



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA

Autorizada pelo Decreto Federal nº 77.496 de 27/04/76
Recredenciamento pelo Decreto nº 17.228 de 25/11/2016



PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COORDENAÇÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

XXIX SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UEFS **SEMANA NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA - 2025**

Estudo da Composição Química e Atividade Biológica das Folhas e Caule de ***Dioclea virgata* (Rich) Amsh (Leguminosae)**

Cleiton Cintra da Silva¹; Clayton Queiroz Alves²

1.PIBIC/FAPESB, QUIMICA, e-mail: cleitoncintra3@gmail.com

2.DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS EXATAS, e-mail: cqalves@uefs.br

PALAVRAS-CHAVE: *Dioclea virgata*; Atividade Antioxidante; Atividade antimicrobiana.

INTRODUÇÃO

Os produtos naturais têm grande importância histórica na obtenção de medicamentos para a prevenção e tratamento de doenças, tornando-se uma das formas mais antigas de prática medicinal. Atualmente, estima-se que 40% dos fármacos sejam derivados direta ou indiretamente de fontes naturais (Brasil,2022). Nesse sentido, torna-se essencial investigar cientificamente essas práticas tradicionais, a fim de compreender a composição química das espécies utilizadas, ampliando o conhecimento para além do saber popular. Os testes *in vitro* surgem como uma alternativa na seleção inicial de materiais a serem trabalhados assim como na seleção de substâncias que possam ser utilizadas como protótipo para futuros fármacos. O gênero *Dioclea* possui cerca de 50 espécies podendo ser encontradas na América Central e do Sul, especialmente na Amazônia (Perez, Hernandez e Mora,1990). Diversas espécies deste gênero apresentam emprego na medicina popular para combater diferentes males, como doenças dos rins e da próstata. Dados da literatura relatam que substâncias bioativas têm sido isoladas de espécies de *Dioclea*, o que as tornam de grande interesse na pesquisa científica e na busca por novos compostos bioativos (Oladosu et al, 2010 e Alves, 2018), ressaltando a importância do aprofundamento no estudo fitoquímico dessas espécies. Assim, o projeto teve por objetivo realizar o estudo fitoquímico dos extratos das folhas e caule de *Dioclea virgata*, avaliando *in vitro* sua atividade antioxidante e o potencial antimicrobiano dos seus extratos.

MATERIAL E MÉTODOS OU METODOLOGIA (ou equivalente)

DPPH e ABTS

Os extratos das folhas e caule de *D. virgata* foram preparados previamente, conforme descrito por Alves et al. (2018), resultando no extrato bruto (BF), clorofórmico (ClF) e Acetato de Etila (AcF) das folhas, bem como os extratos hexânico (HC), clorofórmico (ClC) e o extrato bruto (BC) do caule.

A atividade antioxidante foi avaliada por meio das metodologias baseadas nos radicais estáveis DPPH e ABTS. O ensaio com DPPH foi realizado segundo o método desenvolvido por Blois (ano), modificado por Brand-Williams (1995) e adaptado por Ferreira et al. (2019). Já o teste com ABTS foi inicialmente proposto por Miller et al. (1993) e adaptado conforme a metodologia descrita por Re et al. (1993) para a geração dos radicais ABTS⁺ disponíveis e estáveis. Para ambos os ensaios, adotou-se a adaptação para microplaca proposta por Salinas et al.(2019).

Os ensaios foram realizados em espectrofotômetro Multiskan Go (Thermo Scientific), utilizando microplaca de 96 poços. Os resultados foram avaliados através do cálculo da Concentração Efetiva Média (CE50), que nada mais é que a capacidade do extrato capaz de reduzir 50% dos radicais disponíveis no meio.

Fenólicos e Flavonoides

Os ensaios para determinação de compostos fenólicos foram realizados conforme a metodologia descrita por Ainsworth e Gillespie (2007), mediante reação do analito com o reagente colorimétrico Folin-Ciocalteu. Já o teor de flavonoides totais foi quantificado a partir da reação entre o analito e o tricloreto de alumínio conforme descrito por Shraim et al. (2021), seguindo as adaptações para microplaca proposta por Sari et al (2023). As leituras foram realizadas em espectrofotômetro Multiskan Go (Thermo Scientific) utilizando microplaca de 96 poços. Os resultados foram expressos em miligramas equivalentes de ácido gálico por grama de extrato (mg EAG/g) para fenóis totais e miligrama de quercetina equivalente por grama de extrato (mg EQ/g) para flavonoides totais, mediante comparação com curvas de calibração padrão.

