



Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular
Centro de Ciências Exatas e da Natureza | Universidade Federal da Paraíba
Cidade Universitária - João Pessoa - PB - Brasil - CEP 58059-900
Telefone: (83) 3216 7407 - Fax: (83) 3216 7787 - e-mail: pgbcm@dbm.ufpb.br



MARIA HELENA DO NASCIMENTO

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO DE EXTRATOS DE
FOLHAS E SEMENTES DE *Moringa oleifera* LAM. FRENTE À
MICRORGANISMOS PATOGÊNICOS**

João Pessoa – PB



2022

Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular
Centro de Ciências Exatas e da Natureza | Universidade Federal da Paraíba
Cidade Universitária - João Pessoa - PB - Brasil - CEP 58059-900
Telefone: (83) 3216 7407 - Fax: (83) 3216 7787 - e-mail: pgbcm@dbm.ufpb.br



MARIA HELENA DO NASCIMENTO

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO DE EXTRATOS DE
FOLHAS E SEMENTES DE *Moringa oleifera* LAM. FRENTE À
MICRORGANISMOS PATOGÊNICOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular do Centro de Ciências Exatas e da Natureza, da Universidade Federal da Paraíba, como parte dos requisitos para obtenção do título de **MESTRE EM BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR**.

Orientadora: Profa. Dra. Krystyna Gorlach Lira

João Pessoa – PB

2022

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

N244a Nascimento, Maria Helena do.

Avaliação do potencial antimicrobiano de extratos de folhas e sementes de Moringa oleifera LAM. frente à microrganismos patogênicos / Maria Helena do Nascimento. - João Pessoa, 2022.

88 f. : il.

Orientação: Krystyna Gorlach Lira.

Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCEN.

1. Plantas medicinais - Fitoterápicos. 2. Resistência aos antibióticos. 3. Compostos bioativos. 4. Microrganismos resistentes. 5. Ácido clorogênico. I. Lira, Krystyna Gorlach. II. Título.

UFPB/BC

CDU 633.88(043)

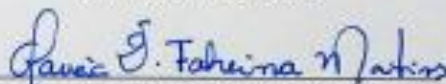
UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR

Ata da Sessão Pública para avaliar o Trabalho de Dissertação de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular da Mestranda **Maria Helena do Nascimento**, submetida para obtenção do grau de Mestre em Biologia Molecular – Área de Concentração em Biologia Celular e Molecular.

Aos vinte e três dias do mês setembro do ano de dois mil e vinte e dois, às quatorze horas e trinta minutos, no Auditório do Departamento de Biologia Molecular do Centro de Ciências Exatas e da Natureza da Universidade Federal da Paraíba, reuniram-se em cerimônia pública, os membros da banca examinadora composta pelos Professores Doutores: **Krystyna Gorlach Lira – UFPB (Orientador/Presidente)**, **Glaucia Veríssimo Faheina Martins – UFPB (Examinador Interno)** e **Marcia Rosa de Oliveira - UFPB (Examinador Externo)** a fim de examinarem a candidata **Maria Helena do Nascimento** ao grau de Mestre em Biologia Celular e Molecular, área de concentração em Biologia Celular e Molecular. Em seguida com a palavra a Professora Dra. Krystyna Gorlach Lira, Presidente da banca, comunicou aos presentes qual o fim da reunião e os procedimentos de encaminhamentos da mesma. A seguir, concedeu à palavra à candidata para que a mesma fizesse, oralmente, a exposição do trabalho intitulado: **"Avaliação do potencial antimicrobiano de extratos de folhas e sementes de Moringa oleifera Lam. frente à microrganismos patogênicos humanos"**. Concluída a exposição, a Senhora Presidente solicitou que fosse feita a arguição por cada um dos examinadores. Após a candidata ser arguida por cada membro examinador, lhe foi concedido a palavra para que respondesse e esclarecesse as questões levantadas. Terminadas as arguições, a Banca Examinadora passou a proceder a avaliação e julgamento da mestranda. Em seguida, a Senhora Presidente declarou que a Banca Examinadora considerou, segundo o artigo 65 do Regulamento Geral dos Programas de Pós-Graduação Stricto Sensu da Universidade Federal da Paraíba, **APROVADA** a dissertação apresentada e defendida pela mestranda **Maria Helena do Nascimento** concedendo-lhe, assim, o grau de Mestre em Biologia Celular e Molecular, área de concentração em Biologia Celular Molecular. Logo após a avaliação da comissão julgadora, a orientadora preencherá um formulário, juntamente com o relatório final de dissertação de mestrado, a fim de que o mesmo seja homologado pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular. E, para constar, eu, Krystyna Gorlach Lira, lavrei a presente ata, que assino junto com os membros da banca examinadora. João Pessoa, 23 de setembro de 2022.



Profa. Dra. Krystyna Gorlach Lira
Orientador/Presidente

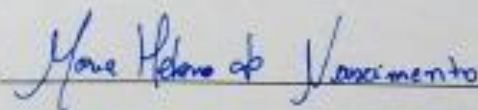


Profa. Dra. Glaucia Veríssimo Faheina Martins
Examinador interno



Profa. Dra. Marcia Rosa de Oliveira
Examinador Externo

Assinatura do (a) Mestrando(a):



Dedico este trabalho à minha família e
ao meu avô João Zacarias (*In Memoriam*).

AGRADECIMENTOS

Durante todo meu mestrado pessoas entraram e saíram da minha vida, mas de certa forma marcaram sua passagem e contribuíram para que eu me tornasse uma pessoa melhor. E neste momento quero agradecer a cada um.

Primeiramente agradeço a Deus, por sempre está comigo, principalmente nos momentos mais difíceis da minha vida acadêmica, sempre me mostrando o melhor caminho a seguir e, principalmente, a ser persistente.

Ao meu avô, João Zacarias (*In Memoriam*), que durante todo meu mestrado esteve ao meu lado, e me ajudou muito para que eu terminasse esse ciclo.

A minha mãe, Maria das Mercês, por todo apoio, todo amor e carinho, e principalmente por sempre me incentivar a nunca deixar de estudar e buscar pelos meus sonhos.

A minha querida irmã, Maria de Fátima, agradeço por toda paciência e compreensão, principalmente nos dias em que meu estresse transbordava. Porém unidas conseguimos trilhar nosso caminho de dedicação aos estudos.

A minha orientadora Krystyna G. Lira, por ter me dado a oportunidade de trabalhar em seu laboratório (BIOMICRO) que apesar de todos os contratempos, tornou a nossa pesquisa brilhante. Agradeço a toda palavra de motivação, de carinho e generosidade. Eu so consigo transbordar de gratidão por todo trabalho realizado e apredido tanto com a senhora, principalmente, a ter paciência (por mim escreveria umas 10 páginas só de elogios). Mas, obrigada por tudo, sem a senhora nada disso teria dado certo.

Aos presentes que o mestrado me deu, Thalia e Igor Fernandes, por sempre estarem comigo e serem os melhores amigos que poderia ter.

Também agradeço as palavras de apoio e encorajamento dos amigos de laboratório, Rádamis, Fernando e Douglas.

Aos amigos que fiz durante o mestrado, Felipe, Alécia e Joyce, muito obrigada por toda ajuda e carinho.

Grata ao professor Josean Fechine Tavares e aos colegas Thalisson Amorim de Souza e Beatriz Nunes, do Laboratório Multiusuário de Caracterização e Análises (LMCA/UFPB), que colaboraram com as análises químicas (fenólicos totais, DPPH e HPLC/MS) desse trabalho.

A professora Tatiane Santi Gadelha, a técnica do laboratório e alunas, do Laboratório de Química de Proteínas e Peptídeos (LQPP) por disponibilizar o liofilizador para secagem do material vegetal, muito obrigada!

A professora Cristiane Francisca da Costa Sassi e seu aluno Luis, do Laboratório de Ambientes Recifais e Biotecnologia com Microalgas, por disponibilizar a estufa de circulação para secagem de extratos vegetais, muito obrigada!

Ao senhor Roberto Antônio da Silva (*In Memoriam*) por fornecer o material vegetal para que pudesse realizar minha pesquisa, muito obrigada.

