

Vol. 3, No. 4, 2026 - Abril

REVISTA O UNIVERSO OBSERVÁVEL

**ATIVIDADE ANTIBACTERIANA, MUTAGÊNICA E CARCINOGENICA DO
EXTRATO ETANOICO DE *OCOTEA MINARUM* (NEWS & MART.) MEZ**

**Antibacterial, Mutagenic, and Carcinogenic Activity of the Ethanolic
Extract of *Ocotea minarum* (Nees & Mart.) Mez.**

Rogério Cesar de Lara da Silva¹
Vandressa Raquel Lucas Poloni Meira²
Viviane Mallmann³
Euclesio Simionatto⁴
Lucas Wagner Aragão⁵

Revista O Universo Observável

DOI: 10.69720/29660599.2026.000295

ISSN: 2966-0599

¹Doutor em Ciências - UNICAMP

Instituição: Universidade Estadual de Mato Grossodo Sul - UEMS

Endereço: Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais (PGRN), Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul – UEMS. Cidade Universitária de Dourados, Rod. Dourados-Itahúm, Km 12 C.P. 351, CEP 79804-970 Dourados, MS, Brazil

E-mail: rcsilva@uems.br

²Mestre em Recursos Naturais - UEMS

Instituição: Universidade Estadual de Mato Grossodo Sul - UEMS

Endereço: Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais (PGRN), Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul – UEMS. Cidade Universitária de Dourados, Rod. Dourados-Itahúm, Km 12 C.P. 351, CEP 79804-970 Dourados, MS, Brazil

E-mail: vandressabiologia@gmail.com

³Doutor em Recursos Naturais - UEMS

Instituição: Universidade Estadual de Mato Grossodo Sul - UEMS

Endereço: Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais (PGRN), Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul – UEMS. Cidade Universitária de Dourados, Rod. Dourados-Itahúm, Km 12 C.P. 351, CEP 79804-970 Dourados, MS, Brazil

E-mail: mallmann.mn@gmail.com

⁴Doutor em Química - UFSM

Instituição: Universidade Estadual de Mato Grossodo Sul - UEMS

Endereço: Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais (PGRN), Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul – UEMS. Cidade Universitária de Dourados, Rod. Dourados-Itahúm, Km 12 C.P. 351, CEP 79804-970 Dourados, MS, Brazil

E-mail: euclesio@uems.br

⁵Doutor em Recursos Naturais - UEMS

Instituição: Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul - UEMS

Endereço: Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais (PGRN), Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul – UEMS. Cidade Universitária de Dourados, Rod. Dourados-Itahúm, Km 12 C.P. 351, CEP 79804-970 Dourados, MS, Brazil

E-mail: lucas_wagner_1@hotmail.com



ATIVIDADE ANTIBACTERIANA, MUTAGÊNICA E CARCINOGÊNICA DO EXTRATO ETANOICO DE *OCOTEA MINARUM* (NEWS & MART.) MEZ

Rogério Cesar de Lara da Silva, Vandressa Raquel Lucas Poloni Meira, Viviane Mallmann, Euclesio Simionatto e Lucas Wagner Aragão

ATIVIDADE ANTIBACTERIANA, MUTAGÊNICA E CARCINOGÊNICA

DO EXTRATO ETANOICO DE
OCOTEA MINARUM
(NEWS & MART.) MEZ.

| | | |
|--|---|---|
|  ATIVIDADE ANTIBACTERIANA Inibição de bactérias gram-negativas |  MUTAGÊNICA Avaliação de efeitos mutagênicos por Teste de SMART |  CARCINOGÊNICA Investigação do potencial carcinogênico e citotóxico |
|--|---|---|

PERIÓDICO CIENTÍFICO INDEXADO INTERNACIONALMENTE

ISSN
International Standard Serial Number
2966-0599

www.ouniversoobservavel.com.br

Editora e Revista
O Universo Observável
CPF: 639.619.621-20
Naviraí – Mato Grosso do Sul
Rua: Botocudos, 365 – Centro
CEP: 79950-000

RESUMO

Devido à grande diversidade, viabilidade e acessibilidade dos produtos naturais, estes estão sendo alvo de diversos estudos que buscam compostos com potencial antibacteriano, antioxidante e com outras propriedades biológicas que possam ser usados na produção de fármacos. O Presente estudo objetivou verificar a aplicação terapêutica do extrato etanólico da espécie *Ocotea minarum*, avaliando sua atividade antibacteriana e toxicidade do extrato frente bactérias gram-negativas *Escherichia coli* (ATCC 25922) e um isolado clínico resistente de *Klebsiella pneumoniae* produtora de carbapenemase (KP-KPC). Por fim, analisou-se a potencialidade mutagênica e carcinogênica do extrato por meio do teste de SMART, a fim de aferir um grau de segurança da utilização terapêutica deste extrato. O extrato de *O. minarum* foi feito por extração a frio, com o etanol (PA) como líquido extrator. A atividade antibacteriana foi avaliada sobre duas bactérias gram-negativas (*Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*), por meio de uma triagem utilizando-se a técnica de difusão em disco. O SMART foi realizado por meio de cruzamentos experimentais entre as linhagens (mwh, flr3 e ORR) de *D. melanogaster*. A investigação científica realizada com o extrato etanólico das folhas da *O. minarum* demonstrou que houve ação antimicrobiana. Nas análises mutagênicas e genotóxicas, a planta não apresentou ação nas concentrações inferiores, mas apresentou letalidade na concentração superior. Esses resultados indicam a presença de compostos com potencial antimicrobiano e possíveis efeitos tóxicos em altas concentrações.

