ReGeo ISSN: 2177-3246

INTERAÇÃO ENTRE EXTRATOS ETANÓLICOS DE PLANTAS MEDICINAIS E AMPICILINA FRENTE A ACINETOBACTER BAUMANNII MULTIRRESISTENTE: CARACTERIZAÇÃO DO PERFIL FITOQUÍMICO DOS EXTRATOS

INTERACTION BETWEEN ETHANOLIC EXTRACTS OF MEDICINAL PLANTS AND AMPICILLIN AGAINST MULTIDRUG-RESISTANT ACINETOBACTER BAUMANNII: CHARACTERIZATION OF THE PHYTOCHEMICAL PROFILE OF THE EXTRACTS

INTERACCIÓN ENTRE EXTRACTOS ETANÓLICOS DE PLANTAS MEDICINALES Y AMPICILINA FRENTE A ACINETOBACTER BAUMANNII MULTIRRESISTENTE: CARACTERIZACIÓN DEL PERFIL FITOQUÍMICO DE LOS EXTRACTOS

https://doi.org/10.56238/revgeov17n8-195

Data de submissão: 21/07/2026 **Data de publicação:** 21/08/2026

José Matos Cruz
Doutorado em Saúde Humana e Animal
Instituição: Universidade Estadual do Ceará (UECE)
E-mail: zematosvet@gmail.com
Orcid: https://orcid.org/0000-0002-7486-6558
Lattes: http://lattes.cnpq.br/7205044490340408

Ray Silva de Almeida
Professor Doutor
Instituição: Centro Universitário Doutor Leão Sampaio (UNILEÃO)
E-mail: ray.almeida@urca.br
Orcid: https://orcid.org/0000-0001-7463-5648
Lattes: http://lattes.cnpq.br/1411453859111059

Débora Odília Duarte Leite
Pós-doutoranda
Instituição: Universidade Regional do Cariri (URCA)
E-mail: biodeboraleite@yahoo.com.br
Orcid: https://orcid.org/0000-0003-3557-8366
Lattes: http://lattes.cnpq.br/3616862329059918

José Galberto Martins da Costa
Doutor em Bioquímica Toxicológica
Instituição: Universidade Regional do Cariri (URCA)
E-mail: galberto.martins@gmail.com
Orcid: https://orcid.org/0000-0003-4268-663X
Lattes: http://lattes.cnpq.br/2559117122403017

Mariana Pereira da Silva
Graduada em Biologia
Instituição: Universidade Regional do Cariri (URCA)
E-mail: mariana.pereira@urca.br

José Jonas Ferreira Viturino
Mestrando em Diversidade Biológica e Recursos Naturais
Instituição: Universidade Regional do Cariri (URCA)
E-mail: jonas.ferreira@urca.br
Orcid: https://orcid.org/0009-0006-9977-9385
Lattes: http://lattes.cnpq.br/8889956331378279

Daniel Sampaio Alves
Graduado em Biologia
Instituição: Universidade Regional do Cariri (URCA)
E-mail: daniel.sampaio10@urca.br
Orcid: https://orcid.org/0009-0003-5307-5049
Lattes: http://lattes.cnpq.br/5327965333682707

Simone Galdino de Sousa
Mestranda em Diversidade Biológica e Recursos Naturais
Instituição: Universidade Regional do Cariri (URCA)
E-mail: simone.galdino@urca.br
Orcid: https://orcid.org/0009-0002-3387-3513
Lattes: http://lattes.cnpq.br/9438805215850028

Luã Saraiva Petrole
Médico graduado
Instituição: Instituto de Educação Médica (IDOMED)
E-mail: luaspetrole@gmail.com
Orcid: https://orcid.org/0009-0003-1345-3447
Lattes: http://lattes.cnpq.br/7385287929622743

Laysa Mirely Paulino
Médica graduada
Instituição: Instituto de Educação Médica (IDOMED)
E-mail: laysa.ef.asces@gmail.com
Lattes: http://lattes.cnpq.br/8029724315952960

Henrique Douglas Melo Coutinho
Doutor em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos - Área de Concentração em Farmacologia
Instituição: Universidade Regional do Cariri (URCA)
E-mail: hdmcoutinho@gmail.com
Orcid: https://orcid.org/0000-0002-6634-4207
Lattes: http://lattes.cnpq.br/3199766197573928

Janaina de Fátima Saraiva Cardoso
Doutora
Instituição: Universidade Federal do Piauí (UFPI)
E-mail: janainadefatima@ufpi.edu.br
Orcid: https://orcid.org/0000-0002-4484-4403
Lattes: http://lattes.cnpq.br/8058580165551218

