

CENTRO UNIVERSITÁRIO SAGRADO CORAÇÃO

ISABELA FABBRON DE ARAÚJO

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO DE *Cissampelos*
*pareira***

BAURU

2022

ISABELA FABBRON DE ARAÚJO

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO DE *Cissampelos*
*pareira***

Monografia de Iniciação Científica do curso de Biomedicina, apresentado a Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação do Centro Universitário Sagrado Coração.

Orientador: Prof. Dr. Danilo Antonini Alves

BAURU

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com
ISBD

A658a	<p>Araújo, Isabela Fabbron de</p> <p>Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato de <i>Cissampelos pareira</i> / Isabela Fabbron de Araújo. -- 2022. 30f. : il.</p> <p>Orientador: Prof. Dr. Danilo Antonini Alves</p> <p>Monografia (Iniciação Científica em Biomedicina) - Centro Universitário Sagrado Coração - UNISAGRADO - Bauru - SP</p> <p>1. Mediciniais. 2. Exploração. 3. Antimicrobiana. I. Alves, Danilo Antonini. II. Título.</p>
-------	--

Elaborado por Lidyane Silva Lima - CRB-8/9602

Dedico este trabalho aos meus pais, ao meu orientador Danilo Antonini Alves e aos meus amigos Camila Conquista e Luiz Henrique Pollo por todo o apoio e encorajamento, com carinho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais por todo o incentivo e dedicação comigo durante esse momento, assim como minha amiga Jordanna que esteve me apoiando durante minha jornada. Além disso, agradeço aos meus amigos de projeto, Camila e Luiz Henrique, por estarem comigo durante os experimentos, incentivando-me e apoiando-me.

Agradeço ao meu orientador Danilo, por toda a paciência e dedicação e por ter disponibilizado seu tempo para empenhar-se no meu projeto.

RESUMO

O *Cissampelos pareira* consiste em uma trepadeira herbácea distribuída em regiões tropicais e subtropicais das Américas. No Brasil, pode ser encontrada em biomas diversos, como Caatinga, Mata Atlântica e Floresta Amazônica. Pertencente à família *Menispermaceae*, essa espécie possui propriedades utilizadas para fins medicinais, tais como contra infecções urinárias, genitais, respiratórias e cardíacas. Além disso, o suco da folha é usado como antisséptico, anti-helmíntico, inseticida e parasiticida, contra dermatites, asma, diarreia, disenteria, antifertilidade e antidiabético. Isso se deve, pois apresenta alcaloides isoquinolina e bisbenzilisoquinolina, óleos essenciais, flavonoides, polissacarídeos e pectina em sua composição. Visto isso, o atual projeto visou estudar os constituintes presentes no *Cissampelos pareira* através de técnicas de maceração, filtração e percolação, com produção de placas de antibiogramas, visando identificar seus possíveis efeitos sobre microrganismos patogênicos como, *S. aureus*, *P. aeruginosa* e *E. coli*, propondo novas alternativas para os antimicrobianos e antifúngicos existentes na clínica médica. Dado os procedimentos, o projeto apresentou como resultado, a formação de halo inibitório apenas na placa referente ao *S. aureus*, ao redor do disco contendo o extrato com acetato de etila na concentração de 1.000µg, indicando que houve ação do extrato de *Cissampelos pareira*, macerado com acetato de etila, sobre o *S. aureus*. Portanto, houve a efetividade nos experimentos realizados, alcançando-se os principais objetivos.

Palavras-chave: Medicinais; Exploração; Antimicrobiana.

ABSTRACT

Cissampelos pareira consists of an herbaceous vine distributed in tropical and subtropical regions of the Americas. In Brazil, it can be found in various biomes, such as Caatinga, Atlantic Forest and Amazon Forest. Belonging to the family *Menispermaceae*, this species has properties used for medicinal purposes, such as urinary, genital, respiratory and cardiac infections. In addition, leaf juice is used as antiseptic, anthelmintic, insecticide and parasiticide, against dermatitis, asthma, diarrhea, dysentery, antifertility and antidiabetic. This is due to the alkaloids isoquinoline and bisbenzylquinoline, essential oils, flavonoids, polysaccharides and pectin in its composition. Given this, the current project aimed to study the constituents present in *Cissampelos pareira* through macerated, filtration and percolation techniques, with the production of antibiogram plates, in order to identify their possible effects on pathogenic microorganisms such as *S. aureus*, *P. aeruginosa* and *E. coli*, proposing new alternatives for antimicrobials and antifungals existing in the medical clinic. Given the procedures, the project presented as a result, the formation of an inhibiting halo only in the plate referring to *S. aureus*, around the disc containing the extract with ethyl acetate at the concentration of 1,000 μ g, indicating that there was action of the extract of *Cissampelos pareira*, macerated with ethyl acetate, under *S. aureus*. Therefore, there was the effectiveness in the experiments carried out, achieving the main objectives.

