



## ATIVIDADE CITOTÓXICA, ANTIMICROBIANA E CICATRIZANTE DO EXTRATO DA *Jatropha gossypifolia* L.

### CYTOTOXIC, ANTIMICROBIAL AND HEALING ACTIVITY OF THE *Jatropha gossypifolia* L EXTRACT.

### ACTIVIDAD CITOTÓXICA, ANTIMICROBIANA Y CICATRIZANTE DEL EXTRATO DE LA *Jatropha gossypifolia* L.

Paulo Sérgio Gomes da Silva<sup>1</sup>, Raquel Ferreira Lopes<sup>2</sup>, Jeferson Caetano da Silva<sup>3</sup>, Wanderlei Barbosa dos Santos<sup>4</sup>, Regina Célia Sales Santos Veríssimo<sup>5</sup>, Maria Lysete de Assis Bastos<sup>6</sup>

#### RESUMO

**Objetivo:** investigar o potencial citotóxico, antimicrobiano e cicatrizante de extratos das folhas, galhos e caule da *J. gossypifolia* L. **Método:** estudo quantitativo, experimental. Os extratos foram obtidos por maceração em etanol, concentrados em evaporador rotatório e secos em dessecador a vácuo. Na análise, realizaram-se testes de prospecção fitoquímica; citotoxicidade; microdiluição em caldo e *Scratch assay*. Entre os metabólitos detectados, estiveram: taninos, esteroides, flavonoides, flavonas, xantonas. **Resultados:** o extrato do caule apresentou viabilidade celular acima de 80%. As folhas foram moderadamente citotóxicas e os galhos apresentaram ausência de viabilidade celular. Os extratos inibiram o crescimento de *S. aureus*, *S. epidermidis* e *P. aeruginosa* em diferentes concentrações. O *Scratch assay* evidenciou que a fração metanólica das folhas propiciou a migração celular em 45% a mais do que o controle. **Conclusão:** estudos com esta espécie vegetal devem ser continuados para isolamento do princípio ativo, visando à produção de um fitoterápico cicatrizante de feridas. **Descritores:** Cicatrização; Enfermagem; Citotoxicidade; Plantas Medicinais.

#### ABSTRACT

**Objective:** to investigate the cytotoxic, antimicrobial and cicatrizant potential of extracts of leaves, branches and stem of *J. gossypifolia* L. **Method:** quantitative, experimental study. The extracts were obtained by maceration in ethanol, concentrated in a rotary evaporator and dried in a vacuum desiccator. In the analysis, phytochemical prospecting; cytotoxicity; microdilution in broth and *Scratch assay* tests were performed. Among the detected metabolites, were: tannins, steroids, flavonoids, flavones, xanthenes. **Results:** the stem extract presented cell viability above 80%. The leaves were moderately cytotoxic and the branches showed no cell viability. The extracts inhibited the growth of *S. aureus*, *S. epidermidis* and *P. aeruginosa* at different concentrations. *Scratch assay* showed that the methanolic fraction of the leaves allowed the cellular migration in 45% more than the control. **Conclusion:** studies with this plant species should be continued for isolation of the active principle, aiming at the production of a wound healing phytotherapeutic. **Descriptors:** Healing; Nursing; Citotoxicity; Medicinal Plants.

#### RESUMEN

**Objetivo:** investigar el potencial citotóxico, antimicrobiano y cicatrizante de los extractos de las hojas, ramas y el tallo de *J. gossypifolia* L. **Método:** estudio cuantitativo, experimental. Los extractos fueron obtenidos por maceración en etanol, concentrados en evaporador rotatorio y seco en desecador al vacío. En el análisis, se realizaron pruebas de prospecção fitoquímica; citotoxicidad; microdilución en caldo y *Scratch assay*. Entre los metabolitos detectados, estuvieron: taninos, esteroides, flavonoides, flavonas, xantonas. **Resultados:** el extracto del tallo presentó viabilidad celular por encima del 80%. Las hojas fueron moderadamente citotóxicas y las ramas presentaron ausencia de viabilidad celular. Los extractos inhibieron el crecimiento de *S. aureus*, *S. epidermidis* y *P. aeruginosa* en diferentes concentraciones. El *Scratch assay* evidenció que la fracción metanólica de las hojas propició la migración celular en un 45% más que el control. **Conclusión:** estudios con esta especie vegetal deben ser continuados para aislamiento del principio activo, visando la producción de un fitoterápico cicatrizante de heridas. **Descriptores:** La Curación; Enfermería; Citotoxicidad; Plantas Medicinales.

<sup>1</sup>Enfermeiro do HUPAA-AL, Mestrando, Programa de Pós-Graduação em Enfermagem, Universidade Federal de Alagoas/PPGEnf/UFAL. Maceió (AL), Brasil. E-mail: [enfermagemheha@gmail.com](mailto:enfermagemheha@gmail.com); ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-5720-6638>; <sup>2</sup>Enfermeira, Especialista em Docência e Gestão do Ensino Superior. Mestranda, Programa de Pós-Graduação em Enfermagem, Universidade Federal de Alagoas. Maceió (AL), Brasil. E-mail: [raquelloppes@gmail.com](mailto:raquelloppes@gmail.com); ORCID iD: <http://orcid.org/0000-0002-2061-7038>; <sup>3</sup>Enfermeiro, Mestrando pelo Programa de Pós-Graduação em Enfermagem, Universidade Federal de Alagoas. Maceió (AL), Brasil. E-mail: [jeferson\\_caetano@hotmail.com](mailto:jeferson_caetano@hotmail.com); ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-2556-4817>; <sup>4</sup>Enfermeiro, Mestrando pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Alagoas. Maceió (AL), Brasil. E-mail: [wanderley89@live.com](mailto:wanderley89@live.com); ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0001-9813-8857>; <sup>5</sup>Enfermeira, Professora Doutora em Biotecnologia, Universidade Federal de Alagoas/UFAL. Maceió (AL), Brasil. E-mail: [salesregina@hotmail.com](mailto:salesregina@hotmail.com); ORCID iD: <http://orcid.org/0000-0002-8636-5152>; <sup>6</sup>Enfermeira, Professora Doutora em Ciências, Universidade Federal de Alagoas/UFAL. Maceió (AL), Brasil. E-mail: [lysetebastos@gmail.com](mailto:lysetebastos@gmail.com) ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-1752-7645>

## INTRODUÇÃO

Ao longo dos tempos, as plantas medicinais têm sido utilizadas para o tratamento de inúmeras doenças e também na cura das feridas. Esse conhecimento tem passado de geração a geração, por meio do conhecimento empírico e, atualmente, tem aumentado o número de publicações com o intuito de comprovar cientificamente essa utilização, pois ela representa uma importante fonte de metabólitos que atuam como inibidores de várias atividades biológicas por meio da ação de suas moléculas bioativas.<sup>1</sup>