RESUMO
A resistência antimicrobiana de *Acinetobacter baumannii* representa um dos principais desafios da saúde pública mundial, em razão da crescente limitação das opções terapêuticas disponíveis para o tratamento das infecções causadas por esse patógeno. Nesse contexto, produtos naturais têm sido investigados como fontes de compostos bioativos capazes de atuar isoladamente ou em associação com antibióticos convencionais. O presente estudo teve como objetivo avaliar a interação entre extratos etanólicos de *Dysphania ambrosioides*, *Secondatia floribunda*, *Cynophalla flexuosa* e *Myracrodruon urundeuva* e a ampicilina frente a cepas multirresistentes de *A. baumannii*, bem como caracterizar o perfil fitoquímico desses extratos por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector de arranjo de diodos (HPLC-DAD). Os extratos foram obtidos por maceração em etanol, e os ensaios microbiológicos foram realizados pelo método de microdiluição em caldo utilizando nove cepas clínicas multirresistentes. Todos os extratos apresentaram concentração inibitória mínima (CIM) ≥ 1024 µg/mL, indicando ausência de atividade antibacteriana direta. Da mesma forma, a associação entre os extratos e a ampicilina não promoveu redução significativa da CIM do antibiótico. A análise fitoquímica revelou a presença de diferentes compostos fenólicos e flavonoides, com destaque para naringina, rutina e catequina, evidenciando a diversidade química das espécies investigadas. Os resultados demonstram que, nas condições experimentais empregadas, os extratos não potencializaram a atividade da ampicilina frente às cepas avaliadas, mas ampliam o conhecimento acerca do perfil fitoquímico dessas espécies e fornecem subsídios para futuras investigações voltadas à identificação de metabólitos bioativos e ao desenvolvimento de novas estratégias para o enfrentamento da resistência antimicrobiana.

Palavras-chave: *Acinetobacter baumannii*. Resistência Antimicrobiana. Extratos Etanólicos. Ampicilina. Perfil Fitoquímico.

ABSTRACT
Antimicrobial resistance in *Acinetobacter baumannii* has become one of the major challenges to global public health due to the progressive reduction in effective therapeutic options for treating infections caused by this pathogen. In this context, medicinal plants have been investigated as promising sources of bioactive compounds capable of enhancing antimicrobial therapies and contributing to the discovery of new therapeutic strategies. This study aimed to evaluate the interaction between ethanolic extracts of *Dysphania ambrosioides*, *Secondatia floribunda*, *Cynophalla flexuosa*, and *Myracrodruon urundeuva* and ampicillin against multidrug-resistant *A. baumannii* strains, as well as to characterize the phytochemical profile of these extracts using high-performance liquid chromatography coupled with a diode array detector (HPLC-DAD). The extracts were obtained by ethanol maceration, and antimicrobial assays were performed using the broth microdilution method against nine multidrug-resistant clinical isolates. All extracts exhibited a minimum inhibitory concentration (MIC) ≥ 1024 µg/mL, indicating the absence of direct antibacterial activity. Likewise, the combination of the extracts with ampicillin did not significantly reduce the MIC of the antibiotic. Phytochemical analysis revealed the presence of several phenolic compounds and flavonoids, particularly naringin, rutin, and catechin, highlighting the chemical diversity of the investigated species. These findings demonstrate that, under the experimental conditions employed, the extracts did not potentiate the activity of ampicillin against the evaluated strains. Nevertheless, the study contributes to the characterization of the phytochemical profile of the investigated species and provides valuable information for future studies aimed at identifying bioactive metabolites and supporting the development of new strategies to combat antimicrobial resistance.

Keywords: *Acinetobacter baumannii*. Antimicrobial Resistance. Ethanolic Extracts. Ampicillin. Phytochemical Profile.

RESUMEN
La resistencia antimicrobiana de *Acinetobacter baumannii* representa uno de los principales desafíos de la salud pública mundial, debido a la creciente limitación de las opciones terapéuticas disponibles para el tratamiento de las infecciones causadas por este patógeno. En este contexto, los productos naturales han sido investigados como fuentes de compuestos bioactivos capaces de actuar aisladamente o en asociación con antibióticos convencionales. El presente estudio tuvo como objetivo evaluar la interacción entre extractos etanólicos de *Dysphania ambrosioides*, *Secondatia floribunda*, *Cynophalla flexuosa* y *Myracrodruon urundeuva* y la ampicilina frente a cepas multirresistentes de *A. baumannii*, así como caracterizar el perfil fitoquímico de estos extractos por cromatografía líquida de alta eficiencia acoplada a detector de arreglo de diodos (HPLC-DAD). Los extractos fueron obtenidos por maceración en etanol, y los ensayos microbiológicos fueron realizados por el método de microdilución en caldo utilizando nueve cepas clínicas multirresistentes. Todos los extractos presentaron concentración inhibitoria mínima (CIM) ≥ 1024 µg/mL, indicando ausencia de actividad antibacteriana directa. De la misma forma, la asociación entre los extractos y la ampicilina no promovió reducción significativa de la CIM del antibiótico. El análisis fitoquímico reveló la presencia de diferentes compuestos fenólicos y flavonoides, con destaque para naringina, rutina y catequina, evidenciando la diversidad química de las especies investigadas. Los resultados demuestran que, en las condiciones experimentales empleadas, los extractos no potenciaron la actividad de la ampicilina frente a las cepas evaluadas, pero amplían el conocimiento acerca del perfil fitoquímico de estas especies y proporcionan subsidios para futuras investigaciones dirigidas a la identificación de metabolitos bioactivos y al desarrollo de nuevas estrategias para el enfrentamiento de la resistencia antimicrobiana.

Palabras clave: *Acinetobacter baumannii*. Resistencia Antimicrobiana. Extractos Etanólicos. Ampicilina. Perfil Fitoquímico.

1 INTRODUÇÃO

A expansão da resistência aos antimicrobianos tem comprometido progressivamente a efetividade da antibioticoterapia, configurando-se como uma das principais ameaças à saúde pública mundial em razão de seu impacto sobre os desfechos clínicos e os custos da assistência à saúde (WHO, 2025). Entre os patógenos de maior relevância clínica destaca-se Acinetobacter baumannii, um bacilo Gram-negativo oportunista frequentemente associado às infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) (Peleg; Seifert; Paterson, 2008). A notável capacidade dessa espécie de adquirir e expressar múltiplos mecanismos de resistência limita significativamente as opções terapêuticas disponíveis, reforçando a necessidade de estratégias que ampliem a eficácia dos tratamentos antimicrobianos convencionais (Peleg; Seifert; Paterson, 2008; Davies; Davies, 2010).