RESUMO

Diante do cenário atual de resistência aos antimicrobianos, a busca por novos fármacos a partir de produtos naturais derivados de plantas apresenta grande potencial biotecnológico. Usada na medicina tradicional e conhecida popularmente como “árvore milagrosa”, a *Moringa oleifera* apresenta diversas propriedades biológicas, incluindo atividade antimicrobiana e antioxidante. Assim, esta pesquisa teve como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana e antioxidante de extratos de folhas frescas e secas, e sementes de *M. oleifera*, assim como, determinar seus compostos fitoquímicos. Foram feitos extratos aquosos, metanólicos e etanólicos de folhas e sementes de *M. oleifera*, os quais foram analisados com relação à atividade antimicrobiana através do teste de difusão em ágar frente as cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *S. aureus* resistentes à meticilina (MRSA 712, 984, R2 e S1), *Enterococcus faecalis*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e a levedura *Candida albicans*. A Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) foram determinadas pelo teste de diluição em microplacas de 96 poços. A atividade antioxidante dos extratos foi avaliada pelo teste de capacidade de sequestro do radical 2,2 - difenil-1-picrilhidrazila (DPPH). A composição fitoquímica dos extratos foi analisada determinando o teor de compostos fenólicos totais em todos extratos testados, e pela cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (HPLC-MS) para extratos etanólicos e metanólicos de folhas secas. Verificou-se que os extratos etanólicos de folhas secas e de sementes de moringa obtiveram os maiores rendimentos. Os extratos aquosos de folhas frescas e de sementes apresentaram a maior atividade antimicrobiana frente às cepas *B. cereus*, *E. faecalis*, *S. aureus* e MRSA S1, R2, 712 e 984, enquanto as cepas *E. coli*, *P. aeruginosa* e *C. albicans* demonstraram resistência a todos os extratos. As menores CIMs foram verificadas para o extrato de folhas frescas para *E. faecalis* (3,12 mg/mL), *B. cereus* (3,12 mg/mL) e *S. aureus* (0,78 mg/mL) e para o extrato aquoso de sementes para MRSA S1 e R2 (0,78 mg/mL). Por sua vez, a menor CBM foi observada para o extrato aquoso de folhas frescas para *B. cereus* (6,25 mg/mL) e extrato aquoso de sementes para MRSA R2 (0,78 mg/mL). Todos os extratos folheares apresentaram atividade antioxidante, sendo que o extrato aquoso de folhas secas apresentou maior atividade (223,82 µg/mL), enquanto os extratos de sementes não tiveram atividade antioxidante. O extrato metanólico de folhas secas apresentou o maior teor de compostos fenólicos (67,6525 mg EAG/g) e para sementes o extrato aquoso (19,4279 mg EAG/g). O perfil fitoquímico dos extratos etanólico e metanólico de folhas secas, mostrou semelhança apresentando 18 compostos classificados na sua maioria como flavonoides e ácidos fenólicos. A *M. oleifera* demonstrou ser uma espécie promissora para finalidades fitoterapêuticas, uma vez que confirmou-se como agente antimicrobiano frente a diversas bactérias, incluindo *S. aureus* resistente a meticilina.

Palavras-chaves: Fitoterápicos; resistência aos antibióticos; compostos bioativos; microrganismos resistentes; ácido clorogênico.

ABSTRACT

Given the current scenario of antimicrobial resistance, the search for new drugs from natural products derived from plants has great biotechnological potential. Used in traditional medicine and popularly known as the “miracle tree”, *Moringa oleifera* has several biological properties, including antimicrobial and antioxidant activity. Thus, this research aimed to evaluate the antimicrobial and antioxidant activity of extracts from fresh and dried leaves, and seeds of *M. oleifera*, as well as to determine their phytochemical composition. Aqueous, methanolic and ethanolic extracts of leaves and seeds of *M. oleifera* were made, which were analyzed for antimicrobial activity through the agar diffusion test against strains of *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA 712, 984, R2 and S1), *Enterococcus faecalis*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* and the yeast *Candida albicans*. The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) were determined by the dilution test in 96-well microplate. The antioxidant activity of the extracts was evaluated by the 2,2 diphenyl-1- picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging capacity test. The phytochemical composition of the extracts was analyzed by determining the content of total phenolic compounds in all tested extracts, and by mass spectrometry-coupled liquid chromatography (HPLC-MS) for ethanolic and methanolic extracts of dried leaves. It was found that the ethanolic extracts of dried leaves and moringa seeds had the highest yields. The aqueous extracts of fresh leaves and seeds showed the highest antimicrobial activity against strains *B. cereus*, *E. faecalis*, *S. aureus* and MRSA S1, R2, 712 and 984, while strains *E. coli*, *P. aeruginosa* and *C. albicans* showed resistance to all extracts. The lowest MICs were verified for the fresh leaf extract for *E. faecalis* (3.12 mg/mL), *B. cereus* (3.12 mg/mL) and *S. aureus* (0.78 mg/mL) and for the aqueous seed extract for MRSA S1 and R2 (0.78 mg/mL). In turn, the lowest CBM was observed for the aqueous extract of fresh leaves for *B. cereus* (6.25 mg/mL) and aqueous extract of seeds for MRSA R2 (0.78 mg/mL). All leaf extracts showed antioxidant activity, with the aqueous extract of dry leaves showing the highest activity (223.82 µg/mL), while the seed extracts had no antioxidant activity. The methanolic extract of dry leaves had the highest content of phenolic compounds (67.6525 mg EAG/g) and for seeds the aqueous extract (19.4279 mg EAG/g). The phytochemical profile of the ethanolic and methanolic extracts of dried leaves showed similarity and was represented by 18 compounds classified mostly as flavonoids and phenolic acids. The *M. oleifera* proved to be a promissory species for phytotherapeutic purposes, as it was confirmed as an antimicrobial agent against several bacteria, including methicillin-resistant *S. aureus*.

Keywords: Phytotherapies; antibiotic resistance; bioactive compounds; resistant microorganisms; chlorogenic acid.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Árvore de <i>Moringa oleifera</i> , localizada no bairro Costa do Sol, João Pessoa – Paraíba.....	17
Figura 2 –	<i>Moringa oleifera</i> e as partes usadas para o preparo dos extratos.....	33
Figura 3 –	Processo de obtenção dos extratos de folhas frescas e secas e sementes de <i>Moringa oleifera</i> , demonstrando o processo de filtração.....	35
Figura 4 –	Análise da atividade antimicrobiana dos extratos de <i>Moringa oleifera</i> pelo método de difusão em ágar.....	37
Figura 5 –	Determinação de concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) no ensaio em microplaca de 96 poços utilizada nos testes de microdiluição dos extratos de <i>Moringa oleifera</i>	39
Figura 6 –	Montagem da microplaca de 96 poços para o teste de sequestro do radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidazil)	40
Figura 7 –	Atividade antibacteriana do extrato aquoso de folhas frescas de <i>Moringa oleifera</i> frente as cepas MRSA.....	46
Figura 8 –	Teste de antibiograma para o extrato aquoso de folhas secas de <i>Moringa oleifera</i> frente as cepas MRSA.....	46
Figura 9 –	Atividade antibacteriana do extrato etanólico e metanólico de folhas secas de <i>Moringa oleifera</i> frente a cepa MRSA S1 (A) e MRSA 984 (B).....	46
Figura 10 –	Atividade antibacteriana do extrato aquoso de sementes de <i>Moringa oleifera</i> frente as cepas MRSA.....	49
Figura 11 –	Atividade antibacteriana do extrato etanólico de sementes de <i>Moringa oleifera</i> frente as cepas MRSA.....	49
Figura 12 –	Atividade antibacteriana do extrato metanólico de sementes de <i>Moringa oleifera</i> frente as cepas MRSA.....	49
Figura 13 –	Antibiograma das linhagens MRSA L (A), MRSA 984 (B), MRSA S1 (C).....	51
Figura 14 –	Concentração Inibitória Mínima (CIM) expressa em mg/mL do extrato aquoso de folhas frescas (A) e extrato etanólico de folhas secas (B) frente a <i>S. aureus</i> ATCC 25923.....	54
Figura 15 –	Concentração Inibitória Mínima (CIM) expressa em mg/mL do extrato metanólico de folhas secas frente a <i>S. aureus</i> MRSA 712.....	54