O uso indiscriminado e inadequado de antibióticos tem contribuído para o surgimento de microrganismo resistente às diversas drogas, contribuindo para o aumento do número de feridas colonizadas e/ou infectadas retardando, com isso, o processo cicatricial. Segundo os dados da Organização Mundial de Saúde, 25% das mortes no mundo são decorrentes de doenças infecciosas.<sup>2</sup> O cuidado com as feridas faz parte das atribuições da assistência prestada pela Enfermagem, sendo grande o número de estudos publicados com esta temática, demonstrando o importante papel e a responsabilidade do enfermeiro nesse processo e na busca de novas maneiras de cuidar, atento às inovações de cuidado nesta área, para a melhoria da qualidade da assistência.<sup>3</sup>

Desse modo, o uso de outras terapias, que não a convencional, como o uso de fitoterápicos, extratos ou, ainda, de plantas medicinais *in natura*, para a cicatrização de feridas, tem sido incrementado, nos últimos anos, com a busca de princípios ativos, isolados de plantas, que apresentem efetivo papel no processo de cicatrização da ferida.<sup>4</sup>

A espécie escolhida, *Jatropha gossypifolia* L., é conhecida, popularmente, como pião roxo, batata-de-teú, erva-purgante, jalapão, mamoinha, raiz-de-teú, peão-roxo, pinhão-roxo. Várias partes da planta têm sido usadas, na medicina popular, para o tratamento de úlceras pépticas, diabetes, neoplasias, diarreias e, ainda, como cicatrizante e diurético. Destaca-se pelo seu potencial analgésico e anti-inflamatório, assim como também por ser utilizada para o tratamento eczemas, abscessos, cicatrização de feridas, disenteria, hanseníase, artrite, otite, alopecia, doenças venéreas, dores de estômago, obstruções do trato abdominal, reumatismo e mordida de animais venenosos<sup>5-6</sup>, tornando-se pertinente na prática da medicina popular baseada nos conhecimentos específicos desta planta.

Trata-se de um recorte de uma pesquisa básica, experimental, que buscou gerar novos conhecimentos para o avanço da ciência. Este tipo de estudo forma o alicerce para o traçado da pesquisa clínica, sendo reconhecido como instrumento fundamental para o desenvolvimento de novas terapêuticas.<sup>7</sup>

Este estudo teve, como objetivo, investigar o potencial citotóxico, antimicrobiano e cicatrizante de extratos das folhas, galhos e caule da *J. gossypifolia* L.

## MÉTODO

### ♦ Material vegetal

O material vegetal foi coletado no conjunto Cidade Universitária - Maceió-Alagoas, com coordenadas 9° 32'47.3"S 35° 47'07.6"W, no mês de janeiro de 2016, e foi identificado no Instituto do Meio Ambiente (IMA) do Estado de Alagoas, sendo a exsicata depositada com o registro MAC 241.

### ♦ Obtenção do Extrato etanólico

O material vegetal das folhas, galhos e caule, da espécie vegetal *J. gossypifolia* L., passou por processo de secagem, em temperatura ambiente, por cinco dias. Em seguida, o material foi triturado e o extrato, extraído por maceração com etanol a 98%. Posteriormente, os extratos obtidos foram rotaevaporados a 40°C, para a concentração dos mesmos.

### ♦ Fracionamento do extrato etanólico bruto

O fracionamento dos extratos da espécie em questão foi realizado com uma alíquota de 9,9 gramas de folhas e 9,6 gramas de caule dos extratos etanólicos, particionados em coluna filtrante sob vácuo, utilizando, como fase estacionária, sílica gel e, como fase móvel, hexano, clorofórmio (CHCl<sub>3</sub>), acetato de etila (AcOEt) e metanol (MeOH), seguindo essa ordem de polaridade.<sup>8</sup>

As soluções obtidas foram concentradas em evaporador rotativo, resultando em quatro fases: hexânica, clorofórmica, acetato de etila e metanólica. Em seguida, os materiais úmidos foram colocados em frascos adequados e secos em temperatura ambiente.

### ♦ Análise Fitoquímica

A prospecção fitoquímica da espécie *J. gossypifolia* L. foi realizada de acordo com uma metodologia já utilizada.<sup>8</sup> Os testes qualitativos e semiquantitativos realizados abrangeram ensaios para fenóis e taninos (reação com cloreto férrico), antocianinas, antocianidinas, flavanoides, leucoantocianidinas, catequina, flavanonas (teste de variação de pH, com hidróxido de sódio e ácido clorídrico), flavonóis, flavanonóis, xantonas (teste de efervescência com magnésio granulado e ácido clorídrico),

Silva PSG da, Lopes RF, Silva JC da et al.

esteroides e triterpenos (teste de Liebermann-Burchard), saponinas (teste de espuma e teste de precipitação), alcaloides (identificação com Dragendorff), antraquinonas, antronas e cumarinas (teste com luz UV).

#### ♦ Avaliação da viabilidade celular pela técnica do MTT

A citotoxicidade foi avaliada por meio do método colorimétrico pelo sal de metiltetrazolium (MTT), no qual foram utilizados macrófagos da linhagem J774. Para as frações oriundas dos extratos etanólicos das folhas e caules da espécie vegetal em estudo, foram utilizados fibroblastos da linhagem 3T3.<sup>9-10</sup>

Os extratos etanólico das folhas, caule e galhos da *J. gossypifolia*, previamente dissolvidos em Etanol, foram diluídos em série no meio RPMI para a obtenção das concentrações finais e adicionados em placa de 96 poços (100 µL/poço). As células (1.5 x 10<sup>5</sup> células/poço) foram cultivadas em placa de 96 poços, com meio de cultura (RPMI-1640 suplementado com 10% de soro fetal bovino, 1% de glutamina e 40 µg/mL de gentamicina). Portanto, as células foram tratadas com extratos nas concentrações que variam de 62,5; 125 ou 250 µg/mL em meio de cultura. Em seguida, foram incubadas, por 24 horas, em estufa a 5% de CO<sub>2</sub> a 37°C e, posteriormente, foram adicionados 25 µL da solução de MTT, incubando as placas por mais três horas. Após esse tempo, realizou-se a leitura da absorbância em espectrofotômetro a 595 nm.<sup>11</sup>

#### ♦ Microrganismos utilizados

Para a avaliação da atividade antimicrobiana, foram utilizadas linhagens bacterianas Gram-positivas *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 31488); Gram-negativas *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) e *Escherichia coli* (ATCC 25922).