Palavras-chave: Extrato etanólico, antibacteriana, mutagenicidade, *Ocotea minarum*.

ABSTRACT

*Due to the great diversity, feasibility, and accessibility of natural products, they have been the focus of numerous studies aimed at identifying compounds with antibacterial, antioxidant, and other biological properties that may be used in drug development. The present study aimed to evaluate the therapeutic application of the ethanolic extract of the species *Ocotea minarum*, assessing its antibacterial activity and toxicity against Gram-negative bacteria, namely *Escherichia coli* (ATCC 25922) and a clinical resistant isolate of *Klebsiella pneumoniae* producing carbapenemase (KP-KPC). Finally, the mutagenic and carcinogenic potential of the extract was analyzed using the SMART assay, in order to determine a level of safety for its therapeutic use. The extract of *O. minarum* was obtained by cold extraction, using ethanol (analytical grade) as the extracting solvent. Antibacterial activity was evaluated against two Gram-negative bacteria (*Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*) through a screening using the disk diffusion method. The SMART assay was performed through experimental crosses between the strains (mwh, flr3, and ORR) of *Drosophila melanogaster*. The scientific investigation conducted with the ethanolic extract of *O. minarum* leaves demonstrated antimicrobial activity. In the mutagenic and genotoxic analyses, the plant showed no effect at lower concentrations, but exhibited lethality at the highest concentration. These results indicate the presence of compounds with antimicrobial potential and possible toxic effects at high concentrations.*

Keywords: Ethanolic extract, antibacterial activity, mutagenicity, *Ocotea minarum*.

1 INTRODUÇÃO

Devido à grande diversidade, viabilidade e acessibilidade dos produtos naturais, estes estão sendo alvo de diversos estudos que buscam compostos com potencial antibacteriano, antioxidante e com outras propriedades biológicas que possam ser usados na produção de fármacos (LEITE, 2019). Plantas são produtoras de metabólitos secundários que são utilizadas para proteção contra herbívoros, atração de polinizadores, reguladores de perda de água. Estes compostos estão presentes em muitos dos medicamentos produzidos e utilizados no meio científico e medicinal (BARBOSA, 2008). Diferentes espécies de plantas são utilizadas para fins terapêuticos na medicina popular, e é a partir deste uso que foi desenvolvido as pesquisas científicas que buscam estudar as propriedades medicinais dos extratos vegetais e óleos essenciais (OE) extraídos de plantas. Estas pesquisas são importantes na busca por novos compostos, que

tenham uma menor toxicidade e maior eficiência contra microrganismos patogênicos (MESSIAS, et al., 2015; AYRES, et al., 2008).

Muitas plantas são conhecidas e utilizadas popularmente para tratamentos de doenças, pesquisas científicas são extremamente necessárias para avaliar os efeitos terapêuticos e a toxicidade das biomoléculas presentes nas plantas (BARBOSA, 2008). Espécies do gênero *Ocotea*, pertencentes a família Lauraceae, são comuns no Cerrado brasileiro, e são amplamente empregados na medicina popular em tratamentos para reumatismo, depurativos e sudoríferos (GUTERRES et al., 2012; GUTERRES, 2008). O uso das folhas e cascas de *O. pulchella* (canela-dobrejo) já foi relatado como eficiente para tratamento de cólicas estomacais; a *O. indecira* é utilizada como sudorífica e antirreumática (DA SILVA, 2010). Alcaloides, lignanas e neolignananas são alguns metabólitos secundários que já foram encontrados e relatados por FUNASAKI e colaboradores (2009) e ZANIN & LORDELLO

(2007), atividades biológicas e farmacológicas (citotóxicas e anti-inflamatória) também já foram evidenciadas em estudos (GARCIA et al., 2011; GARCEZ et al., 2011).

Desde a descoberta de microrganismos como causadores de doenças em humanos, tornou-se necessário a busca por compostos com atividades antimicrobianas. A ciência que estuda os organismos microscópicos é conhecida como Microbiologia, seu surgimento se deu em consonância com a invenção do microscópio óptico, que possibilitou o estudo de seres com tamanhos microscópicos (MONTEIRO, 2015). Inúmeros compostos foram descobertos e estudados com o passar dos anos, pesquisas que relacionaram os efeitos que os compostos podem ter sobre determinados patógenos, auxiliando no combate de doenças, amenização de sintomas, redução de mortalidade ocasionada por microrganismos e inclusive na eliminação de algumas doenças (BELLOSO, 2009).