Nesse contexto, a investigação de produtos naturais tem despertado crescente interesse científico como estratégia complementar para o enfrentamento da resistência antimicrobiana (Newman; Cragg, 2020). Espécies vegetais constituem uma importante fonte de metabólitos secundários bioativos, como flavonoides, compostos fenólicos, alcaloides e terpenoides, aos quais são atribuídas diversas propriedades biológicas, incluindo atividade antimicrobiana e potencial de atuação sobre diferentes alvos celulares bacterianos (Wink, 2015). Estudos recentes também têm demonstrado que flavonoides apresentam atividade frente a Acinetobacter baumannii (Gohari; Khoei; Sarveahrabi, 2023), reforçando o interesse em avaliar sua interação com antimicrobianos convencionais (Wink, 2015).

Entre as espécies vegetais selecionadas para o presente estudo destacam-se Dysphania ambrosioides, Secondatia floribunda, Cynophalla flexuosa e Myracrodruon urundeuva, utilizadas na medicina tradicional e investigadas quanto às suas propriedades farmacológicas (Sá *et al*., 2016; Ribeiro, 2018; Salazar *et al*., 2022; Paulino *et al*., 2020). A escolha dessas espécies fundamentou-se no conjunto de evidências disponíveis na literatura acerca de seu potencial biológico e de seu emprego na medicina tradicional.

Nesse contexto, a interação entre metabólitos vegetais e antimicrobianos tem sido investigada como uma abordagem complementar para o enfrentamento da resistência bacteriana. Diferentes compostos naturais podem modificar a suscetibilidade bacteriana por mecanismos como alterações na permeabilidade da membrana celular, inibição de bombas de efluxo e interferência na formação de biofilmes (Wink, 2015; Cushnie; Lamb, 2011). Entretanto, a ocorrência dessa interação depende da composição química dos extratos, do mecanismo de ação do antimicrobiano e dos mecanismos de resistência do microrganismo, de modo que nem todas as associações resultam em aumento da atividade antimicrobiana (Tegos *et al*., 2002; Coutinho *et al*., 2008).

Com base nas evidências apresentadas, considerando o potencial dos metabólitos vegetais em influenciar a resposta bacteriana aos antimicrobianos e a necessidade de ampliar o conhecimento sobre interações entre produtos naturais e antibióticos frente à resistência bacteriana, o presente estudo teve como objetivo avaliar a interação entre extratos etanólicos de Dysphania ambrosioides, Secondatia floribunda, Cynophalla flexuosa e Myracrodruon urundeuva em associação com a ampicilina frente a cepas multirresistentes de Acinetobacter baumannii, investigando a influência desses extratos sobre a atividade desse antibiótico, bem como caracterizar o perfil fitoquímico dos extratos por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector de arranjo de diodos (HPLC-DAD).

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO

Os experimentos apresentados neste estudo integram uma investigação mais ampla acerca do potencial modulador de extratos etanólicos de plantas medicinais em associação com antibióticos frente a cepas multirresistentes de Acinetobacter baumannii. Neste manuscrito, entretanto, optou-se por apresentar exclusivamente os resultados referentes à interação entre os extratos e a ampicilina, devido ao interesse em analisar de forma individual o comportamento dessa associação.

2.2 MATERIAL VEGETAL

As espécies vegetais utilizadas neste estudo foram Dysphania ambrosioides (L.) Mosyakin & Clemants (folhas), Secondatia floribunda A. DC. (folhas), Cynophalla flexuosa (L.) J. Presl (folhas e vagens) e Myracrodruon urundeuva Allemão (casca do caule). O material botânico foi coletado em diferentes municípios do estado do Ceará, Brasil, durante o ano de 2022, em períodos compatíveis com a disponibilidade de cada espécie. A identificação taxonômica foi realizada por especialista, e exsicatas representativas foram confeccionadas e depositadas no Herbário Caririense Dárdano de Andrade-Lima (HCDAL), da Universidade Regional do Cariri (URCA), onde permanecem registradas para fins de documentação científica e consulta.

2.3 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS ETANÓLICOS

Os extratos etanólicos foram obtidos por maceração, utilizando etanol como solvente extrator, conforme metodologia descrita por Simões *et al*. (2017). Inicialmente, o material vegetal foi previamente seco, triturado e submetido ao processo de extração em etanol, à temperatura ambiente, durante período adequado para a difusão dos compostos bioativos. Após a maceração, as soluções extrativas foram filtradas e concentradas sob pressão reduzida em evaporador rotativo acoplado a

banho aquecido, com temperatura controlada entre 40 e 48 °C, visando à remoção do solvente (Matos, 1997). Em seguida, os extratos concentrados foram submetidos à secagem complementar em banho-maria (≈ 40 °C), para eliminação de resíduos remanescentes do solvente. Após a obtenção dos extratos etanólicos brutos secos, estes foram acondicionados em frascos esterilizados, devidamente identificados e mantidos ao abrigo da luz e da umidade até sua utilização nos ensaios microbiológicos.