#### ♦ Microdiluição em caldo para a determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A CIM foi realizada de acordo com o protocolo baseado no Clinical Laboratory Standards Institute, na qual o Caldo Mueller-Hinton (CMH) foi distribuído nas placas de 96 poços, sendo colocado 100 µL/poço.<sup>12</sup> A solubilização das amostras ocorreu pela associação de 2000 µg da amostra em questão, adicionados a 20 µL de solução de DMSO, sendo diluídos em 980 µL de solução salina estéril, obtendo-se uma concentração estoque de 2000 µg/mL.

Nas colunas de um a nove da linha A, foram adicionados 100 µL das amostras solubilizadas, e as colunas dez, 11 e 12 foram destinadas para o Controle de Crescimento, Controle

Atividade citotóxica, antimicrobiana e cicatrizante...

Negativo e Controle de Esterilidade da placa, respectivamente.

Após esse processo, 100 µL do conteúdo de cada orifício da linha A foram transferidos para a linha B e, após homogeneização, repetiu-se esse processo até a linha H, na qual foi desprezado o excesso. Os inóculos microbianos foram preparados baseado em um protocolo já utilizado, com a escala de 0,5 de McFarland (10<sup>8</sup> UFC/mL).<sup>12</sup> As bactérias foram diluídas em três mL de solução salina estéril e um mL desta foi rediluído na proporção de 1:10 de solução salina estéril, sendo, então, cinco µL (10<sup>4</sup> UFC/mL) depositados nos poços das colunas de um a 11. Em seguida, as placas foram incubadas em uma estufa bacteriológica a 35°C, de 16 a 20 horas. Após este período, foram adicionados 20 µL de Cloreto Trifenil Tetrazolium (TTC) em cada poço e as placas foram reincubadas por mais três horas.

Em seguida, os poços que apresentaram mudança de incolor para vermelho indicaram a presença de microrganismo vivo. No entanto, a ausência de coloração significa resultado positivo para a inibição das amostras sobre as bactérias avaliadas.

#### ♦ Potencial cicatrizante *in vitro* utilizando Scratch assay

A proliferação de fibroblastos foi estudada *in vitro* utilizando um ensaio com fibroblastos da linhagem 3T3 de tecido de embrião de camundongo.<sup>13</sup> Inicialmente, fibroblastos foram cultivados em meio de cultura DMEM suplementado com 10% de soro fetal bovino (SBF) e incubados em estufa a 5% de CO<sub>2</sub>, a 37°C, por 24 horas. Realizaram-se as subculturas utilizando-se a solução de tripsina-EDTA para desprender as células aderidas.

Após o crescimento e serem tripsinizados, os fibroblastos foram semeados em placas de 12 poços e mantidos em estufa a 5% de CO<sub>2</sub>, a 37°C. Em seguida, retirou-se o meio de cultura e foi realizado o ensaio de *Scratch*, no qual foi realizada uma linha reta na região mediana da placa com a ponta da pipeta de 200 µL, causando uma ruptura entre as células e fazendo uma lesão mecânica. Para a remoção dos debridis resultantes da lesão, os poços foram lavados com solução salina tamponada com fosfato (PBS).

Em seguida, as placas receberam os extratos de *J. gossypifolia*, na concentração de 125 µg/mL. Estabelecida esta concentração, após os resultados do MTT, com as frações das folhas e caules da referida planta, cujos valores na concentração 125 µg/mL evidenciaram viabilidade celular acima

de 90%, utilizando os tempos de migração em horas, que foram de zero, 12 e 24 horas.<sup>13</sup>

As imagens foram captadas com câmera digital acoplada ao microscópio invertido de fase, utilizando *software* NIS Elements F 3.2, e foram obtidas do mesmo campo de visão da ferida, criando pontos de referência na parte externa da placa e na platina do microscópio com marcadores de ponta fina. Assim, a migração dos fibroblastos foi avaliada por meio dessas fotografias, nas qual se mensurou a área lesional nos tempos zero, 12, 24 horas.

Tabela 1. Triagem fitoquímica dos extratos e das frações *J. gossypiifolia* L. Maceió (AL), Brasil, 2017.

| Extratos/Frações | Grupo Químico |            |             |          |            |           |
|------------------|---------------|------------|-------------|----------|------------|-----------|
|                  | Taninos       | Esteroides | Flavonoides | Flavonas | Alcaloides | Saponinas |
| EEF              | +             | +          | +           | -        | -          | -         |
| EEC              | +             | +          | +           | -        | -          | -         |
| EEG              | +             | +          | +           | -        | -          | -         |
| F1               | +             | +          | +           | -        | -          | -         |
| F2               | +             | -          | +           | +        | -          | -         |
| F3               | +             | +          | -           | -        | -          | -         |
| F4               | +             | +          | -           | -        | -          | -         |
| C1               | -             | +          | +           | +        | -          | -         |
| C2               | -             | -          | -           | +        | -          | -         |
| C3               | +             | +          | +           | +        | -          | -         |
| C4               | +             | +          | +           | -        | -          | -         |

Legenda: (-) ausente, (+) presente. EEF = extrato etanólico das folhas; EEC= extrato etanólico do caule; EEG= extrato etanólico dos galhos; F= folhas; C= caule: 1 = fração metanólica; 2 = fração acetato de etila; 3 = fração clorofórmica; 4= fração hexânica.

Em relação às frações clorofórmica e hexânica do caule, pôde-se comprovar a presença de taninos, flavonoides e esteroides, enquanto na fração metanólica, a presença de flavonoides e esteroides. Na hexânica, encontraram-se apenas flavonas. Para as frações das folhas, foram encontrados taninos e esteroides nas quatro amostras das frações, enquanto nas frações metanólica e em acetato de etila identificaram-se flavonoides, do mesmo modo como, na fração em acetato de etila, as flavonas foram evidenciadas. Em nenhum dos extratos e frações foram encontrados saponinas e nem alcaloides.

RESULTADOS

◆ Prospecção fitoquímica

Na prospecção fitoquímica dos extratos brutos das folhas, caules e galhos da espécie vegetal *J. gossypiifolia*, foi evidenciada a presença dos compostos secundários taninos, esteroides, flavonoides, nas três amostras testadas, e nos extratos das folhas foram encontrados, ainda, os constituintes flavonas e Xantonas, como evidenciado na Tabela 1.

◆ Ensaio de Viabilidade Celular pelo Método MTT

Este ensaio foi realizado pelo método do MTT frente a células macrófagos J774, para avaliar a possível citotoxicidade dos extratos etanólicos das folhas, caule e galhos da *J. gossypiifolia* (Figura 1).

Os extratos do caule, na concentração de 62,5 µg/mL, apresentaram percentual de viabilidade celular de 77,09%, enquanto que, na concentração de 125 µg/mL e 250 µg/, o percentual de células viáveis foi maior, com valores de 87,00% e 82,00%, respectivamente.

