



FORMULÁRIO PARA RELATÓRIO FINAL

1. Identificação do Projeto

Título do Projeto PIBIC/PAIC

Avaliação da atividade antimicrobiana de extrato aquoso e frações solúveis obtidas a partir de sementes de *Caesalpinia ferrea*

Orientador

Ana Flávia Alves Parente

Aluno

Lucas de Souza Falcão

2. Informações de Acesso ao Documento

2.1 Este documento é confidencial?

SIM NÃO

2.2 Este trabalho ocasionará registro de patente?

SIM NÃO

2.3 Este trabalho pode ser liberado para reprodução?

SIM NÃO

**2.4 Em caso de liberação parcial, quais dados podem ser liberados?
Especifique.**

3. Introdução

A biodiversidade amazônica é considerada um patrimônio com alto valor estratégico especialmente pelo seu potencial como fonte abundante de recursos genéticos. Nesse contexto, a Amazônia representa um extenso campo para introduzir sistemas ambientalmente responsáveis utilizando os produtos extraídos dessa diversidade como fonte de riqueza (Miguel 2007). Assim, a importância da busca por organismos,



UFAM

genes, enzimas, compostos ou processos que possam ter um potencial econômico e, eventualmente, levar ao desenvolvimento de um produto, representam uma alternativa para o desenvolvimento da região (Joly et al. 2011). Dentro dessa biodiversidade, a flora amazônica é alvo de grande parte dos estudos buscando esses recursos genéticos devido as suas potencialidades para a prospecção de moléculas que possam ser usadas como princípios ativos de diversos produtos com características antifúngica, antioxidante e antibacteriana (Serrazin et al. 2012; Da Silva et al. 2014).

Dentre as espécies que representam fontes promissoras de moléculas podemos destacar a família Fabaceae, que tem sido alvo de diversos estudos visando a busca de compostos com potencial comercial, em especial com interesse farmacêutico, biotecnológico e agrônômico. (Rajemiarimiraho *et al.* 2014; Calderon *et al.* 2001; Ng 2004). Nesse contexto, o grupo de pesquisa em Produtos Naturais (UFAM) tem reunido esforços no sentido de rastrear biomoléculas em espécies amazônicas, sendo o presente trabalho parte dessas ações.

3.1. Fabaceae-Leguminosae

A família Fabaceae é uma das mais diversas em número de espécies dentre as dicotiledôneas, possuindo diversos gêneros e espécies endêmicos dos biomas brasileiros, especialmente na Amazônia (Giulietti et al. 2005). Diante do exposto, a família Fabaceae tem grande potencial para o desenvolvimento de compostos com potencial comercial, particularmente na área da farmacologia. Estudos de análise da atividade antimicrobiana de diferentes partes de três espécies pertencentes a família Fabaceae demonstraram que, grande parte dos extratos apresentou atividade contra fungos e a leishmaniose (Santana et al. 2015).

3.2. *Caesalpinia ferrea*

Dentre as espécies da família Fabaceae podemos destacar *Caesalpinia ferrea* (Mart. ex Tul.) L. P. Queiroz (também conhecida como *Libidibia ferrea*), popularmente chamada de “jucá” ou “pau-ferro”, que é uma árvore de porte médio com baixa densidade populacional, mas alta distribuição, com ampla presença nas regiões norte e nordeste do Brasil. Essa espécie têm sido alvo de vários estudos, apresentando potencial aplicação em diversos setores industriais, tais como o alimentício, têxtil, papelero, cosmético. Além disso, já foi demonstrado em trabalhos anteriores que a *Caesalpinia ferrea* possui



UFAM

potencial no desenvolvimento de novos fármacos (Gallao et al. 2013), uma vez que, diversas moléculas com atividade anti-inflamatória, analgésica, antimicrobiana, anti-reumática, dentre outras, têm sido isoladas a partir dessa espécie e também em outras espécies do gênero (Carvalho et al., 1996; Nakamura et al. 2002; Pereira et al. 2012; Zanin et al. 2012 Lopes et al. 2013).

Estudos envolvendo extratos aquosos de *C. ferrea* permitiram o isolamento de diversos componentes, dados que suportam o uso dessa espécie no tratamento de diversas enfermidades. Carvalho e colaboradores (1996), observaram que a administração de 300 mg/kg de extrato de *C. ferrea* diminuiu a resposta inflamatória e a dor em camundongos com edema na pata traseira. Adicionalmente, um estudo conduzido em 2011 observou que a administração de extrato alcoólico de Jucá também está relacionada com a diminuição da resposta inflamatória em camundongos com peritonite causada pela administração de tioglicolato (Lima et al. 2011). Vasconcelos e colaboradores (2011) detectaram atividade hipoglicêmica em *C. férrea* pela administração do extrato aquoso extraído de vagens dessa espécie, promovendo a regulação da captação de glicose pelo fígado e músculos em camundongos com diabetes induzida.