Os organismos possuem a capacidade de se adaptar em respostas as condições ambientais em que vivem e quando falamos de microrganismos os processos evolutivos ocorrem em menor tempo (GRILLO et al., 2013) e hoje em dia devido ao uso descontrolado de antibióticos, os organismos patogênicos desenvolveram resistência aos medicamentos, o que gerou inúmeras pesquisas e estudos por novos compostos capazes de amenizar, barrar, inibir ou até mesmo destruir organismos causadores de doenças (RAUT & KARUPPAYIL, 2014; SARDI et al., 2013). Uma opção que vem sendo muito estudada é sobre o uso de extratos vegetais, pois estes possuem propriedades biológicas com potencial antibacteriano, antifúngico, anti-inflamatório, antimutagênicos (RAUT & KARUPPAYIL, 2014).

A eficácia de extratos vegetais frente ao desenvolvimento de células bacterianas já foi comprovada, o uso concomitante de OE, extratos etanólicos (EE) e antibióticos, produz efeito sinérgico que inibe o desenvolvimento de bactérias, inclusive de estirpes resistentes (SARDI et al., 2013; GALVÃO et al., 2012). Este potencial dos extratos e OE está associado aos diferentes compostos químicos presentes em sua estrutura, como os álcoois, aldeídos e fenóis (RAUT & KARUPPAYIL, 2014).

Ensaio de mutagenicidade e carcinogênese são testes importantes para avaliar o potencial genotóxico e carcinogênico de compostos químicos, incluindo aqueles derivados de plantas. A espécie *Drosophila melanogaster* tem sido amplamente utilizada como um organismo modelo em estudos toxicológicos, incluindo esses ensaios, devido à sua facilidade de manipulação e ciclos de vida curtos. A utilização de extratos etanólicos de plantas nesses ensaios é fundamental para avaliar a

segurança e eficácia desses compostos, uma vez que muitas plantas têm sido usadas na medicina tradicional para o tratamento de diversas doenças. Segundo GIRI e colaboradores (2015) e SURESH e colaboradores (2013), os ensaios de mutagenicidade e carcinogênese em *D. melanogaster* com extratos de plantas podem ajudar a identificar compostos que têm o potencial de causar mutações genéticas ou câncer, orientando a seleção e o desenvolvimento de terapias mais seguras e eficazes. Portanto, a realização desses testes é crucial para a avaliação da segurança e eficácia dos compostos de origem vegetal, visando sua utilização terapêutica.

A família Lauraceae ocorre em regiões subtropicais e tropicais, sendo encontrada no continente americano, na região tropical da Ásia, Madagascar e Austrália. Possui cerca de 50 gêneros que englobam de 2500 a 3000 espécies (KAMIMURA, et al., 2017). No território brasileiro são encontrados em torno de 23 gêneros e 438 espécies, sendo que 227 delas são endêmicas, ou seja ocorrem apenas no Brasil (QUINET et al., 2015; KAMIMURA et al., 2017).

O gênero de maior abundância na família Lauraceae é *Ocotea*, com cerca de 350 espécies com diferentes morfologias (KAMIMURA, et al., 2017), sendo que em média 220 espécies são encontradas no território brasileiro (QUINET et al., 2015).

Uma das espécies de relevância do gênero *Ocotea* é a *Ocotea minarium* também conhecida popularmente como canelinha ou canela-vassoura. Está presente em abundância no território brasileiro, sendo nativa no cerrado, ocorrendo em Minas Gerais, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, São Paulo, Paraná e Goiás (MOARES, 2005). Alguns estudos indicam a utilização da casca de *O. minarium* no tratamento de candidíase (RODRIGUES et al., 2015), além de ser muito utilizada na medicina popular em tratamentos antirreumáticos e depurativo (MORAES, et al., 2017). Outros estudos químicos feitos com as folhas, flores e frutos mostraram o isolamento de alcaloides, cumarinas, flavonoides, terpenos e ligninas (GARCEZ, et al., 2005).

Neste estudo objetivou-se verificar a aplicação terapêutica do extrato etanólico de *O. minarium*, avaliando sua atividade antibacteriana e toxicidade do extrato frente bactérias gram-negativas *Escherichia coli* (ATCC 25922) e um isolado clínico resistente de *Klebsiella pneumoniae* produtora de carbapenemase (KP-KPC). Por fim, analisou-se a potencialidade mutagênica e carcinogênica do extrato por meio do teste de SMART, a fim de aferir um grau de segurança da utilização terapêutica deste extrato.

2 METODOLOGIA

2.1 Coleta e identificação do material vegetal

As amostras do material vegetal (folhas e casca) da *O. minarum* (Nees & Mart.) Mez (numeração do herbário: DDMS4619) foram coletadas na zona rural no município de Sidrolândia - Mato Grosso do Sul – Coletados na localização: Latitude = 21° 5'2.24"S e Longitude = 54°32'16.83"O, no mês de outubro de 2021. O material foi transportado para o laboratório de química orgânica da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (UEMS) no município de Naviraí-MS.