Keywords: Medicinal; Exploration; Antimicrobial.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	09
2.	MATERIAIS E MÉTODOS	13
3.	RESULTADOS	17
4.	DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	18
5.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	20
	REFERÊNCIAS	22
	ANEXOS	24

1. INTRODUÇÃO E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O *Cissampelos pareira*, cujo nome popular é Abutua, consiste em uma trepadeira herbácea distribuída em regiões tropicais e subtropicais das Américas, África e Ásia. No Brasil, essa espécie é conhecida como pareira, abuta ou pareira-brava. Na África, é denominada “chegonde” e “karigi-munana”. Já na Índia, “ambastha”, “patha” e “laghupatha” são alguns de seus nomes populares. (PORTO *et al.*, 2016)

No Brasil, poderá ser encontrada em biomas diversos, como Caatinga, Mata Atlântica e Floresta Amazônica. Ademais, no continente africano, savanas, arbustos caducifólios, terras desmatadas e até mesmo plantações são locais propícios para o aparecimento dessa espécie. (PORTO *et al.*, 2016)

Segundo Alipi e Pichardo (2009),

A espécie estudada possui flores femininas e masculinas (dióicas) e seu tamanho pode chegar até 6 metros. Seu caule é caracterizado como sendo delgado, flexível, estriado quando seco e, muitas vezes, pode apresentar pelos. Já suas folhas são alternadas, ovais a quase circulares e apresentam até 15 cm de comprimento e até 17 de largura. Além disso, possui ápice variável, frequentemente com muco, base arredondada ou em formato de coração, as vezes coberta de pelos sedosos.

Sua inflorescência é caracterizada com as flores agrupadas nas axilas das folhas ou brácteas. As inflorescências femininas formam fascículos bractados em pseudo-espículas ou pseudo-aglomerados nas axilas (até 8 cm de comprimento); as brácteas largas e peludas (até 1,5 cm de diâmetro), mas as vezes são pequenas ou ausentes. Já as inflorescências masculinas são quase sem brácteas e suas flores são quase sésseis em um pedículo delgado de até 3 mm de comprimento. (ALIPI; PICHARDO, 2009)

As flores femininas possuem 1 sépala de até 2 mm de comprimento, obovadas, com pelos na face externa, caducas; 1 pétala (raramente 2 ou 3), geralmente mais largas que longas e menores que a sépala, é caída. Já as flores masculinas são verdes, esbranquiçadas ou amarelas, com 4 sépalas de até 1,8 mm de comprimento, as vezes com pelos na face externa; 1 pétala unida nas suas extremidades, formando uma “placa”, com toda a margem ou lobulada; 4 estames (raramente até 6), com filamentos ausentes ou minúsculos e unidos para formar uma pequena coluna. (ALIPI; PICHARDO, 2009)

Seu fruto possui até 6 mm de comprimento, comprimido lateralmente, vermelho ou amarelo, coberto de pelos e carnudo com “osso” verrucoso e estriado. Suas sementes são em forma de ferradura. Já suas raízes são espessadas. (ALIPI; PICHARDO, 2009)

O *C. pareira* pertence ao reino Plantae, ao filo Tracheophyta, a classe Magnoliopsida e a ordem Ranunculales (GBIF, 2019). Além disso, engloba-se à família *Menispermaceae*, classificação esta que apresenta 71 gêneros diversos e aproximadamente 520 espécies. Ademais, esta família possui oito tribos, sendo que

a tribo Menispermeae é subdividida em três subtribos. Essa subdivisão foi baseada em caracteres fenotípicos como número de carpelos e simetria do perianto das flores femininas. Sendo assim, a tribo Menispermeae compreende 16 gêneros (*Antizoma*, *Stephania*, *Cyclea*, *Cissampelos* e *Cocculus*). Já a subtribo Cissampelinae é formada pelos gêneros *Cyclea* e *Cissampelos*. (PORTO, 2009)

Além das trepadeiras, essa família abrange ervas, arbustos, subarbustos e raramente árvores. Ademais, na América do Norte há apenas 3 espécies registradas e, no Brasil, está representada por 12 gêneros e 106 espécies, concentrando-se a maior parte na Amazônia. (PORTO, 2009)

Uma característica importante da família *Menispermaceae* é a alta especialização na diversificação de compostos alcaloídicos, sendo que, até 1996, cerca de 1.525 alcaloides foram descritos a partir de 159 espécies, tendo um grande avanço em descobertas do campo da medicina e da farmacêutica. (PORTO, 2009)

Sendo assim, os gêneros com espécies mais utilizadas para fins medicinais são: *Cissampelos*, *Cocculus* DC., *Dioscoreophyllum* Engl., *Jateorhiza* Miers, *Sphenocentrum* Pierre, *Stephania* Lour, *Tiliacora* Colebr., *Tinospora* Miers e *Triclisia* Benth. (PORTO, 2009)

O gênero *Cissampelos* L. pertencente, portanto, à tribo Menispermeae e à subtribo Cissampelinae, compreende no Brasil dez espécies, das quais cinco ocorrem no Nordeste e uma espécie, *Cissampelos sympodialis* Eichl. é exclusiva do território brasileiro. Segundo estudos, no Norte e Sul das Américas, na África e na Ásia, há 20 espécies distribuídas. (PORTO, 2009)

No geral, as espécies que compreendem esse gênero são caracterizadas pela presença de alcaloides do tipo bisbenziltetrahydroisoquinolínicos e aporfínicos e são utilizadas na medicina contra infecções urinárias, genitais, respiratórias e cardíacas. (PORTO, 2009)

Além disso, segundo Semwal *et al.* (2014),

A literatura revelou que a atividade farmacológica inclui analgésico e antipirético, anti-inflamatório, antialérgico, broncodilatador, imunomodulador, intensificador de memória, antidepressivo, neuro protetor, antimicrobiano, antimalárico, antiparasitário, antiúlcera, anticâncer, antioxidante, cardiovascular, muscular-relaxante, hepatoprotetor, antidiabético, antidiarreico, antifertilidade e atividade antiveneno foram confirmados in vitro e/ou in vivo para várias espécies de *Cissampelos*.