Grande parte desse potencial terapêutico tem sido atribuído a presença de compostos secundários, como flavonóides, fenóis, taninos, saponinas, quininas, entre outros (Almeida et al. 2005). No entanto, recentemente as espécies do gênero *Caesalpinia* tem emergido como uma potencial fonte de biomoléculas ativas, como enzimas, lectinas, inibidores de proteases, polissacarídeos, dentre outros (Khan et al. 2010, Praxedes-Garcia et al. 2012, Lopes et al. 2013). Nesse sentido, um polissacarídeo extraído de *C. ferrea* tem se mostrado promissor no tratamento de infecções virais, como aquelas causadas por Herpes simplex e Poliovírus. A molécula é capaz de inibir a adsorção do vírus à célula hospedeira, bem como inibir a síntese de proteínas virais (Lopes, Faccin-Galhardi et al. 2013).

A atividade antimicrobiana de *Caesalpinia ferrea* também foi previamente relatada em um estudo conduzido por Sampaio e colaboradores (2009), que evidencia a ação antimicrobiana da vagem *C. ferrea* contra patógenos orais, sendo estes: *Candida albicans*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus oralis* e *Lactobacillus casei*. Adicionalmente podemos citar o estudo de Trentin e colaboradores (2011) que promoveu um rastreamento da atividade antimicrobiana utilizando diversas espécies vegetais. Nesse estudo, a bactéria *Staphylococcus epidermidis* foi utilizada como modelo,



sendo possível observar que a presença de extrato obtido da vagem de *Caesalpinia ferrea* promoveu uma significativa redução da formação de biofilme nesse microrganismo.

Estudos anteriores demonstraram atividade antimicrobiana em extrato cetônico e aquoso obtidos da casca de *C. ferrea*, no estudo conduzido por Araújo e colaboradores (2014), ambas as preparações apresentaram atividade contra todas as bactérias gram-positivas presentes no estudo, e ainda para algumas bactérias gram-negativas. De acordo com os resultados, essa atividade foi mais pronunciada em ensaios utilizando *Shigella flexneri*. Podemos também observar que a atividade antimicrobiana da casca de *C. ferrea* contra *Staphylococcus aureus* é bem documentada, com trabalhos que possuem resultados semelhantes aos de Araújo e colaboradores (Paiva et al. 2015; Pereira et al. 2006). No entanto os resultados de atividade antimicrobiana contra *Escherichia coli* são discordantes. De acordo com Araújo e colaboradores (2014), o extrato de *C. ferrea* aparentemente não possui atividade antimicrobiana para *E. coli*, em discordância com os dados apresentados por Pereira e colaboradores (2006), que evidenciaram uma pequena inibição de uma das três cepas utilizadas para o estudo.

Os resultados de atividade antimicrobiana utilizando sementes de *C. ferrea* também são controversos. De acordo com o estudo de Tomaz e colaboradores (2013), foi observada a inibição do crescimento para *S.aureus*, *Bacillus* sp., *Streptococcus* sp., *Corynebacterium* sp.. Por outro lado, no estudo de Cavalheiro e colaboradores (2009) não foi possível detectar atividade antimicrobiana em nenhuma das bactérias analisadas (*S. aureus*, *Bacillus subtilis*, *Enterobacter aerogens*, *Salmonella choleraensis*, *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa*). No entanto, a comparação entre esses estudos pode ser questionada devido a utilização de técnicas ou solventes diferentes em cada um dos estudos (Araújo et al., 2014; Tomaz et al., 2013).

Em resumo, existem estudos documentando a atividade antimicrobiana dos diversos órgãos vegetais da *Caesalpinia ferrea*, especialmente de sua vagem. No entanto, dados relatando a ação antimicrobiana de sua semente e casca do tronco são escassos (Araújo et al., 2014). Por esse motivo, o presente estudo objetiva avaliar a atividade antimicrobiana na semente e casca de *Caesalpinia ferrea* utilizando as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.



UFAM

4. Justificativa

Os estudos visando à descoberta de novas moléculas são extremamente relevantes pela contribuição científica e também para o desenvolvimento da região. O potencial econômico de novas biomoléculas é ainda mais significativo na região amazônica, pois agrega valor à biodiversidade local resultando na maior preservação do bioma.

A espécie *C. ferrea* tem sido alvo de diversos estudos de bioprospecção devido à sua extensiva utilização com finalidades terapêuticas. Nesse sentido, diversos estudos têm sido conduzidos para isolar e caracterizar moléculas dessa espécie de leguminosa para fins comerciais, especialmente putativos fármacos. Diante do exposto, o estudo proposto visa à avaliação do potencial dessa espécie como fonte de moléculas com atividade antimicrobiana, incluindo fungos e bactérias. Diversos estudos têm relatado a inibição do crescimento de culturas de microrganismos por extratos obtidos a partir de espécies do gênero *Caesalpinia*. No entanto, até o momento poucas moléculas foram isoladas e a caracterização da fonte dessa atividade antimicrobiana ainda permanece obscura.

A busca por novos agentes no combate a fungos e bactérias é instigada pelo crescente desenvolvimento e a disseminação da resistência antimicrobiana, que representa uma ameaça global para a medicina moderna, além de limitar as possíveis opções de tratamentos disponíveis. Por esse motivo, o estudo do potencial de atividade antimicrobiana em *Caesalpinia ferrea* faz parte de um conjunto de ações que tem como objetivo descobrir novas moléculas promissoras.

