento do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2018). O extrato do látex de *Jatropha multifida* L. bem como o extrato liofilizado foram diluídos em solução salina (0,9%) para obtenção de uma concentração estoque de 2000 µg/mL.

Foram utilizadas linhagens padronizadas pela *American Type Cell Collection* - ATCC/Manassas - VA/USA, sendo elas: bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus* - ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* - ATCC 31488 e *Enterococcus faecalis* - ATCC 29212), Gram-negativas (*Pseudomonas aeruginosa* - ATCC 27853, *Escherichia coli* - ATCC 25922 e *Enterobacter aerogenes* (ATCC 13048), e o fungo leveduriforme *Candida albicans* (ATCC 24433).

Os inóculos foram preparados em solução salina tamponada estéril e a suspensão bacteriana determinada pela turvação do tubo 0,5 da escala de Mc Farland ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL), diluída em uma proporção de 1:10 para se conseguir uma concentração final de bactérias de 5×10^4 UFC/poço ao inocular 5 µL dessa suspensão em cada poço. A suspensão fúngica, também determinada pela escala 0,5 de Mc Farland ($1,5 \times 10^6$ UFC/mL), foi diluída em 1:50 para alcançar uma concentração de $0,5$ a $2,5 \times 10^3$ UFC/mL.

A CIM foi determinada em microplacas de poliestireno estéreis de 96 poços, com 12 colunas numeradas de 1 a 12 e 8 linhas marcadas de A a H. Todos os orifícios a partir da linha A foram preenchidos com 100 µL de caldo Ágar Mueller Hinton (AMH). Nas colunas da linha A foi inserido o extrato do látex com um volume de 100 µL, o qual foi avaliado em triplicata para cada microrganismo, o mesmo volume foi utilizado para o extrato liofilizado.

Após esse processo, 100 µL de cada poço da linha A foi pipetado e transferido para o poço da linha B da mesma coluna, realizando a homogeneização do conteúdo e, então, 100 µL desse poço foi transferido para a linha C, repetindo-se o processo até a linha H, desprezando-se, após a homogeneização, o excesso da diluição, obtendo-se assim concentrações decrescentes do extrato (1000 µg/mL na linha A; 500 µg/mL na B; 250 µg/mL na C, 125 µg/mL

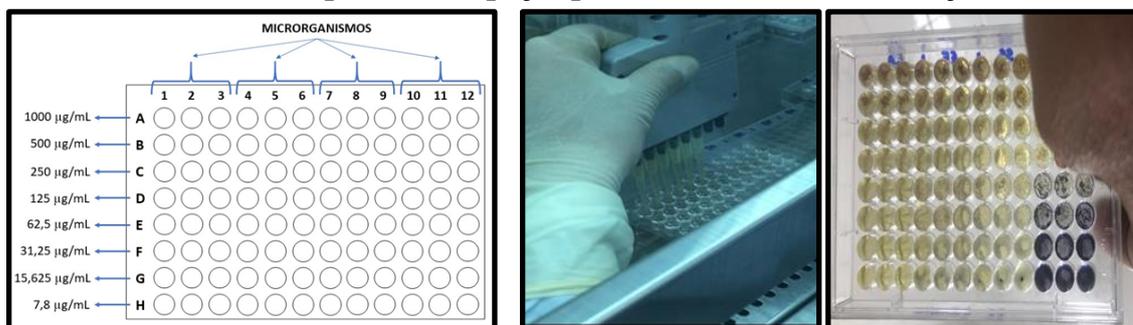
na D, 62,5µg/mL na E, 31,25µg/mL na F, 15,625µg/mL na G e 7,8µg/mL na H). Posteriormente, em cada poço foi adicionado 5 µL do inóculo microbiano, exceto naqueles correspondentes ao controle de esterilidade.

Os controles do experimento foram realizados em uma placa à parte. Para o controle da viabilidade microbiana utilizou-se o caldo de cultivo AMH e o inóculo bacteriano. O controle negativo foi realizado com solução salina (0,9%), empregada para diluição do extrato, enquanto que para o controle de esterilidade foi utilizado apenas caldo AMH, a fim de comprovar a esterilidade do meio e das microplacas utilizadas.

As microplacas foram acondicionadas em estufa microbiológica a 35 °C durante 24 horas para bactérias e 48 horas para o fungo. Transcorrido o período de incubação, foi efetuada leitura das placas com auxílio do revelador Brometo de Trifenil Tetrazólio 2,3,5 (BTT) 1%, que indica crescimento microbiano. Para isto, foi inoculado 20 µL do revelador (BTT) em todos os poços e, em seguida, as microplacas foram reincubadas por um período de 3 horas. Após este período, as mesmas foram observadas e analisadas. A ausência de cor nos poços foi interpretada como microrganismo sensível ao extrato testado (ausência de crescimento).

De modo contrário, os poços que apresentaram coloração azulada foram interpretados como microrganismo resistente (presença de crescimento). A CIM foi definida como a menor concentração do extrato capaz de inibir o crescimento do microrganismo. O experimento foi realizado em triplicata (Figura 15).

Figura 15. Concentrações do extrato do látex de *J. multifida* L. distribuídas na microplaca de 96 poços para o ensaio de microdiluição em caldo



Fonte: A Autora, 2021.

O grau de atividade antimicrobiana foi determinado segundo os critérios estabelecidos por Ayres et al. (2008): CIM de até 100 µg/mL (ativa), CIM de 100 a 500 µg/mL (atividade inibitória moderada), CIM de 500 a 1000 µg/mL (atividade fraca) e CIM maiores que 1000 µg/mL (inativos).

4.9.2 Concentração Bactericida Mínima (CBM)/Concentração Fungicida Mínima (CFM)

Posteriormente à verificação da CIM, foi prosseguido o teste de CBM, que se refere à concentração mínima do composto natural capaz de eliminar completamente as bactérias alvos do estudo e o da CFM, que se refere à concentração mínima do composto natural capaz de eliminar completamente o fungo alvo do estudo.

Nesse caso, as amostras obtidas do caldo nutritivo de cultura com o composto natural da espécie estudada, para CBM foram semeadas em placas de Petri com meio de cultura à base de Ágar Mueller Hinton (AHM) e foram expostas a condições favoráveis ao crescimento bacteriano por 24 horas. Para CFM foram semeadas também em placas de Petri com meio de cultura à base de Ágar Sabouroud expostas a condições favoráveis ao crescimento fungico por 48 horas.

Sendo assim, para determinação da CBM e CFM, alíquotas de aproximadamente 20 μL de cada poço (valores iguais ou acima das CIMs) foram semeados nas placas de Petri em triplicata e incubadas a 37 °C por 24 horas para CBM e CFM por 48 horas. A placa de Petri foi dividida em setores e cada setor referiu-se a uma diluição que inibiu o crescimento dos microrganismos testado neste estudo na placa de 96 poços (Figura 16).

Figura 16. Teste de Concentração Bactericida Mínima e Fungicida Mínima



Nota: A: Esquema para uso da placa de Petri nas subculturas retiradas da placa de 96 poços; B: Foto da placa de Petri no teste de CBM. C Foto da placa de Petri no teste de CFM - Fonte: Autora, 2021.

Em cada ponto, dentro do setor, foram pipetados uma amostra de 20 μL de cada repetição. A CBM e a CFM foram consideradas as concentrações mais baixas a partir da qual não se observou crescimento de microrganismos após a cultura. O ensaio foi realizado em triplicata de acordo com os padrões do CLSI (2018).

5 RESULTADOS

5.1 Teor de Umidade

A balança infravermelho utilizada neste estudo emprega o método termogravimétrico que determina a umidade através da perda de peso da massa. O valor de umidade para o látex *in natura* e liofilizado da *J. multifida* L após a secagem estão apresentados no quadro 1.

Quadro 1. Teor de Umidade, após a secagem, do látex da *J. multifida* L.

Espécie vegetal	Umidade (%)	Teor de sólidos solúveis
<i>Látex in natura J. multifida</i>	87,4 ± 0,7	12,5 ± 5,4
<i>Látex liofilizado J. multifida</i>	16,9 ± 2,8	83 ± 0,5

Fonte: A Autora, 2021.