2.4 CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA (HPLC-DAD)

A caracterização fitoquímica dos extratos etanólicos foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector de arranjo de diodos (HPLC-DAD), com o objetivo de identificar e quantificar os principais compostos fenólicos e flavonoides presentes nas espécies vegetais investigadas (Ribani *et al*., 2004). As análises cromatográficas foram realizadas em sistema Agilent Technologies 1260 Infinity equipado com detector DAD e coluna de fase reversa C18 (250 × 4,6 mm; 5 µm), empregando eluição em gradiente constituída por água acidificada e solventes orgânicos apropriados, sob vazão de 0,5 mL min^{-1}, durante corrida cromatográfica de 55 minutos.

A caracterização fitoquímica dos extratos etanólicos foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector de arranjo de diodos (HPLC-DAD), com o objetivo de identificar e quantificar os principais compostos fenólicos e flavonoides presentes nas espécies vegetais investigadas (Ribani *et al*., 2004; Caldas *et al*., 2011). As análises cromatográficas foram realizadas em sistema Agilent Technologies 1260 Infinity equipado com detector DAD e coluna de fase reversa C18 (250 × 4,6 mm; 5 µm), empregando eluição em gradiente constituída por água acidificada e solventes orgânicos apropriados, sob vazão de 0,5 mL min^{-1}, durante corrida cromatográfica de 55 minutos.

Os compostos fenólicos e flavonoides foram identificados por comparação dos tempos de retenção e dos espectros de absorção na região do ultravioleta-visível (190–400 nm) com padrões analíticos de referência (Skoog; Holler; Crouch, 2009). A quantificação foi realizada pelo método do padrão externo, utilizando curvas analíticas construídas em triplicata, sendo os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) determinados conforme as recomendações de Ribani *et al*. (2004).

2.5 CEPAS BACTERIANAS E PREPARO DO INÓCULO

Foram utilizadas nove cepas clínicas multirresistentes de Acinetobacter baumannii (199, 280, 285, 288, 301, 307, 309, 314 e 324), pertencentes à bacterioteca do Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular (LMBM) da Universidade Regional do Cariri (URCA). Previamente identificadas, as cepas foram mantidas sob condições adequadas de armazenamento e reativadas em caldo Brain

Heart Infusion (BHI), sendo incubadas a 37 °C por 24 horas antes da realização dos ensaios microbiológicos.

Após o período de incubação, o inóculo bacteriano foi padronizado em solução salina estéril (0,9% NaCl), ajustando-se a turbidez ao padrão 0,5 da escala de McFarland, correspondente a aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC/mL. A padronização foi realizada imediatamente antes dos ensaios experimentais, visando garantir a uniformidade da concentração bacteriana e a reprodutibilidade dos testes microbiológicos (CLSI, 2023).

2.6 AVALIAÇÃO DA INTERAÇÃO DOS EXTRATOS COM A AMPICILINA

A influência dos extratos etanólicos sobre a atividade da ampicilina foi avaliada pelo método de microdiluição em caldo, utilizando placas estéreis de 96 poços. Os ensaios foram realizados empregando concentrações subinibitórias dos extratos vegetais (CIM/8), associadas a diluições seriadas da ampicilina, permitindo avaliar a interação entre os extratos e o antibiótico frente às cepas de Acinetobacter baumannii, conforme adaptação da metodologia descrita por Coutinho *et al*. (2008).

Após a adição do inóculo bacteriano padronizado, as placas foram incubadas a 37 °C por 24 horas, conforme as recomendações do CLSI (2023). Em seguida, foi adicionada solução de resazurina (0,01%) como indicador de viabilidade celular, sendo a atividade da ampicilina avaliada por meio da determinação da concentração inibitória mínima (CIM), mediante comparação dos valores obtidos na presença e na ausência dos extratos vegetais. Todos os ensaios foram realizados em triplicata para assegurar a reprodutibilidade dos resultados, conforme adaptação da metodologia descrita por Coutinho *et al*. (2008).

2.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os experimentos foram realizados em triplicata, e os resultados foram expressos como média ± erro padrão da média (EPM). As análises estatísticas foram realizadas por meio da análise de variância de uma via (one-way ANOVA), seguida do teste de comparações múltiplas de Bonferroni, utilizando o software GraphPad Prism, versão 7.0 (GraphPad Software, San Diego, CA, EUA). Diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando $p < 0,05$.

Para padronizar a identificação dos extratos etanólicos empregados nos ensaios microbiológicos e fitoquímicos, adotou-se a nomenclatura P1 a P5, conforme apresentado no Quadro 1. As siglas correspondem às diferentes espécies vegetais e às respectivas partes utilizadas na obtenção dos extratos.

Quadro 1. Identificação dos extratos etanólicos utilizados nos experimentos

Sigla	Extrato etanólico
P1	Vagens de *Cynophalla flexuosa* (L.) J. Presl (feijão-bravo)
P2	Folhas de *Cynophalla flexuosa* (L.) J. Presl (feijão-bravo)
P3	Folhas de *Secondatia floribunda* A.DC. (cipó-de-rama/catuaba-de-rama)
P4	Folhas de *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants (mastruz)
P5	Casca de *Myracrodruon urundeuva* Allemão (aroeira)

Fonte: Elaborado pelos autores

4 RESULTADOS

4.1 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DOS EXTRATOS ETANÓLICOS

A atividade antibacteriana dos extratos etanólicos foi avaliada por meio da determinação da concentração inibitória mínima (CIM) frente às nove cepas clínicas multirresistentes de Acinetobacter baumannii. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Concentração inibitória mínima (CIM) dos extratos etanólicos e da ampicilina frente às cepas clínicas multirresistentes de Acinetobacter baumannii.