Por outro lado, as espécies de *Cissampelos* eram tradicionalmente incluídas em preparações de curare aplicadas como veneno de flecha durante a caça para causar a morte de animais por asfixia. (SEMWAL *et al.*, 2014)

O *C. pareira* é reconhecido por apresentar, em suas folhas, substâncias capazes de agir como medicamento natural. Foram relatadas uma rica fonte em alcaloides isoquinolina e bisbenzilisquinolina, como berberina, curina, hayatine e magnofloro. Além disso, foram isolados óleos essenciais, flavonoides, polissacarídeos e pectina. (PORTO *et al.*, 2016)

Portanto, o suco da folha é usado como antisséptico, anti-helmíntico, inseticida e parasiticida, contra dermatites, asma, distúrbios geniturinários e gastrointestinais, diarreia, disenteria, antifertilidade e antidiabético. Além disso, o uso tópico da folha é indicado para hemorragias por cortes, queimaduras, feridas e abscessos. (PORTO *et al.*, 2016)

Estudos foram realizados com a finalidade de avaliar a validade do efeito da antifertilidade do extrato da folha de *Cissampelos pareira*. Quando administrado por via oral, houve mudança no padrão do ciclo estral em camundongos fêmeas, prolongamento da duração do ciclo estral com aumento significativo na duração da fase de diestro e redução no número de ninhadas em camundongos albinos. Além disso, o extrato alterou a liberação de gonadotrofinas (LH, FSH e prolactina) e a secreção de estradiol. (GANGULY *et al.*, 2007)

Outro estudo foi desenvolvido com a finalidade de avaliar a possível toxicidade aguda e subaguda por meio do extrato etanólico aquoso a 50% de *Cissampelos pareira*. Como consequência dos testes, não houve mortalidade nem alteração de comportamento ou qualquer outra atividade fisiológica em camundongo, no teste de toxicidade aguda com administração oral de 2g/kg do *C. pareira*. Assim como na aguda, não foram observadas mortalidade no estudo da toxicidade subaguda, na qual houve administração oral de duas doses (1 ou 2g/kg por dia) durante 28 dias em ratos. (AMRESH *et al.*, 2008)

Com base nos resultados, o *Cissampelos pareira* foi considerado seguro em relação ao seu perfil toxicológico, já que não houve alterações significativas na análise química do sangue, no exame de urina e no peso do corpo e dos órgãos entre animais controles e tratados de ambos os sexos. (AMRESH *et al.*, 2008)

Visto isso, o atual projeto teve como objetivos, obter extratos de *Cissampelos pareira* L. utilizando solventes de diferentes polaridades; extrair e identificar os

alcaloides totais presentes na *Cissampelos pareira* L; e avaliar a atividade antimicrobiana dos extratos de *Cissampelos pareira* L.

Ademais, o território brasileiro apresenta uma flora imensa com milhares de espécies distintas e muitas destas não foram alvo de uma exploração científica adequada, ou seja, diversas espécies de plantas e/ou vegetais ainda não foram totalmente estudadas. Tendo isso em vista, esse trabalho visou estudar aos constituintes presentes na *Cissampelos pareira* e seus possíveis efeitos sobre microrganismos patogênicos visando novas alternativas para os antimicrobianos e antifúngicos existentes na clínica médica.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Para a realização do experimento, foram utilizados quatro pacotes de partes aéreas de *Cissampelos pareira*, contendo 50g cada (Figura 1). Ao todo, durante o projeto foram usados aproximadamente 250g da planta. Visto isso, foi necessário realizar o processo de trituração utilizando-se um liquidificador (Figura 2) e, posteriormente, peneiramento em peneira granulométrica com abertura de 300 µm para obtenção de um pó, aumentando assim a superfície de contato (Figura 3)

Em seguida, foram pesados aproximadamente 20g em quatro potes distintos (Figura 4) e adicionados 100ml de um solvente diferente (Figura 5) em cada pote, com exceção do Álcool 70% (7g em 35ml), resultando em uma proporção de 1:5.

- Pote 1: 20.021g
- Solvente: Álcool Etílico Absoluto
- Pote 2: 7.4794g
- Solvente: Álcool 70%
- Pote 3: 20.008g
- Solvente: Acetato de Etila
- Pote 4: 20.006g
- Solvente: Metanol (Álcool Metílico)

Após a mistura do pó com o devido solvente, houve um intervalo de 15 dias para maceração da solução (Figura 6). Passado esse tempo, foi feito o processo de filtração, no qual houve o despejamento de cada solução em um funil de separação que apresentava em seu interior um algodão e adição de mais 100ml do respectivo solvente (maceração por 1 hora). Em seguida, ocorreu a percolação, cujo objetivo principal consiste em que o solvente adicionado passe pelo soluto carregando seus componentes (Figura 7). Os resultados deste processo ficaram armazenados em Erlenmeyer e refrigerados em geladeira (Figura 8).

Visto esses processos, alguns componentes como Acetato de Etila, Metanol e Álcool Absoluto precisaram ser filtrados novamente para melhor obtenção de seus componentes (Figura 9).

Logo após, quatro placas foram colocadas em um dessecador por aproximadamente 15 minutos e, após esse tempo, foram pesadas vazias. Em

seguida, foi adicionado 1ml de cada solução em sua respectiva placa e introduzidas em uma estufa à 45°C para evaporação. Após evaporadas, foram colocadas novamente em um dessecador por 30 minutos para que, por fim, pudessem ser pesadas novamente, possibilitando a determinação das concentrações. Portanto, foi realizada a pesagem da placa vazia e após evaporação do solvente.