Vale ressaltar que o projeto proposto é parte do escopo do grupo de pesquisa de Produtos Naturais da Universidade Federal do Amazonas que trabalhará em conjunto com o Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), visando à busca de novas biomoléculas potencialmente aplicáveis.

5. Objetivos

Investigar a atividade antimicrobiana em extratos solúveis de *C. ferrea*, obtidos a partir da casca e sementes do vegetal, utilizando como alvo as espécies de bactéria *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.



Os objetivos do presente trabalho foram reformulados devido a dificuldades tanto na padronização dos ensaios quanto na aquisição de materiais. A proposta inicial visava o teste de atividade utilizando apenas o extrato da semente de *C. ferrea*, no entanto os testes seriam realizados em fungos e bactérias. Para maximizar os resultados no tempo e orçamento previstos, optamos por testar mais de um extrato, obtido a partir da semente e também da casca de *C. ferrea*, utilizando apenas as espécies bacterianas como alvo.

5.1. Objetivos específicos

- Realizar ensaio de inibição do crescimento bacteriano de *S. aureus* e *E. coli*, utilizando o extrato aquoso de sementes de *C. ferrea*.
- Realizar ensaio de inibição do crescimento bacteriano de *S. aureus* e *E. coli*, utilizando o extrato solubilizado obtido a partir da casca de *C. ferrea*.

6. Metodologia

6.1. Material vegetal

Neste trabalho foram utilizadas sementes inteiras e maduras da espécie *Caesalpinia ferrea* var. *cearensis* e casca do tronco da árvore da mesma espécie. As sementes foram fornecidas pelo Dr. Luiz Augusto Gomes de Souza, pesquisador do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, sendo provenientes de uma única matriz e a casca pela pesquisadora Tatiane Pereira de Souza da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amazonas-UFAM .

6.2. Trituração das sementes e separação do extrato total

As sementes obtidas foram trituradas em moinho, resultando em 36 g de farinha. Ao triturado, foi adicionado Tris/HCl 20 mM, pH 8, e mantido sob agitação por 3 horas. A suspensão foi aquecida à 60 °C por 10 minutos submetida à filtração utilizando gaze. Para retirar as partículas sólidas à suspensão foi submetida à centrifugação por 20 minutos á 5000 rpm.

6.3. Precipitação por acetona 80%



Foi adicionada acetona ao extrato total até atingir a concentração de 80%, sob refrigeração e agitação, utilizando um funil de decantação. Após decantação por 5 minutos o precipitado foi separado.

6.4. Trituração da casca e preparação do extrato

A casca obtida foi triturada em moinho, o pó resultante da trituração foi desidratado em *spray dryer*, e em seguida foi novamente solubilizado em tampão Tris/HCl 20 mM, pH 8.

6.5. Dosagem de proteínas

A dosagem de proteínas foi realizada pelo método Bradford (Bradford 1976). Soluções contendo soro albumina bovina nas concentrações de 20 µl/mL, 40 µl/mL, 60 µl/mL e 100µl/mL foram submetidas à espectrofotometria em comprimento de onda de 595 nm para obtenção da curva padrão que foi utilizada para estimativa da concentração de proteínas.

6.6. Espécies analisadas

Os testes de sensibilidade microbiana aos extratos de *C. ferrea* serão realizados utilizando as bactérias *S. aureus* e *E. coli*.

6.7. Determinação da atividade antibacteriana

A atividade antimicrobiana da semente de *C. ferrea* foi determinada através da realização do semeio de colônias bacterianas em meio líquido Mueller Hinton, incubação em estufa por 24h a 37 C, e posterior semeio deste em meio sólido Agar Muller- Hinton. Após 24h a 37 C, as placas de petri foram retiradas para contagem de colônias

A atividade antimicrobiana da casca de *C. ferrea* foi determinada através de método de microdiluição em placa de 96 poços (Sampaio et al., 2009) com algumas modificações. Os testes foram realizados em triplicata, resultando em três colunas de 8 poços para as duas bactérias utilizadas (*S. aureus* e *E. coli*), as concentrações do extrato nos poços variam da maior concentração de 1000 µg/ml até a menor de 7,8 µg/ml que foram obtidas a partir de microdiluição seriada a partir do primeiro poço. Como controle, o crescimento bacteriano foi analisado na presença do diluente utilizado no extrato, para determinação da interferência que o próprio tampão poderia ter nas colônias bacterianas.



Nesse caso, o tampão foi diluído da mesma forma que a coluna teste do extrato, sendo uma coluna para cada bactéria. Ainda, uma coluna utilizando apenas o extrato, sem bactéria, foi analisada para análise da interferência da coloração do extrato. Além disso foram feitas duas colunas (uma para cada bactéria) em que só estavam presentes o meio de cultura e a bactéria, para determinação do crescimento das colônias sem interferências provenientes do extrato ou do diluente, e uma em que só foi adicionado meio de cultura para obtenção da turvação natural do meio. Após 24h em estufa a 37 C a placa de 96 poços foi retirada para leitura em espectrofotômetro. Após a leitura, as quatro maiores concentrações de extrato tiveram suas triplicadas homogeneizadas e foram pipetadas em placas de Petri com meio Agar Mueller Hinton, que foram novamente incubadas em estufa por 24h a 37 C para contagem de colônias.