Figura 16 –	Concentração Inibitória Mínima (CIM) expressa em mg/mL do extrato aquoso (A) e metanólico (B) de sementes frente a <i>S. aureus</i> MRSA R2.....	56
Figura 17 –	Concentração Inibitória Mínima (CIM) expressa em mg/mL do extrato metanólico de sementes frente a <i>S. aureus</i> MRSA 984.....	57
Figura 18 –	Atividade antioxidante de extratos de <i>Moringa oleifera</i> expressa em CE ₅₀ (µg/mL).....	61
Figura 19 –	Curva de calibração de ácido gálico.....	62
Figura 20 –	Cromatogramas de pico de base dos extratos etanólico e metanólico de folhas secas de <i>Moringa oleifera</i> mostrando a distribuição dos principais metanólitos secundários em cada solvente.....	64
Figura 21 –	Cromatograma de pico de base do extrato metanólico de folhas secas de <i>Moringa oleifera</i> mostrando a distribuição dos 18 compostos detectados.....	65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Rendimento dos extratos vegetais da <i>Moringa oleifera</i>	44
Tabela 2 –	Atividade antimicrobiana de extratos de folhas frescas e secas de <i>Moringa oleifera</i>	45
Tabela 3 –	Atividade antimicrobiana de extratos de sementes de <i>Moringa oleifera</i>	48
Tabela 4 –	Ação dos antibióticos frente as linhagens de <i>Staphylococcus aureus</i>	51
Tabela 5 –	Concentração Inibitória Mínima (CIM) expressa em mg/mL do extrato de folhas frescas e secas de <i>Moringa oleifera</i>	53
Tabela 6 –	Concentração Inibitória Mínima (CIM) expressa em mg/mL dos extratos se sementes de <i>Moringa oleifera</i>	56
Tabela 7 –	Concentração Bactericida Mínima (CBM) expressa em mg/mL do extrato de folhas frescas e secas de <i>Moringa oleifera</i>	58
Tabela 8 –	Concentração Bactericida Mínima (CBM) expressa em mg/mL dos extratos de sementes de <i>Moringa oleifera</i>	59
Tabela 9 –	Atividade antioxidantes de extratos de <i>Moringa oleifera</i>	60
Tabela 10 –	Teor de compostos fenólicos totais nos extratos de <i>Moringa oleifera</i> expresso em mg de equivalente de ácido gálico (EAC) por g de extrato (média $\pm$ desvio padrão).....	63
Tabela 11 –	Caracterização dos compostos presentes nos extratos etanólico e metanólico de folhas secas de <i>Moringa oleifera</i> através da HPLC-ESI-HRMS e HPLC-DAD-ESI-MS ⁿ	66

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	15
1.1	Uso de plantas medicinais.....	15
1.2	A espécie <i>Moringa oleifera</i>.....	16
1.2.1	Classificação botânica.....	16
1.2.2	Características, origem e distribuição no Brasil.....	18
1.3	Propriedades de <i>M. oleifera</i> relevantes para área da saúde e biotecnologia.....	19
1.3.1	Atividade antimicrobiana.....	21
1.3.2	Atividade antioxidante.....	23
1.4	Composição fitoquímica de <i>M. oleifera</i>.....	23
1.5	Resistência de microrganismos aos antibióticos.....	25
1.6	Microrganismos patogênicos.....	26
2.	OBJETIVOS.....	32
2.1	Objetivo Geral.....	32
2.2	Objetivos Específicos.....	32
3.	MATERIAL E MÉTODOS.....	33
3.1	Material vegetal.....	33
3.2	Microrganismos.....	34
3.3	Preparo de extratos de folhas e sementes de <i>M. oleifera</i>.....	34
3.4	Atividade antimicrobiana de extratos de <i>M. oleifera</i>.....	36
3.4.1	Método de difusão em ágar.....	36
3.4.2	Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM).....	37
3.4.3	Determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM).....	38
3.5	Atividade antioxidante de extratos de <i>M. oleifera</i>.....	39
3.6	Análise química dos extratos de <i>M. oleifera</i>.....	41
3.6.1	Determinação do Teor de Compostos Fenólicos Totais.....	41
3.6.2	Análise de composição de extratos de <i>M. oleifera</i> pelo HPLC-MS.....	42
3.7	Análises estatísticas.....	43
4.	RESULTADOS.....	44
4.1	Rendimentos dos extratos de <i>M. oleifera</i>.....	44

4.2	Atividade antimicrobiana dos extratos de <i>M. oleifera</i> – teste de difusão em ágar.....	44
4.2.1	Extratos de folhas.....	44
4.2.2	Extrato de sementes.....	48
4.2.3	Sensibilidade das linhagens <i>S. aureus</i> aos antibióticos.....	51
4.3	Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos extratos de <i>M. oleifera</i>.....	52
4.3.1	Extratos de folhas.....	52
4.3.2	Extrato de sementes.....	55
4.4	Concentração Bactericida Mínima (CBM) dos extratos de <i>M. oleifera</i>.....	58
4.4.1	Extratos de folhas.....	58
4.4.2	Extrato de sementes.....	59
4.5	Atividade antioxidante dos extratos de <i>M. oleifera</i>.....	60
4.6	Teor de Compostos Fenólicos Totais (CFT).....	62
4.7	Composição de extratos de <i>M. oleifera</i>.....	64
5.	CONCLUSÕES.....	73
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	75

1. INTRODUÇÃO

1.1 Uso de plantas medicinais

O uso de plantas para fins medicinais ou fitoterapia sempre esteve muito presente em algumas culturas e populações, nos quais consiste no uso de ervas de forma complementar ou alternativa e por muitos anos representou o principal e único tratamento e matéria prima para o desenvolvimento de medicamentos, através do uso de chás, soluções e consumo direto de partes da planta, e estende-se até os dias atuais sendo preferível a pessoas que evitam o uso de fármacos industrializados (MUNHOZ *et al.*, 2013; GOMES *et al.*, 2018; CANTANTE *et al.*, 2022).

O uso de fitoterápicos continuam a se expandir em todo mundo, seja em países desenvolvidos ou em desenvolvimento, pois muitas pessoas estão recorrendo a produtos naturais para o tratamento de diversas doenças que são consideradas desafios para a saúde. Em países como a China, a medicina tradicional corresponde a cerca de 40 % dos cuidados gerais de saúde, e mais de 90 % dos hospitais gerais têm unidades para medicina tradicional utilizando as plantas como fonte de tratamento (BHARDWAJ; VERMA; GRUPTA, 2018).

No Brasil, acredita-se que as práticas de fitoterapia estejam presentes desde antes da colonização, quando os povos indígenas faziam uso curativo de acordo com suas experiências e conhecimentos (CANTANTE *et al.*, 2022). Apesar da ampla biodiversidade brasileira, o número de fitoterápicos registrados ainda é baixo. Nos últimos anos pesquisas relacionadas a procura por plantas medicinais vem crescendo, uma vez que suas propriedades terapêuticas e a alta disponibilidade de matérias-primas vegetais está distante de ser completamente elucidada, possuindo um amplo potencial na produção de fármacos inovadores (CASTRO *et al.*, 2010; RICARDO *et al.*, 2018; CASTRO *et al.*, 2022).

Quando comparados aos fármacos sintéticos, os fitoterápicos possuem algumas vantagens, menores efeitos colaterais, baixo custo de produção, baixos níveis de toxicidade, possuem uma ação terapêutica potencializada, considerando a presença de diversos bioativos em sua composição. Entretanto, ainda que sejam produtos naturais os fitoterápicos podem apresentar efeitos nocivos ao organismo, assim como, promover interações farmacológicas com medicamentos alopáticos (NISAR; SULTAM; RUBAB, 2017; BORGES; SALES, 2018; ESTEVES *et al.*, 2020).

No Brasil, a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, criada em 2006, e o Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, criado em 2008, têm como objetivo “garantir à população brasileira o acesso seguro e o uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos e promover o uso sustentável da biodiversidade, o desenvolvimento da cadeia produtiva e da indústria nacional” (BRASIL, 2016). Além do mais, a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no Sistema Único de Saúde (SUS), aprovada pelo Ministério da Saúde, contempla a legitimação do uso de plantas medicinais e fitoterapia para o tratamento de agravos à saúde, a promoção e a recuperação da saúde. Essas ações têm colaborado para o aumento da fitoterapia no país (BRASIL, 2016; FEITOSA *et al.*, 2016).

O órgão responsável pela regulamentação das plantas medicinais e seus derivados é a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), o qual tem como objetivo promover e proteger a saúde da população, assegurando a segurança sanitária de serviços e produtos (ZONNER *et al.*, 2022). Além disso, para uma maior segurança de uso, todo fitoterápico antes de seu uso passa por um processo de industrialização, que objetiva eliminar e evitar contaminações por microrganismos (fungos e bactérias) e/ou substâncias estranhas, além de uniformizar a maneira e quantidade correta para a sua utilização (HECK; RIBEIRO; BARBIERI, 2017).

Atualmente, as plantas medicinais possuem uma considerável importância devido aos seus atributos, especialmente, por serem uma rica fonte de fitoquímicos terapêuticos que pode gerar o desenvolvimento de novos medicamentos. Grande parte dos fitoquímicos de fontes vegetais, como os flavonoides e fenólicos, tem um impacto positivo na saúde e na prevenção de doenças, como o câncer. É sabido que extratos brutos de plantas medicinais e alguns compostos puros dessas plantas podem potencializar o efeito dos antibióticos *in vitro*, no entanto, esta busca por moduladores de resistência a antibióticos em plantas representa uma nova dimensão para abordar o problema da resistência aos antibióticos (DILBATO; BEGNA; JOSHI, 2019).

1.2 A espécie *Moringa oleifera*

1.2.1 Classificação botânica

O gênero *Moringa*, pertencente à família Moringaceae (ordem Brassicales), possui 13 espécies, que são: *Moringa oleifera*, *M. concanensis*, *M. arborea*, *M. ovalifolia*, *M.*

borziana, *M. pygmaea*, *M. ruspoliana*, *M. rivaie*, *M. hildebrandtii*, *M. drouhardii*, *M. stenopetala*, *M. longituba* e *M. peregrina* (MATIC *et al.*, 2017; SINGH *et al.*, 2019).