- Álcool 70% (Figura 10)
 - Placa vazia: 4.2443g
 - Placa evaporada: 4.2608g
 - (Placa evaporada – placa vazia) = 0,0165g/ml
- Álcool Absoluto (Figura 11)
 - Placa vazia: 4.2422g
 - Placa evaporada: 4.2461g
 - (Placa evaporada – placa vazia) = 0,0039g/ml
- Metanol (Figura 12)
 - Placa vazia: 4.2448g
 - Placa evaporada: 4.2568g
 - (Placa evaporada – placa vazia) = 0,012g/ml
- Acetato de Etila (Figura 13)
 - Placa vazia: 35.6825g
 - Placa evaporada: 35.6835g
 - (Placa evaporada – placa vazia) = 0,001g/ml

Enquanto esperava-se o tempo das placas no dessecador, houve a produção de pequenos círculos de papel filtro, que foram utilizados no antibiograma. Após a confecção, estes foram levados para a autoclave com o objetivo de esterilização. Ademais, foi realizado a identificação das placas de antibiograma (1.000µg e 500µg) para cada solvente e plastificação com papel filme para a não contaminação. Ao todo, foram identificadas 8 placas, ou seja, duas para cada solvente (Figura 14).

- Composto 1: Álcool 70%
- Composto 2: Álcool Absoluto
- Composto 3: Metanol
- Composto 4: Acetato de Etila

Tendo em vista a concentração determinada em cada placa, foi realizado o cálculo das concentrações com base nesses valores. Para isso, utilizou-se do seguinte raciocínio, tendo como exemplo o Álcool 70%:

$$\begin{array}{rcl} 0,0165\text{g (valor da placa evaporada – placa vazia)} & - & 1\text{ml} \\ X & & - 1,25\text{ml} \end{array}$$

$$X = 0,0206\text{g (quantidade em grama do Eppendorf)} / 1,25\text{ml}$$

Quando evaporado o solvente, concentrou-se 5 vezes o extrato, portanto, $X = (0,0206\text{g}) \times 5 = 0,1031\text{g} / 0,25\text{ml}$ (Concentração do extrato evaporado, ou seja, 1,25ml tornou 0,25ml, concentrando os constituintes).

Em seguida, passado de Gramas para Miligramas, $0,1031\text{g} \times 1000 = 103,1\text{mg}$, ou seja, $103,1\text{mg} / 0,25\text{ml}$.

Visto isso, precisou-se passar 1 mg (1000 µg) para cada disco confeccionado.

$$\begin{array}{rcl} 103,1\text{mg} & - & 0,25\text{ml} \\ 1\text{mg} & - & x \end{array}$$

$X = 0,002424\text{ml}$ (passar de ml para µl ($\times 1000$)) = $2,42\mu\text{l} / 1.000\mu\text{g}$. Já em $500\mu\text{g}$ foram necessários $1,21\mu\text{l}$.

Fazendo o cálculo das concentrações de todas as soluções, foi obtido o seguinte resultado.

- Álcool 70%: $2,42\mu\text{l}$ ($1.000\mu\text{g}$) e $1,21\mu\text{l}$ ($500\mu\text{g}$)
- Álcool Absoluto: $10,2\mu\text{l}$ ($1.000\mu\text{g}$) e $5,1\mu\text{l}$ ($500\mu\text{g}$)
- Metanol: $3,33\mu\text{l}$ ($1.000\mu\text{g}$) e $1,66\mu\text{l}$ ($500\mu\text{g}$)
- Acetato de Etila: $40\mu\text{l}$ ($1.000\mu\text{g}$) e $20\mu\text{l}$ ($500\mu\text{g}$)

A princípio, após determinação das concentrações, foram separados 3 tubos de Eppendorf para cada solução, nos quais foram inseridos 1,25ml para evaporação de 1ml e concentração de 0,25ml (1:5), com exceção do acetato de etila que foi realizado a proporção 1:10. Ao todo, foram utilizados 12 tubos (Figura 15).

Logo após a evaporação e consequente concentração dos compostos, em um fluxo laminar vertical, foi adicionado os compostos nos discos, já pré confeccionados

e esterilizados, em uma proporção determinada, tendo como base os resultados dos cálculos de concentração.

- Álcool 70%: 4µl (1.000µg) e 2µl (500µg)
- Álcool Absoluto: 10µl (1.000µg) e 5µl (500µg)
- Metanol: 4µl (1.000µg) e 2µl (500µg)
- Acetato de Etila: 20µl (1.000µg) e 10µl (500µg)

Feito isso, houve a preparação do meio de cultura *Mueller Hinton* para a realização dos antibiogramas. Desse modo, utilizou-se de 22,8g de ágar *Mueller Hinton* juntamente com 600ml de água destilada. Em seguida, foi realizada a inoculação das bactérias (*S. aureus*, *P. aeruginosa* e *E. coli*) em salina (0,5 na escala McFaraday) e, posteriormente, espalhamento dessas nos meios de cultura. Para isso, foram separadas 2 placas contendo meio de cultura para cada bactéria.

Após totalmente secos, os discos foram inseridos no meio de cultura e levados para estufa por aproximadamente 24 horas para possível crescimento das colônias.

Passado o tempo, foi observado a presença ou ausência de halos inibitórios em torno dos discos, para assim, determinar se houve ou não, ação antibacteriana sobre o determinado composto analisado.

3. RESULTADOS

Como resultado do projeto, houve a formação de um pequeno halo inibitório apenas na placa referente ao *S. aureus*, ao redor do disco contendo o extrato com acetato de etila na concentração de 1.000µg (Figura 16). Sendo assim, não houve ação dos extratos contendo álcool 70%, álcool absoluto e metanol sobre a bactéria *S. aureus* (Figura 17); dos extratos contendo álcool 70%, álcool absoluto e metanol sobre *P. aeruginosa* (Figura 18); e dos extratos contendo álcool 70%, álcool absoluto e metanol sobre *E. coli* (Figura 19).