5.2 Avaliação da Prospecção Fitoquímica

5.2.1 Saponinas

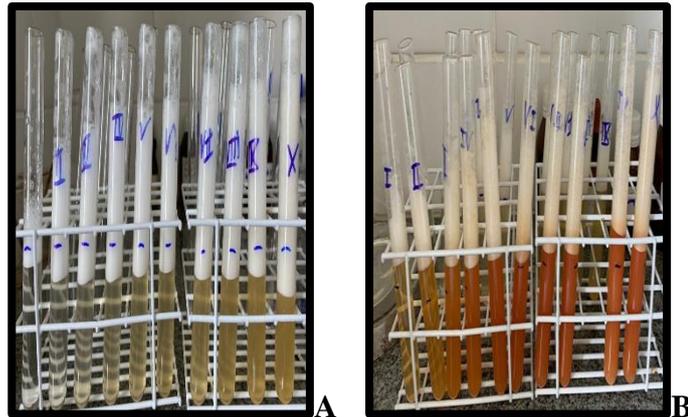
Ambos os extratos apresentaram uma excelente formação de espuma após a agitação e que se mantiveram após os 15 minutos em repouso, e de espuma persistente após a adição do ácido mineral diluído (Figura 16A e 16B). Os tubos contendo as maiores diluições tiveram altura (*h*) da espuma superior a 1 cm, se equiparando aos tubos mais concentrados. Esta informação foi validada pela análise semiquantitativa de saponinas presentes nos extratos, em que o *IE*= 1000 dos tubos contendo 1 mL de solução extrativa. Na tabela a seguir (Tabela 2), são expostas as alturas da espuma dos extratos de *Jatropha multifida*.

Tabela 2- Alturas da espuma dos tubos após agitação e adição de HCl a 2M do extrato aquoso *in natura* e liofilizado do látex da *J. multifida*

Extratos	Tubo										
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	h(cm)
EAL	2	3,5	4,5	5,5	6,0	6,0	7,0	6,5	6,5	9,0	A
	2	3,5	4,5	5,5	6,0	6,0	7,0	6,5	6,5	9,0	B
ELPL	5,0	7,0	7,5	8,0	8,0	8,0	9,0	8,0	9,0	9,0	A
	5,0	7,0	7,5	8,0	8,0	8,0	9,0	8,0	9,0	9,0	B

Nota: EAL= Extrato *in natura*. EAPL= Extrato liofilizado. *h* = altura, A = altura da espuma após 15 min de repouso, B= altura da espuma após adição de HCl a 2M

Figura17- Anel de espuma nos extratos *in natura* e liofilizado do látex da *J. multifida*

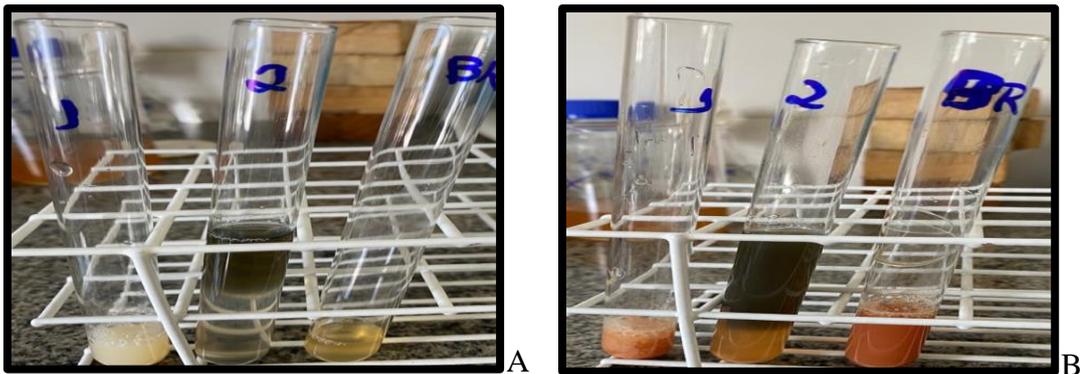


Nota: A- Extrato do látex *in natura*; B- Extrato do látex liofilizado. Fonte: A Autora, 2021.

5.2.2 Taninos

Os testes para taninos foram probatórios para os dois extratos da *Jatropha multifida* conforme a precipitação destes após adição de gelatina e pela presença de taninos condensados após as amostras contidas no tubo se corarem em tom verde escuro (Figura 18).

Figura 18- Taninos no extrato *in natura* e liofilizado do látex *J. multifida*

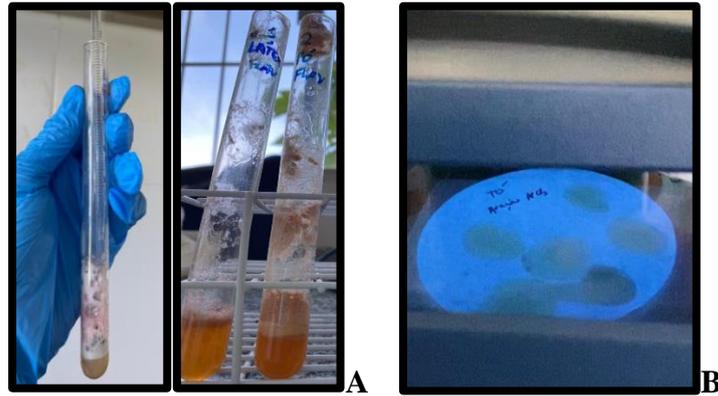


A: Reação do extrato *in natura*; B: Reação do extrato liofilizado. (Tubo 1- Teste de identificação Gelatina; tubo 2- teste de identificação Cloreto Férrico; Tubo BR- Branco- apenas o extrato filtrado). Fonte: A Autora, 2021.

5.2.3 Flavonoides

Os extratos da *J. multifida*, também evidenciaram a presença para flavonoides para a reação de Shinoda e $AlCl_3$ (Figura 19 A), revelando coloração rósea e manchas fluorescentes de cor amarela em luz ultravioleta (Figura 19 B).

Figura19- Flavonoides nos extratos *in natura* e liofilizado do látex *J. multifida*

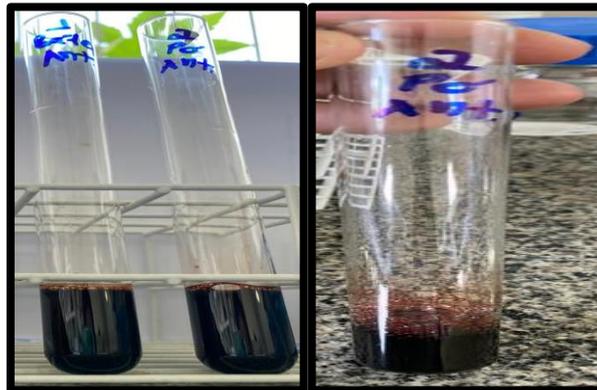


A -Reação de Shinoda positiva; B –Manchas amarelas em exposição a luz ultravioleta. Fonte: A Autora, 2021.

5.2.4 Antraquinonas

Após adição de NaOH a 10% em ambos os extratos, observou-se a formação de coloração rósea-vermelho, o que também ratifica a existência de antraquinonas (Figura 20).

Figura 20- Reação positiva para antraquinonas coloração rósea-vermelho



Fonte: A Autora,2021.

5.2.5 Alcaloides

O teste para presença de alcaloides foi negativo em ambos os extratos avaliados, não havendo assim a formação de precipitado e nem turvação após adicionar o reagente (Figura 21).

Figura 21- Reação negativa para alcaloides em ambos os extratos.