A *Moringa oleifera* Lam. (sin. *Moringa pterygosperma*) é a mais bem conhecida, sendo também chamada popularmente como “árvore milagrosa”, “raiz-forte” ou “árvore da vida” ou apenas como “moringa” (Figura 1) (ANWAR *et al.*, 2007; MATIC *et al.*, 2017; FALOWO *et al.*, 2018).

Figura 1: Árvore de *Moringa oleifera*, localizada no bairro Costa do Sol, João Pessoa – Paraíba.



Fonte: Autoria própria, 2022.

Segundo Palada (2019), taxonomicamente a *Moringa oleifera* Lam. é classificada da seguinte forma:

Reino: Plantae

Divisão: Magnoliophyta

Classe: Magnoliopsida

Ordem: Brassicales

Família: Moringaceae

Gênero: *Moringa*

Espécie: *Moringa oleifera* Lam.

1.2.2 Características, origem e distribuição no Brasil

A *M. oleifera* é uma árvore perene que pode suportar longos períodos de seca, crescendo tanto em ambientes áridos como semiáridos, capaz de se adaptar a diferentes ambientes, razão pela qual é vista em diferentes tipos de solo, temperatura e regime de precipitação, além disso, a planta tolera solos com pH entre 4 / 5 e 8, embora prefira solos neutros ou levemente úmidos (SILVA; PADILHA; PADILHA, 2021; MILLA; PENÁLVER; NIETO, 2021).

A moringa por ser uma espécie muito adaptável, ela vive aproximadamente 20 anos e atinge uma altura de 5 a 10 metros em um período curto de tempo, atingindo a 4 metros em 6 meses (MILLA; PENÁLVER; NIETO, 2021). Os brotos quando jovens possuem casca cuja coloração é branco-esverdeada ou arroxeada, enquanto a casca da planta possui coloração cinza-esbranquiçada e é cercada por cortiça grossa (MALLENKUPPE *et al.*, 2019). Suas folhas pinadas são dispostas em folíolos dispostos em uma raque, suas flores são agrupadas em panículas, bissexuais, zigomorfas com cinco pétalas brancas diferentes, cinco estames, cinco sépalas e diversos estaminódios; possuem pedicelos e inflorescências auxiliares. Além disso, a planta possui caule ereto e suas raízes são consideradas tuberosas (MILLA; PENÁLVER; NIETO, 2021).

Suas flores são brancas-amareladas e cheirosas (MALLENKUPPE *et al.*, 2019). Quanto ao fruto da *M. oleifera* é longo e lenhoso, que, quando amadurecido, abre-se em dois folíolos, os quais contêm sementes trivalentes com asas longitudinais, medindo entre 20 e 45 cm de tamanho com cerca de 15 a 20 sementes globulares com 1 a 1,2 cm de diâmetro (MALLENKUPPE1 *et al.*, 2019; MILLA; PENÁLVER; NIETO, 2021).

Moringa é um gênero bastante conhecido, embora oriunda do noroeste de Bangladesh, Paquistão, Índia e Afeganistão, atualmente está se espalhando por todo mundo como Ásia, América Central, África e América do Sul, podendo assim ser encontrada em diversas regiões tropicais e subtropicais (RABBANI, 2012; SANTOS, 2015; TRIGO *et al.*, 2020).

Essa planta de crescimento rápido possui um histórico de utilização remota desde 150 a.C., em que provas revelam que antigas rainhas e reis utilizavam as folhas e frutos em sua dieta para manter a pele saudável e o estado mental em alerta. Além disso, antigos guerreiros da Mauritânia, na Índia, usavam o extrato de folhas da moringa como alimento durante o período de guerra. Acreditava-se que a bebida feita a partir dessa planta lhes

dava energia extra e os aliviava das dores e estresse causados durante o período da guerra (ZAKU *et al.*, 2015).

No Brasil, acredita-se que a *M. oleifera* foi introduzida por volta de 1950 como planta ornamental e medicinal, principalmente na região do Nordeste, em estados como Ceará, Piauí e Maranhão (ANWAR *et al.*, 2007; SARAIVA *et al.*, 2018). No Brasil essa espécie apresentou boa adaptação a condições difíceis, como pluviosidade média anual de 500 mm, períodos longos de estiagem, altas temperaturas e solos com baixa umidade (ANWAR *et al.*, 2007; SARAIVA *et al.*, 2018).

1.3 Propriedades de *M. oleifera* relevantes para área da saúde e biotecnologia

A *M. oleifera*, apresenta diversas características nutricionais e medicinais atribuídas a suas raízes, casca, folhas, sementes, frutos e flores (ANWAR *et al.*, 2007; KUMAR *et al.*, 2010).

É sabido que diversas partes da moringa são consideradas terapêuticas em muitas regiões da Ásia e África, sendo utilizadas na medicina tradicional para o tratamento de diabetes, hipertensão, HIV/AIDS, reumatismo, ascites, ou até mesmo estimulante cardíaco e circulatório (DIÈYE *et al.*, 2008; KASOLO *et al.*, 2010; YEE, 2019). Além disso, possuem diversas propriedades tais como anti-inflamatória (GIACOPPO *et al.*, 2017), anti-tumor, anticâncer (KHOR *et al.*, 2018), antioxidante (PRASAJAK *et al.*, 2021) e imunomodulatória (PADAYACHEE; BAIJNATH, 2019).

As folhas de *M. oleifera*, possuem em sua composição aproximadamente 23 compostos fenólicos, incluindo lignanos, antocianinas, flavonas, flavonóis, catequinas, ácidos hidroxicinâmicos e chalconas, identificados em extratos aquosos preparadas pela decocção e uso de micro-ondas (CASTRO-LÓPEZ *et al.*, 2017). Além disso, a alta concentração de ácido ascórbico, substâncias estrogênicas e β -sitosterol, vitaminas A e C, úteis em escorbuto e afeição catarral, e aminoácidos essenciais específicos, como triptofano, metionina e lisina, presentes nas folhas e vagens, tornam a *M. oleifera* um complemento nutricional ideal (CHOPRA; NAYER; CHOPRA, 1965; ADEJUMO; KOLAPO; FOLARIN, 2012; SAFWAT *et al.*, 2015).

Além disso, acredita-se que diversos constituintes químicos de extratos metanólicos encontrados em folhas e sementes de *M. oleifera*, incluindo ácido oleico, ácido metil éster-hexadecanóico, ácido 9-octadecenóico, 14-metil-8-hexadecenal, 4-hidroxil-4-metil-2-pentanona, 3-5-bis(1,1-dimetiletil)-fenol, 1-hexadecanol, ácido

hexadecanóico e *N* -(-1-metiletilideno)-benzeno etanamina foram previamente observados usando cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS) sejam compostos-chave para ajudarem no tratamento de estresse, feridas, câncer, prevenindo os sangramentos em gengivas e danos oxidativos (AJA *et al.*, 2014).

As sementes da *M. oleifera*, vêm sendo bastante utilizadas como agentes clarificantes no tratamento de água (BAPTISTA *et al.*, 2017; VÁZQUEZ-SÁNCHEZ *et al.*, 2018; BANCESSI *et al.*, 2020), em que a clarificação da água se torna efetiva devido à presença de proteínas com forte capacidade de aglutinação que agem como floculantes, no qual possibilita eliminar a turbidez, fungos, micropartículas, vírus e bactérias (POZZOBON; KEMPKA, 2015). Logo, estas sementes contêm proteínas com baixo peso molecular e, uma vez seu pó dissolvido em água obtêm-se cargas positivas que atraem as partículas negativas de siltes e argilas, e conseqüentemente formam-se partículas mais densas que se sedimentam, removendo a turbidez da água (AMAGLOH; BENANG, 2009).

Mas, além das sementes serem utilizadas para clarificação da água, também possuem um alto interesse científico devido a sua quantidade significativa de óleo, o que lhes confere potencial para extração e produção de biocombustível e, como agentes antimicrobianos (LORENZI; MATOS, 2002; RASHID; ANWAR; KNOTHE, 2008; SILVA; NASCIMENTO, 2010; RIBEIRO; ANDRADE; REIS, 2019).

As flores apresentam diversos aminoácidos essenciais, como sacarose, D - galactose, vestígios de alcalóides, flavonóides e vitaminas antioxidantes (MANGURO; LEMMEN, 2007 ; AMAGLO *et al.*, 2010 ; GOWRISHANKAR *et al.*, 2010).