Por tratar-se de um halo muito pequeno, mais testes precisariam ser realizados futuramente para comprovação dessa efetividade.

4. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Diante dos resultados obtidos, foi possível observar uma ação inibitória do disco contendo o extrato com acetato de etila na concentração de 1.000µg frente ao *S. aureus*. Este resultado condiz com aquele obtido por SHRESTHA e GUPTA (2019), no qual foi realizado a análise fitoquímica e atividade antibacteriana do extrato do rizoma do *Cissampelos pareira* L. contra alguma tensão bacteriana e que apresentou uma alta ação inibitória do acetato de etila contra o *S. aureus*.

Além disso, segundo SHARMA (2020), o *C. pareira* demonstrou a maior ação antibacteriana contra *S. aureus*, com halo inibitório de 12mm, seguido pela *E. coli*, com 9mm.

Outro estudo realizado, por NGOCI *et al.* (2013), efetuou uma triagem para a atividade antimicrobiana de *Cissampelos pareira* L. utilizando o extrato de raiz de metanol. Como resultado, o extrato metanólico da raiz de *Cissampelos pareira* L. demonstrou atividade antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* (20 mm), distinguindo do resultado obtido por esse projeto, utilizando o extrato de metanol.

Visto isso, outros estudos que utilizaram o extrato de metanol para verificação da ação antimicrobiana, como SHRESTHA e GUPTA (2019); SEETHARAMAN, INDRA e DURAIRASU (2018) e NGOCI *et al.* (2013), obtiveram ação inibitória frente ao *S. aureus* e *E. coli*, bactéria que também foi utilizada no projeto, mas que teve seu crescimento inibido.

Portanto, de acordo com os resultados e a comparação com a literatura, pode-se afirmar que o *S. aureus* é uma bactéria facilmente inibida pelos extratos de *C. pareira* contendo acetato de etila e metanol, assim com a *E. coli*. Visto isso, o metanol apresentou uma maior ação inibitória nos estudos apresentados, porém não foi visualizado halo nos meios de cultura feitos pelo atual projeto, tanto para o metanol como para a *E. coli*. Porém, o acetato de etila, quando comparado, condiz com a bibliografia.

Tendo isso em vista, o atual projeto focou principalmente na atividade antimicrobiana, porém há estudos que demonstram a efetividade do extrato da planta frente a outros microrganismos. Segundo pesquisas realizadas, a cissampeloflavona, isolada de folhas, apresentou atividade contra *Trypanosoma cruzi* e *T. brucei rhodesiense*. Além disso, o extrato da planta apresentou atividade antifúngica contra *Aspergillus niger* e *Saccharomyces cerevisiae*. Ademais, o extrato etanólico

das partes aéreas apresentou atividade antiinflamatória e analgésica. Além disso, os efeitos anticoncepcionais e citotóxicos foram demonstrados por Priya et al. (2012) e Ganguly et al. (2007), respectivamente. Já a atividade antidiabética foi confirmada por Jannu et al. (2011) e Yadav et al. (2013). Além disso, um estudo preliminar realizado por Thakur e Rana (2013) confirmou o efeito ansiolítico das folhas de *C. pareira*. (PORTO et al., 2016)

Outro estudo buscou avaliar o *C. pareira* quanto à citotoxicidade in vitro e atividade antitumoral in vivo contra células de Linfoma Ascite (DLA) de Dalton em camundongos *Swiss*. Tendo isso em vista, a citotoxicidade in vitro foi avaliada pelo ensaio MTT e um estudo in vivo foi realizado em extrato de metanol. Vinte e quatro horas após a inoculação intraperitoneal das células DLA em camundongos, o extrato metanólico de *C. pareira* (MECP) foi administrado a 200 e 400 mg / kg de peso corporal por 14 dias consecutivos. No dia 14, seis camundongos foram sacrificados e o resto foi mantido vivo para avaliação do aumento da expectativa de vida. O efeito antitumoral foi avaliado avaliando o hematócrito, contagem de células tumorais viáveis, aumento do peso corporal e aumento do tempo de vida. Os parâmetros hematológicos e bioquímicos séricos e as propriedades antioxidantes foram avaliados estimando-se a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e peroxidação lipídica. (THAVAMANI et al., 2014)

Como resultado, o MECP mostrou uma potente atividade citotóxica (IC₅₀ de 95,5 µg/ml) e uma diminuição significativa no volume de células compactadas, contagem de células viáveis e um aumento da vida útil. Portanto, a espécie exibiu significativas atividades antitumorais in vitro e in vivo. (THAVAMANI et al., 2014)

Por fim, foi desenvolvida uma abordagem sistemática de triagem guiada por bioensaios para explorar o bio-recurso natural de ervas para identificar plantas com atividade inibidora de pan-DENV. Os resultados mostram que o extrato alcoólico de *Cissampelos pareira* foi um potente inibidor de quatro DENVs em ensaios baseados em células. Além disso, os ensaios de redução da produção de vírus mostram a eficácia em diminuir os títulos virais em ordem de magnitude. Além da atividade antipirética inerente em ratos *Wistar*, ele possuía a capacidade de diminuir a produção de TNF- α , uma citocina implicada na doença grave da dengue. (SOOD et al., 2015)