7.Resultados e Discussão

A metodologia de trituração e solubilização em tampão pH 8,00 e posterior precipitação por acetona 80% já havia se mostrado eficiente no projeto realizado PIB-B/0073/2014- BIOPROSPECÇÃO DE LECTINA EM UMA VARIEDADE AMAZÔNICA DE *Caesalpinia ferrea* (*Libidibia ferrea*) desenvolvido pelo aluno Lucas de Souza Falcão, portanto foi mantida para o projeto atual nos trabalhos envolvendo a semente da mesma árvore.

O nosso projeto originalmente pretendia avaliar a atividade antimicrobiana de sementes de *C. ferrea* contra espécies de fungos e bactérias. No entanto, dificuldades enfrentadas na padronização dos ensaios e também na aquisição de material para crescimento de fungos em laboratório, nos levaram a uma reformulação dos objetivos do projeto, no sentido de maximizar os resultados. Dessa forma, a atividade antimicrobiana foi testada apenas utilizando bactérias, mas incluímos em nossas análises o estudo da atividade também no extrato obtido a partir da casca de *C. ferrea*.

Para o teste de atividade antimicrobiana, foram utilizadas 5 placas de Petri contendo meio de cultura Ágar Mueller Hinton adicionado do extrato da semente nas concentrações de 100 µg/ml, 200 µg/ml, 500 µg/ml, 1000 µg/ml e 0 µg/ml (controle negativo). Nessas placas foram inoculados os microrganismos na concentração de 1×10^5 UFC (*S. aureus* ou *E. coli*). Não foi detectada atividade antimicrobiana em nenhuma das



concentrações testadas, sendo inviável contar as colônias das placas que apresentaram grande semelhança com a placa controle (dados não mostrados).

É importante ressaltar que a literatura a respeito da ação antimicrobiana da semente de jucá é extremamente escassa, e que por esse motivo no presente trabalho optamos por realizar os testes com uma bactéria gram-positiva e com outra gram-negativa, os resultados obtidos durante o presente trabalho vão de acordo com os resultados obtidos por Cavalheiro e colaboradores (2009) que não observaram atividade antimicrobiana para a semente de *C. ferrea* utilizando bactérias gram-positivas ou gram-negativas, no entanto, ambos os resultados entram em desacordo com o trabalho de Tomaz e colaboradores (2013) em que a semente apresentou atividade antimicrobiana para todas as bactérias analisadas no trabalho. Essa diferença nos resultados pode ser explicada, segundo Tomaz e colaboradores, pelos métodos selecionados para as análises. Outra variável importante que deve ser considerada é a escolha do solvente, que interfere diretamente na preservação dos componentes químicos do extrato (Araújo et al., 2014).

Em outra parte deste trabalho, foi testado o extrato proveniente da casca de jucá, que foi triturada e desidratada para então ser ressolubilizada em tampão pH 8,00. O teste para atividade antimicrobiana foi realizado em placa de 96 poços contendo meio de cultura Mueller Hinton, seguindo a metodologia descrita na metodologia. O crescimento microbiano foi determinado pela medida de absorbância do meio, conforme demonstrado na Figura 1 para *S. aureus* e na Figura 2 para *E. coli*.

Como referência foi também realizado um teste onde não estavam presentes extrato nem diluente, apenas o meio de cultura, para obtenção do máximo valor de absorbância que as colônias de *S. aureus* alcançariam. Pudemos observar que a absorbância média de *S. aureus*, na ausência de interferentes, foi de 0,942666667.

Vale ressaltar que a presença do diluente interfere de forma significativa no crescimento bacteriano, especialmente nos testes onde maiores quantidades de diluente foram utilizados (Figura 1; 1000 µg/mL e 500 µg/mL). Dessa forma, acreditamos que sejam necessários novos testes para minimizar a interferência do diluente no crescimento microbiano.

Através dos valores de absorbância apresentados na Figura 1, podemos observar claramente que as concentrações mais altas de extrato diminuem efetivamente a atividade antimicrobiana quando comparados ao teste com o diluente. Essa diferença no

crescimento é significativa na presença do extrato em concentrações de até 62,5 µg/ml. Concentrações abaixo de 62,5 µg/ml não interferem de forma relevante no crescimento de *S. aureus*.