Atividade antimicrobiana

Os ensaios de atividade antimicrobiana foram realizados no Laboratório de Pesquisa: Atividade Antibacteriana e Antifúngica de Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Departamento de Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba em abril de 2025. Foram utilizadas cepas bacterianas (*Staphylococcus aureus* ATCC-25923, *S. epidermidis* ATCC-12228, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC-9097, *Proteus mirabilis* ATCC-25933) e fúngicas (*Candida albicans* ATCC-90028, *C. albicans* LM-65, *C. tropicalis* ATCC-750, *C. tropicalis* LM14-, *Aspergillus flavus* ATCC-4603, *Penicillium citrinum* ATCC-4001), provenientes da MICOTECA do Laboratório de Micologia da UFPB.

Os extratos foram devidamente pesados e solubilizados em concentrações que variaram de 64 a 1024 µg/mL, conforme descrito por Cleeland & Squires (1991), Nascimento et al. (2007) e Pereira et al. (2014) A concentração Inibitória Mínima (CIM) foi determinada pela técnica de microdiluição em caldo em placas de 96 poços, conforme protocolos do CLSI (2008), Cleeland & Squires (1991) e Eloff (1998). A Concentração Fungicida Mínima (CFM) foi avaliada em triplicata, e o resultado expresso pela média aritmética (Balouiri et al., 2016; Ncube et al., 2008) O modo de ação foi classificado com base na razão CFM/CIM, conforme metodologia descrita por Hafidh et al. (2011).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Tabela 1. Teor de fenóis e flavonoides totais e atividade antioxidante de extratos brutos e frações de folhas (F) e caule (C) de *Dioclea virgata* Valores expressos como média ± desvio padrão.

EXTRATO/ FRAÇÃO	FENÓLICOS (mg GAE. g ⁻¹)	FLAVONOIDES (mg QE. g ⁻¹)	DPPH CE ₅₀ (mg/mL)	ABTS CE ₅₀ (mg/mL)
<i>Dioclea virgata</i>				
BF	17,18 ± 0,27	4,48 ± 0,19	0,89 ± 0,04	1,10 ± 0,01
CIF	15,05 ± 0,57	7,86 ± 0,15	3,03 ± 0,04	1,75 ± 0,17
AcF	77,00 ± 0,45	5,62 ± 0,03	0,14 ± 0,00	0,43 ± 0,01
BC	30,32 ± 0,10	2,69 ± 0,08	1,84 ± 0,25	0,77 ± 0,04
CIC	58,81 ± 0,27	6,74 ± 0,09	0,68 ± 0,03	0,32 ± 0,01
HC	8,84 ± 0,71	1,73 ± 0,08	13,36 ± 0,19	8,02 ± 0,08

Legenda 1: BF (Extrato Bruto Folhas), CIF (Extrato Clorofórmico Folhas), AcF (Extrato Acetato de Etila Folhas), BC (Extrato Bruto Caule), CIC (Extrato Clorofórmico Caule), HC (Extrato Hexânico Caule).

Tabela 2. Atividade antimicrobiana por microdiluição em caldo de extratos de *Dioclea virgata*. CIM, CBM e CFM expressas em µg/mL

Produtos (µg/mL)	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. mirabilis</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>A. flavus 3</i>	<i>P. citrinum</i>	CBM/CFM
BF	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
CIF	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
AcF	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
BC	512	512	1024	512	512	512	512	512	512	512	X
CIC	128	128	256	128	128	128	128	128	256	256	512
HC	256	256	512	256	256	256	256	256	256	256	512
Controle: Meio de cultura	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Controle: Micro-organismo	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Controle: gentamicina	128	128	256	256	X	X	X	X	X	X	
Controle: Fluconazol	X	X	X	X1	128	128	128	128	256	256	

Legenda 2: (+): Crescimento do micro-organismo (-): Não houve crescimento microbiano; (x): Não se aplica; BF (Extrato Bruto Folhas), CIF (Extrato Clorofórmico Folhas), AcF (Extrato Acetato de Etila Folhas), BC (Extrato Bruto Caule), CIC (Extrato Clorofórmico Caule), HC (Extrato Hexânico Caule).

Os resultados (Tabela 1) demonstram que a fração acetato de etila das folhas (AcF) destacou-se com o maior teor de fenólicos totais ($77,00 \pm 0,45$ GAE. g⁻¹) e uma maior atividade antioxidante (CE₅₀-DPPH-0,14mg/mL). Espera-se uma correlação entre a quantidade de fenólicos e o poder antioxidante do extrato, uma vez que é sabido o potencial antioxidante de compostos fenólicos como os flavonoides e os ácidos fenólicos (Lang et al, 2023). Torna-se ainda mais justificável quando na literatura temos evidências que tais compostos já foram isolados no gênero assim como de *Dioclea virgata* (Alves et al, 2018) e que há na literatura testes para a atividade antioxidante de flavonoides isolados em espécies deste gênero (Oladimeji et al. (2018). Dentre os extratos do caule, a fração clorofórmica apresentou a maior atividade antioxidante (CE₅₀-DPPH-0,68mg/mL e CE₅₀-ABTS-0,15mg/mL), apresentando também um maior teor de fenólicos e flavonoides (58,81 mg GAE. g⁻¹ e 6,74 mg QE.g⁻¹). A potência antioxidante superior da fração AcF (folhas) em relação à CIC (caule) indica que as folhas de *D. virgata* são uma fonte mais promissora de antioxidantes naturais.