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O *Cissampelos pareira* consiste em uma trepadeira herbácea distribuída em regiões tropicais e subtropicais das Américas, África e Ásia. Este pertence ao reino Plantae, ao filo Tracheophyta, à classe Magnoliopsida, à ordem Ranunculales e à família Menispermaceae. Uma característica importante da família Menispermaceae é a alta especialização na diversificação de compostos alcaloídicos, sendo que, até 1996, cerca de 1.525 alcaloides foram descritos a partir de 159 espécies, tendo um grande avanço em descobertas do campo da medicina e da farmacêutica, sendo que nesta, a literatura revelou ação analgésico e antipirético, anti-inflamatório, antialérgico, broncodilatador, imunomodulador, intensificador de memória, antidepressivo, neuro protetor, antimicrobiano, antimalárico, antiparasitário, antiúlcera, anticâncer, antioxidante, cardiovascular, muscular-relaxante, hepatoprotetor, antidiabético, antidiarreico, antifertilidade e atividade antiveneno foram confirmados in vitro e/ou in vivo para várias espécies de *Cissampelos*.

No geral, as espécies que compreendem o gênero *Cissampelos* L. são caracterizadas pela presença de alcaloides do tipo bisbenziltetrahydroisoquinolínicos e aporfínicos e são utilizadas na medicina contra infecções urinárias, genitais, respiratórias e cardíacas.

Portanto, tendo como base essas propriedades medicinais, o presente projeto buscou avaliar a atividade antimicrobiana das bactérias *S. aureus*, *P. aeruginosa* e *E. coli* nos extratos de *Cissampelos pareira*, macerados em solventes como álcool 70%, álcool absoluto, metanol e acetato de etila.

Visto isso, após realizados os procedimentos, os meios de cultura foram preparados para a execução dos antibiogramas, nos quais foram inoculadas as bactérias. Após 24 horas na estufa, foi possível obter os resultados dos experimentos.

Como resultado do projeto, houve a formação de halo inibitório apenas na placa referente ao *S. aureus*, ao redor do disco contendo o extrato com acetato de etila na concentração de 1.000µg. Com isso, pôde-se concluir que houve ação do *S. aureus* sob o extrato de *Cissampelos pareira*, macerado com acetato de etila.

Portanto, visto que houve a efetividade nos experimentos realizados, pode-se dizer que os objetivos do projeto foram alcançados, mesmo com as dificuldades enfrentadas durante dois anos, em decorrência da pandemia da Covid-19. Além disso,

com a ação antibacteriana positiva para o extrato de *Cissampelos pareira*, este estudo poderá ser útil para a realização de outros estudos mais aprofundados.

REFERÊNCIAS

ALIPI, Ana María Hanan; PICHARDO, Juana Mondragón. **Ervas daninhas do México: *Cissampelos pareira* L.** 2009. Disponível em: <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/menispermaceae/cissampelos-pareira/fichas/ficha.htm>. Acesso em: 04 fev. 2021.

AMRESH, G; SINGH, PN; RAO, CV. ***Toxicological screening of traditional medicine Laghupatha (Cissampelos pareira) in experimental animals.*** *J Ethnopharmacol.* 2008 Mar 28;116(3):454-60. doi: 10.1016/j.jep.2007.12.008. Epub 2007 Dec 23. PMID: 18280070. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18280070/>. Acesso em: 05 fev. 2021.

Cissampelos pareira L. no Secretariado do GBIF (2019). **Taxonomia de backbone do GBIF.** Conjunto de dados da lista de verificação <https://doi.org/10.15468/39omei> acessado via GBIF.org em 2021-02-04. Disponível em: <https://www.gbif.org/pt/species/3033937>.

GANGULY, Mausumi *et al.* **Atividade antifertilidade do extrato metanólico da folha de *Cissampelos pareira* em camundongos albinos fêmeas.** 2007. 111 v. Índia, 2007. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378874107000414?via%3Di> hub. Acesso em: 05 fev. 2021.

MALDONI, B. (1991). ***Alkaloids: Isolation and purification.*** *Journal of Chemical Education*, 68(8), 700. doi:10.1021/ed068p700.

NCCLS. **Método de Referência para Testes de Diluição em Caldo para a Determinação da Sensibilidade a Terapia Antifúngica das Leveduras;** Norma Aprovada—Segunda Edição. NCCLS document M27-A2 [ISBN 1-56238-469-4]. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 Estados Unidos, 2002.).

NGOCI, N.S. *et al.* ***Screening for Antimicrobial Activity of Cissampelos pareira L. Methanol Root Extract.*** 2013. *European Journal of Medicinal Plants.* 4(1): 45-51, 2014. Disponível em: https://www.academia.edu/4836164/Screening_for_Antimicrobial_Activity_of_Cissampelos_pareira_L_Methanol_Root_Extract. Acesso em 08 de setembro de 2022.

PORTO, Niara Moura *et al.* **Caracterização microscópica e espectrofotométrica de UV / Vis de *Cissampelos pareira* do Brasil e da África.** *Rev. bras. farmacogn.*, Curitiba, v. 26, n. 2, pág. 135-146, abril de 2016. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-695X2016000200135&lng=en&nrm=iso>. acesso em 04 de fevereiro de 2021. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2015.10.006> .

PORTO, Niara Moura. **Caracterização anatômica e química de espécies de *Cissampelos* L. (Menispermaceae) utilizadas como medicinais no nordeste do Brasil.** 2009. 116 f. Recife, 2009. Disponível em:

https://repositorio.ufpe.br/bitstream/123456789/982/1/arquivo6585_1.pdf. Acesso em: 04 fev. 2021.