Tubo A: adicionado o reagente ao extrato; Tubo B: Branco para fins de comparação. Fonte: A Autora, 2021

5.3 Avaliação da atividade antioxidante pelo método do DPPH

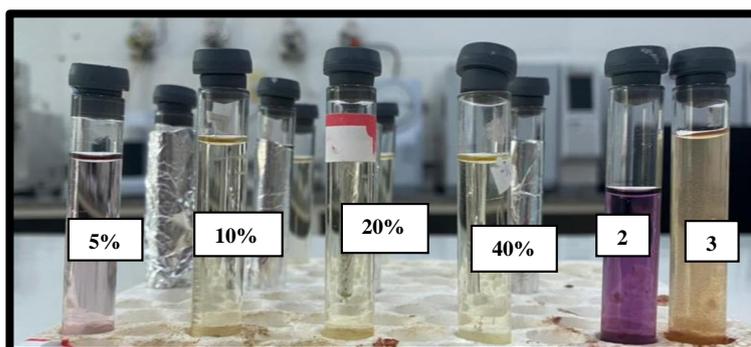
A capacidade antioxidante que uma determinada substância pode ter em sequestrar o radical DPPH, reduzindo-o a hidrazina e isso ocorre devido a alguma substância antioxidante doar átomos de hidrogênio ao DPPH, os resultados obtidos do sequestro de radicais utilizando como substância o látex *in natura* e liofilizado da *Jatropha multifida* estão apresentados no quadro 2 e na Figura 22.

Quadro 2. DPPH de frações do látex da *J. multifida* L.

Amostra:	Concentração µg/mL (% IR DPPH)			
	5	10	20	40
<i>Jatropha multifida</i>				
<i>in natura</i>	84,5 ±4,2	96,4 ±3,7	96,8±1,1	96,2 ±0,9
liofilizado	73,1 ±2,9	90,9 ±1,5	92 ±1,1	91,9 ±1,7

Nota: (% IR DPPH = % inibição do radical DPPH). ± Coeficiente de variação. Fonte: Autora, 2021.

Figura 22- Reação Antioxidante da *Jatropha multifida* L.



Nota: Concentrações do extrato liofilizado. Coloração amarelo-ambar ao entrar em contato com a solução de DPPH. 2- Solução de DPPH;3-Solução do extrato liofilizado.

5.4 Avaliação da atividade antimicrobiana do Látex *Jatropha multifida* L.

No quadro 3 estão apresentados os valores de CIM e CBM, obtidos pelo extrato do látex da *J. multifida* L., sobre os microrganismos avaliados. Foi observada alta atividade antimicrobiana frente às bactérias Gram-positivas *S. epidermidis* e *E. faecalis* (CIM = 15,6 $\mu\text{g mL}^{-1}$), moderada para os microrganismos *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* e *E. aerogenes* (CIM = 125 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e fraca atividade sobre *C. albicans* (CIM = 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$).

Quadro 3. CIM e CBM do extrato do látex *in natura* de *J. multifida* L.

Microrganismos	Extrato do látex <i>in natura</i> ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	
	CIM	CBM
Bactérias Gram-positivas		
<i>Staphylococcus aureus</i>	125	250
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	15,6	125
<i>Enterococcus faecalis</i>	15,6	125
Bactérias Gram-negativas		
<i>Escherichia coli</i>	250	125
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	125	250
<i>Enterobacter aerogenes</i>	125	500
Fungo		
<i>Candida albicans</i>	500	1000

Fonte: Autora, 2021.

Quanto à CBM, os melhores resultados foram obtidos contra *S. epidermidis* e *E. faecalis*, sendo o extrato do látex de *J. multifida* capaz de matar essas bactérias na concentração de 125 $\mu\text{g mL}^{-1}$. No que diz respeito, aos valores de CIM e CBM, do extrato liofilizado de *J. multifida* (Quadro 4), observou-se, também, uma acentuada atividade antimicrobiana frente às bactérias Gram-positivas *S. epidermidis* e *E. faecalis* (CIM = 15,6 $\mu\text{g mL}^{-1}$).

Quadro 4. CIM e CBM do extrato do látex liofilizado de *J. multifida* L.

Microrganismos	Extrato do látex liofilizado ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	
	CIM	CBM
Bactérias Gram-positivas		
<i>Staphylococcus aureus</i>	125	125
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	15,6	125
<i>Enterococcus faecalis</i>	15,6	125

Bactérias Gram-negativas		
<i>Escherichia coli</i>	125	250
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	125	125
<i>Enterobacter aerogenes</i>	125	500
Fungo		
<i>Candida albicans</i>	500	1000

Fonte: Autora, 2021.

Ainda, observou-se uma moderada atividade para *S. aureus*, *P. aeruginosa* e *E. aerogenes* (CIM = 125 $\mu\text{g mL}^{-1}$). No tocante a *C. albicans* (CIM = 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$), apresentando fraca atividade.

No que se refere, à CBM, os melhores resultados foram contra *S. epidermidis* e *E. faecalis*, sendo o extrato liofilizado de *J. multifida* capaz de matar essas bactérias na concentração de 125 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Sobre o microrganismo *E. coli* o extrato liofilizado apresentou valores diferentes do látex tanto na CIM como na CBM, apresentando respectivamente uma atividade de 125 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$

6 DISCUSSÃO

6.1 Teste de Avaliação do Teor de Umidade

O teor de umidade de espécies vegetais varia muito, portanto, tem relação com o clima, estação do ano, anatomia de cada espécie, do estágio de desenvolvimento da planta e da disponibilidade hídrica do solo. Os caules das plantas lenhosas contêm cerca de 50% de água, já os caules das plantas herbáceas contêm 70 a 80%. Certos frutos podem atingir até mais de 90% de água, enquanto as sementes geralmente contêm de 7 a 15% (BEZERRA, 2011).

Sabe-se, que a água é um constituinte fundamental para os tecidos vegetais, uma vez que, participa de inúmeras reações químicas, serve de meio de transporte de nutrientes, promove a manutenção da turgescência celular e atua no controle de temperatura da planta (KERBAUY, 2019).

Torna-se importante especificar a quantidade de água e outras substâncias voláteis na amostra vegetal, uma vez que, o excesso de água é prejudicial, pois favorece a atividade enzimática e a proliferação de microrganismos que poderão decompor os princípios ativos da planta e produzir substâncias que, se ingeridas, podem provocar intoxicações. Altos valores de teor de água associados a níveis elevados de atividade de água afetam diretamente a estabilidade do produto, possibilitando sua deterioração devido à ação de microrganismos (KRUGER, 2013; BARROS *et al.*, 2019).

Nesse sentido, observou-se que o teor de umidade obtido na amostra do látex *in natura* da *J. multifida* (87,4%) foi mais alto que o teor de umidade presente no látex liofilizado (16,9%) e que, esse apresentou resquícios de umidade após o processo de liofilização. Vale salientar que neste método termogravimétrico, além da água são eliminadas substâncias de qualquer natureza que se apresentam voláteis na temperatura estipulada.

Os dados obtidos mostram que o látex ao submeter-se ao processo de liofilização foi eficaz para a estabilidade do material revelando um produto com características de maior conservação e qualidade visto também que, o teor de sólidos solúveis encontrados (83,3%) foi maior comparado ao látex *in natura* (8,6%).

Sendo o teor máximo de umidade estabelecido pela Farmacopeia Brasileira, entre 8 a 14%, não se pode dizer que as amostras analisadas estão dentro ou fora do seu teor de umidade ideal, uma vez que não foram encontrados valores de referência dessa espécie na literatura.

Estudo com a espécie *Cnidosculus quercifolius* (Euphorbiaceae) constatou que amostras dos galhos apresentaram teor de umidade de 56%. corroborando com os resultados obtidos na presente pesquisa (FREITAS, 2013).

6.2 Avaliação da Prospecção Fitoquímica

Conforme o quadro 5, taninos, flavonoides, antraquinonas, alcaloides e saponinas foram as classes de metabólitos secundários detectadas no látex *in natura* e liofilizado de *J. multifida*, com resultados negativo em ambos os extratos para alcaloides.

Quadro 5- Metabólitos secundários no látex *in natura* e liofilizado de *J. multifida*

CLASSES DE METABÓLITOS	REAÇÃO	RESULTADO Extrato <i>in natura</i>	RESULTADO Extrato liofilizado
Antraquinonas	Cor rósea-vermelho	++	++
Taninos	Precipitado verde escuro	++	+++
Flavonoides	Cores diversas	+	+
Saponinas	Espuma abundante e persistente	++	+++
Alcaloides	Sem reação	-	-

Nota: (+) presença (-) ausência. + = presente, ++ = moderada, +++ = intensa, - = ausente. Fonte: A Autora, 2021.