Quanto à atividade antimicrobiana, os extratos do caule destacaram-se, com o extrato clorofórmio do caule (CIC) mostrando-se particularmente eficaz. O extrato CIC apresentou Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Fungicida Mínima (CFM) equivalentes aos padrões gentamicina e fluconazol contra todas as cepas testadas (Tabela 2). Ultrapassando o padrão no teste com a cepa da bactéria *P. mirabilis* ATCC-25933 obtendo uma CIM de 128 µg, enquanto o padrão apresentou 256 µg. Essa atividade promissora contra patógenos de relevância clínica ressalta o potencial de *D. virgata* para futuros estudos de isolamento de agentes antimicrobianos.

A viabilidade de isolamento de compostos bioativos a partir de extratos de espécies do gênero *Dioclea* é demonstrada na literatura, como o isolamento da dioclimidazole de *D. reflexa*, mediante o fracionamento guiado por atividades anticolinesterásica e antimicrobiana, que exibiu potente inibição enzimática e resultados antibacterianos equivalentes ou superiores à gentamicina (Oladosu et al, 2010). Este precedente sustenta a estratégia de empregar um estudo fitoquímico bioguiado pelos resultados antioxidantes e antimicrobianos aqui reportados para isolar os princípios ativos de *D. virgata*.

CONCLUSÕES

Conclui-se que os extratos de *Dioclea virgata* possuem compostos fenólicos e flavonoides, que apresentam uma correlação com a atividade antioxidante, sendo a fração Acetato de etila das folhas (AcF) a mais promissora. Paralelamente, os extratos do caule demonstraram uma potente atividade antimicrobiana, com destaque para a fração clorofórmica do caule (CIC), que apresentou Concentrações Inibitórias Mínimas equivalentes a do padrão utilizado. Tais achados estão em consonância com a literatura que reporta a presença de metabólitos bioativos no gênero *Dioclea* (Alves et al., 2018 e Oladimeji et al., 2018). Os resultados fundamentam a relevância de estudos futuros para o isolamento e identificação dos compostos bioativos responsáveis por tais atividades, possivelmente por meio do estudo bioguiado, bem como a investigação de sua toxicidade e mecanismos de ação.

REFERÊNCIAS

- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Cartilha de Orientações sobre o uso de fitoterápicos e plantas medicinais, 2022
- Perez, G., Hernandez, M., Mora, E. Isolation and characterization of a lectin from the seeds of *Dioclea lehmanni*. *Phytochemistry* v. 29, p. 1745-1749, 1990.
- FERREIRA, Léa Maria dos Santos Lopes et al. Anatomical and phytochemical characterization of *Physalis angulata* L.: A plant with therapeutic potential. *Pharmacognosy Research*, v. 11, n. 2, 2019.
- SALINAS-FLORES, Astrid et al. Effect of the extraction conditions on the antioxidant capacity of phenolic compounds from pomegranate shell. *Mexican journal of biotechnology*, v. 4, n. 2, p. 33-46, 2019
- AINSWORTH, Elizabeth A.; GILLESPIE, Kelly M. Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin–Ciocalteu reagent. *Nature protocols*, v. 2, n. 4, p. 875-877, 2007.
- SHRAIM, Amjad M. et al. Determination of total flavonoid content by aluminum chloride assay: A critical evaluation. *Lwt*, v. 150, p. 111932, 2021.
- SARI, Kurnia Rahayu Purnomo et al. Micro-titer plate assay for measurement of total phenolic and total flavonoid contents in medicinal plant extracts. *Arabian Journal of Chemistry*, v. 16, n. 9, p. 105003, 2023.
- LANG, Yuxi et al. Classification and antioxidant assays of polyphenols: A review. *Journal of Future Foods*, v. 4, n. 3, p. 193-204, 2024.
- ALVES, Clayton Queiroz et al. Flavonoids and other compounds from *Dioclea virgata* (Rich.) Amsh. *Biochem Syst Ecol*, v. 78, p. 43-45, 2018.
- OLADELE OLADIMEJI, Abdulkabir et al. Dioclins A and B, new antioxidant flavonoids from *Dioclea reflexa*. *Natural product research*, v. 32, n. 17, p. 2017-2024, 2018.
- OLADOSU, I. A.; ECHEME, J. O.; ZUBAIR, M. F. Bioactive of dioclimidazole from *Dioclea reflexa* seeds. *Middle-East Journal of Scientific Research*, v. 6, n. 6, p. 575-579, 2010.