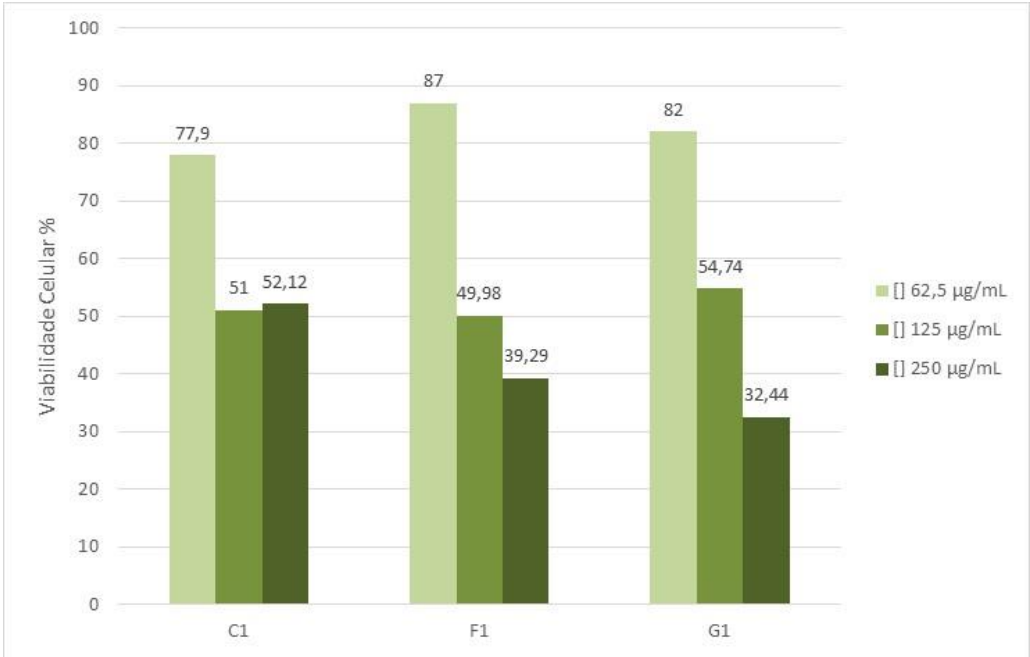


Figura 1. Viabilidade celular dos extratos etanólicos de *J. gossypiifolia* L. Maceió (AL), Brasil, 2017

Legenda: os extratos etanólicos do Caule (C1), extrato etanólico da folha (F1) e extrato etanólico dos galhos (G1).

Os extratos das folhas e galhos apresentaram percentuais de viabilidade celular baixos na concentração de 62,4 µg/mL (51,00%), na de 250 µg/mL (49,89%) e na concentração de 250 µg/mL (54,74%). Já os extratos dos galhos, na concentração de 62,5 µg/mL, mostraram percentual de células viáveis de 52,12% e atingiram 39,29% e

32,44%, respectivamente, nas concentrações de 125 µg/mL e 250 µg/mL (Figura 2).  
No MTT das frações, foram utilizados fibroblastos 3T3, uma vez que, para o teste de MTT das frações das folhas e caules, a escolha pelos fibroblastos 3T3 se apoiou na necessidade de realização do *Scratch assay*, que é feito com fibroblastos desta linhagem. As figuras 2 e 3 revelam esses resultados.

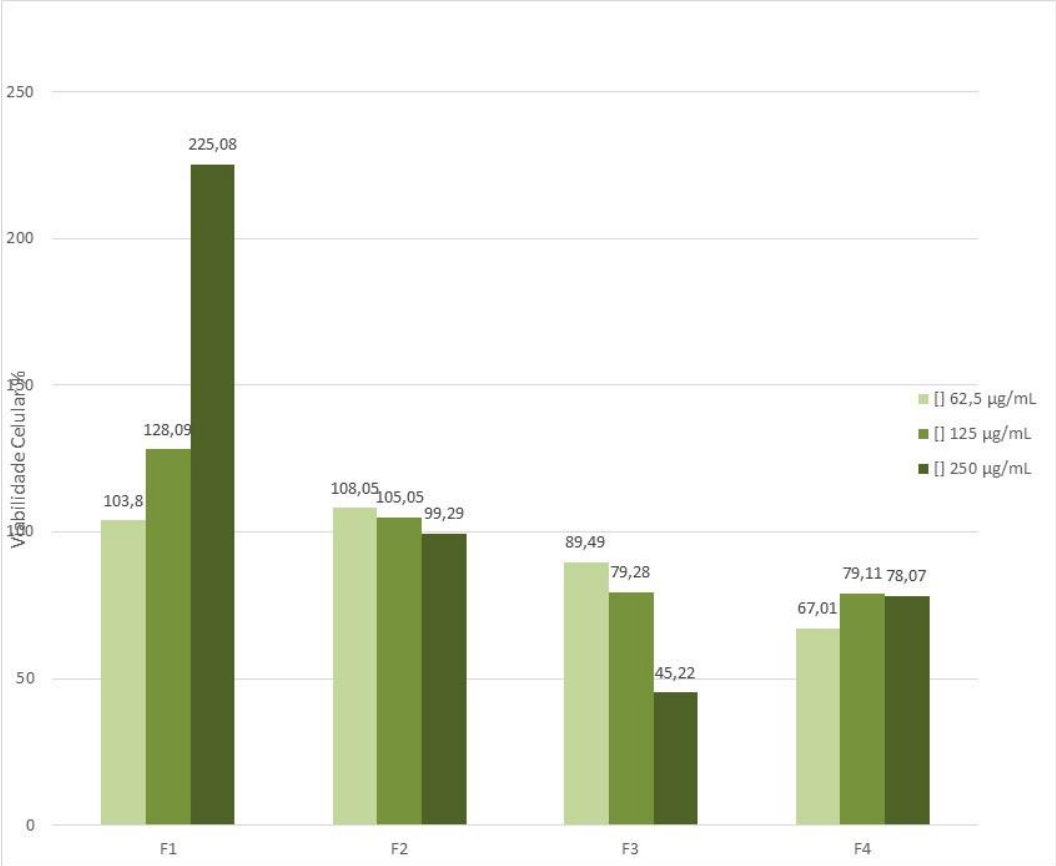


Figura 2. Viabilidade celular das frações do caule. Maceió (AL), Brasil, 2017.  
Legenda: F: Folha; 1: Fração metanólica; 2: Fração acetato de etila; 3: Fração clorofórmica; 4: Fração hexânica.

Como apresentado na figura 2, das frações do caule da espécie em estudo, somente as frações em acetato de etila e hexânica, na concentração de 250 µg/mL, apresentaram menores percentuais de viabilidade celular, ambas com os percentuais de 67,02% e 67,85%, respectivamente.  
Na concentração de 125 µg/mL, as frações metanólica e clorofórmica induziram a

proliferação celular, apresentando percentuais de 117,08% e 110,02%, respectivamente. Enquanto que na concentração de 62,5 µg/mL, as frações metanólica (108%) e acetato de etila (115,3%) foram as que induziram a proliferação celular.