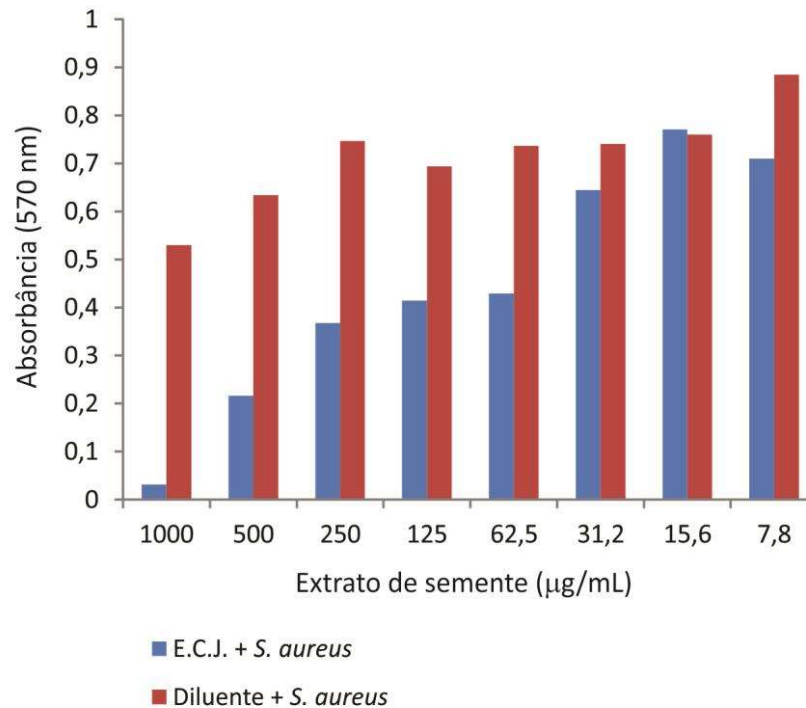


Figura 1. Teste de atividade antimicrobiana para *S. aureus*. Eixo vertical representa a absorbância em 570 nanômetros (A_{570}), obtida em espectrofotômetro. O eixo horizontal, as concentrações de extrato em que foram realizados os testes. As barras azuis apresentam os dados de crescimento bacteriano de *S. aureus* (absorbância) na presença de extrato da casca de jucá (E.C.J.). As barras vermelhas indicam o crescimento bacteriano de *S. aureus* (absorbância) na presença do tampão diluente.

Nosso resultado está de acordo com os obtidos por Araújo e colaboradores (2014) que determinaram que extratos aquosos e cetônicos tem ação antimicrobiana para *S. aureus* e para todas as bactérias gram-positivas presentes no estudo, além de para algumas bactérias gram-negativas, mas não foi apresentada atividade antimicrobiana para *E. coli*, bactéria que também foi testada no presente trabalho (Figura 2).

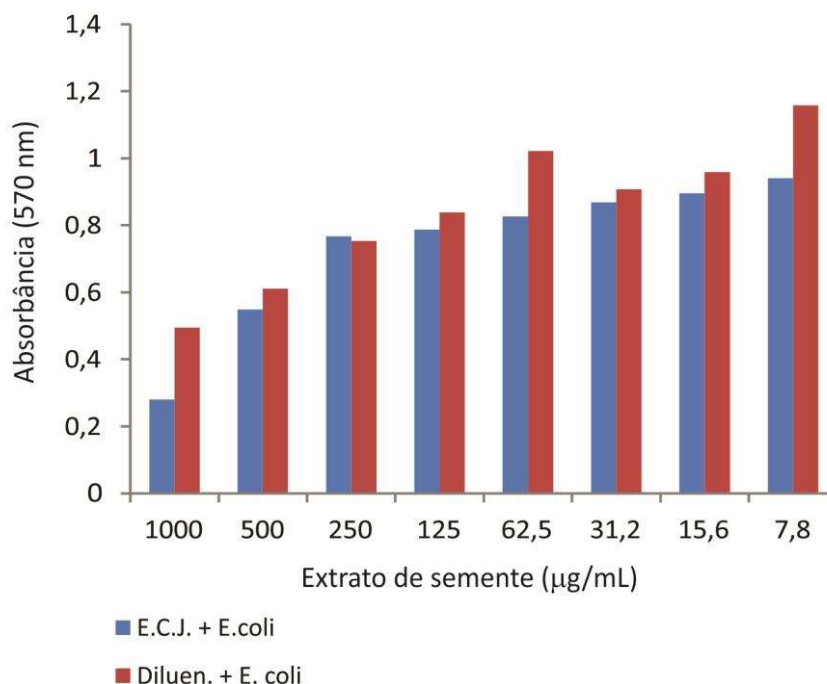


Figura 2. Teste de atividade antimicrobiana para *E. coli*. Eixo vertical representa a absorbância em 570 nanômetros (A_{570}), obtida em espectrofotômetro. O eixo horizontal, as concentrações de extrato em que foram realizados os testes. As barras azuis apresentam os dados de crescimento bacteriano de *E. coli* (absorbância) na presença de extrato da casca de jucá (E.C.J.). As barras vermelhas indicam o crescimento bacteriano de *E. coli* (absorbância) na presença do tampão diluente.

Nas amostras controle, onde *E. coli* foi incubada apenas em meio de cultura, a absorbância média das colônias foi 1,219. Sendo assim, pudemos observar que a quantidade de diluente adicionada ao poço interferiu no crescimento bacteriano. No entanto, apesar do problema experimental, pudemos observar que na presença de 1000 µg/ml de extrato houve uma diminuição significativa do crescimento bacteriano.