	CIM (µg/mL)					
Cepas bacterianas	**P1**	**P2**	**P3**	**P4**	**P5**	**Ampicilina**
A. baumannii 199	≥1024 µg/mL	≥1024 µg/mL	≥1024 µg/mL	≥1024 µg/mL	≥1024 µg/mL	≥1024 µg/mL
A. baumannii 280	≥1024 µg/mL	≥1024 µg/mL	≥1024 µg/mL	≥1024 µg/mL	≥1024 µg/mL	≥1024 µg/mL
A. baumannii 285	≥1024 µg/mL	≥1024 µg/mL	≥1024 µg/mL	≥1024 µg/mL	≥1024 µg/mL	≥1024 µg/mL
A. baumannii 288	≥1024 µg/mL	≥1024 µg/mL	≥1024 µg/mL	≥1024 µg/mL	≥1024 µg/mL	≥1024 µg/mL
A. baumannii 301	≥1024 µg/mL	≥1024 µg/mL	≥1024 µg/mL	≥1024 µg/mL	≥1024 µg/mL	≥1024 µg/mL
A. baumannii 307	≥1024 µg/mL	≥1024 µg/mL	≥1024 µg/mL	≥1024 µg/mL	≥1024 µg/mL	≥1024 µg/mL
A. baumannii 309	≥1024 µg/mL	≥1024 µg/mL	≥1024 µg/mL	≥1024 µg/mL	≥1024 µg/mL	≥1024 µg/mL
A. baumannii 314	≥1024 µg/mL	≥1024 µg/mL	≥1024 µg/mL	≥1024 µg/mL	≥1024 µg/mL	≥1024 µg/mL
A. baumannii 324	≥1024 µg/mL	≥1024 µg/mL	≥1024 µg/mL	≥1024 µg/mL	≥1024 µg/mL	≥1024 µg/mL

Fonte: Elaborada pelos autores

Todos os extratos etanólicos avaliados (P1, P2, P3, P4 e P5) apresentaram concentração inibitória mínima (CIM) igual ou superior a 1024 µg/mL frente às nove cepas clínicas de A. baumannii. Da mesma forma, a ampicilina apresentou CIM ≥ 1024 µg/mL para todas as cepas avaliadas, indicando ausência de atividade antibacteriana nas condições experimentais empregadas.

4.2 AVALIAÇÃO DA INTERAÇÃO ENTRE OS EXTRATOS ETANÓLICOS E A AMPICILINA

A interação entre os extratos etanólicos e a ampicilina foi avaliada utilizando concentrações subinibitórias dos extratos (CIM/8), comparando-se os valores da concentração inibitória mínima (CIM) do antibiótico na ausência e na presença dos extratos vegetais.

A associação da ampicilina com os extratos etanólicos P1, P2, P3, P4 e P5 não promoveu redução consistente da concentração inibitória mínima (CIM) do antibiótico frente às nove cepas clínicas multirresistentes de Acinetobacter baumannii quando comparada à ampicilina utilizada isoladamente. Os resultados foram expressos como média de três experimentos independentes (n = 3) ± erro-padrão da média (EPM), não sendo observadas diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos (Two-way ANOVA; $p > 0,05$).

4.3 CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA DOS EXTRATOS ETANÓLICOS POR HPLC-DAD

A caracterização fitoquímica dos extratos etanólicos foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector de arranjo de diodos (HPLC-DAD), permitindo a identificação e a quantificação dos principais compostos fenólicos e flavonoides presentes nas espécies vegetais investigadas.

Foram detectados diferentes compostos fenólicos e flavonoides nos extratos etanólicos analisados, com variações qualitativas e quantitativas entre as espécies vegetais. Entre os metabólitos identificados destacaram-se catequina, rutina, naringina, fisetina, morina, apigenina, diosmetina, ácido cinâmico, ácido p-cumárico e 7-hidroxiflavona, evidenciando a diversidade do perfil fitoquímico dos extratos.

A caracterização fitoquímica dos extratos etanólicos foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector de arranjo de diodos (HPLC-DAD), permitindo a identificação e a quantificação dos principais compostos fenólicos e flavonoides presentes nas espécies vegetais investigadas. Os resultados qualitativos e quantitativos obtidos para todas as espécies encontram-se apresentados na Tabela 2.

Tabela 2

Espécie	Composto	mg/g	%
D. ambrosioides	**Naringina**	**34,1211 ± 0,0169**	**3,4121**
	Ácido cinâmico	0,0682 ± 0,0012	0,0068
S. floribunda	**Rutina**	**18,6800 ± 0,6851**	**1,8680**
	Catequina	6,8243 ± 0,1543	0,6824
	7-Hidroxiflavona	0,7973 ± 0,5129	0,0797
	Apigenina	0,1678 ± 0,0039	0,0168

Espécie	Composto	mg/g	%
	Fisetina	0,1395 ± 0,0015	0,0139
	Ácido cinâmico	0,0655 ± 0,0066	0,0065
C. flexuosa (vagens)	**Rutina**	**1,9906 ± 0,0126**	**0,1991**
	Naringina	1,8953 ± 0,0444	0,1895
	Morina	0,1873 ± 0,0000	0,0187
	Ácido cinâmico	0,0631 ± 0,0001	0,0063
C. flexuosa (folhas)	**Rutina**	**9,0314 ± 0,3757**	**0,9031**
	Catequina	5,9698 ± 0,5157	0,5970
	Ácido *p*-cumárico	0,2000 ± 0,0218	0,0200
	Diosmetina	0,0716 ± 0,0050	0,0072
	Ácido cinâmico	0,0654 ± 0,0099	0,0065
M. urundeuva	**Naringina**	**13,5842 ± 0,6745**	**1,3584**
	Catequina	8,4653 ± 0,1944	0,8465
	7-Hidroxiflavona	0,5462 ± 0,0094	0,0546
	Morina	0,2977 ± 0,0022	0,0298
	Fisetina	0,1552 ± 0,0123	0,0155