Os resultados corroboram com os relatos descritos que espécies de *Jatropha* são reconhecidas como importantes fontes de metabólitos secundários com um amplo espectro de funções biológicas e com potencial terapêutico, tais como fenóis, flavonoides, antocianinas, terpenos, taninos, saponinas, entre outros. A estes metabólitos são atribuídas ações de melhorar a resposta imunológica, combater infecções e modular positivamente o processo inflamatório (CARVALHO *et al.*, 2018; BRAQUEHAIS *et al.*, 2016).

Estes achados corroboram com o estudo de Sundaryono, Ruyani e Sari (2015) que constatou a presença de metabólitos secundários como taninos, saponinas e flavonoides dos extratos etanólicos dos caules de *Jatropha multifida*. Já o estudo de Borges (2016), identificou nos extratos bruto da folha a presença de saponinas e alcaloides. Entretanto, outros metabólitos no estudo de Fabri *et al.*, (2015) como esteróis e triterpenos nos extratos aquoso, metanólico e hexânico das folhas e extrato hexânico e metanólico do fruto da *J. multifida* também foram identificados na literatura apesar do presente estudo não ter avaliado esses metabólitos.

A presença de taninos no látex *in natura* e liofilizado da *J. multifida* no presente estudo confirma o forte traço deste metabólito na referida espécie vegetal. Este tipo de metabólito secundário tem massa molar variável e são solúveis em água, são substâncias adstringente,

amplamente distribuído entre as plantas, favorecendo a sua proteção contra ataques de fungos, bactérias, vírus e ainda contra (Da Costa, 2020).

Vale salientar que moléculas de taninos condensados são bastantes resistentes a degradação microbiológica e possuem propriedades antioxidantes, uma vez que são polifenóis (BHOITE e MURTHY, 2015). O que justifica a ação antibacteriana do extrato do látex *in natura* e liofilizado da *J. multifida* comprovada no estudo frente as bactérias gram-positivas e negativas testadas, bem como, sua atividade antioxidante.

Em relação as saponinas essas são conhecidas por possuírem características de capacidade de formar espuma em soluções aquosas a partir de seus compostos não nitrogenados, fato esse detectado em no estudo para ambos os extratos do látex, porém, com predomínio de valores maiores do tamanho da espuma após agitação de 15 minutos e após adição de HCl a 2M no extrato do látex liofilizado. Dentre as atividades mais citadas, em relação às saponinas, destacam-se a atividade antiinflamatória e antimicrobiana (FERNANDES *et al.* 2019). A presença de saponinas também foi identificada em plantas pertencentes ao mesmo gênero como no caso dos estudos de composição fitoquímica do látex da *Jatropha molíssima* no estudo de Queiroz (2018) e no extrato aquoso do caule de *Jatropha curcas* em Rahu *et al.* (2021).

Pesquisa realizadas por autores constataram a ausência de alcaloides da espécie *J. multifida* como o estudo do de Fabri *et al.* (2015) ao avaliar o extrato hexânico, metanólico e aquoso das folhas e o extrato hexânico e metanólico do fruto, esse teste negativo também foi encontrado no presente pesquisa. É importante salientar que foram repetidos os testes para detecção desse metabólito secundário, porém os resultados foram mantidos.

A presença de flavonoides na espécie vegetal em estudo foi encontrada, mas com uma reação pouco expressiva, mesmo assim, o látex liofilizado apresentou uma melhor reação nos testes realizados. Estudo realizado por Chioma *et al.* (2021) comprovou a presença de flavonoides em extrato metanólico das folhas e Pereira-Filho *et al.* (2020) no extrato hidroalcoólico das folhas de *J. multifida*, teve resultado negativo para presença desse mesmo metabólito. Os flavonoides são um grupo de substâncias naturais, com ação antioxidante, essa atividade foi comprovada no presente estudo classificando-a como uma atividade antioxidante moderada, para ambos os extratos.

A detecção das antraquinonas nos extratos do látex *in natura* e liofilizado apresentaram a mesma reação sem sobreposição. Esse metabólito tem sido usado terapeuticamente com fins purgativos, laxativos e apresentam-se dentro da classe dos irritantes ou estimulantes do peristaltismo intestinal, também atuam como antioxidantes, bem como analgésicos (DEMARQUE, 2017).

A prospecção fitoquímica, dos extratos do látex *in natura* e liofilizado da *J. multifida* evidenciou a presença de metabólitos secundários de grande importância na área da saúde e

biotecnológica, para o tratamento das afecções que acometem o ser humano. Vale destacar que os resultados de diferentes prospecções podem sofrer variações e discrepâncias devido às técnicas de separação empregadas, os solventes utilizados e à sua polaridade.

6.3 Avaliação da atividade antioxidante

Os resultados mostraram que o extrato do látex *in natura* e liofilizado apresentaram atividade moderada, podendo ser considerado como promissora fonte de combate aos radicais livres, porém, os valores encontrados no látex liofilizado (73,1 µg/mL) foram mais expressivos nas concentrações testadas principalmente a 5% quando comparados ao látex *in natura* (84,5 µg/mL). Uma substância ou um extrato pode ser considerado ativo quando apresentar o percentual de descoloração superior a 50%.

De acordo com Reynertson, Basile e Kennelly (2005) os antioxidantes podem ser classificados da seguinte forma: muito ativos (IC_{50} inferiores a 50 µg/mL), moderadamente ativos (IC_{50} entre 50 e 100 µg/mL), levemente ativos (IC_{50} entre 100 e 200 µg/mL) e inativos (IC_{50} maiores que 200 µg/mL). verifica-se que o extrato do látex *in natura* bem como o pó liofilizado de *J. multifida* se classificam como moderadamente ativo, com valores mais expressivos no látex liofilizado.

Fabri *et al.* (2015) ao avaliar o extrato metanólico de folhas da *J. multifida*, exibiu o menor potencial de eliminação de DPPH com valores de IC_{50} de 46,9 µg/mL, seguido pelo extrato hexânico de folhas com valores de IC_{50} de 59,2 µg/mL, indicando que essas frações têm um bom potencial como eliminadores de radicais livres. Comparando os dados da literatura com os do presente estudo, observa-se que se assemelham, uma vez que, os do látex *in natura* e liofilizado apresentaram um discreto aumento, entretanto, pode-se observar que contribuem para reforçar a atividade antioxidante, nas diferentes partes da espécie vegetal em destaque.

Essa atividade também tem sido estudada por Carvalho *et al.* (2018) que avaliaram extratos da *J. multifida*: látex com DPPH (IC_{50}) de 3,4 µg/mL e folhas 1% mostrando assim como atividade 1.531 µg/mL. Ahomafor *et al.* (2016) mostraram que os extratos do caule da *J. multifida* possuem um radical DPPH apreciável. Foram avaliados diferentes frações do extrato de raiz de *J. multifida* como em metanol (210 µg/mL), em éter (185 µg/mL), em clorofórmio (33 µg/mL) e em acetato de etila (76 µg/mL). O estudo revelou a presença de atividade antioxidante dos extratos do caule e que o extrato clorofórmico teve a maior propriedade antioxidante em comparação com as demais frações. Deste modo, a família Euphorbiaceae, revela-se bastante promissora na esfera das plantas com potencial antioxidante.

Espécies do gênero *Jatropha* destacam-se, ainda mais, nessa atividade, o que pode explicar a razão pela qual a maior quantidade de depósito de patentes (20 patentes) terem sido encontradas. (PEREIRA-FILHO *et al.*, 2020). Vale ressaltar que, os efeitos anti-inflamatórios e antimicrobianos podem estar associados às propriedades antioxidantes de espécies desse gênero (ANAKI *et al.*, 2016). A atividade antiradicalar da *J. gossypifolia* foi evidenciada nos ensaios de Martins *et al.* (2018) revelando que o extrato do látex apresentou forte atividade, com CI_{50} de $5,14 \pm 0,16 \mu\text{g/mL}$ no teste do DPPH.