Estudos sobre as raízes ainda são poucos, no entanto, sabe-se que extratos de raízes de moringa possuem em sua composição os seguintes fitoquímicos: alcaloides, esteroides, carboidratos, glicosídeos, saponinas, terpenoides, taninos e flavonoides, o principal constituinte responsável pela atividade antimicrobiana (RAMAKRISHNA *et al.*, 2018; TSHABALALA *et al.*, 2019). Devido aos seus compostos, possuem diversas utilizações como laxante, agente adstringente, cardiotônico, abortivo, diurético, no tratamento de dores de dente, feridas externas, inflamações, estomatite, bronquite, asma, reumatismo, entre outras doenças (PADAYACHEE; BAIJNATH, 2019).

1.3.1 Atividade antimicrobiana

Estudos sobre atividade antimicrobiana de *M. oleifera* vem sendo reportadas há muitos anos, mostrando que folhas, sementes, cascas e raízes apresentam atividade contra diversas bactérias, leveduras, dematófitos (RABIE; TAHA; YOUSSEF, 2019; OLADEJI *et al.* 2019; FOUAD; AZZA; MAI, 2019; ROCCHETTI *et al.*, 2020) e helmintos (KANDIL *et al.*, 2018).

Cáceres e colaboradores (1991) avaliaram o potencial antibacteriano de extratos de folhas frescas e extratos aquosos de sementes de *M. oleifera*, observaram que os extratos foram capazes de inibir o crescimento das cepas de *P. aeruginosa* e *S. aureus*. Dahot (1998) analisando extratos aquosos de folhas secas de *M. oleifera*, verificou atividade antibacteriana frente as cepas *Klebsiella areogenes*, *S. aureus* e *Bacillus subtilis*.

Atualmente, há diversos estudos sobre as propriedades da *M. oleifera*, isso se dá devido a identificação de várias moléculas com atividade antimicrobiana a partir de extratos brutos de diferentes partes da planta (VIEIRA *et al.*, 2010; PEIXOTO *et al.*, 2011; BRILHANTE *et al.*, 2015; WANG; CHEN; WU, 2016).

Os extratos metanólicos de folhas secas de moringa mostraram atividade antimicrobiana, inibindo bactérias patogênicas, como *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Providencia stuartii* (DZOTAM; TOUANI; KUETE, 2016).

Em outra pesquisa, realizada por Oladeji e colaboradores (2019), foi observado que extratos (acetato de etila, etanol e clorofórmio) de folhas secas de *M. oleifera* apresentaram atividade antibacteriana contra as bactérias patogênicas *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Klebsiella* sp., *S. pneumoniae* e *B. cereus*.

A atividade antimicrobiana de extratos de folhas secas obtidos utilizando água fria, água quente e etanol, foi testada através do método de difusão em disco frente várias espécies de bactérias por Fouad, Azza e Mai (2019). O extrato etanólico de folhas secas apresentou atividade contra *Corynebacterium pseudotuberculosis*, *Corynebacterium ulcerans*, *E. coli*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *Citrobacter* spp., *Proteus vulgaris* e *P. aeruginosa*, o extrato obtido com água fria mostrou atividade contra *Citrobacter* spp., *C. ulcerans*, *E. coli*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *P. vulgaris* e *P. aeruginosa*, no entanto, os extratos de água quente não apresentaram atividade inibitória (FOUAD; AZZA; MAI, 2019). Uma pesquisa com extratos de folhas secas de moringa

obtidos com diferentes solventes (metanol 100 %, metanol 50 %, acetato de etila) demonstrou que os extratos metanólicos apresentaram uma expressiva atividade contra os patógenos gram-positivos *Bacillus cereus* e *Listeria innocua* (ROCCHETTI *et al.*, 2020).

Com relação aos extratos de sementes de *M. oleifera* vários trabalhos mostram sua atividade antimicrobiana. Saadabi e Zaid (2011) analisando o potencial antimicrobiano de extratos de sementes, verificaram que os extratos aquosos e metanólicos tiveram atividade contra *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, no entanto não apresentaram atividade contra nenhum fungo testado.

Os extratos aquosos de sementes também demonstraram atividade contra patógenos como *S. aureus*, *B. subtilis*, *S. typhimurium*, *E. aerogenes*, *P. aeruginosa* e *E. coli* (RUTTARATTANAMONGKOL; PETRASCH, 2015; VIRK *et al.*, 2019).

Andrade e Gorlach-Lira (2018) observaram atividade antimicrobiana de extrato aquoso de sementes de *M. oleifera* frente *S. aureus* e hidroalcólico frente *S. aureus*, *S. typhimurim* e *V. cholerae*. Vieira *et al.* (2010) também observou inibição de *S. aureus*, *Vibrio cholerae* e *E. coli* por extratos hidroalcólicos de sementes.

Existem menos dados sobre atividade antimicrobiana de extratos de cascas, raízes e flores. Por exemplo, extratos aquosos, clorofórmicos e alcoólicos de cascas e raízes, apresentaram inibição de *S. enteritica*, *Vibrio parahaemolyticus*, *E. coli* e *Listeria monocytogenes* (DALUKDENIYA; DE SILVA; RATHNAYAKA, 2016). Os extratos aquosos e etanólicos de flores demonstraram atividade antibacteriana contra *Aeromonas hydrophila* e *V. parahaemolyticus*, patógenos comumente encontrados em peixes (KUMAR; JAMES, 2019).

Os extratos de partes de moringa apresentam também atividade antifúngica. Os extratos metanólico, acetato de etila, aquoso, etanólico de sementes, cascas e folhas apresentaram atividade inibitória frente *Aspergillus flavus*, sendo que o extrato aquoso de sementes apresentou menor atividade e os extratos etanólicos e metanólicos de folhas e casca a maior atividade inibitória (AONDO *et al.*, 2018).

Um estudo realizado por Isitua, Ibeh e Olayinka (2016), investigou a atividade antifúngica de extratos etanólicos e aquosos de folhas secas de *M. oleifera* frente *C. albicans*, *A. niger*, *A. flavus*, *Aspergillus fumigatus* e *Cryptococcus neoformans*. A atividade antifúngica frente *C. albicans* também foi verificada para o extrato etanólico de flores de moringa (TALREJA, 2010).

Nesse contexto, os estudos acima citados demonstraram que a *M. oleifera* é uma alternativa econômica, viável, com forte atividade contra diversas espécies de microrganismos patogênicos (WANG *et al.*, 2016; PARAY *et al.*, 2018; LEONÍDIO *et al.*, 2019).

1.3.2 Atividade antioxidante

Todas as partes da moringa possuem atividade antioxidante, especialmente suas folhas, sementes e flores. Diversos compostos bioativos, como os polifenóis, flavonoides e ácido ascórbico, são responsáveis pela eliminação dos radicais livres que ocasionam o estresse oxidativo, inflamação e danos celulares (STOHS; HARTMAN, 2015; MILLA *et al.*, 2021). Os compostos mais conhecidos presentes em *M. oleifera* que possibilitam esta atividade são a miricetina, niazimicina, niacimicina A e B, ácido gálico e elágico, β -sitosterol, ácido felúrico, α -tocoferol, δ -tocoferol, γ -tocoferol, quercetina, vanilina, kaempferol, β -caroteno, atequina, isoquercetina e astragalina (MILLA *et al.*, 2021).

Al-Taweel e Al-Anbari (2019) relataram alta atividade antioxidante de extratos metanólicos de folhas de moringa e relacionaram essa atividade com alto conteúdo (21,52%) de compostos fenólicos, como a gardenina.

Fejér e colaboradores (2019) estudando a atividade antioxidante de folhas e sementes de moringa, observaram que a quantidade de fenóis nos extratos de sementes e folhas varia de 1 % a 3 % da matéria seca, sendo que maior conteúdo de substâncias fenólicas totais foi observado no extrato foliar (635,6 mg EAG/L) em comparação com extrato de sementes (229,5 mg EAG/L). Autores indicaram forte correlação entre atividade antioxidante e conteúdo de compostos fenólicos em extratos etanólicos.

Utilizando extrato etanólico de folhas de moringa, Galdino *et al.* (2021) obtiveram como resultado maiores atividades antioxidantes nas concentrações 100 mg/ml ($71,39 \pm 0,52$) e 500 mg/ml ($52,21 \pm 0,19$). Sendo assim, a atividade antioxidante observado no estudo pode ser justificada pela alta quantidade de compostos flavonoides e fenólicos presentes no extrato etanólico, uma vez que, essas substâncias possuem um elevado potencial de redução de radicais livres.

1.4 Composição fitoquímica de *M. oleifera*

Os fitoquímicos são caracterizados por serem um grupo de produtos químicos produzidos pelas plantas através do metabolismo primário ou secundário que as protegem contra ameaças temporárias ou contínuas e têm um função no crescimento e reprodução das plantas (SAMANTA *et al.*, 2018). Com base em sua estrutura química, os fitoquímicos podem ser classificados em três categorias principais: compostos contendo nitrogênio/enxofre, terpenos e fenóis, que incluem flavonóides, lignanas, estilbenos e ácidos fenólicos (LIN; ZHANG; CHEN, 2018).