2.2 Obtenção do extrato etanólico

Para a coleta do extrato vegetal, o material foi submetido à secagem a temperatura ambiente, em seguida as folhas foram trituradas e posteriormente submersas em álcool etílico absoluto (PA) por 72 horas em temperatura ambiente. Após este tempo o material foi filtrado com a utilização de papel filtro estéril (BAYOUB et al., 2010). Com a utilização de uma adaptação da metodologia de RIBEIRO (2008) o material obtido após a filtração foi levado ao evaporador rotatório para a eliminação do solvente e separação do extrato, por aproximadamente 4 horas a uma temperatura média de 50°C, até a obtenção de uma consistência xaroposa.

2.3 Teste de susceptibilidade antimicrobiana

A atividade antibacteriana do extrato etanólico de *O. minarum* foi avaliada sobre duas bactérias gram-negativas. Foi utilizada uma cepa de referência American Type Culture Collection (ATCC) de *Escherichia coli* (ATCC 25922) e um isolado clínico resistente de *Klebsiella pneumoniae* produtora de carbapenemase (KP-KPC). Inicialmente foi realizada uma triagem por meio da técnica de difusão em disco adaptada de Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI, 2012).

A partir de cultura pura com 24h de crescimento de cada bactéria fez-se uma suspensão bacteriana com turbidez ajustada à escala 0,5 de McFarland. A suspensão bacteriana foi semeada com swab estéril em placas de petri contendo ágar Muller Hinton (AMH). Em seguida, foram adicionados discos de papel de filtro (6mm), impregnados com os extratos vegetais com concentrações de 2000 e 500 µg dissolvidos em água destilada estéril e Tween 20 a 5%.

Como controle de qualidade do teste foram utilizados discos com água destilada estéril e Tween 20 a 5% e discos de ciprofloxacina (05 µg) e ertapenem (10 µg) comercialmente disponíveis (Cecon®, São Paulo, Brasil). Após a incubação das placas a 35° ± 2°C por 24h, foi realizada a leitura do

halo de inibição. Os testes foram realizados em duplicata. Os extratos que apresentaram halos superiores a 8 mm de diâmetro (ref) foram selecionados para a realização do teste de microdiluição em caldo (adaptado de CLSI, 2012), e determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM).

Resumidamente, suspensões bacterianas foram preparadas em solução salina (0,85%), ajustadas de acordo com a escala 0,5 de McFarland e diluídas em caldo Mueller Hinton cátion-ajustado (CLSI, 2012). Diluições seriadas de cada extrato com concentrações variando de 2000 a 3,91 µg/mL foram preparadas em placas de microtitulação de 96 poços. Após a adição de 100 µL de suspensão microbiana as placas foram incubadas a 35° ± 2°C por 18h.

Ertapenem (Sigma®, Saint Louis, EUA) foi utilizado como antimicrobiano de referência em concentrações que variaram de 32 a 0,062 µg/mL. Em cada placa foram utilizadas uma coluna para controle de esterilidade (caldo Mueller Hinton), controle de crescimento (caldo Mueller Hinton e inóculo) e outra controle de neutralidade do solvente (caldo Mueller Hinton, inóculo e solvente).

A leitura do teste foi realizada visualmente. A CIM foi considerada como a menor concentração do extrato capaz de inibir 100% do crescimento bacteriano (adaptado de CLSI, 2012).

2.4 - Teste SMART (Avaliação mutagênica)

2.4.1 – Cruzamentos e tratamentos

O SMART foi realizado por meio de cruzamentos experimentais entre as linhagens (*mwh*, flr3 e ORR) de *D. melanogaster*, com estas linhagens foram realizados dois diferentes cruzamentos:

1] cruzamento padrão (ST – standard cross) entre machos “*mwh*” e fêmeas virgens “flr3” (GRAF et al., 1984);

2] cruzamento de alta bioativação (HB – high bioactivation cross) entre machos “*mwh*” e fêmeas virgens “ORR; flr3” (GRAF & Van SCHAİK, 1992).

Ovos dos dois cruzamentos foram coletados por 8 horas em frasco contendo base de ágar-ágar coberta com uma camada de fermento biológico suplementado com açúcar. Larvas de terceiro estágio de desenvolvimento 72±4 h foram lavadas com água corrente, coletadas e transferidas para frascos de vidros contendo 1,5g de meio de cultura e tratadas com três concentrações do extrato de *O. minarum*. O cloridrato de doxorrubicina (DXR), na concentração de 0,125 mg/mL, foi utilizado como controle positivo, e como controle negativo – solvente (água Milli-Q, 1% de Tween-80 e 3% etanol). Adultos emergentes portadores dos dois tipos de genótipos: *mwh* +/- flr3 ou *mwh* +/- TM3, Bds, foram coletados e fixados em etanol

70%, posteriormente as asas foram montadas entre lâminas e lamínulas e analisadas, quanto a ocorrência de diferentes tipos de manchas mutantes, em microscópios ópticos.