Assim, corroborando com a afirmação acima Moreno *et al.* (2016) ao testar pelo método ABTS, extratos hidroalcoólicos de raiz e caule da *J. dioica* identificaram atividade antioxidante desses extratos com IC_{50} de 89%. No tocante a *J. curcas*, Papalia, Barreca e Panuccio, (2017) avaliaram a atividade antioxidante do extrato metanólico das folhas por quatro métodos diferentes (DPPH, ABTS, FRAP, ensaio de Ferrozina) exibindo atividade relativamente forte.

6.4 Avaliação da Atividade Antimicrobiana

A determinação da atividade antimicrobiana do extrato do látex *in natura* e liofilizado da *J. multifida*. frente aos microrganismos *S. epidermidis*, *E. faecalis*, *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *E. aerogenes* e *C. albicans* neste estudo foi comprovada por meio CIM e da CBM e CFM.

A avaliação da atividade antimicrobiana para as bactérias Gram-positivas, no que diz respeito ao *S. aureus* e *S. epidermidis* resultou em uma CIM ($125 \mu\text{g mL}^{-1}$) de atividade moderada para o extrato do látex *in natura* de e uma CIM de atividade forte ($15,6 \mu\text{g mL}^{-1}$), para o liofilizado, enquanto a CBM do extrato *in natura* foi de $250 \mu\text{g mL}^{-1}$ e $125 \mu\text{g mL}^{-1}$ respectivamente, e do extrato liofilizado foi de $125 \mu\text{g mL}^{-1}$ para ambos os microrganismos. Estes resultados corroboram com Silva *et al.* (2018) que ao investigarem o potencial antimicrobiano do extrato etanólico da *J. gossypifolia* obteve uma CIM de $500 \mu\text{g/mL}$ (folhas) para ambos os microrganismos e CIM de 1000 e $500 \mu\text{g/mL}$, respectivamente (caule)

Anggita, Abdi e Desiani (2018) determinaram a eficácia das folhas e extratos de seiva de *J. multifida* no crescimento de *S. aureus in vitro*. Os resultados do estudo utilizando o método de difusão em disco mostraram diferenças na zona de inibição. O extrato etanólico das folhas de *J. multifida* apresentou diâmetro médio de 0,0 ; 9,3; 17,5 e 22,2 mm nas concentrações de 25, 50, 75 e 100%, respectivamente. Já, no tocante ao látex este apresentou diâmetro médio de 16,1; 18,1; 18,6 e 22,0 mm, nas mesmas concentrações utilizadas com o extrato das folhas.

Outro estudo, conduzido por Cruz *et al.* (2019), que também, utilizou o método de difusão em disco e o teste de microdiluição para a determinação da atividade antimicrobiana

sobre *S. aureus* do látex da *J. multifida*, revelou halo de inibição de 15 mm no teste de difusão em disco e uma CIM de 3,12 µg/mL, o que demonstra o poder antimicrobiano para *S. aureus* da espécie vegetal em destaque. Rampadarath, Puchooa e Ranghoo-Sanmukhiya (2014) avaliaram extratos das folhas de *J. multifida* contra *S. epidermidis* (ATCC 12228), em acetato de etila e em metanol, com CIM de 25,0 e 14,5 µg mL⁻¹, respectivamente. Estes dados, colaboram com os resultados da presente pesquisa, uma vez, que a parte da planta estudada, também apresentou atividade contra o *S. epidermidis*.

O resultado apresentado nesta pesquisa frente ao *E. faecalis* revelou que, o extrato do látex *in natura* e o liofilizado obteve uma CIM considerada como forte atividade de 15,6 µg mL⁻¹ e uma CBM de 125 µg mL⁻¹, para ambos os extratos, corroborando com o relato de Braquehais *et al.* (2016) que testaram o extrato etanólico das folhas de *Jatropha mollissima* frente ao *E. faecalis* (ATCC 29212), obtendo halo de inibição de 7,0 mm, confirmando assim, a ação antibacteriana do extrato contra esta cepa.

Prastiyanto *et al.* (2020) avaliaram a atividade antibacteriana do látex de três espécies do gênero *Jatropha* (*J. curcas*, *J. gossypifolia* e *J. multifida*) contra *S. aureus* e *P. aeruginosa* em ordem decrescente (50, 25, 12.5, 6.25, 3.12, 1.56, 0.78, 0.39, 0.19, 0.09, 0.04, e 0.02). Entre os três látex do gênero *Jatropha*, a espécie *J. multifida* exibiu o menor valor de CIM e CBM contra *S. aureus* (0,19 µg/mL e 0,39 µg/mL, respectivamente), Todo os tipos de látex exibiu o mesmo valor de CIM e CBM contra *P. aeruginosa* (25 µg/mL e 50 µg/mL, respectivamente).

Estudo de Ivan, Sudigdoadi e Kartamihardja (2019) utilizando como solvente uma infusão de água para preparar os extratos das folhas de *J. multifida*, avaliou o efeito antibacteriano contra *S. aureus* e *P. aeruginosa*, pelo método de difusão em disco, para determinação de CIM e CBM, nas concentrações de 100, 75, 50 e 25%, que apresentaram zonas inibitórias, apenas nas concentrações de 100 e 75%, com halos de inibição de 21,3 e 17,3 mm, respectivamente.

Barros (2015) ao avaliar a atividade antimicrobiana dos extratos aquosos e metanólicos das folhas da *J. multifida*, pelo método de microdiluição em caldo frente a *E. coli* e *P. aeruginosa* identificou que o extrato aquoso mostrou uma CIM de 200 mg/mL e o metanólico indicou CIM de 17,27 mg/mL, para ambos os microrganismos. Hanafi *et al.* (2020) também avaliaram a atividade antibacteriana do extrato em metanol das folhas da *J. multifida* contra *E. coli*. O método usado foi o de difusão em disco, o qual apresentou halo de inibição para esta bactéria Gram negativa de 11,6 mm, sendo considerada como moderadamente ativo.

Em um outro estudo, sobre a atividade antibacteriana da seiva de *J. multifida* em algumas cepas clínicas responsáveis por infecções do trato urinário realizado por Victorien *et*

al. (2019), esta espécie vegetal apresentou atividade bactericida em todas as doze cepas estudadas com destaque para *S. aureus* e *E. coli* onde apresentaram respectivamente halos de inibição de 17,1 e 18 mm, respectivamente. Esses dados corroboram com os apresentados na presente pesquisa, no qual, a atividade frente a *E. coli*, para o látex *in natura* foi uma CIM de atividade moderada de 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e CBM de 125 $\mu\text{g mL}^{-1}$, enquanto, o liofilizado apresentou CIM de 125 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e CBM 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$, também considerada uma atividade moderada.

No presente estudo o látex *in natura* e o liofilizado da *J. multifida* apresentaram as mesmas atividades de CIM de atividade moderada (125 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e CBM (250 $\mu\text{g mL}^{-1}$), confirmando assim, sua atividade antibacteriana contra o *E. aerogenes*. No entanto, Hernandez *et al.* (2017) ao avaliarem extratos das folhas da *J. neopaciflora* observaram que, no extrato em metanol e na sua fração metanólica ausência de atividade antibacteriana, porém na fração hexânica deste mesmo extrato em metanol, eles observaram um halo de inibição de 7,0 mm, com valores da CIM de 2.0 mg/mL e de CBM de 4.0 mg/mL.

A avaliação da atividade antifúngica contra *C. albicans*, resultou em uma CIM de atividade baixa para o látex *in natura* e liofilizado de 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$, enquanto a CFM foi de 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Em um estudo realizado por Camelo (2015) foi revelado que o látex da *J. molíssima* apresentou atividade antifúngica baixa com CIM 512 $\mu\text{g/mL}$ para o referido fungo. Entretanto, Anani *et al.* (2016) avaliaram o potencial antimicrobiano em extratos (aquoso e hexânico de folhas e metanólico dos frutos) da *J. multifida* contra estirpes de bactérias e fungos, conhecidos por infecções em humanos, tal resultado evidenciou uma forte atividade contra *C. albicans* (ATCC 18804) com CIM de 39 $\mu\text{g/mL}$.