Para confirmação dos resultados, as culturas de *S. aureus* e *E. coli*, incubadas na presença de extrato da casca nas concentrações de 1000 µg/ml, 500 µg/ml, 250 µg/ml e 125 µg/ml e controle sem extrato, foram transferidas para placas de petri. Os resultados são apresentados na Figura 3.

Nesse teste foi possível observar que apesar de *S.aureus* apresentar menor crescimento no teste de absorbância, o resultado não foi refletido quando transferido para as placas de Petri, já que aparentemente o aumento da concentração de extrato presente na placa não reflete em um menor número de colônias, considerando que a placa de concentração 1000 µg/ml é a mais semelhante á placa com diluente, mesmo que no teste

de absorvância esta concentração tenha obtidos um dos mais baixos crescimentos. Conforme observado na Figura 3, foram observadas incontáveis colônias, sugerindo que possivelmente o extrato apresente uma ação bacteriostática, e não bactericida. Esse resultado está em concordância com os estudos realizados por Pereira e colaboradores (2006) em que a casca de *C. ferrea* apresentou ação antimicrobiana para *S. aureus* em todas as concentrações testadas no trabalho. No entanto, esses teste contradizem o resultado de Araújo e colaboradores (2014), fato que pode ser explicado pela escolha do solvente, importante para a preservação dos componentes químicos do extrato, mas que pode interferir em sua ação antimicrobiana, o que poderia explicar os resultados discordantes.

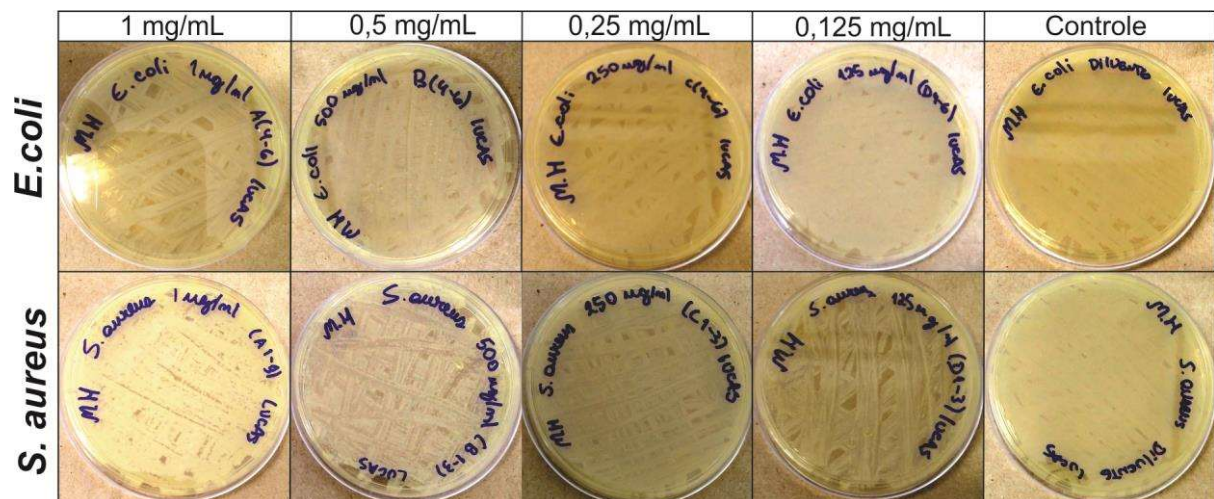


Figura 3. Placas de petri contendo colônias que cresceram no teste anterior depois de transferidas para placas de petri. Foram transferidas para placas de petri as concentrações 1000 µg/ml, 500 µg/ml, 250 µg/ml e 125 µg/ml de extrato, para o diluente foram homogeneizados os três poços com maior concentração e então colocados na placa, esse processo foi repetido para as duas bactérias.

Quanto a ação antimicrobiana para *E. coli* o segundo teste parece confirmar o que foi se apresentou no teste de absorvância, considerando que e pode diferenciar melhor as estrias de colônias bacterianas presentes em placas com extratos em concentrações maiores, sendo possível ainda observar que esse efeito é relativamente gradual, com a placa de diluente apresentando as estrias menos identificadas entre as placas do teste, reforçando assim a ideia de que a casca de *C. ferrea* tem ação antimicrobiana para *E. coli*.



UFAM

8. Conclusão

Pudemos observar que o extrato da semente de *C. ferrea* não apresentou atividade antimicrobiana para as bactérias utilizadas nesse estudo, mas que o extrato da casca tem aparente atividade antimicrobiana para *S. aureus* e *E. coli*. Vale ressaltar que estudos posteriores são necessários para confirmar essa influência no crescimento, que aparentemente está associada a uma ação bacteriostática, considerando o crescimento posterior das colônias quando retiradas do meio contendo extrato. Ainda, pudemos observar que o diluente utilizado no extrato também interfere no crescimento bacteriano, sendo assim, são necessários mais testes para determinar o verdadeiro potencial antimicrobiano desse extrato. O presente estudo teve sua importância em contribuir para a discussão quanto a atividade antimicrobiana desse extrato contra microrganismos, especialmente no que se refere á bactérias gram-negativas.