Os compostos fenólicos são metabólitos secundários de plantas presentes principalmente como derivados do ácido hidroxicinâmico (fenólicos livres) e ácido hidroxibenzóico (fenólicos ligados). Os principais compostos fenólicos encontrados nas folhas de moringa são lignanas (medioresinol, isolariciresinol, secoisolariciresinol e glicosídeos de epipinoresinol), 26 flavonóides (quercetina, kaempferol, apigenina, luteolina e miricetina) e 11 ácidos fenólicos e seus derivados (ou seja, cafeoilquínico, ácidos feruloilquínico e cumaroilquínico e seus isômeros) (KASHYAP *et al.*, 2022).

Os glucosinolatos são metabólitos secundários exclusivos da ordem Brassicales, sendo geralmente abundantes em todas as partes da moringa, principalmente nas sementes e folhas, exceto em suas raízes, e são responsáveis pela conversão de glucosinolatos em isotiocianatos (KARIM *et al.*, 2016; LOPEZ-RODRIGUEZ *et al.*, 2020). O maior teor de glucosinolatos é encontrado em sementes e folhas da moringa (SAINI; SIVANESAN; KEUM, 2016), sendo o benzil 4-O-(α -L-ramnopiranosiloxi)-glucosinolato predominante.

Os taninos são substâncias fenólicas solúveis em água que formam complexos com outras substâncias como alcaloides, proteínas, metais e macromoléculas, também descritos como compostos fitoquímicos encontrados nas folhas e sementes de moringa (MONTEIRO *et al.*, 2021). As saponinas são compostos pertencentes ao grupo dos glicosídeos esteroides ou triterpenoides e são caracterizados por abrangerem um grande número de compostos biologicamente ativos (LEONÍDIO *et al.*, 2019).

Nas folhas e sementes da *M. oleifera* são encontrados por exemplo alcalóides, que são uma classe de compostos alcalinos orgânicos contendo nitrogênio, com propriedades antimurais, antibacterianas, analgésicas, anti-inflamatórias, entre outras. Entre eles, os alcalóides *N*, α -L-ramnopiranosil vincosamida, Nácido -benzilcarbâmico, deoxi-niazimicina, 3-dibenzil ureia e acetato de aurantiamida exercem efeitos protetores contra doenças cardiovasculares e participam na remoção de radicais livres (XIE *et al.*, 2021).

Além dos compostos já descritos acima, nas sementes, ainda são encontrados fitoesteróis, sendo os estigmasterol, campesterol e β -sitosterol os mais abundantes, e os fitatos (MILLA *et al.*, 2021).

1.5 Resistência de microrganismos aos antibióticos

Os antibióticos são os agentes geralmente usados em tratamentos e prevenções de infecções causadas por bactérias. Devido à sua estrutura e grau de afinidade aos sítios-alvo, são classificados em aminoglicosídeos, carbapenêmicos, cefalosporinas, diaminopirimidinas, macrólidos, polimixinas, penicilinas, quinolonas, sulfonamidas e tetraciclina (LIU *et al.*, 2016; SULTAN *et al.*, 2018). Os antibióticos possuem diferentes mecanismos de ação em bactéria, tais como: (i) afetar a síntese da parede celular (β -lactâmicos), (ii) direcionar a maquinaria de síntese proteica via interação com subunidades ribossomais (aminoglicosídeos, cloranfenicol, tetraciclina etc.), (iii) interromper o processo de síntese de ácido nucléico (fluroquinosolonas e rifampicina), (iv) interferir nas vias metabólicas (sulfonamidas e análogos do ácido fólico) e (v) romper a estrutura da membrana bacteriana (polimixinas) (WALSH, 2010; SULTAN *et al.*, 2018).

A resistência aos antibióticos é antiga e o “resistoma” é um problema dinâmico e crescente (ASLAM *et al.*, 2018). O resistoma antibiótico compreende todos os elementos genéticos que podem conferir resistência às drogas, podendo ser distinguido em dois componentes gerais: resistência intrínseca (conferida por genes que são componentes essenciais no genoma central de um organismo) e resistência adquirida (resulta de genes introduzidos em um organismo sensível por meio de captura de elementos genéticos móveis) (HOBSON; CHAN; WRIGHT, 2021).

A resistência aos antimicrobianos (RAM) atualmente é um dos problemas globais de crescente preocupação para a saúde humana, ambiental e animal. Isso se deve ao aparecimento, disseminação e persistência de bactérias multirresistentes (MDR) ou “superbactérias” (ASLAM *et al.*, 2018).

As causas plausíveis que aceleram o “resistoma global” ou RAM incluem: o aumento do uso excessivo e indiscriminado de fármacos para fins medicinais, uso para produção de alimentos para animais e na agricultura, fatores como esses tem contribuído para o aumento do número de microrganismos resistentes por mecanismos intrínsecos (resistência natural, por exemplo). (ZIMERMAN, 2010; PROCÓPIO *et al.*, 2012; VENTURA *et al.*, 2016; ASLAM *et al.*, 2018).

A progressão de bactérias resistentes também pode ser motivada por meio de produção agrícola, onde as bactérias resistentes podem contaminar os vegetais pela exposição à água contaminada (na irrigação, por exemplo) ou até mesmo pelo solo contaminado, más condições de higiene, falta de saneamento, deslocamento e agrupamento de pessoas, entre outros (BRUINSMA *et al.*, 2002; VON NUSSBAUM *et al.*, 2006; HOLVOET *et al.*, 2013; ARAÚJO *et al.*, 2016).

Diante disso, a busca por novos compostos antimicrobianos tem se tornado uma constante, especialmente explorando as fontes naturais, como as plantas ricas em compostos bioativos, com alto potencial de uso no tratamento de doenças infecciosas e no combate dos microrganismos multirresistentes (GUIMARÃES; MOMESSO; PUPO, 2010; ELLER, *et al.*, 2015).

Dentre as diversas propriedades terapêuticas e medicinais das plantas, destaca-se a atividade antimicrobiana, ou seja, a capacidade inibitória de crescimento de bactérias ou fungos promovidos pelos extratos obtidos a partir dos vegetais (REIS *et al.*, 2011). Portanto, a atividade antimicrobiana de extratos vegetais pode demonstrar uma importante alternativa terapêutica e medicinal quando comparada a outros agentes químicos usados rotineiramente, contra os quais os microrganismos já expressam diversos mecanismos de resistência (TINTINO *et al.*, 2015).

1.6 Microrganismos patogênicos

Devido ao uso excessivo de antibióticos, diversos microrganismos patogênicos humanos evoluíram para tipos de MDR, como *S. aureus*, *E. coli*, *Enterococcus* spp., *P. aeruginosa*, *B. cereus* e *C. albicans* (ASLAM *et al.*, 2018; CHAVES *et al.*, 2019; FIEDLER *et al.*, 2019).

S. aureus é uma bactéria gram positiva, de formato esférico, imóvel, não formadora de endósporo (ALGAMMAL *et al.*, 2020). Essa espécie é encontrada na pele e mucosas de aproximadamente de 30 % da população humana e é muito comum em infecção nosocomial (CRAFT *et al.*, 2019).

Como um patógeno adaptável, *S. aureus* pode causar uma variedade de doenças após contaminação de uma ferida aberta (ponto de entrada). O furúnculo é o tipo mais comum de infecção por estafilococos em adultos e o impetigo, feridas vermelhas no rosto próximo ao nariz e boca, em crianças.

Essa espécie pode causar outras manifestações clínicas como endocardite, pneumonia, síndrome do choque tóxico, infecção osteoarticular e infecções por dispositivos proteicos e cateteres (CRAFT *et al.*, 2019).

Grande parte das cepas de *S. aureus* são resistentes a meticilina (MRSA), responsáveis por diversas infecções adquiridas nos hospitais e nas comunidades. A resistência a meticilina pode ser detectada pela técnica de PCR analisando a presença do gene *mecA*. As cepas MRSA demonstram padrão multirresistente, não apenas a resistência a meticilina, mas também para penicilina e outras classes de antimicrobianos variáveis abrangendo aminoglicosídeos, fluoroquinolonas, lincosamidas e tetraciclinas (ALGAMMAL *et al.*, 2020).

No Brasil há prevalência de infecções causadas por *S. aureus* e MRSA em hospitais, especialmente em Unidades de Terapia Intensiva. Rodrigues *et al.* (2015), avaliando a prevalência de *S. aureus* isolados do Hospital Universitário de Santa Maria (HUSM), verificou que entre o período de 2007 a 2011, 616 das 1,852 amostras de *S. aureus* eram resistentes a oxacilina. Siqueira e colaboradores (2022), analisaram amostras provenientes de pacientes internados no Hospital e Maternidade Municipal de Uberlândia, Minas Gerais, verificaram que 60,8 % das amostras de MRSA eram provenientes da UTI dos pacientes com idade superior a 66 anos.