Oliveira *et al.* (2019) realizaram estudo analisando a fração oriunda de sucessivos fracionamentos do resíduo aquoso do látex, em ensaio antifúngico contra *C. albicans*, *C. grablata*, *C. krusei*, *C. tropicalis* e *Cryptococcus neoformans*. O ensaio revelou que a fração isolada do látex apresentou atividade fungistática para *C. grablata* e *C. tropicalis* com CIM de 100 $\mu\text{g/mL}$ e que não foi possível encontrar a concentração fungicida mínima para esse ensaio, uma vez que todos os valores de CIM das amostras não mostraram-se fungicida.

Apesar do foco da presente pesquisa ter sido apenas a *C. albicans* é possível perceber que em outros estudos a espécie *Jatropha multifida* tem sido avaliada para diversas cepas de fungos. Como pode ser observado, no estudo de Chioma *et al.* (2021) que avaliaram extratos metanólicos das folhas da planta em questão, contra 12 espécies de fungos: *Penicillium citrinum* (MH990629), *Aspergillus fumigatus* (MK4610), *A. welwitschiae* (MG576117), *A. aculeatus* (MK461093), *A. flavus* (Mk 299130), *Fusarium succisae* (Mk 418691), *Curvularia kusanol* (MG975624), *Cladosporium tenuissimum* (MK 357638), *Pestalotiopsis microspora* (MK

224482), *Fusarium solani* (MH517359), *Fusarium lichenicola* (KH921661) e *Absidia* spp. Os extratos vegetais foram preparados nas concentrações crescentes de 6,2; 12,5; 25; 50; 100 e 200%. Os resultados revelaram que todos os isolados foram resistentes a *J. multifida* em todas as concentrações, exceto para *Fusarium solani* com zona de inibição de 15 mm, não corroborando com os resultados da presente pesquisa.

7- CONCLUSÃO

O estudo com a espécie vegetal *J. multifida* iniciou-se com a obtenção do látex tendo como extratos utilizados o látex *in natura* e liofilizado, os quais foram submetidos à prospecção fitoquímica, seguido de investigação da atividade antioxidante e antimicrobiana concluindo que:

- Os resultados obtidos neste estudo confirmam que o extrato do látex *in natura* e liofilizado apresentaram quantidades expressivas de compostos bioativos, como taninos, flavonoides, antraquinonas e saponinas.
- Os ensaios de atividade antibacteriana *in vitro* mostraram que o látex *in natura* e liofilizado promoveram inibição de crescimento tanto das bactérias gram-positivas como das gram-negativas testadas.
- Os ensaios de atividade antifúngica *in vitro* mostraram que o látex *in natura* e liofilizado apresentando uma baixa atividade antifúngica frente a cepa *C. albicans*, porém, não descarta a possibilidade de estudos futuros avaliarem a atividade dos extratos em outras cepas fúngicas de interesse clínico.
- Os ensaios de atividade antioxidante *in vitro* mostraram que o látex *in natura* e liofilizado apresentaram atividade antioxidante moderada.
- Em todas as atividades avaliadas (prospecção fitoquímica, atividade antibacteriana e atividade antioxidante) neste estudo o látex liofilizado mostrou-se mais enérgico quando comparado ao látex *in natura*, se mostrando como uma fonte promissora de extrato para estudos futuros, o que agrega um potencial biotecnológico ao produto.
- O estudo da *J. multifida* mostrou resultados que corroboram seu uso como fitoterápico, porém carece de estudos mais aprofundados para elucidação de seu potencial terapêutico.
- Estudos com esta espécie vegetal devem ser continuados para isolamento do princípio ativo visando a comprovação da atividade cicatrizante do látex liofilizado para uma futura produção de um fitoterápico cicatrizante de feridas, visto que essa atividade não foi avaliada no presente estudo devido a pandemia vivenciada atualmente pela infecção do Coronavírus (COVID-19).

REFERÊNCIAS

- AHOMAFOR, JE et al. Phytochemical screening, proximate analysis and free radical scavenging activity of the roots extract of *Jatropha multifida*. **World Journal of Pharmaceutical Research**, vol 5, issue 10, 2016.
- ALMEIDA, C et al. Interrelaciones en el cuidado con las plantas medicinales - "viene de la cuna". **Enfermería** (Montevideo) vol.9 no.2 Montevideo dic. 2020.
- ALMEIDA, JS et al. A Fitoterapia no Centro de Saúde da Família: Um olhar sobre Prácas Integravas no VER-SUS. **Saúde em Redes**. 4(1):193-204, 2018.
- ALVES, GSP; POVH, JA. Estudo etnobotânico de plantas medicinais na comunidade de Santa Rita, Ituiutaba – MG. **Rev. Biotemas**.26(3):231-42, 2013.
- ANDRADE, SAL et al. Fitoterápicos da relação nacional de medicamentos essenciais no Brasil. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**.v 22(1), 2017.
- ANGGITA, D; ABDI, DA; DESIANI, V. Efektifitas Ekstrak Daun dan Getah Tanaman Jarak Cina (*Jatropha Multifida L.*) Sebagai Antibakteri terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus* Secara *In Vitro*. **Window of Health**, Vol. 1 No. 1 Januari ,2018.
- ANANI, K. et al. Antimicrobial, anti-inflammatory and antioxidant activities of *Jatropha multifida* L. (Euphorbiaceae). **Phamacognosy Research**. 8(2), 142-146, 2016.
- ANTONIO, GD; TESSER, CD; PIRES, ROM. Contributions of medicinal plants to care and health promotion in primary healthcare. **Interface** (Botucatu), v.17, n.46, p.615-33, jul. /set. 2013.
- ARAUJO, E.C. et al. **Plantas Medicinais na Cicatrização de Feridas**. En: Feridas: conceitos e atualidades. MALAGUTTI,W (ORG).São Paulo (SP): Ed. Martinari, pg.213-232, 2015.
- AYRES, M.C. C. et al. Antibacterial activity of useful plants and chemical constituents of the roots of *Copernicia prunifera*. **Rev. bras. farmacogn.** vol.18 no.1 João Pessoa Jan./Mar. 2008.
- AZMIR, J et al. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. **Journal of Food Engineering**, v. 117, n. 4, p. 426-436, 2013.
- BARBOSA, SC et al. The importance of cyclic structure for Labaditinon its antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus*. **World Journal of Pharmaceutical Research**, 148:453-59, 2016.
- BARRETO, BB. **Fitoterapia como conteúdo nos cursos de graduação da área da saúde: importância para a formação profissional** [Tese]. Brasília (DF): Universidade Brasília, 2015.
- BARROS, S.L. et al. Efeito da adição de diferentes tipos de açúcar sobre a qualidade físico-química de geleias elaboradas com abacaxi e canela. **Revista Principia**, v. 1, n. 45, p. 150-157, 2019.
- BARROS,DM. **Avaliação da atividade antimicrobiana, citotóxica e fototóxica de *Jatropha multifida* l. como conservante alternativo para produtos cosméticos**. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Monitoramento Ambiental.f83,Sorocaba, 2015.

BEZERRA NETO; E; BARRETO, LP. **Análises químicas e bioquímicas em plantas**. Recife: UFRPE, Editora Universitária da UFRPE, 2011.

BRAQUEHAIS, ID et al. Estudo preliminar toxicológico, antibacteriano e fitoquímico do extrato etanólico das folhas de *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill. (pinhão-bravo, Euphorbiaceae), coletada no Município de Tauá, Ceará, Nordeste Brasileiro. **Rev. bras. plantas med.** vol.18 no.2 supl.1 Botucatu ,2016+

BODOIRA, RM et al. Chia (*Salvia hispanica* L.) oil stability: Study of the effect of natural antioxidants. **Lwt**, 75, 107-113, 2017.

BHOITE, RN; MURTHY, PS. Biodegradation of coffee pulp tannin by *Penicillium verrucosum* for production of tannase, statistical optimization and its application. **Food and Bioproducts Processing**, [s. l.], v. 94, p. 727–735, 2015.