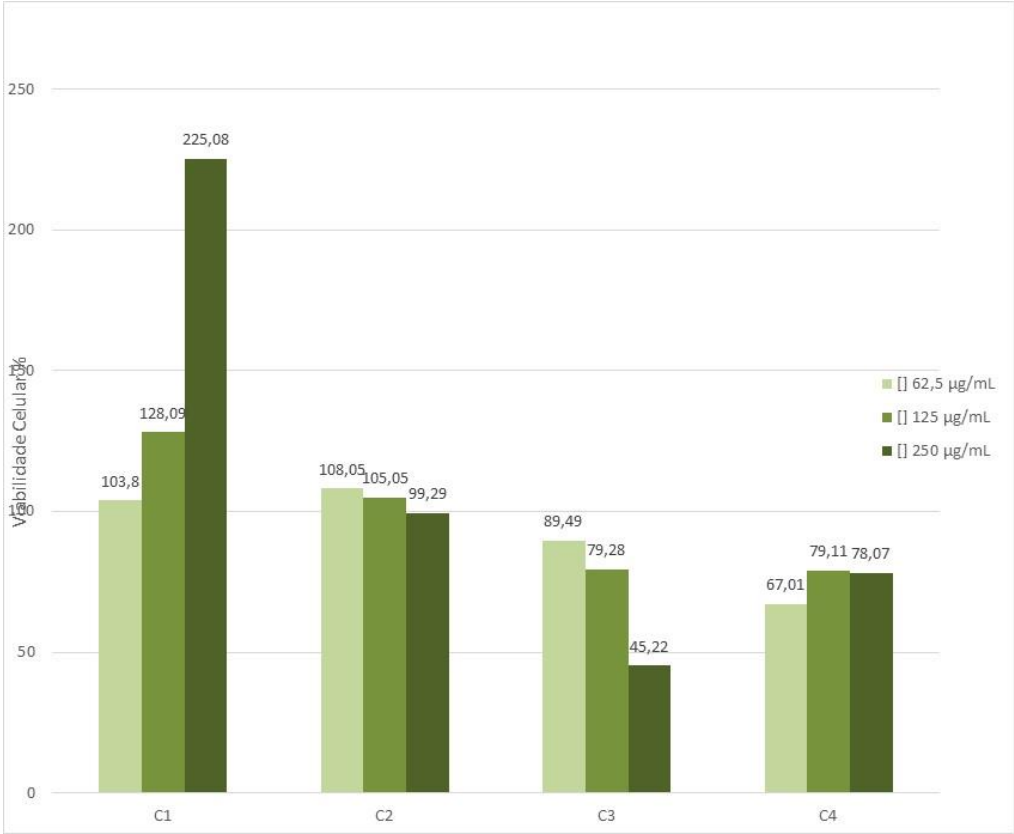


Figura 3. Viabilidade celular das frações das folhas. Maceió (AL), Brasil, 2017  
Legenda: C: Folha; 1: Fração metanólica; 2: Fração acetato de etila; 3: Fração clorofórmica; 4: Fração hexânica.

Na figura 3, observa-se que a fração metanólica induziu a proliferação celular em todas as concentrações, com destaque para a concentração de 250 µg/mL com um percentual de viabilidade celular de 225,08%.

♦ **Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)**

A CIM foi realizada, inicialmente, com os extratos brutos e foi repetida com as frações das folhas e do caule oriundas destes extratos. Todos os extratos etanólicos apresentaram atividade inibitória diante de três microrganismos. O extrato etanólico das folhas inibiu os microrganismos *S. aureus*, *S. epidermidis* e *P. aeruginosa*, na concentração de 500 µg/mL. O do caule foi resistente aos microrganismos *S. aureus* e *P. aeruginosa*, na concentração de 1000 µg/mL. A concentração de 500 µg/mL inibiu o crescimento do *S. epidermidis*. O extrato etanólico das folhas

inibiu o *S. aureus*, na concentração de 1000 µg/mL; *P. aeruginosa*, em 500 µg/mL e o *S. epidermidis*, na concentração de 250 µg/mL.

É importante frisar que os extratos etanólicos não apresentaram atividade antimicrobiana para *E. coli* e reafirmar que as frações não evidenciaram atividade inibitória para os microrganismos testados.

♦ **Potencial cicatrizante *in vitro* utilizando *Scratch assay***

Para avaliar a atividade cicatrizante *in vitro*, optou-se pela fração metanólica oriunda do extrato etanólico das folhas da *J. gossypifolia*, por ter obtido os melhores resultados frente ao MTT, com fibroblastos 3T3. Na figura 4, os fibroblastos tratados com esta fração, na concentração de 125 µg/mL, exibiram um aumento na migração, nos tempos de 12h e 24h, quando comparados com células tratadas com meios de cultura.

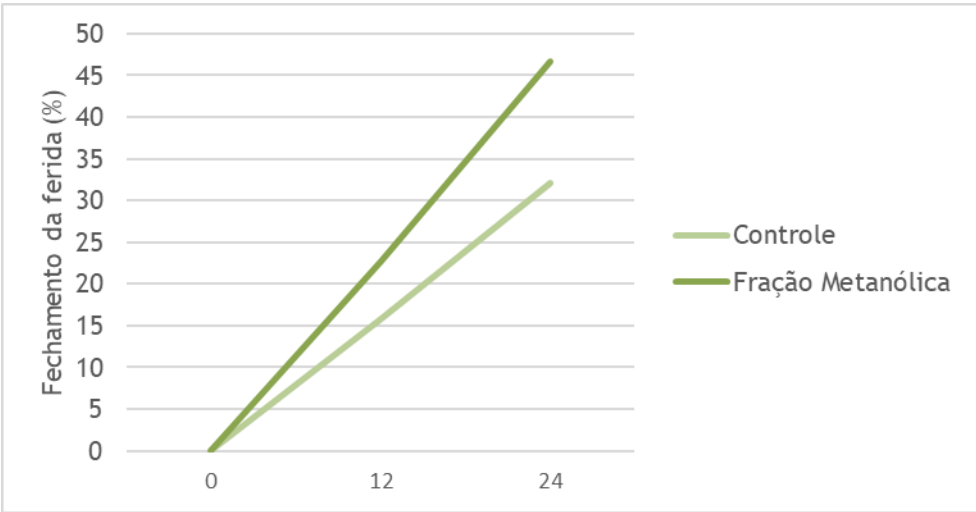


Figura 4. Análise da taxa de migração dos fibroblastos. Maceió (AL), Brasil, 2017.