Fonte: Elaborada pelos autores

A análise por HPLC-DAD revelou diferenças qualitativas e quantitativas entre os extratos etanólicos das espécies avaliadas. A naringina foi o composto de maior concentração em Dysphania ambrosioides e Myracrodruon urundeuva, enquanto a rutina apresentou as maiores concentrações em Secondatia floribunda e nos extratos de folhas e vagens de Cynophalla flexuosa. Neste último extrato, entretanto, a concentração de naringina foi bastante próxima à de rutina. Outros metabólitos, como catequina, ácido p-cumárico, morina, fisetina, apigenina, diosmetina, ácido cinâmico e 7-hidroxiflavona, também foram detectados, evidenciando a diversidade do perfil fitoquímico das espécies investigadas.

5 DISCUSSÃO

A ausência de interação entre os extratos etanólicos e a ampicilina observada neste estudo indica que, nas condições experimentais empregadas, a associação entre essas substâncias não promoveu redução da concentração inibitória mínima do antibiótico frente às cepas multirresistentes de Acinetobacter baumannii. Para interpretar esse comportamento, é importante considerar que os extratos também não apresentaram atividade antibacteriana direta (CIM ≥ 1024 µg/mL), evidenciando que seus metabólitos, quando avaliados isoladamente, não exerceram efeito inibitório sobre o crescimento bacteriano. Dessa forma, a ausência de efeito na associação não pode ser atribuída à atividade antimicrobiana intrínseca dos extratos, mas deve ser analisada à luz da interação entre seus constituintes químicos, o mecanismo de ação da ampicilina e os mecanismos de resistência

apresentados por A. baumannii (Peleg; Seifert; Paterson, 2008; Durante-Mangoni; Zarrilli, 2011; Lee *et al*., 2017).

Os achados deste estudo são compatíveis com o conhecimento atual sobre a atividade biológica de extratos vegetais e os mecanismos de resistência apresentados por Acinetobacter baumannii. Harvey, Edrada-Ebel e Quinn (2015) destacam que os extratos vegetais constituem misturas complexas de compostos bioativos, cuja composição influencia diretamente sua atividade biológica. De forma complementar, Wink (2015) ressalta que esses metabólitos podem atuar sobre múltiplos alvos celulares. Entretanto, a elevada resistência intrínseca de Acinetobacter baumannii, associada à produção de β-lactamases, à redução da permeabilidade da membrana externa, às bombas de efluxo e às alterações em proteínas ligadoras de penicilina, dificulta a ação de diversos agentes antimicrobianos e pode limitar também a atividade de compostos bioativos de origem natural (Antunes; Visca; Towner, 2014; Durante-Mangoni; Zarrilli, 2011; Lee *et al*., 2017). Em conjunto, esses fatores ajudam a explicar os elevados valores de concentração inibitória mínima observados neste estudo e reforçam que a ausência de atividade direta dos extratos constitui um aspecto importante para a interpretação dos ensaios de associação com a ampicilina.

Embora os extratos avaliados não tenham apresentado atividade antibacteriana direta nas condições deste estudo, esse resultado não exclui o potencial biológico das espécies investigadas. Harvey, Edrada-Ebel e Quinn (2015) destacam que a atividade farmacológica de extratos vegetais depende da composição química e da diversidade de seus metabólitos secundários, enquanto Wink (2015) ressalta que esses compostos podem atuar por diferentes mecanismos e sobre múltiplos alvos celulares. Assim, a ausência de atividade antibacteriana direta observada neste estudo não invalida o potencial farmacológico previamente descrito para essas espécies, uma vez que a atividade biológica desses extratos pode variar conforme as condições experimentais empregadas e o microrganismo avaliado (Atanasov *et al*., 2015

A caracterização fitoquímica por HPLC-DAD revelou a presença de compostos fenólicos e flavonoides nos extratos analisados, destacando-se catequina e naringina entre os metabólitos identificados. Esses compostos são amplamente reconhecidos por apresentarem propriedades biológicas, incluindo atividade antimicrobiana, cuja intensidade pode variar em função de suas características estruturais e de seus mecanismos de ação (Cushnie; Lamb, 2005; Cushnie; Lamb, 2011; Xie *et al*., 2015). Entretanto, a simples detecção desses metabólitos não garante atividade antibacteriana expressiva, uma vez que a resposta biológica de extratos vegetais resulta da interação entre diversos constituintes e da complexidade inerente à sua composição, o que dificulta o

estabelecimento de relações diretas entre composição química e atividade biológica (Ríos; Recio, 2005; Wolfender *et al*., 2015).

Os resultados apresentados neste manuscrito integram uma investigação mais abrangente sobre a associação entre extratos etanólicos de plantas medicinais e antimicrobianos frente a Acinetobacter baumannii. Neste trabalho, optou-se por discutir especificamente os resultados obtidos com a ampicilina, privilegiando uma análise centrada na resposta dessa combinação, independentemente das demais avaliações realizadas no conjunto experimental.