Avaliando a relação entre a taxa de mortalidade por infecções hospitalares e resistência bacteriana aos antibióticos de 87.931 pacientes de 29 UTIs francesas, Bonnet *et al.* (2019) observaram que as cepas mais frequentes nas infecções foram *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp., *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Acinetobacter baumannii* e *Enterococcus faecium*, sendo *S. aureus* com a maior taxa de incidência (19,9 %) e resistência (30,7 %). E, quanto a taxa de mortalidade, foram verificados que os patógenos bacilos gram-negativos apresentaram taxa de 48,2 % e os cocos gram-positivos de 45,7 %.

Entre as bactérias com maior resistência aos antibióticos tem-se a *E. coli*, bacilo gram-negativo, o qual habita principalmente o trato intestinal inferior dos humanos e outros animais de sangue quente, e geralmente disseminado no meio ambiente através de estações de tratamento de águas residuais e fezes (PAITAN, 2018). Patógeno causador de uma variedade de doenças que afetam todas as faixas etárias, incluindo doenças intestinais, como infecções do trato urinário, gastroenterite, insuficiência renal, choque séptico, pneumonia, bacteremia e peritonite, entre outras (PAITAN, 2018; MUELLER; TAINTER, 2022).

O trato urinário é o local extra intestinal mais comum de infecção causada por *E. coli*, essas infecções são uma razão significativa para visitas ambulatoriais nos EUA e é a segunda maior causa de hospitalização após a pneumonia. São mais comuns em mulheres do que em homens, pois as bactérias ascendem pela uretra o que facilita a infecção (MUELLER; TAINTER, 2022).

Machado *et al.* (2019) avaliando 3.232 amostras coletadas no Laboratório de análises clínicas – Santa Helena, município de Jaraguá do Sul – SC, verificaram que 519 (16 %) apresentaram infecção do trato urinário (ITU), e, destes 458 eram mulheres (88,2 %) e 61 homens (11,8 %). Além disso foi possível verificar que as infecções acometeram pacientes cujas faixas etárias estavam entre 19 e 59 anos. Dentre todos os pacientes analisados com infecção do trato urinário, 324 apresentaram *E. coli* demonstrando prevalência de 62,4% e maior resistência a antimicrobianos como ampicilina, ácido nalidíxico e sulfametoxazol/trimetoprima.

Analisando 1.280 amostras de urina de pacientes mulheres (faixa etária entre 18 e 65 anos) com sintomas de infecção do trato urinário de centros de cuidados primários de seis países europeus, Ny *et al.* (2019) mostrou a prevalência de isolados de *E. coli* (775 pacientes, 60,5 %). Os autores registraram ainda que 21,6 % e 17,9% de culturas negativas e positivas para outras espécies bacterianas, respectivamente.

Bacillus cereus é uma bactéria gram-positiva, bastante conhecida por estar presente em uma variedade de ambientes. Possui grande relevância para a indústria alimentícia, pois está associado à deterioração dos alimentos, e consequentemente na deterioração da qualidade dos alimentos, assim como da segurança alimentar, afetando a saúde pública e economia. É frequentemente presente em especiarias, ervas secas e frescas e vegetais frescos (alface, cenoura, pepino, entre outros).

É caracterizado por ser um patógeno oportunista capaz de causar uma série de doenças, especialmente doenças transmitidas por alimentos devido a produção de enterotoxinas (toxina diarreica) ou uma toxina de peptídeo sintetase não ribossomal (toxina emética) (FIEDLER *et al.*, 2019).

No Brasil, um dos agentes comumente envolvidos nos casos de doenças transmitidas por alimentos (DTAs) é o *B. cereus*, visto que é encontrado em equipamentos, utensílios mal higienizados utilizados no preparo de refeições. Por ser um microrganismo mesófilo, possui uma temperatura ótima de crescimento entre 30 – 40 °C, o que favorece sua capacidade de resistir ao calor, além de resistir a baixos índices de pH e condições de dessecação (MORICONI *et al.*, 2020).

Yu *et al.* (2020) coletaram um total de 860 amostras de alimentos prontos para o consumo em mercados de varejo e supermercados de grandes cidades chinesas, as amostras incluíram carne cozida (656 amostras), pratos de frios vegetais em molho (85 amostras) e arroz/macarrão (119 amostras). Como resultado da pesquisa, 224 das 656 amostras de carne cozida (34 %), 59 das 119 amostras de arroz/macarrão (50 %) e 19 das 85 amostras de pratos frios de legumes (22 %) foram positivas para *B. cereus*.

Pertencente ao gênero *Enterococcus*, a espécie *E. faecalis*, bactéria anaeróbica gram – positiva, normalmente é encontrada em cavidade oral humana, trato gastrointestinal e vagina, devido a sua ótima adaptação a esses ambientes ricos em nutrientes e com baixo nível de oxigênio (ALGHAMDI; SHAKIR, 2020). Essa espécie causa doenças inflamatórias intestinais (colite ulcerativa e doença de Crohn), infecções endodônticas e periodontais crônicas, além de sere responsável por duas vezes mais infecções relacionadas à saúde do que outras espécies do mesmo gênero. Infecções causadas por *E. faecalis* tem aumentado nas últimas décadas, provavelmente devido a sua capacidade de persistir em instalações de saúde. Além disso, essa espécie está frequentemente associada a bacteremia adquirida nas comunidades (KAO; KLINE, 2019).

E. faecalis tem sido um patógeno muito comum nos ambientes hospitalares. Uma pesquisa feita por Acioly e colaboradores (2016), demonstrou que a maioria dos *Enterococcus* spp., isolados de 726 amostras clínicas de pacientes internados em hospitais públicos da cidade de Fortaleza – CE, foram pertencentes principalmente as espécies *E. faecalis* (77,3 %) e *E. faecium* (22,7 %). Em um estudo semelhante, Esmail, Adbulghany e Khairy (2019) coletaram amostras de 300 pacientes que desenvolveram sinais clínicos de infecção de feridas cirúrgicas e bacteremia, e identificaram 26 isolados de *E. faecalis*, sendo que todos os isolados foram resistentes aos antimicrobianos como tetraciclina, ampicilina e cefepima. Portanto, devido ao alto nível de resistência aos antibióticos, torna-se um grande desafio o tratamento de infecções causadas por *E. faecalis*.

A *P. aeruginosa* é um bacilo gram-negativo, não esporulado e estritamente aeróbico, caracterizada como uma bactéria não fermentadora de glicose (CHAVES *et al.*, 2019). *P. aeruginosa* é considerado um patógeno oportunista muito comum em ambientes hospitalares, especialmente, em unidades de terapia intensiva (UTI), e capaz de adquirir resistência a diversas classes de antibióticos. Essa espécie está diretamente envolvida em diversas infecções potencialmente fatais em UTI, como septicemia e

endocardite, pneumonia, cistite, infecções do trato urinário e de feridas cirúrgicas (PACHORI; GOTHALWAL; GANDHI, 2019).

Braga *et al.* (2018), analisaram pacientes internados em UTIs de 28 hospitais de algumas cidades de Minas Gerais, através de dados coletados por triagem sistemática dos prontuários dos pacientes e, quando necessário, por meio de exame direto. Ao todo, os 28 hospitais tinham 5.027 leitos, incluindo 371 leitos de terapia intensiva, no qual 303 leitos estavam ocupados durante o período da pesquisa. Dos 303 pacientes, 155 (79,4 %) foram infectados dentro da UTI e 20,6 % fora da UTI, sendo *P. aeruginosa* a bactéria gram negativa mais comum encontrada nos exames microbiológicos.

Muitas vezes o diagnóstico microbiológico de infecção de trato respiratório inferior é desafiador, uma vez que é possível a contaminação das amostras por microrganismos do trato respiratório superior. No entanto, analisando um total de 229 amostras coletadas de pacientes com infecções do trato respiratório inferior, internados em um hospital da China, Yang e colaboradores (2021) obtiveram dentre 229 culturas de amostras, um total de 137 (59,8 %) identificadas como *Pseudomonas* sp., sendo 79 (57,7 %) da espécie *P. aeruginosa*. A presença de *P. aeruginosa* foi significativamente maior do que outras espécies do mesmo gênero. Sendo assim, é essencial o diagnóstico preciso para um tratamento ágil e eficaz.