As demais frações não propiciaram essa migração. Constatou-se que os tratamentos com as frações conduziram mudanças nestas células, inibindo o processo de migração. A fração metanólica pode ser uma alternativa viável para investir em novas pesquisas que proporcionem a segurança necessária para o uso desta espécie vegetal no tratamento de feridas.

Quanto ao efeito da fração metanólica das folhas na migração dos fibroblastos, durante o experimento no tempo zero, não houve distinção do controle e da fração. Percebeu-se que, no tempo de 12h e 24h, a fração metanólica superou em 45% a mais que o controle.

## DISCUSSÃO

Evidenciaram-se, na espécie *J. gossypifolia* deste estudo, os seguintes metabólitos secundários: taninos, flavonoides, esteroides e cumarinas. Estes dados vêm corroborar com estudos que realizaram prospecção fitoquímica com plantas do mesmo gênero, que identificaram a presença de alcaloides, taninos, flavonoides, esteroides e saponinas. Estes dados assemelham-se com os encontrados em outro estudo.<sup>14-15</sup>

Outra pesquisa encontrou metabólitos secundários como taninos, flavonoides, esteroides e saponinas nas diferentes partes da *J. gossypifolia*, o que corrobora com esta pesquisa.<sup>6</sup> Entretanto, metabólitos como terpenoides, quinonas, lactonas, lignanas, relatados por outros estudos, não foram encontrados nos extratos estudados nesta pesquisa.<sup>6,15</sup>

O gênero *Jatropha* possui vários metabólitos secundários como ácidos orgânicos, alcaloides, carotenos, fenóis, fitoesteroides, flavonoides, glicosídeos, lactonas (cumarinas), lignanas, mucilagens, pectinas, polisacarídeos, quinonas, saponinas, taninos e terpenos, o que o caracteriza como um gênero que apresenta diferentes atividades biológicas, dentre elas, a antimicrobiana, anti-inflamatória e adstringente.<sup>15</sup> Outros estudos fitoquímicos constataram a presença de açúcares, alcaloides, aminoácidos, esteroides, cumarinas, lignanas, flavonoides, proteínas, saponinas, taninos e terpenos nos extratos brutos.<sup>16-17</sup>

A presença dos metabólitos secundários, encontrados na espécie vegetal em questão, serve de base, possivelmente, para as atividades biológicas encontradas nos testes realizados com as amostras da *J. gossypifolia*.

Quanto à citotoxicidade, inicialmente, os extratos brutos foram testados frente aos

macrófagos, que apresentaram resultados levemente citotóxicos, para os extratos dos caules nas concentrações 62,5; 125 e 250 µg/mL. Para os oriundos das folhas, as mesmas concentrações obtiveram resultados moderadamente citotóxicos, enquanto o resultado dos galhos, também nas mesmas concentrações, evidenciou citotoxicidade severa, com mais de 50% de inviabilidade, o que impossibilitou o prosseguimento do estudo com essa parte da planta.

No ensaio de citotoxicidade *in vitro* frente a células HEK-293, nas concentrações de 62,5; 125; 250 e 500 µg/mL, oriundas do extrato bruto das folhas de *J. gossypifolia*, obtido por decocção, não foi evidenciado efeito citotóxico, sendo, portanto, considerado com 100% de viabilidade celular.<sup>18</sup> Estes dados contrariam os obtidos nesta pesquisa, uma vez que o ensaio citotoxicidade dos extratos brutos do caule frente aos macrófagos apresentou resultado levemente citotóxico; as folhas foram moderadamente citotóxicas e os galhos apresentaram viabilidade celular inferior a 50%.

No entanto, quando foram realizados testes de viabilidade celular, com as frações dos extratos das folhas e caule da *J. gossypifolia*, as frações metanólica e acetato de etila, nas três concentrações pesquisadas, não foram citotóxicas, com viabilidade maior que 90%, enquanto a fração clorofórmica, na concentração de 250 µg/mL, apresentou viabilidade menor que 50%. Praticamente, todas as frações do caule não apresentaram citotoxicidade, exceto a acetato de etila e a hexânica, nas concentrações 250 µg/mL, consideradas moderadamente citotóxicas, com percentagem de 50 a 79% de viabilidade.<sup>13</sup> O aumento da concentração da fração clorofórmica induziu um declínio no número de células viáveis, levando a uma redução de 50% ( $p < 0,001$ ) da viabilidade celular, na concentração de 250 µg/mL. A fração hexânica diminuiu a viabilidade dos fibroblastos 3T3 em todas as concentrações testadas.

Paralelamente, estudos toxicológicos pré-clínicos, em ratos tratados com o extrato etanólico das folhas e do caule da *J. gossypifolia*, demonstraram toxicidade aguda oral baixa. No entanto, seu uso prolongado, em modelo animal de toxicidade crônica, revelou danos hepáticos, pulmonares e renais graves. Portanto, mais estudos devem ser realizados para a elucidação do potencial citotóxico desta planta.<sup>14</sup>

Com relação à concentração inibitória mínima, os extratos de *J. gossypifolia* apresentaram inibição frente às bactérias

Silva PSG da, Lopes RF, Silva JC da et al.

testadas, ao tempo em que o extrato etanólico das folhas apresentou uma CIM de 500 µg/mL para as bactérias *S. aureus*, *S. epidermidis* e *P. aeruginosa*, enquanto o extrato etanólico dos galhos expôs uma inibição de 1000, 500 e 250 µg/mL, e o extrato etanólico do caule exibiu atividade antimicrobiana em 1000, 500 e 1000 µg/mL, respectivamente. Observou-se também que os extratos testados não foram capazes de promover a inibição do microrganismo *E. coli*.

A *J. gossypifolia* teve ação antimicrobiana frente a oito microrganismos testados (*Bacillus cereus* var. *mycoides*, *B. pumilus*, *B. subtilis*, *Bordetella bronchiseptica*, *S. epidermidis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus faecalis* e *Candida albicans*),<sup>19</sup> bem como os extratos da *J. gossypifolia* apresentaram atividade contra *P. aeruginosa* e *Bacillus subtilis*.<sup>15</sup> Estes resultados corroboram com outro estudo que afirma que os extratos do gênero *Jatropha* possuem ação antibacteriana.<sup>17</sup>

Outro estudo a respeito da atividade antimicrobiana dos extratos metanólicos da raiz, caule e folhas de *Croton pulegioides* Baill, pertencente à mesma família da *Jatropha*, concluiu que o extrato metanólico do caule apresentou atividade antimicrobiana frente às cepas de *S. aureus* e *S. epidermidis*, enquanto o extrato metanólico das folhas não apresentou atividade. Por outro lado, todos os extratos foram inativos nas concentrações avaliadas frente às bactérias Gram-negativas utilizadas no estudo (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*), resultado este que também foi observado nos ensaios antimicrobianos *in vitro*, na atual pesquisa.<sup>20</sup>