2.4.2 - Análise Estatística

Os resultados observados com os extratos brutos e com os metabólitos secundários foram avaliados estatisticamente por meio do teste Binomial Condicional (KASTENBAUN & BOWMAN, 1970), com nível de significância $\alpha=\beta=0,05$. As frequências de cada tipo de mancha mutante por mosca foram comparadas com os respectivos controles negativos, possibilitando a caracterização dos resultados como positivos, fracamente positivos, negativos ou inconclusivos (FREI & WÜRGLER, 1988). Na aplicação prática do método de decisão, além da hipótese nula, elaborase uma hipótese alternativa específica, que requer uma frequência de mutação m vezes maior no tratado, do que a obtida no controle negativo.

A hipótese nula postula que não há diferença na frequência de mutações entre o controle negativo e o indivíduo tratado, enquanto a hipótese alternativa postula a priori, que os resultados no tratamento têm um aumento nas frequências de mutações que em vezes maior que a frequência espontânea observada no controle. Além disso, podem acontecer casos em que ambas as hipóteses deverão ser rejeitadas. Isto significa que o tratamento induziu uma resposta genotóxica fraca, com uma frequência de danos que é significativamente menor que em vezes a frequência obtida no controle negativo (FREI & WÜRGLER, 1995).

2.5 - Teste para Detecção de Tumor Epitelial (WTS) em *D. melanogaster* (Avaliação carcinogênica)

2.5.1 – Cruzamentos e tratamentos

Neste trabalho, foram utilizadas duas linhagens mutantes de *D. melanogaster*: (1) multiple wing hairs (*mwh* 3-0,3) e (2) warts (*wts*, 3-100). A linhagem multiple *wing hairs* é mantida em homocigose recessiva para o marcador *mwh* no cromossomo 3 em posição distal em relação ao centrômero. De forma diferente do fenótipo selvagem que produz um único pelo por célula, o gene *mwh* em homocigose recessiva produz fenótipo de pelo nas asas da mosca em formato múltiplo. A linhagem *warts* é mantida em hemizigose na presença do balanceador cromossômico TM3, Sb¹, no cromossomo 3. O gene *warts* atua como gene supressor de tumor quando expresso na condição selvagem, controlando o ciclo celular, impedindo a instalação de células cancerígenas, a manifestação de tumor epitelial no corpo e apêndices da mosca, pode ocorrer caso haja deleção desse gene (agentes físicos, químicos ou

biológicos) e a expressão do alelo recessivo, formando clones de células que são consideradas altamente invasivas. Será realizado o cruzamento entre machos *mwh/mwh* e fêmeas virgens da linhagem *wts*, [1] in [1] *kni* [ri-1] p [p] *wts* [3-17] /TM3, Sb [1]. Nesse cruzamento, foram geradas as progenies MH-trans-heterocigoto marcado (*mwh* +/+*wts*) e progênie BH - heterocigoto balanceado (*mwh* +/+TM3, Sb¹). No teste *wts*, apenas a progênie MH é analisada. A expressão do balanceador cromossômico resulta em fenótipo de pelos curtos e espessos no corpo da mosca. Já na progênie MH, ocorre o contrário, com fenótipo de pelos longos e finos, sendo feita, dessa forma, a identificação da progênie.

Após cruzamento *mwh* +/+*mwh* x *wts*+/TM3, Sb¹, foi feita a coleta de embriões dentro do período de 8 horas em frascos, contendo o meio de cultura à base de ágar (4%) e fermento biológico suplemento com sacarose. Larvas de 3º estágio (72±4 horas de desenvolvimento) foram lavadas com água destilada, em seguida, foram coletadas com auxílio de peneira de malha fina. Logo depois da coleta, as larvas foram submetidas a tratamento crônico (48 horas), colocadas em frascos de vidro contendo 1,5 g de purê de batatas (Yoki@ Alimentos S.A) hidratadas com 5 mL de solução de extrato da planta *O. minarum*, nas concentrações 0,625; 1,25; 2,5 e 5,0 mg/mL. Após completarem a metamorfose, os indivíduos foram coletados em etanol 70%, para análise posterior.

2.5.2 - Análise Estatística

A metodologia estatística utilizada neste estudo foi a análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste de Tukey para comparação das médias entre os grupos. Os dados foram organizados em um dataframe no software R e a ANOVA foi realizada com a função "aov" (AGOSTINELLI & LUND, 2017). Em seguida, a significância estatística foi avaliada através do valor p da estatística F e o teste de Tukey foi realizado para identificar diferenças significativas entre as doses do extrato de *Ocotea minarum*.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 – Atividade antimicrobiana

Neste estudo foi avaliada a atividade antimicrobiana do extrato etanólico de *Ocotea minarum* (Oco), sobre a linhagem *E. coli* ATCC 25922 e a KP-KPC. No teste de difusão em disco não foi observada atividade antibacteriana do extrato frente a *E. coli*, nas concentrações estudadas. Por outro lado, o extrato vegetal testado mostrou halo de inibição maior que 8 mm frente a KP-KPC (Tabela 1).