9.Referências

Almeida, C.B.R.; Lima, S.T.C.; Amorim, E.L.C.; Maia M.B.S.; Albuquerque U.P. 2005. Life strategy and chemical composition as predictors of the selection of medicinal plants from the caatinga (Northeast Brazil). *Journal of Arid Environments* 62: 127-142.

Araújo, A. A.; Soares, L. A. L.; Ferreira, M. R. A.; Neto, M. A. S.; Silva, G. R.; Araújo Jr., R. F.; Guerra, G. C. B.; Melo, M. C. N. 2014. Quantification of polyphenols and evaluation of antimicrobial, analgesic and anti-inflammatory activities of aqueous and acetone–water extracts of *Libidibia ferrea*, *Parapiptadenia rigida* and *Psidium guajava*. *Journal of Ethnopharmacology*, 156: 88-96.

Calderon, L. A.; Teles, R. C.L.; Leite, J.R. S.A; Bloch, Jr C. ; Astolfi-Filho, S.; Freitas, M. S. 2001. Serine protease inhibitors from Amazon Leguminosae seeds: purification and preliminary characterization of two chymotrypsin inhibitors from *Inga umbratica*. *Protein and Peptide Letters*, 8: 485-493.

Cavalheiro M. G.; Farias D. F.; Fernandes G. S.; Nunes E. P.; Cavalcanti F. S.; Vasconcelos I. M.; Melo V. M. M.; Carvalho A. F. U. 2009. Atividades biológicas e enzimáticas do extrato aquoso de sementes de *Caesalpinia ferrea* Mart., Leguminosae. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 19(2B): 586-591.

Carvalho, J. C.; Teixeira, J.R.; Souza,P.J; Bastos, J.K.; Filho, D.S.; Sarti,S.J. 1996. Preliminary studies of analgesic and anti-inflammatory properties of *Caesalpinia ferrea* crude extract. *J. Ethnopharmacol.* , 53(3): 175-178.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS

RELATÓRIO FINAL PIBIC/PAIC 2015-2016



UFAM

Da Silva, J. K. R.; Pinto, L. C.; Burbano, R. M. R.; Montenegro, R. C.; Guimarães E. F.; Andrade, E. H. A.; Maia, J. G. S. 2014. Essential oils of Amazon Piper species and their cytotoxic, antifungal, antioxidant and anti-cholinesterase activities. *Industrial Crops and Products*, 58: 55–60.

Gallao, M. I.; Normando, L.; Vieira, I.G.P.; Mendes, F.N.P.; Ricardo, N.M.P.S.; Brito, E.S. 2013. Morphological, chemical and rheological properties of the main seed polysaccharide from *Caesalpinia ferrea* Mart. *Industrial Crops and Products*. 47: 58-62.

Giulietti, A.M., Harley, R.M., Queiroz, L.P., Wanderley, M.G.L., Van Den Berg, C., 2005. Biodiversidade e conservação das plantas no Brasil. *Megadiversidade* 1 (1), 52–61.

Joly, L. N.; Haddad, C.F.B.; Verdade, L.M.; Oliveira, M.C.; Bolzani, V.S.; Berlink, R.G.S. 2011. Diagnóstico da pesquisa em biodiversidade no Brasil. *Rev. USP*, 89: 114-33.

Khan, H.; Ali, I.; Khan, A.U.; Ahmed, M.; Shaz, Z.; Saeed, A.; Naz, R.; Mustafa, M.R.; Abbasi, A. 2010. Purification and biochemical characterization of alkaline serine protease from *Caesalpinia bonducella*. *Nat Prod Commun* 5(6): 931-934.

Lima, S.M.A; Araújo, L.C.C.; Sitônio, M.M.; A.C.C. Freitas; Moura, S.L.; Correia, M. T. S; Malta, D.J.N; Silva, T.G. 2011. Anti-inflammatory and analgesic potential of *Caesalpinia ferrea* *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 22: 1

Lopes, N.; Faccin-Galhardi, L.C.; Espada, S.F.; Pacheco, A.C.; Ricardo, N.M.; Linhares, R.E.; Nozawa, C. 2013. Sulfated polysaccharide of *Caesalpinia ferrea* inhibits herpes simplex virus and poliovirus. *Int J Biol Macromol* 60: 93-99.

Miguel, L. N. 2007. Uso sustentável da Amazônia brasileira. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo. 160p.

Nakamura, E. S.; Kurosaki, F.; Arisawa, M.; Mukainaka, T.; Okuda, M.; Tokuda, H.; Nishino, H.; Pastore Jr., F. 2002. Cancer chemo preventive effects of constituents of *Caesalpinia ferrea* and related compounds. *Cancer letters*, 177(2): 119-24.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS

RELATÓRIO FINAL PIBIC/PAIC 2015-2016



UFAM

Ng, T. B. 2004. Review: antifungal proteins and peptides of leguminous and nonleguminous origins. *Peptides*, 25(7): 1215-22.