Destaca-se, neste estudo, no que diz respeito às frações que, possivelmente, a inibição apresentada nos extratos e ausente nas frações seja decorrente do sinergismo dos metabólitos secundários pois, ao se realizar o fracionamento, houve uma separação dos mesmos e a ação antimicrobiana foi inativada. A real eficácia de uma planta medicinal pode não ser devido a um componente ativo principal, mas a ação combinada de diferentes compostos que, em muitos casos, o sinergismo dos metabólitos secundários potencializa a ação biológica de inúmeras espécies vegetais.<sup>21</sup>

Um estudo realizado confirmou a atividade antibacteriana dos extratos de folhas extraídas em clorofórmio e metanol contra a *Salmonella typhi*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* e *C. albicans*.<sup>6</sup> Estudo realizado com extratos metanólicos e de acetato de etila do látex da *Jatropha multifida* foram ativos contra os

Atividade citotóxica, antimicrobiana e cicatrizante...

seguintes microrganismos: *Bacillus subtilis*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *K. pneumoniae* e *Candida* sp.<sup>20</sup> Resultado esse diferente do encontrado neste estudo, em que, ao fracionar os extratos das folhas e caules, não foi encontrada atividade antibacteriana.

A migração dos fibroblastos é um passo-chave para a cicatrização adequada das feridas, por desempenhar um papel importante na produção e deposição de componentes da matriz extracelular, tais como o colágeno.<sup>22-24</sup>

Neste estudo, a avaliação da cicatrização foi realizada utilizando-se de uma bioensaio *in vitro* com o emprego da *Scratch assay*, que avalia a migração celular nos intervalos de tempos de zero, 12 e 24 horas. Esta técnica baseia-se na criação de uma interrupção de continuidade de uma monocamada celular, ou ferida, em que o acompanhamento do fechamento desta lesão é realizado por meio de observação em microscópio invertido de fase.<sup>25</sup> Este método foi utilizado com o intuito de observar a ação cicatrizante *in vitro* das frações dos extratos das folhas e do caule, mensurada por meio da migração celular dos fibroblastos 3T3.

O tempo zero é o momento em que é realizada a ferida e não há a presença de células, fibroblastos. Para as frações do caule, não foi observada a migração dessas células em nenhum dos tempos. Para as frações das folhas, ocorreu uma migração significativa na fração metanólica (45%) observando esse aumento na taxa de migração quando utilizado na concentração 125 µg/mL, o que demonstra a possibilidade dessa fração ser uma alternativa para a produção de um fitoterápico para o tratamento de feridas.

## CONCLUSÃO

Os resultados do MTT indicaram que o extrato do caule apresentou viabilidade celular de levemente citotóxico a não citotóxico, enquanto o extrato das folhas foi moderadamente citotóxico. Já quanto aos galhos, o resultado foi severamente citotóxico, inviabilizando o prosseguimento do estudo com essa amostra.

A CIM do extrato das folhas foi de 500 µg/mL para as bactérias *S. aureus*, *S. epidermidis* e *P. aeruginosa*, enquanto o extrato etanólico dos galhos expôs uma inibição de 1000, 500 e 250 µg/mL e o extrato etanólico do caule exibiu atividade antimicrobiana em 1000, 500 e 1000 µg/mL, respectivamente. Observou-se, também, que os extratos testados não foram capazes de promover a inibição do microrganismo *E. coli*. A CIM, realizada com as frações oriundas dos

Silva PSG da, Lopes RF, Silva JC da et al.

extratos em etanol das folhas e caule, resultou na ausência de atividade inibitória para estas bactérias.

A avaliação cicatrizante, pelo método do *Scratch assay*, evidenciou que a fração metanólica das folhas propiciou um aumento de 45% na migração dos fibroblastos, sinalizando a possibilidade dessa fração ser uma alternativa para a produção de um fitoterápico para o tratamento de feridas. Estudos com esta espécie vegetal devem ser continuados para o isolamento do princípio ativo visando à produção de um fitoterápico cicatrizante de feridas.

## REFERÊNCIAS

1. Piriz MA, Lima CAB, Jardim VMR, Mesquita MK, Souza ADZ, Heck RM. Plantas medicinais no processo de cicatrização de feridas: uma revisão de literatura. *Rev bras plantas med* [Internet] 2014 [cited 2016 Oct 9]; 16(3):628-36. Available from: <http://www.scielo.br/pdf/rbpm/v16n3/20.pdf>.
2. Tintino SR, Neto AAC, Menezes IRA, Oliveira CDM, Coutinho HDM. Atividade antimicrobiana e efeito combinado sobre drogas antifúngicas e antibacterianas do fruto *Morinda citrifolia* L. *Acta Biológica Colombiana* [Internet] 2015 [cited 2016 Dec 7]; 20(3):193. Available from: <http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/actabiol/article/view/45601/53386>.
3. Ferreira AM, Rigotti MA, Pena SB, Paula DS, Ramos IB, Sasaki VMM. Conhecimento e prática de acadêmicos de enfermagem sobre cuidados com portadores de feridas. *Esc Anna Nery* [Internet] 2013 [cited 2016 Apr 19];17(2):211-19. Available from: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1414-81452013000200002](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1414-81452013000200002).
4. Almeida LCT, Tenório LMMC, Veríssimo RCSS, Lúcio IML, Bastos MLA. Potencial antimicrobiano do óleo de coco no tratamento de feridas. *Revista da Rede de Enfermagem do Nordeste* [Internet] 2012 [cited 2016 Sept 16];13(4):880-7. Available from: <http://www.periodicos.ufc.br/index.php/ren/article/view/4053>.
5. Schmelzer GH, Gurib-Fakim A, Arroo RRJ, Bosch CH, Ruijter A, Simmonds MSJ. *Plant Resources of Tropical Africa 11(1) - Medicinal plants*. Backhuys Publishers, Wageningen, Netherlands. 2008. Available from: [https://www.researchgate.net/publication/236157439\\_Plant\\_Resources\\_of\\_Tropical\\_Africa\\_111\\_Medicinal\\_plants\\_1](https://www.researchgate.net/publication/236157439_Plant_Resources_of_Tropical_Africa_111_Medicinal_plants_1).
6. Félix-Silva J, Giordani RB, Silva-Jr AA, Zucolotto SM, Fernandes-Pedrosa MF. *Jatropha gossypifolia* L. (Euphorbiaceae): a

Atividade citotóxica, antimicrobiana e cicatrizante...