O fato de a associação entre os extratos etanólicos e a ampicilina não ter resultado em potencialização da atividade antibacteriana frente às cepas multirresistentes de A. baumannii mostra-se compatível com a elevada complexidade dos mecanismos de resistência característicos dessa espécie bacteriana, os quais podem limitar a ocorrência de interações capazes de aumentar a eficácia de antibióticos β-lactâmicos, mesmo na presença de metabólitos vegetais bioativos (Antunes; Visca; Towner, 2014; Peleg; Seifert; Paterson, 2008).

Embora os resultados obtidos não tenham evidenciado atividade antibacteriana direta nem potencialização da atividade da ampicilina, esses achados não diminuem o potencial farmacológico das espécies investigadas. Harvey, Edrada-Ebel e Quinn (2015) destacam que a investigação de produtos naturais frequentemente envolve etapas posteriores de fracionamento, isolamento e caracterização dos compostos responsáveis pelas atividades biológicas observadas. Assim, os resultados obtidos nas condições experimentais deste estudo não excluem a possibilidade de que compostos isolados, frações enriquecidas ou novas combinações terapêuticas apresentem desempenho biológico superior ao observado para os extratos brutos, ampliando as perspectivas para futuras investigações.

Nesse contexto, investigações futuras envolvendo diferentes concentrações dos extratos, o fracionamento, o isolamento dos compostos bioativos e a avaliação de associações com diferentes classes de antimicrobianos tornam-se necessárias. Além disso, Newman e Cragg (2020) ressaltam que os produtos naturais continuam entre as principais fontes para a descoberta e o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos. Dessa forma, essas abordagens poderão esclarecer quais metabólitos estão associados às atividades biológicas previamente descritas para essas espécies e contribuir para o aproveitamento racional desse potencial na prospecção de novos agentes antimicrobianos.

Em conjunto, os resultados deste estudo demonstram que os extratos etanólicos das espécies vegetais avaliadas não apresentaram atividade antibacteriana direta nem potencializaram a ação da ampicilina frente às cepas multirresistentes de Acinetobacter baumannii, nas condições experimentais empregadas. Entretanto, esses achados não descartam o potencial farmacológico dessas espécies.

Conforme destacado por Newman e Cragg (2020), os produtos naturais continuam representando uma importante fonte para a descoberta de novos agentes terapêuticos. Assim, os resultados obtidos neste estudo, associados ao perfil fitoquímico identificado, reforçam a necessidade de investigações adicionais envolvendo o isolamento de compostos bioativos, a avaliação de novas associações com antimicrobianos e o aprofundamento dos mecanismos de ação desses metabólitos.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos neste estudo demonstraram que os extratos etanólicos de Dysphania ambrosioides, Secondatia floribunda, Cynophalla flexuosa e Myracrodruon urundeuva não apresentaram atividade antibacteriana direta nem potencializaram a ação da ampicilina frente às cepas multirresistentes de Acinetobacter baumannii, nas condições experimentais empregadas. Esses achados indicam que, nas condições avaliadas, a associação entre os extratos vegetais e esse antibiótico não foi capaz de aumentar sua eficácia frente às cepas estudadas.

Entretanto, a caracterização fitoquímica confirmou a presença de metabólitos secundários de reconhecido potencial biológico, evidenciando que as espécies investigadas constituem fontes de compostos bioativos com potencial para futuras investigações farmacológicas. Dessa forma, estudos envolvendo o fracionamento dos extratos, o isolamento desses compostos, a avaliação de diferentes concentrações e a investigação de associações com diferentes classes de antimicrobianos poderão ampliar o conhecimento sobre o potencial farmacológico dessas espécies e contribuir para a prospecção de novos agentes terapêuticos.

Além disso, futuras investigações poderão contribuir para uma compreensão mais aprofundada dos mecanismos envolvidos na interação entre metabólitos vegetais e antimicrobianos, incluindo mecanismos relacionados aos sistemas de efluxo, à produção de β-lactamases, à permeabilidade da membrana externa e às proteínas ligadoras de penicilina (PBPs). A utilização de técnicas analíticas de maior sensibilidade, como a cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em tandem (LC-MS/MS), associada a abordagens metabolômicas, poderá ampliar a identificação dos compostos presentes nos extratos, proporcionando uma caracterização fitoquímica mais abrangente e contribuindo para a elucidação de seus mecanismos de ação.

REFERÊNCIAS

ANTUNES, L. C. S.; VISCA, P.; TOWNER, K. J. Acinetobacter baumannii: evolution of a global pathogen. *Pathogens and Disease*, v. 71, n. 3, p. 292–301, 2014. DOI: 10.1111/2049-632X.12125.

ATANASOV, A. G. et al. Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: a review. *Biotechnology Advances*, v. 33, n. 8, p. 1582–1614, 2015. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2015.08.001.

CALDAS, S. S.; GONÇALVES, F. F.; PRIMEL, E. G.; PRESTES, O. D.; MARTINS, M. L.; ZANELLA, R. Principais técnicas de preparo de amostra para a determinação de resíduos de agrotóxicos em água por cromatografia líquida com detecção por arranjo de diodos e por espectrometria de massas. *Química Nova*, São Paulo, v. 34, n. 9, p. 1604–1617, 2011.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. 33. ed. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2023. (CLSI Supplement M100).

COUTINHO, H. D. M.; COSTA, J. G. M.; LIMA, E. O.; FALCÃO-SILVA, V. S.; SIQUEIRA-JÚNIOR, J. P. Enhancement of the antibiotic activity against a multiresistant *Escherichia coli* by *Mentha arvensis* L. and chlorpromazine. *Chemotherapy*, Basel, v. 54, n. 4, p. 328–330, 2008. DOI: 10.1159/000151267.