No teste de microdiluição em caldos não foi observada atividade antibacteriana do extrato etanólico OCO, nas concentrações de 3,91 µg/mL

até 2000 µg/mL. Portanto, a CIM desse extrato é superior a 2000 µg/mL. Quando um extrato vegetal apresenta concentração inibitória mínima inferior a 100 µg/mL este é considerado promissor como antimicrobiano (RIOS, et al., 2005), ou seja, sua atividade antimicrobiana é boa. Levando em consideração os estudos de RIOS e colaboradores, é possível verificar que o extrato da *O. minarum* não apresenta uma boa atividade antimicrobiana frente a *E. coli*.

Tabela 1 – Diâmetro dos halos de inibição por concentração do extrato etanólico frente *E. coli* e KP-KPC pelo método de difusão em disco.

| Espécies vegetais | C* µg/disco | Micro-organismos | | KP (m) |
|-----------------------------------|----------------|--------------------------------|-------------|-----------|
| | | <i>E. coli</i> ATCC 25922 (mm) | C-KP (m) | |
| OCO | 500 | 0 | ± 0,0 | 8,0 |
| | 2000 | 0 | ±0,71 | 8,5 |
| Ciprofloxacina ¹ | 05 | 43,0 ± 0,0 | 0 ± 0,0 | 11, |
| Ertapenem ² | 10 | nt | ± 0,0 | 7,0 |
| Água destilada/Tween ³ | | 0 | | 0 |

Valores expressos em média ± desvio padrão (n=2); * Concentração em µg/disco; 0 halo de inibição ausente ou < 8 mm. ¹controle positivo para *E.coli* (ATCC 25922) e KP-KPC; ²controle positivo para KP-KPC; ³controle negativo; nt não testado. OCO: extrato da *O. minarum*;

Estudos com plantas revelam que estas possuem diversos compostos secundários que englobam uma grande variedade de substâncias químicas com potencial antibacteriano (FERREIRA et al., 2013; SILVA et al., 2009). Na família das Lauraceae muitas espécies são utilizadas no tratamento de doenças. Extratos vegetais de espécies do gênero *Ocotea* apresentam geralmente em sua composição alcaloides aporfinoídes que apresentam potente atividade biológica (ZANIN & LORDELLO, 2007). Segundo estudos desenvolvidos por ALCANTARA (2010), YAMAGUCHI (2011) e SOUZA (2014) a caracterização de extratos com compostos alcaloídicos apresentam potencial antimicrobiano.

Experimentos desenvolvidos por CANSIAN e colaboradores (2010) observaram a atividade antimicrobiana da canela-sassafrás (*Ocotea odorifera*) frente a bactérias gram-negativas, estas apresentaram maior sensibilidade frente ao extrato da planta. O estudo demonstrou e corroborou com pesquisas que verificam o potencial antimicrobiano de espécies do gênero *Ocotea*. Entre as bactérias estudadas por CANSIAN e colaboradores (2010) a *Klebsiella pneumoniae* demonstrou ser mais suscetível, assim como o resultado encontrado nesta pesquisa, onde o extrato de *O. minarum* apresentou potencial antibacteriano frente a bactéria gram-negativa *K. pneumoniae*.

Destaca-se a relação entre os compostos ativos listados na literatura desta espécie e a justificativa provável das ações antimicrobianas observadas no ensaio. Segundo GARCEZ e colaboradores (2005), a espécie *O. minarum* apresenta em suas cascas, frutos e folhas as seguintes classes de compostos químicos: alcaloide indólico, flavonoides e bi flavonoides, cumarina, sesquiterpeno, esteroides, alquil. benzeno e lignanas. Porém vale ressaltar que devido à realização do ensaio com extrato bruto, somente pode-se inferir uma ação sinérgica dos compostos para justificar a ação, uma vez que em extratos brutos de plantas os princípios ativos encontram-se em baixas concentrações (SCHENKEL et al., 2000).

3.2 – Atividade mutagênica e carcinogênica frente a *Drosophila melanogaster*

Para o ensaio mutagênico e carcinogênico, não foi possível concluir a avaliação pois os extratos testados apresentaram resultados, que carecem de maior refinamento no teste.

Após o tratamento realizado de acordo ao proposto na metodologia observou-se como resultado, a não mutagenicidade das seguintes concentrações testadas 0,625 mg/ml; 1,25 mg/ml e 2,5 mg/ml e apresentou toxicidade letal das amostras submetidas a concentração de 5 mg/ml sendo assim necessário a proposição de uma análise diferente para a determinação das ações mutagênicas e carcinogênicas desta espécie.

4 CONCLUSÃO

A investigação científica realizada com o extrato etanólico das folhas da planta *O. minarum* demonstrou que a planta apresentou ação antimicrobiana, porém, seria necessário maior purificação dos componentes para observar melhores resultados.