- review of traditional uses, phytochemistry, pharmacology, and toxicology of this medicinal plant. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* [Internet] 2014 [cited 2016 Mar 19];2014:1-32. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/ecam/2014/369204/>.
7. Bastos MLA. Experimental basic research in nursing. *Bastos. J Nurs UFPE on line* [Internet] 2013 [cited 2017 Mar 3]; 7(spe):820-23. Available from: [http://www.revista.ufpe.br/revistaenfermagem/index.php/revista/article/view/4663/pdf\\_2062](http://www.revista.ufpe.br/revistaenfermagem/index.php/revista/article/view/4663/pdf_2062).
  8. Motta EVS, Pinto NCC, Duque APN, Mendes RF, Bellozi PMQ, Scio E. Atividades antioxidante, antinociceptiva e anti-inflamatória das folhas de *Mucuna pruriens* (L.) DC. *Rev bras plantas med*. [Internet] 2013 [cited 2017 Mar 17];15(2):264-72. Available from: <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-05722013000200015>.
  9. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods* [Internet] 1983 [cited 2016 July 17];65(1-2):55-63. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6606682>.
  10. ANVISA. Guia para a avaliação de segurança de produtos cosméticos. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 2nd ed. Brasília; 2012. Available from: [http://www.anvisa.gov.br/cosmeticos/guia/guia\\_cosmeticos\\_final\\_2.pdf](http://www.anvisa.gov.br/cosmeticos/guia/guia_cosmeticos_final_2.pdf).
  11. Silva CC, Albuquerque JFC. Determinação da atividade citotóxica do extrato etanólico do caule de *Hyptis pectinata* (L.) Poit. In: XIX CONIC, III CONITIVII JOIC Anais. Recife, UFPE [internet] 2011 [cited 2016 Oct 14]. Available from: <https://www.ufpe.br/propesq/images/conic/2011/ANAIS.swf>.
  12. Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard. CLSI document M07-A9. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute [Internet] 2012 [cited 2016 Sept 22]. Available from: <https://www.researchgate.net/file.PostFileLoader.html?id=564ceedf5e9d97daf08b45a2&ass&etKey=AS%3A297254750572544%401447882463055>.
  13. Cory G. Scratch-wound assay. *Cell Migration: Developmental Methods and Protocols* [Internet] 2011 [cited 017 Feb 2]; 769:25-30. Available from:

Silva PSG da, Lopes RF, Silva JC da et al.

Atividade citotóxica, antimicrobiana e cicatrizante...

[http://link.springer.com/protocol/10.1007/978-1-61779-207-6\\_2](http://link.springer.com/protocol/10.1007/978-1-61779-207-6_2).

14. Mariz SR, Borges ACR, Melo-Diniz MFF, Medeiros IA. Possibilidades terapêuticas e risco toxicológico de *Jatropha gossypifolia* L.: uma revisão narrativa. *Rev Bras Plantas Med* [Internet] 2010 [cited 2016 June 18];12(3):346-57. Available from: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516-05722010000300013](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-05722010000300013).

15. Hirota BCK, Trevisan RR, Dias JFG, Miguel MD, Miguel OG. Fitoquímica e atividades biológicas do gênero *Jatropha*: MINI-REVISÃO. *Visão Acadêmica* [Internet] 2010 [cited 2016 Aug 29]; 11(2):1518-8361. Available from: <http://revistas.ufpr.br/academica/article/view/21374>.

16. Devappa RK, Makkar HPS, Becker K. *Jatropha* toxicity—a review. *Journal of toxicology and environmental health, Part B* [Internet] 2010 [cited 2017 Jan 17]; 13(6):476-507. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20711929>.

17. Sabandar CW, Ahmat N, Jaafar FM, Sahidinb I. Medicinal property, phytochemistry and pharmacology of several *Jatropha* species (Euphorbiaceae): a review. *Phytochemistry* [Internet] 2013 [cited 2017 Jan 17];85:7-29. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0031942212004657>.

18. Almeida PM, Sousa AS, Marin-Morales MA, Benko-Iseppon AM, Brasileiro-Vidal AC. Genotoxic potential of the latex from cotton-leaf physicnut (*Jatropha gossypifolia* L.). *Genet Mol Biol* [Internet] 2015 Mar [cited 2017 Mar 18];38(1):93-100. Available from: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1415-47572015000100093&lng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-47572015000100093&lng=en). <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-475738120140162>.

19. Kumar VP, Chauhan NS, Padh H, Rajani M. Search for antibacterial and antifungal agents from selected Indian medicinal plants. *Journal of ethnopharmacology* [Internet] 2006 [cited 2016 Aug 19]; 107(2):182-88. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16678369>.

20. Aransiola MN, Ehikhase C, Mmegwa JC, Wahab IO. Antibacterial and antifungal activities of *Jatropha multifida* (Ogege) sap against some pathogens. *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences* [Internet] 2014 [cited 2017 Jan 14];9(4):53-7. Available from: <http://www.iosrjournals.org/iosr-jpbs/papers/Vol9-issue4/Version-1/I09415357.pdf>

21. Gobbo-Neto L, Lopes NP. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Química nova* [Internet] 2007 [cited 2017 Feb 15]; 30(2):374. Available from:

[http://quimicanova.sbq.org.br/imagebank/pdf/Vol30No2\\_374\\_25-RV05289.pdf](http://quimicanova.sbq.org.br/imagebank/pdf/Vol30No2_374_25-RV05289.pdf).

22. Fujiwara H, Kawai S, Murata K. Significance of sulfiredoxin/peroxiredoxin and mitochondrial respiratory chain in response to and protection from 100% O<sub>2</sub> in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mitochondrion* [Internet] 2013 [cited 2017 Jan 15];13(1):52-8. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23291433>.

23. Chen W, Smeekens JM, Wu R. Comprehensive analysis of protein N-glycosylation sites by combining chemical deglycosylation with LC-MS. *J Proteome Res* [Internet] 2014 [cited 2016 Dec 19]; 7;13(3):1466-73. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24490756>.

24. Zhang B, Yu Q, Jia C, Wang Y, Xiao C, Dong Y, et al. The actin-related protein Sac1 is required for morphogenesis and cell wall integrity in *Candida albicans*. *Fungal Genet Biol* [Internet] 2015 [cited 2017 Feb 12]; 81:261-70. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25575432>.

25. Liang CC, Park AY, Guan JL. In vitro scratch assay: a convenient and inexpensive method for analysis of cell migration in vitro. *Nature Protocols* [Internet] 2007 [cited 2017 Feb 10];2(2):329-33. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17406593>

Submissão: 17/03/2017

Aceito: 22/09/2017

Publicado: 01/02/2018

### Correspondência

Paulo Sérgio Gomes da Silva.  
Conjunto Cidade Universitária  
Rua 2A, n. 141  
CEP: 57072-012 – Maceió (AL), Brasil