SEMWAL, DK et al. ***From arrow poison to herbal medicine--the ethnobotanical, phytochemical and pharmacological significance of Cissampelos (Menispermaceae).*** *J Ethnopharmacol.* 2014 Sep 11;155(2):1011-28. doi: 10.1016/j.jep.2014.06.054. Epub 2014 Jul 2. PMID: 24997389. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24997389/>. Acesso em: 04 fev. 2021.

SHARMA, K.R. ***IN VITRO BIOLOGICAL STUDY OF SEVEN NEPALESE MEDICINAL PLANTS AND ISOLATION OF CHEMICAL CONSTITUENTS FROM CISSAMPELOS PAREIRA.*** *Central Department of Chemistry, Tribhuvan University, Kirtipur, Kathmandu, Nepal.* vol. 13, Issue 9, 2020. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Khaga-Sharma/publication/344728207_IN_VITRO_BIOLOGICAL_STUDY_OF_SEVEN_NEPALESE_MEDICINAL_PLANTS_AND_ISOLATION_OF_CHEMICAL_CONSTITUENTS_FROM_CISSAMPELOS_PAREIRA/links/5f8c621da6fdccfd7b68df41/IN-VITRO-BIOLOGICAL-STUDY-OF-SEVEN-NEPALESE-MEDICINAL-PLANTS-AND-ISOLATION-OF-CHEMICAL-CONSTITUENTS-FROM-CISSAMPELOS-PAREIRA.pdf. Acesso em 14 de setembro de 2022.

SHRESTHA, L; GUPTA, S.P. ***PHYTOCHEMICAL ANALYSIS AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF CISSAMPELOS PAREIRA LIN. RHIZOME EXTRACT AGAINST SOME BACTERIAL STRAIN.*** *Department of Pharmaceutical Sciences, Crimson College of Technology (Affiliated to Pokhara University), Butwal-13, Devinagar, Rupandehi, Nepal.* 2019. vol.8, Issue 4, 1330-1342. ISSN 2278-4357. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Surendra-Gupta-3/publication/332222665_PHYTOCHEMICAL_ANALYSIS_AND_ANTIBACTERIAL_ACTIVITY_OF_CISSAMPELOS_PAREIRA_LIN_RHIZOME_EXTRACT_AGAINST_SOME_BACTERIAL_STRAIN/links/5ca70a1f92851c64bd50c816/PHYTOCHEMICAL-ANALYSIS-AND-ANTIBACTERIAL-ACTIVITY-OF-CISSAMPELOS-PAREIRA-LIN-RHIZOME-EXTRACT-AGAINST-SOME-BACTERIAL-STRAIN.pdf. Acesso em 14 de setembro de 2022.

SOOD, R et al. ***Cissampelos pareira Linn: Natural Source of Potent Antiviral Activity against All Four Dengue Virus Serotypes.*** *PLoS Negl Trop Dis.* 2015 Dec 28;9(12):e0004255. doi: 10.1371/journal.pntd.0004255. PMID: 26709822; PMCID: PMC4692392. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26709822/>. Acesso em: 05 fev. 2021.

THAVAMANI, BS; MATHEW, M; DHANABAL, S. P. ***Atividade anticâncer de Cissampelos pareira contra camundongos portadores de ascite de linfoma de Dalton.*** *Phcog Mag [serial online]* 2014 [citado em 5 de fevereiro de 2021]; 10: 200-6. Disponível em: <http://www.phcog.com/text.asp?2014/10/39/200/137356>.

WAGNER. H.; BLADT, S; *Plant drug analysis – a thin layer chromatography atlas.* 2.ed. Berlin: Springer, 1996. 384 p.

ANEXOS

Figura 1 – Partes aéreas de *Cissampelos pareira*



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 2 - Trituração



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 3 - Peneira granulométrica com abertura de 300 μ m



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 4 – Pesagem da planta após trituração



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 5 – Solventes utilizados para maceração



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 6 - Maceração



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 7 - Percolação



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 8 – Resultado do processo de percolação



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 9 – Filtração



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 10 – Pesagem placas de Álcool 70%



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 11 - Pesagem placas de Álcool Absoluto



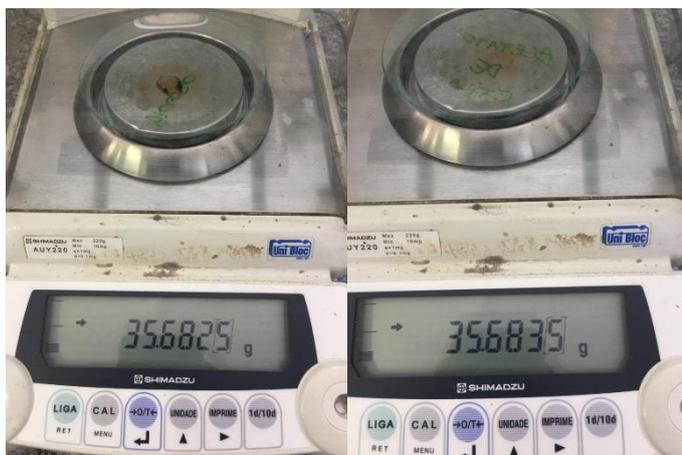
Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 12 - Pesagem placas de Metanol



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 13 - Pesagem placas de Acetato de Etila



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 14 – Identificação das placas de antibiograma e plastificação