BOROSKI, M et al. **Antioxidantes - Princípios e Métodos Analíticos**. 1a. ed. Curitiba: Appris, 2015.

BORGES, P.M.O. **Avaliação da atividade tóxica e do perfil fotoquímico de *Costus spicatus* e *Jatropha multifida*** [Monografia]. Anápolis: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás; 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Política nacional de plantas medicinal e fitoterápico** / Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica. – Brasília, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. **Relação Nacional de Medicamentos Essenciais: RENAME 2017**. 10. ed. rev. e atual. – Brasília: Ministério da Saúde, 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia, Inovação e Insumos Estratégicos em Saúde. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. **Relação Nacional de Medicamentos Essenciais: RENAME-2020**. Brasília. 217 p, 2020.

BUCH, DR; ARANTES, AB; CAMPELO, PMS. Verificação da atividade cicatrizante do exudato de folhas de *Jatropha multifida* L. **Pesquisa-Dermatologia. Ver. Bras.Farm.**, 89(2): p.142-145, 2008.

CAI, M et al. Extraction, antimicrobial, and antioxidant activities of crude polysaccharides from the wood ear medicinal mushroom *Auricularia auricula-judae* (higher basidiomycetes). **International Journal of Medicinal Mushrooms**, v. 17, n. 6, p. 591–600, 2015.

CAMELO, S. de B. **Avaliação da atividade antimicrobiana do látex de *Jatropha mollissima* (Pohl) Baill e *Sapium glandulosum* (L.) Morong**. 32f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia)- Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2015.

CARVALHO, C. et al. Phenols, flavonoids and antioxidant activity of *Jatropha multifida* L. collected in Pindamonhangaba, Sao Paulo State, Brazil. **J Anal Pharm Res.**7(5):581–584, 2018.

CHIAROTI, L.R; OLIVEIRA, RE; M,UETA, J. Análise das relações municipais de medicamentos essenciais do estado de São Paulo. **Revista de saúde pública do Paraná** | Londrina. v. 18 N. 2 | P. 45-54 | dezembro 2017.

CHIOMA, N et al. Phytochemical analysis and *in vitro* screening of antifungal activity of *Jatropha multifida*, *Euphorbia hirta*, *Occimum gratissimum* and *Mitracarpus scaber* leaves extract. **GSC Biological and Pharmaceutical Sciences**,, 14(03), 098–112, 2021.

CLSI. Instituto de Padrões Clínicos e Laboratoriais. **Padrões de desempenho para testes de susceptibilidade antimicrobiana**; 27º suplemento informativo. M100-S28 . Instituto de Padrões Clínicos e Laboratoriais, Wayne, PA, 2018.

CRUZ, JER et al. Phytochemical Analysis and Evaluation of Antimicrobial Activity of *Peumus boldus*, *Psidium guajava*, *Vernonia polysphaera*, *Persea Americana*, *Eucalyptus citriodora* Leaf Extracts and *Jatropha multifida* Raw Sap. **Curr Pharm Biotechnol.** ;20(5):433-444, 2019.

DA COSTA, M.HD. A et al. Prospecção farmacognóstica e caracterização físico-química de frutos de *A. esculentos*. **Research, Society and Development**, 9(6), 73, 2020.

DEMARQUE, DP. **Estudos químico e biológico de taninos e antraquinonas que atuam no sistema gastrointestinal**. Tese (Doutorado em Produtos Naturais e Sintéticos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2017.

DEVI, A; DAS, VK; DEKA, D. Evaluation of the effectiveness of potato peel extract as a natural antioxidant on biodiesel oxidation stability. **Industrial Crops and Products**, 123, 454-460, 2018.

DIAS, T et al. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante em frutos de tomateiros mutantes fotomorfo genéticos. **Ciências Rural**, Santa Maria. (2015).

DAYLIN, GT. **Estudo fitoquímico e atividades biológicas do extrato etanólico das folhas de *Jatropha aethiopica* (Euphorbiaceae)**. Tese doutorado. Universidade Estadual Paulista. 2018.

FABANI, MP et al. Pistachio (*Pistacia vera* var. Kerman) from Argentinean cultivars. A natural product with potential to improve human health. **Journal of Functional Foods**, v. 5, n. 3, p. 1347-1356, 2013.

FABRI, RL et al. Antimicrobial, antioxidant and cytotoxicity potential of *Manihot multifida* (L.) Crantz (Euphorbiaceae). **An Acad Bras Cienc.** 87(1) 303-311, 2015.

FALODUN, A et al. Isolation of antileishmanial, antimalarial and antimicrobial metabolites from *Jatropha multifida*. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine.** 4(5), 374-378, 2014.

FERNANDES, BF et al. Estudo etnofarmacológico das plantas medicinais com presença de saponinas e sua importância medicinal. **Revista da Saúde da AJES**, 5(9), 16-22, 2019.

FRANYOTO, YD et al. Total flavonoid content and formulation antioxidant cream stem of *jatropha multifida* L. IOP Conf. Series: **J Phys Conf Series**.012130, 2018.

- FREITAS, ML. **Estudos das espécies *Cnidosculus quercifolius* Pax et K.Hoffm e *Annona muricata* L. para geração de energia.** Dissertação de Mestrado em engenharia química pela Universidade Federal de Alagoas, f73.Maceió, 2013.
- GRIBNERL,C; RATTMAMN ,Y.D; GOMES, E.C.Fitoterápicos na atenção básica à saúde: uma experiência na região sul do Brasil. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v.20, n.2, Abr. - Jun./2019.
- HERNANDEZ, A.B et al., Biological properties and chemical composition of *Jatropha neopauciflora* pax. **Afr J Tradit Complement Altern Med**.14 (1): 32-42, 2017.
- HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, AB et al. Biological properties and chemical composition of *Jatropha neopauciflora* pax. **African journal of traditional, complementary, and alternative medicines** : AJTCAM vol. 14,1 32-42. 2016.
- HIROTA, BCK et al. Fitoquímica e Atividades Biológicas do Gênero *Jatropha*: Mini-Revisão. **Rev. visão acadêmica**. 11(2)103-12,2010.
- HOLLAND, TL et al. Clinical Management of *Staphylococcus aureus* Bacteremia. **A Review. JAMA** 313(13): 1330-1341; 2014.
- IVAN I; SUDIGDOADI, S; KARTAMIHARDJA, AHS. Antibacterial Effect of *Jatropha multifida* L. Leaf Infusion towards *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. **Althea Medical Journal**.6(2):95–9, 2019.
- JUSTIN, NK et. al. Plant secondary metabolites: biosynthesis, classification, function and pharmacological properties. **J. Phar. Pharmacol.**, 2, pp. 377-392, 2014.
- JUN-SHENG, Z et al. Cytotoxic macrocyclic diterpenoids from *Jatropha multifida*.;80: 511-18. doi: 10.1016/j.bioorg.2018.06.025,2018.
- KERBAUY, G. **Fisiologia Vegetal**. Ed. Guanabara Koogan, 2019.
- KLOTOE, JR et al. Hemostatic Effect of *Jatropha multifida* L. (*Euphorbiaceae*) in Rats Having Coagulation Disorders .**Journal of Applied Biology & Biotechnology** Vol. 5 (05), pp. 26-29, Sep-Oct, 2017.
- KUMAR, S; PANDEY, AK. Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. **Sci World J**. 2013;2013:162750. 2014.
- KRUGER, R.L et al. Avaliação da Qualidade de Plantas Medicinais Distribuídas por uma Unidade de Saúde de um município do Interior do Paraná. **RECEN-Revista Ciências Exatas e Naturais**, v. 15, n. 1, p. 77-94, 2013.
- LAVAGNOLI, SL et al. Factors associated with acquisition of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**. vol.25, e2935, 2017.
- LIGUORI, I et al. Oxidative stress, aging, and diseases. **Clinical Interventions in Aging**, v. Volume 13, p. 757–772, abr. 2018.
- LÓPEZ,P, C. & PEÑA-VALDIVIA, C. B. Screening of secondary metabolites in cladodes to further decode the domestication process in the genus. *Opuntia* (Cactaceae). **Planta**, 251(74), 2-14. 10.1007/s00425-020-03371-9, 2020.