CUSHNIE, T. P. T.; LAMB, A. J. Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, v. 26, n. 5, p. 343–356, 2005. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2005.09.002.

CUSHNIE, T. P. T.; LAMB, A. J. Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, Amsterdam, v. 38, n. 2, p. 99–107, 2011. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2011.02.014.

DAVIES, J.; DAVIES, D. Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, Washington, v. 74, n. 3, p. 417–433, 2010. DOI: 10.1128/MMBR.00016-10.

DURANTE-MANGONI, E.; ZARRILLI, R. Global spread of drug-resistant *Acinetobacter baumannii*: molecular epidemiology and management of antimicrobial resistance. *Future Microbiology*, v. 6, n. 4, p. 407–422, 2011. DOI: 10.2217/FMB.11.23.

GOHARI, M.; KHOEI, A.; SARVEAHRABI, M. Flavonoids against *Acinetobacter baumannii*: mechanisms of antibacterial activity and therapeutic potential. *Archives of Microbiology*, Berlin, v. 205, art. 270, 2023. DOI: 10.1007/s00203-023-03655-2.

HARVEY, A. L.; EDRADA-EBEL, R.; QUINN, R. J. The re-emergence of natural products for drug discovery in the genomics era. *Nature Reviews Drug Discovery*, v. 14, n. 2, p. 111–129, 2015. DOI: 10.1038/nrd4510.

LEE, C. R. *et al*. Biology of *Acinetobacter baumannii*: pathogenesis, antibiotic resistance mechanisms, and prospective treatment options. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, v. 7, art. 55, 2017. DOI: 10.3389/fcimb.2017.00055.

MATOS, F. J. A. *Introdução à fitoquímica experimental*. 2. ed. Fortaleza: Edições UFC, 1997.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs over nearly four decades from 01/1981 to 09/2019. *Journal of Natural Products*, Washington, v. 83, n. 3, p. 770–803, 2020. DOI: 10.1021/acs.jnatprod.9b01285.

PAULINO, M. L. V. B.; SILVA, A. P. C.; MARTINS, J. S.; SILVA, J. A.; SANTOS, A. F. Atividade anti-radicalar da espécie *Myracrodruon urundeuva* Allemão. *Revista Ambientale*, Arapiraca, v. 12, n. 3, p. 59–66, 2020.

PELEG, A. Y.; SEIFERT, H.; PATERSON, D. L. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. *Clinical Microbiology Reviews*, Washington, v. 21, n. 3, p. 538–582, 2008. DOI: 10.1128/CMR.00058-07.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. *Química Nova*, São Paulo, v. 27, n. 5, p. 771–780, 2004.

RIBEIRO, D. A. *Variabilidade da composição química e atividades biológicas de Secondatia floribunda* A. DC. em função da sazonalidade e em diferentes fases fenológicas. 2018. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2018.

RÍOS, J. L.; RECIO, M. C. Medicinal plants and antimicrobial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 100, n. 1–2, p. 80–84, 2005. DOI: 10.1016/j.jep.2005.04.025.

SÁ, R. D.; GALVÃO, M. A. M.; FERREIRA, M. R. A.; SOARES, L. A. L.; RANDAU, K. P. Anatomical and histochemical analysis of *Dysphania ambrosioides* supported by light and electron microscopy. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 26, n. 6, p. 533–543, 2016. DOI: 10.1016/j.bjp.2016.05.010.

SALAZAR, G. T.; SANTANA, J. O.; PEREIRA CARNEIRO, J. A.; OLIVEIRA, F. C.; COSTA, J. G. M.; PEREIRA, R. F.; SILVA, A. V.; VIEIRA, K. L.; SILVA, R. M. B.; BRITO, E. P.; COSTA, M. F. B. M.; BRITO, J. R.; MOISÉS, M. F. Antioxidant and antifungal activity of the *Cynophalla flexuosa* (L.) J. Presl (Capparaceae) against opportunistic fungal pathogens. *Future Pharmacology*, v. 2, p. 16–30, 2022.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. *Farmacognosia: do produto natural ao medicamento*. 7. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. *Princípios de análise instrumental*. 6. ed. Porto Alegre: Bookman, 2009.

TEGOS, G.; STERMITZ, F. R.; LOMOVSKAYA, O.; LEWIS, K. Multidrug pump inhibitors uncover remarkable activity of plant antimicrobials. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Washington, v. 46, n. 10, p. 3133–3141, 2002. DOI: 10.1128/AAC.46.10.3133-3141.2002.

WHO. *Global antimicrobial resistance and use surveillance system (GLASS): report 2025*. Geneva: World Health Organization, 2025.

WINK, M. Modes of action of herbal medicines and plant secondary metabolites. *Medicines*, Basel, v. 2, n. 3, p. 251–286, 2015. DOI: 10.3390/medicines2030251.

WOLFENDER, J.-L. et al. Current approaches and challenges for the metabolite profiling of complex natural extracts. *Journal of Chromatography A*, v. 1382, p. 136–164, 2015. DOI: 10.1016/j.chroma.2014.10.091.

XIE, Y.; YANG, W.; TANG, F.; CHEN, X.; REN, L. Antibacterial activities of flavonoids: structure-activity relationship and mechanism. *Current Medicinal Chemistry*, v. 22, n. 1, p. 132–149, 2015. DOI: 10.2174/0929867321666140916113443.