Além disso, nas análises mutagênicas e genotóxicas, a planta não apresentou ação nas concentrações inferiores, mas apresentou letalidade na concentração superior. Esses resultados indicam a presença de compostos com potencial antimicrobiano e possíveis efeitos tóxicos em altas concentrações. Portanto, novos estudos são necessários para identificar e caracterizar esses compostos e avaliar sua segurança e eficácia em diferentes aplicações.

AGRADECIMENTOS

Aos órgãos financiadores, CAPES, CNPq, UEMS e ao PGRN.

REFERÊNCIAS

- AGOSTINELLI, C., & LUND, U. (2017). R package agricolae: Statistical procedures for agricultural research. Retrieved from <https://cran.r-project.org/web/packages/agricolae/agricolae.pdf>
- Montgomery, D. C., Peck, E. A., & Vining, G. G. (2012). Introduction to linear regression analysis (Vol. 821). John Wiley & Sons.
- ALCANTRA, J. M. et al. (2010). Composição química de óleos essenciais de espécies de Aniba e Licaria e suas atividades antioxidante e antiagregante plaquetária. *Quim. Nova*, Vol. 33, No. 1, 141-145.
- AYRES, M. C. C., et al. (2008). Atividade antibacteriana de plantas úteis e constituintes químicos de raiz de *Copernicia prunifera*. *Rev. Brasileira de Farmacognosia*, vol. 18, n. 1.
- BAKKALI, F., et al. (2008). Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*, v. 46, p. 446 – 475.
- BARBOSA, D. B. (2008). Avaliação das atividades antimicrobiana, antioxidante e análise preliminar da mutagenicidade do extrato aquoso das folhas de *Anacardium humile* St. Hill. (*Anacardiaceae*). Dissertação apresentada para título de Mestre em Genética e Bioquímica. Uberlândia – MG.
- BAYOUB, K., et al. (2010). Antibacterial activities of the crude ethanol extracts of medicinal plants against *Listeria monocytogenes* and some other pathogenic strains. *African Journal of Biotechnology*, v.9, n.27, p.4251- 4258.
- BELLOSO, W. H. (2009). História de los antibióticos. *Revista del Hospital Italiano de Buenos Aires*, v. 29, n. 2, p. 102 – 111.
- CANSIAN, R. L. et al. (2010). Atividade antioxidante e antimicrobiana de extratos de Canela-sassafrás (*Ocotea odorífera* (Vell.) Rowher). *Perspectiva, Erechim*. v.34, n.127, p.123-133.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). (2012). Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Standard. CLSI Document M27-S4. Clinical Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, USA.
- DA SILVA, L. M. G. E. (2010). Estudo químico biomonitorado por ensaio com larvas *Aedes aegypti* das espécies *Ocotea velloziana* (Meins.) Mez. E *Aiouea trinervis* (Meisn.). Tese apresentada ao programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste. Campo Grande – MS.
- FERREIRA, M. R. A., et al. (2013). Antifungal activity of medicinal plants from Northeastern Brazil. *J. Med. Plants Res.* vol. 7, n. 40, p. 3008-3013.
- FREI, H.; F. E. WÜRGLER. 1995. Optimal experimental design and sample size for the statistical evaluation of data from somatic mutation and recombination tests (SMART) in *Drosophila*. *Mutation Research*. 334, p.247-258.
- FUNASAKI, M., et al. (2009). Neolignans and sesquiterpenes from leaves and embryonic cultures of *Ocotea Catharinensis* (*Lauraceae*). *Journal of the Brazilian Chemical Society*, vol. 20, p. 853-859.
- GALVÃO, L. C. C., et al. (2012). Antimicrobial Activity of Essential Oils against *Streptococcus mutans* and their Antiproliferative Effects. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, v. 2012, p. 1 – 12.
- GARCEZ, F. R., et al. (2011). Cytotoxic aporphine alkaloids from *Ocotea acutifolia*. *Planta Médica*, vol. 77, p. 383-387.
- GARCEZ, W. S. GARCEZ, F. R., SILVA, L. M. G. E., SHIMABUKURO, A., 2005. Índole alkaloid and Other constituents from *Ocotea minarum*. *Jornal Brazilian Chemical Society* 16 (6B), 1382-1386.
- GARCIA, F. N.; FERREIRA, L. G.; LEITE, J. F. (2011). Áreas protegidas no bioma cerrado: fragmentos vegetacionais sob forte pressão. *Anais XV Simpósio Brasileiro de sensoriamento remoto – SBSR, Curitiba, PR, Brasil, INEPE* p.4086.
- GARF, U., VAN SCHAİK, N., 1992. Improved high bioactivation cross for the wing somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. *Mutation Research* 271 (11), 59 – 67.
- GIRI, A., DUTTA, S., MANDAL, S., MONDAL, S., & SAHA, S. (2015). *Drosophila melanogaster* como organismo modelo para estudos in vitro de produtos naturais. *Jornal Internacional de Ciências Farmacêuticas e Pesquisa*, 6(5), 1945-1953.