- MARTINS, GV et al. Estudo Químico e Avaliação das Atividades Antioxidante, Antiacetilcolinesterase e Antileishmanial de Extratos de *Jatropha gossypifolia* L. (Pião Roxo). **Rev. Virtual Quim.**, 10 (1), 21-36, 2018.
- MINH, TN et al. Isolation and Purification of Bioactive Compounds from the Stem Bark of *Jatropha podagrica*. **Molecules (Basel, Switzerland)** vol. 24,5 889. 2019.
- MOHARRAM, AB et al. Antioxidant, Antimicrobial and Wound Healing Potential of *Jatropha variegata* - An Interesting Plant Endemic to Yemen. **Pak J Biol Sci.** Jan;23(12):1581-1590, 2020.
- MORENO, AR et al. Determinación de los compuestos polifenólicos en extractos de *Jatropha dioica* y su capacidad antioxidante. **Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas**, 47(4), 42-48, 2016.
- MWINE, JT; DAMME, PV. Why do Euphorbiaceae tick as medicinal plants? A review of Euphorbiaceae family and its medicinal features. **Journal of Medicinal Plants Research**, 5, 652, 2011.
- NASCIMENTO JUNIOR, B.J et al. Avaliação do conhecimento e percepção dos profissionais da estratégia de saúde da família sobre o uso de plantas medicinais e fitoterapia em Petrolina-PE, Brasil. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v.18, n.1, p.57-66, 2016.
- OLIVEIRA, N.N et al. Atividade Antifúngica do Látex de *Jatropha multifida* L. (Euphorbiaceae) e de *Lupenona* isolada de suas Folhas. **Rev. Virtual Quim.** Vol 11.No. 5,1579-1590, 2019.
- PAPALIA, T; BARRECA, D; PANUCCIO, MR. Assessment of antioxidant and cytoprotective potential of *Jatropha* (*Jatropha curcas*) grown in Southern Italy. **International Journal of Molecular Sciences**, 18(3), 660, 2017.
- PETER, CM et al. Caracterização e sensibilidade de cepas de *Escherichia coli* isoladas do leite proveniente de tanques resfriadores de pequenas propriedades do município de Canguçu – RS. **Science and Animal Health-UFPEL.** v.4 n.3 set/dez p. 310-322, 2016.
- PEREIRA, RJ; CARDOSO, MG. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. **Journal of Biotechnology and Biodiversity.** Vol. 3, nº4: p. 146-152. 2012.
- PEREIRA J.LR et al. Espécies da Caatinga como Alternativa para o Desenvolvimento de Novos Fitofármacos. **Flor & Amb.**;21(4):509-20,2014.
- PEREIRA, A.S. et al. Prospecção científica e tecnológica do gênero *Jatropha* (euphorbiaceae). **Cad. Prospec.**, Salvador, v. 8, n. 2, p. 355-364, abr./jun. 2015.
- PEREIRA-FILHO, JL et al. Prospecção tecnológica dos efeitos biológicos de plantas do gênero *Jatropha*. **Research, Society and Development**, v. 9, n.9, e04996630, 2020.
- PRASTIYANTO, M, E et al. Antibacterial Potential of *Jatropha* sp. Latex against Multidrug-Resistant Bacteria. **Int J Microbiol.** Aug 27;2020.
- RAMPADARATH,S;PUCHOOA,D;RANGHOO-SANMUKHIYA,V.M.Antimicrobial, phytochemical and larvicidal properties of *Jatropha multifida* Linn. **Asian Pac J Trop Med.** 7(Suppl 1): S380-S383,2014.

QUEIROZ, RFN. **Pinhão-bravo (*Jatropha mollissima* pohl baill.): caracterização fitoquímica e atividades farmacológicas do látex e dos seus extratos**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, 2018. Disponível em <http://repositorio.ufersa.edu.br/handle/prefix/966>. Acesso em 21.03.2021.

RAHU, MI et al. Determination of antimicrobial and phytochemical compounds of *Jatropha curcas* plant. **Saudi Journal of Biological Sciences** 28:2867–2876, 2021.

REYNERTSON, KA; BASILE, MJ; KENNELLY, EJ. Antioxidant Potential of Seven Myrtaceous Fruits. **Ethnobotany Research & Applications**, v. 3, n. January, p. 025–035, 2005.

ROCHA, FAG; DANTAS, LIS. Atividade antimicrobiana *in vitro* do látex do aveloz (*Euphorbia tirucalli* L.), pinhão bravo (*Jatropha mollissima* L.) e pinhão roxo (*Jatropha gossypifolia* L.) sobre microrganismos patogênicos. **Holos**. 4(1):3-11, 2009.

RODRIGUES, W. Competitividade e mudança institucional na cadeia produtiva de plantas medicinais no Brasil. **Interações, Campo Grande, MS**, v. 17, n. 2, p. 267-277, abr./jun. 2016

SALES ,B.A. **Produção de Sucedâneos de Cereais de Pequeno-Almoço ricos em compostos bioativos a partir de subprodutos da indústria agro-alimentar**. Tese de Doutorado em Engenharia Alimentar. Universidade Técnica de Lisboa. Instituto Superior de Agronomia, 2012.

SATIRO, LN; ROQUE, N. A família Euphorbiaceae nas caatingas arenosas do médio rio São Francisco, BA, Brasil. **Acta Bot. Bras.** ;22(1):99-118,2008.

SANTOS, W.B et al. Microbiota infectante de feridas cirúrgicas: análise da produção científica nacional e internacional. **Rev. Sobecc**, São Paulo. Jan./mar. 21(1): 46-51, 2016.

SILVA, T. B, et al. Chemical composition and anti-trypanossoma cruzi activity of essential oils obtained from leaves of *Xylopia frutescens* and *X. laevigata* (Annonaceae). **Nat Prod Commun**, V. 8, p. 403- 6, 2013.

SILVA, PSG et al. Atividade citotóxica, antimicrobiana e cicatrizante do extrato da *Jatropha Gossypifolia* L. **Rev enferm UFPE on line.**, Recife, 12(2):465-74, fev., 2018.

SHOJI, M et al. Anti-influenza vírus activity of extracts from the stems of *Jatropha multifida* Linn. collected in Myanmar. **BMC Complement Altern Med**.96,2017.

SHAHIDI, F; AMBIGAIPALAN, P. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects-A review. **Journal of Functional Foods**, v. 18, p. 820-897, 2015.

SOUZA, I. A. **Sangria da Seringueira: guia prático para o seringueiro** / Itamar Alvino de Souza. - Vitória, ES: Incaper, 24 p. : il. (Incaper. Documentos 215), 2013.

SUNDARYONO, A; RUYANI, A; SARI, RP. Development of The Stem of *Jatropha multifida* Linnas A New Antimalarial through Erythrocytes Test on *Mus musculus* Infected by *Plasmodium berghei*. **Journal of Biomedicine and Translational Research** 01; 1 – 6, 2015.

TORRA J.E.B. et al. **Abordagem da carga bacteriana e da infecção nas feridas crônicas**. En: Soldevilla, J.J, Torra, J.E (Eds). *Atenção Integral nos Cuidados das Feridas Crônicas*. Petrópolis,RJ, pg.121-158. EPUB, 2012.

TURNER, KH. et al. Requirements for *Pseudomonas aeruginosa* acute burn and chronic surgical wound infection. **PLoS Genet**, v.10, n.7, 2014. Disponível em: <>. Acesso em: 21dez. 2018.

VIEIRA, AJH; SANTOS, JI. Mecanismos de resistência de *Candida albicans* aos antifúngicos anfotericina B, fluconazol e caspofungina. **Revista Brasileira de Análises Clínicas-RBAC**.v9, 2016.

VICTORIEN, D et al. Evaluation of the Antibacterial Activity of *Jatropha multifida* sap and *Artemisia annua* Extract on some Clinical Strains Responsible of Urinary Tract Infections. **Indian Journal of Science and Technology**, v. 12(36), 2019.