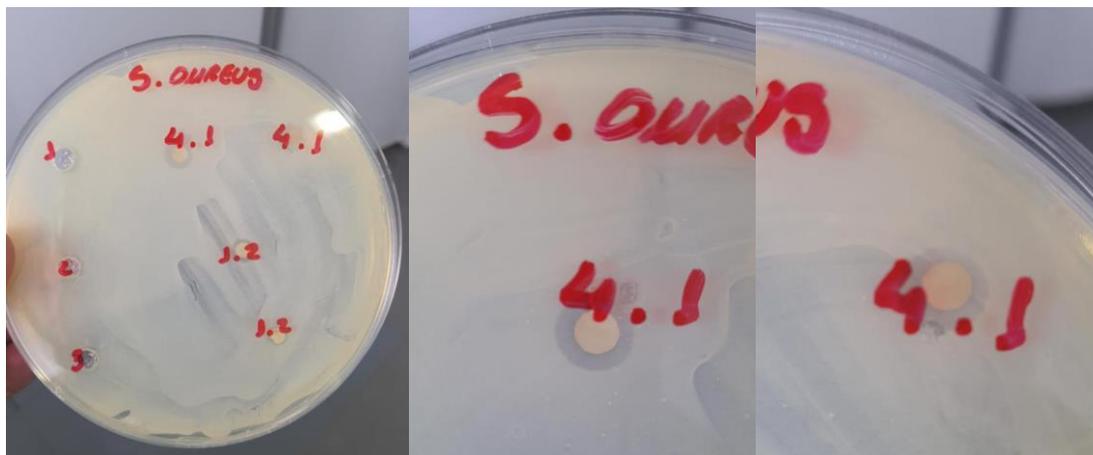
Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 15 – Tubos Eppendorf para evaporação dos solventes.



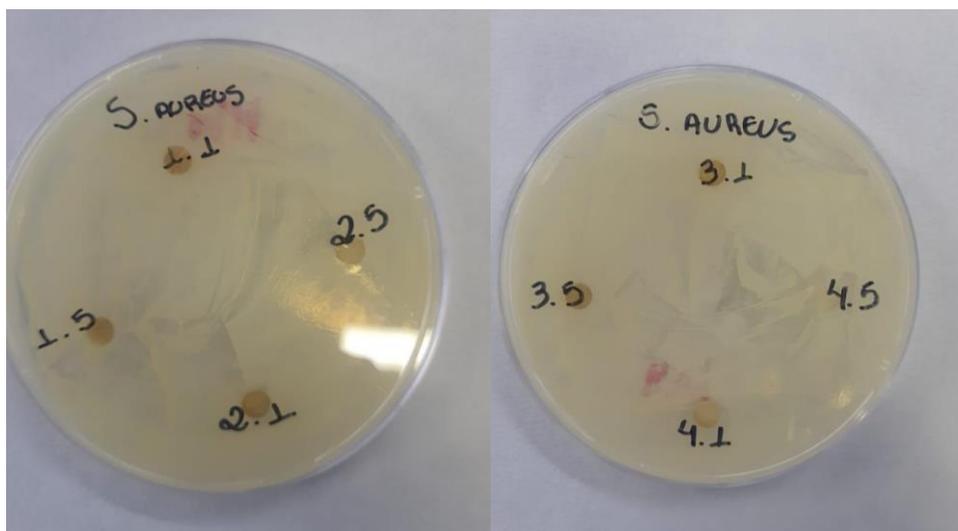
Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 16 – Formação de halo inibitório na placa referente ao *S. aureus*, ao redor do disco contendo o extrato com acetato de etila na concentração de 1.000µg.



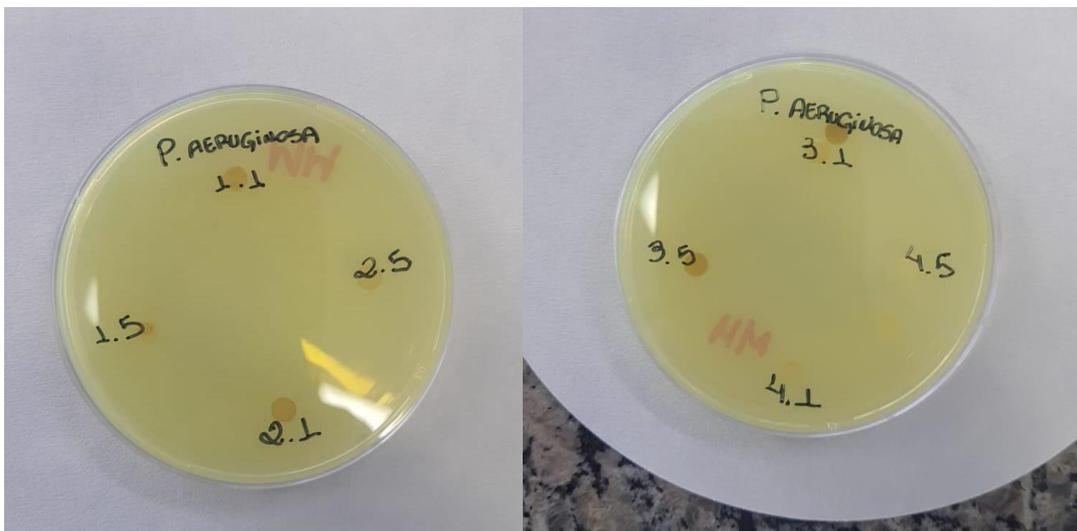
Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 17 – Não houve ação da bactéria *S. aureus* nos extratos contendo álcool 70%, álcool absoluto e metanol.



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 18 – Não houve ação da bactéria *P. aeruginosa* nos extratos contendo álcool 70%, álcool absoluto e metanol.



Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 19 – Não houve ação da bactéria *E. coli* nos extratos contendo álcool 70%, álcool absoluto e metanol.



Fonte: Elaborado pela autora.