- GRAF, U.; VAN SCHAİK, N. (1992). Improved high bioactivation cross for the wing Somatic Mutation and Recombination Test in *Drosophila melanogaster*. *Mutation Research*, v. 271, p. 59-67.
- GRILLO, V. T. R. S., et al. (2013). Incidência bacteriana e perfil de resistência a antimicrobianos em pacientes pediátricos de um hospital público de Rondônia, Brasil. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, v. 34, v. 1, p. 117 – 123.
- GUTERRES, Z. R. (2008). Investigação das atividades mutagênicas, antimutagenicas e antioxidante de extratos etanólicos de *Aiouea trinervis*, *nectranda cissiflora*, *Ocotea minarum* (Lauraceae) e dos Alcalóides Triptol, Ocoteína e Dicentrina. Dissertação apresentada para título de Doutor em Genética e Bioquímica. Uberlândia – MG.
- GUTERRES, Z. R., et al. (2012). Atividade genotóxica de extratos etanólicos de plantas do gênero *Ocotea*. *Rev. Bras. Bioci.*, Porto Alegre, vol. 10, n. 2, p. 157-163.
- KASTENBAUM, M. A., K. O. Bowman. Tables for determining the statistical significance of mutation frequencies. *Mutation Research*. 9: 527–549, 1970.
- LEITE, N. A. - A Utilização Da Etnobotânica Na Fisioterapia: conhecimentos e práticas do uso de plantas medicinais e fitoterápicos. 2019. 48 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências e Tecnologia Agroalimentar, Programa de Pós-Graduação em Sistemas Agroindustriais-Ppgsa, Universidade Federal de Campina Grande, Pombal - Pb, 2019.
- MESSIAS, M. C. T. B., et al. (2015). Uso popular de plantas medicinais e perfil socioeconômico dos usuários: um estudo em área urbana em Ouro Preto, MG, Brasil. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, Campinas, v. 17, n. 1, p. 76 - 104.
- MONTEIRO, A. R. P. (2015). Atividade antimicrobiana de óleos essenciais. 68p. Dissertação (mestre em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Fernando Pessoa – Faculdade de Ciências da Saúde, Porto.
- MORAES, P. L. R. (2005). Sinopse das Lauráceas nos estados de Goiás e Tocantins, Brasil. *Biota Neotrópica*, 5: 1-18.
- MORAES, M.M. et al. (2017). Comparative toxicity of essential oil and blends of selected terpenes of *Ocotea* species from Pernambuco, Brazil, against *Tetranychus urticae* Koch. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*. v. 89, n. 3, 1417-1429.
- QUINET, A., et al. (2015). Lauraceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <
<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB8496>>. Acesso em: 22 Maio 2021.
- RAUT, J. S.; KARUPPAYIL, S. M. (2014). A status review on the medicinal properties of essential oils. *Industrial Crops and Products*, v. 62. p. 250 – 264.
- RIBEIRO, C. M. (2008). Avaliação da atividade antimicrobiana de plantas utilizadas na medicina popular da Amazônia. 67p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) Universidade Federal do Pará, Belém.
- RIOS, J. L.; RECIO, M. (2005). Medicinal plants and antimicrobial plants. *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 100, p. 80-4.
- RODRIGUES, K. A. F., et al. (2015). *Syzygium cumini* (L.) Skeels essential oil and its major constituent α -pinene exhibit anti-Leishmania activity through immuno modulation in vitro. *Journal of Ethno pharmacology*. v. 160, p. 32 – 40.
- SARDI, J. C., et al. (2013). Candida species: current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural antifungal products and new therapeutic options. *Journal of Medical Microbiology*, v. 62, n. 1, p. 10 - 24.
- SCHENKEL, E. P., GOSMANN, G., PETROVICK, P. R. (2000). Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P., GOSMANN, G. M., MELLO, J. C. P., MENTZ, L. A. & PETROVICK, P. R., orgs. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 2.ed. Florianópolis. UFSC; Porto Alegre: UFRGS, cap.15, p. 291-320.
- SILVA, F. M., PAULA, J. E., ESPINDOLA, L. S. (2009). Evaluation of the antifungal potential of Brazilian Cerrado medicinal plants. *Mycoses* vol. 52, p. 511-517.
- SOUZA, A. D. de. (2014). Isolamento de Alcaloides e atividades biológicas de espécies de Lauraceae da Amazônia. 184 f. Dissertação

(Mestrado em Química) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus.

SURESH, S., FÁTIMA, G. S. & MAMATHA, G. P. (2013). *Drosophila melanogaster* como organismo modelo para avaliação de plantas medicinais: uma revisão. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 1(5), 67-70.

YAMAGUCHI, K. K. L. (2011). Estudos biológicos dos extratos e composição química dos óleos essenciais de espécies da família Lauraceae. Dissertação (Mestrado em Química de Produtos Naturais). Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal do Amazonas, Manaus. 144p.

ZANIN, S. M., LORDELLO, A. L. L. (2007). Alcalóides aporfinoídes do gênero *Ocotea* (Lauraceae). *Química Nova*, vol. 30, n. 01, p. 92-98.