Paiva, W. S.; Neto, F. E. S.; Bandeira, M. G. L.; Abrantes, M. R.; Batista, A. C. L.; Jean Silva, J. B. 2015. ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DA CASCA DO JUCÁ (*Libidibia ferrea* (Mart. ex Tul.) L. P. Queiroz), FRENTE A *Staphylococcus* spp. ISOLADOS DO LEITE DE CABRAS COM MASTITE. *Archives of Veterinary Science*. 20(2): 141-146.

Pereira, L. D. P.; Da Silva, R.O.; Bringel, P.H.; Da Silva, K.E.; Assreuy, A.M.; Pereira, M.G. 2012. Polysaccharide fractions of *Caesalpinia ferrea* pods: Potential anti-inflammatory usage. *Journal of ethnopharmacology*, 139(2): 642-48.

Pereira, M. S. V.; Rodrigues, O. G.; Feijó, F. M. C.; Athayde, A. C. R.; Lima, E. Q.; Sousa, M. R. Q. 2006. Atividade antimicrobiana de extratos de plantas no Semi-Árido Paraibano. *Agropecuária Científica no Semi-árido*. 2(1): 37-43.

Praxedes-Garcia, P.; Cruz-Silva, I.; Gozzo, A. J.; Abreu, V.N.; Torquato, R. J.; Tanaka, A. S.; Figueiredo-Ribeiro Rde, C.; Gonzalez, Y. G.; Araujo M. S. Biochemical aspects of a serine protease from *Caesalpinia echinata* Lam. (Brazilwood) seeds: a potential tool to access the mobilization of seed storage proteins. *ScientificWorldJournal* 2012: 562715. 2012.

Rajemiarimiraho, M.; Banzouzi, J.T.; Nicolau-Travers, M.L.; Ramos, S.; Boriesc.; Rakotonandrasana, O.L.; Rakotonandrasana, S.; Andrianary, P.A.; Benoit-Vical, F. 2014. Antiprotozoal Activities Of *Millettia Richardiana* (Fabaceae) From Madagascar. *Molecules*, 19: 4200-11.

Sampaio, F.C.; Pereira, M.S.V.; Dias, C.S.; Costa, V.C.O.; Conde, N.C.O.; Marília A.R.; Buzalaf, M.A.R. 2009. *In vitro* antimicrobial activity of *Caesalpinia ferrea* Martius fruits against oral pathogens *Journal of Ethnopharmacology* 124: 289–294

Santana, D. B.; Costa, R. C.; Araújo, R. M.; De Paula, J. E.; Silveira, E. R.; Braz-Filho, R.; Espinola, L. S. 2015. Activity of Fabaceae species extracts against fungi and *Leishmania*: vatacarpan as a novel potent anti-*Candida* agent *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 25(4):401–406.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS

RELATÓRIO FINAL PIBIC/PAIC 2015-2016



UFAM

Sarrazin, S. L. F.; Oliveira, R. B.; Barata, L. E. S.; Mourão, R. H. V. 2012. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Lippia grandis* Schauer (Verbenaceae) from the western Amazon Food Chemistry, 134: 1474–1478.

Tomaz, K. L. R.; Abrantes, M. R. ; Rocha, M. O. C. ; Oliveira, A. R. M. ; Soto-Blanco, B. ; Feijó, F. M. C. ; Silva, J. B. A . 2013. Atividade antimicrobiana do extrato alcoólico do fruto da *Caesalpinia ferrea* Mart. frente a bactérias causadoras de mastite bovina. *Acta Scientiae Veterinariae*. (41): 1-7.

Trentin, D. S.; Giordani, R. B.; Zimmer, K. R.; da Silva, A. G.; da Silva, M. V.; Correia, M. T.; Baumvol, I. J.; Macedo, A. J. 2011. Potential of medicinal plants from the Brazilian semi-arid region (Caatinga) against *Staphylococcus epidermidis* planktonic and biofilm lifestyles. *J Ethnopharmacol*, 137(1):327-35.

Vasconcelos, C. F.; Maranhao, H.M.; Batista, T.M.; Carneiro, E.M.; Ferreira, F.; Costa, J.; Soares, L.A.; Sa, M.D.; Souza T.P.; Wanderley, A.G. 2011. Hypoglycaemic activity and molecular mechanisms of *Caesalpinia ferrea* Martius bark extract on streptozotocin-induced diabetes in Wistar rats. *J Ethnopharmacol*, 137(3): 1533-1541.

Zanin, J. L. B.; Carvalho, B.A.; Martineli, P.S.; Dos Santos, M.H.; Lago, J.H.G.; Sartorelli, P.; Viegas Jr., C.; Soares, M.G. 2012. The genus *Caesalpinia* L. (Caesalpinaceae): phytochemical and pharmacological characteristics. *Molecules*, 17(7): 7887-902.

4. Cronograma de Atividades

Nº	Descrição	Ago 2015	Set	Out	Nov	Dez	Jan 2016	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul
1	Revisão da Literatura	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
2	Separação das sementes	X											
3	Preparação do extrato total da semente	X											
4	Trituração da casca e preparação do extrato total da casca		X										
5	Precipitação por acetona 80%			X									
6	Quantificação do extrato				X	X	X						
7	Determinação da atividade antimicrobiana da semente							X	X				
8	Determinação da atividade antimicrobiana da casca									X	X	X	