A espécie *C. albicans*, pertencente a gênero *Candida*, é um organismo polimórfico que sofre várias transições morfológicas entre as formas de levedura, pseudo-hifa e hifa. Apresenta colônias úmidas, cremosas, branco-amarelada com odor específico em meio de cultura. Microscopicamente, as leveduras possuem formato esférico, alongado ou ovoide, medem entre 3 a 5 µm de diâmetro (SOARES *et al.*, 2018). Em indivíduos saudáveis, *C. albicans* está presente como um comensal inofensivo em regiões da cavidade oral ou no trato gastrointestinal, porém, em indivíduos gravemente imunocomprometidos, esse fungo pode se disseminar na corrente sanguínea e colonizar órgãos internos, e consequentemente causar infecções sistêmicas com risco de vida (LEE *et al.*, 2020)

É a espécie fúngica mais isolada de infecções superficiais e invasivas sendo capaz de causar candidíase ou até mesmo candidemia (TALAPKO *et al.*, 2021). Mesmo diante dos altos níveis de morbidade, as infecções superficiais causadas pela *C. albicans* não causam letalidade, porém, a candidíase sistêmica está associada a uma elevada taxa de mortalidade, mesmo com tratamento antifúngico de primeira linha (SOARES *et al.*, 2018).

Maranhão *et al.* (2019) definiu a epidemiologia das micoses e o perfil de seus agentes etiológicos em Alagoas, no período 2009 - 2016, em que foram obtidos dados de 3.316 pacientes dos principais laboratórios da cidade. Foram confirmadas micoses de 3.776 amostras de todos os pacientes, pois alguns pacientes possuíam múltiplos sítios infectados por fungos do mesmo gênero/espécie ou espécies diferentes. As amostras positivas demonstraram que a incidência foi maior em mulheres com idade média de 40 anos e principalmente, nas amostras de secreção vaginal (42%), apresentando *Candida* spp. e a espécie *C. albicans* como mais frequente.

No estudo feito por Anh e colaboradores (2021), entre 2019 e 2020, foram analisadas as amostras vaginais de 462 mulheres não grávidas com quadro clínico sugestivo de candidíase vulvovaginal, de uma clínica de obstetrícia e ginecologia no Vietnã. Das 462 das amostras coletadas, 237 (51,3 %) das pacientes foram diagnosticadas com infecção. Nas amostras positivas para candidíase a *C. albicans* foi a mais frequente (51,4 %). No mais, foi observado que 17 pacientes apresentavam uma coinfeccção, ou seja, mais de uma espécie de levedura do gênero *Candida* estavam infectando as pacientes.

É importante ressaltar, que diante da ampla incidência das bactérias acima descritas, as quais são agentes causadoras de diversas doenças, apresentando muitas vezes resistência aos antimicrobianos comumente utilizados em tratamentos contra infecções, seu combate se torna um desafio na área de saúde. Desta forma os tratamentos alternativos, com uso de plantas medicinais com propriedades terapêuticas, podem oferecer grande ajuda no combate desses e outros patógenos, especialmente contra as linhagens MRSA e bactérias multirresistentes.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Analisar a atividade antimicrobiana e antioxidante de extratos de folhas e sementes da *Moringa oleifera* Lam. e determinar sua composição fitoquímica.

2.2 Objetivos Específicos

- Obter extratos aquosos, metanólicos e etanólicos de folhas e sementes de *M. oleifera*;
- Avaliar a atividade antimicrobiana de extratos de *M. oleifera* frente as bactérias *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, MRSA, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, e levedura *Candida albicans* através do teste de antibiograma;
- Determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) de extratos de *M. oleifera*.
- Determinar a capacidade antioxidante dos extratos de *M. oleifera*;
- Determinar o teor dos compostos fenólicos totais nos extratos da *M. oleifera*;
- Realizar prospecção fitoquímica dos extratos de *M. oleifera* através da cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massas (HPLC-MS).

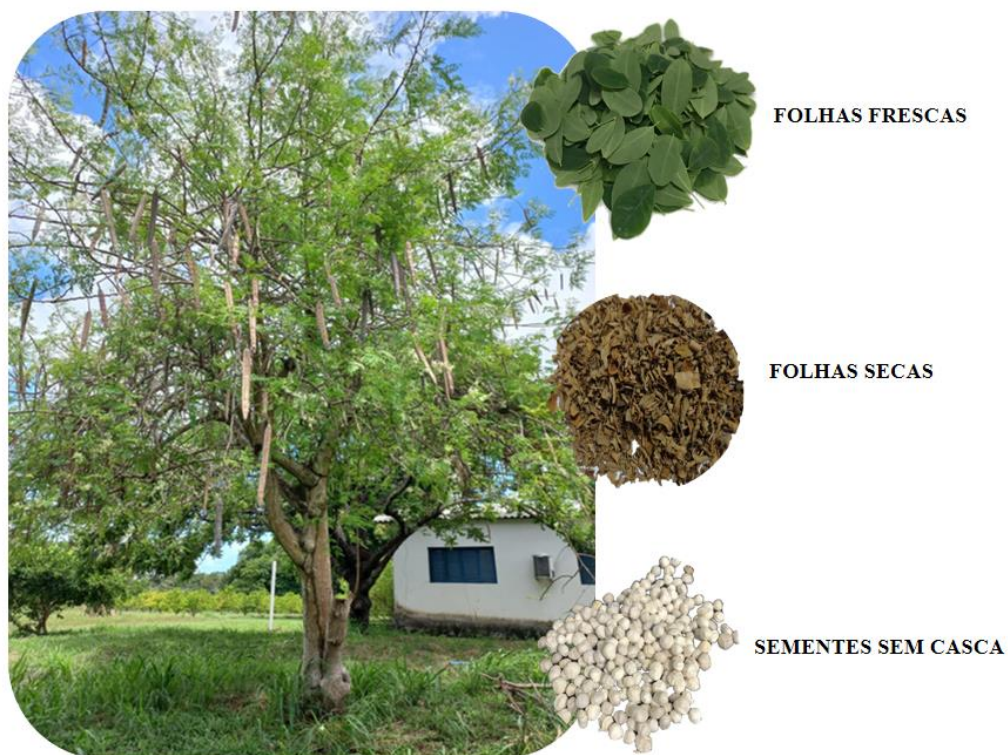
3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material vegetal

As folhas frescas, secas e sementes de *M. oleifera* foram obtidas de uma plantação no município de Pitimbu (coordenadas: 7°21'23"S e 34°49'36"W) no estado da Paraíba (Figura 2).

A atividade de acesso ao patrimônio genético foi cadastrada no SisGen em atendimento a Lei nº 13.123/2015 sob número de cadastro A0F8986.

Figura 2: *Moringa oleifera* e as partes usadas no preparo de extratos.



Fonte: Autoria própria, 2022.

As folhas frescas foram coletadas e transportadas ao laboratório para realizar o preparo do extrato no máximo de 2 horas após a coleta. As folhas secas foram obtidas pela secagem por 5 dias e as sementes foram escarificadas.

As folhas secas e as sementes foram submetidas ao processamento num liquidificador industrial para obter farinha fina, a qual foi utilizada para o preparo dos extratos.

O preparo dos extratos vegetais e análises de atividade antimicrobiana foram realizados no Laboratório de Biologia de Microrganismos do Departamento de Biologia Molecular (CCEN/UFPB).

3.2 Microorganismos

Foram utilizadas as cepas de bactérias *Bacillus cereus* (CCT0198), *Enterococcus faecalis* (NEWP 0012), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (NEWP 0039), *Pseudomonas aeruginosa* (NEWP 0027) e de levedura *Candida albicans* (NEWP 0031). Também foram usadas cepas clínicas de *S. aureus* resistentes à meticilina (MRSA): MRSA 712, MRSA S1, MRSA 984, MRSA R2, as quais foram cedidas pelo Hospital Universitário Lauro Wanderley da UFPB.

As cepas MRSA foram caracterizadas com relação a sua resistência aos cinco antibióticos comerciais: Ácido clavulânico + Amoxicilina 30 mcg (AMC), Ciprofloxacina 5 mcg (CIP), Estreptomicina 10 mcg (EST), Tetraciclina 30 mcg (TET) e Vancomicina 30 mcg (VAN), fabricados pelo CECON (Centro de Controle e Produtos para Diagnóstico), utilizando o método padrão de Kirby e Bauer (HUDZICKI, 2009). As cepas foram inoculadas em placas de Petri contendo meio de cultura Caldo de Infusão de Cérebro e Coração (*Brain-Heart Infusion* – BHI, HiMedia) por 24 horas a 37 °C, após esse período foi feita a suspensão de células em solução salina (NaCl 0,9%) com a turbidez de 0,5 da escala de McFarland. A suspensão bacteriana foi espalhada com o auxílio de um *swab* no meio de cultura Mueller Hinton Agar (hiMedia) e após 30 min foram adicionados à placa os discos de antibióticos. Após o período de incubação (37 °C, 24 horas) foi realizada a medição do diâmetro dos halos de inibição de crescimento utilizando paquímetro. Todas as análises foram feitas em triplicata.

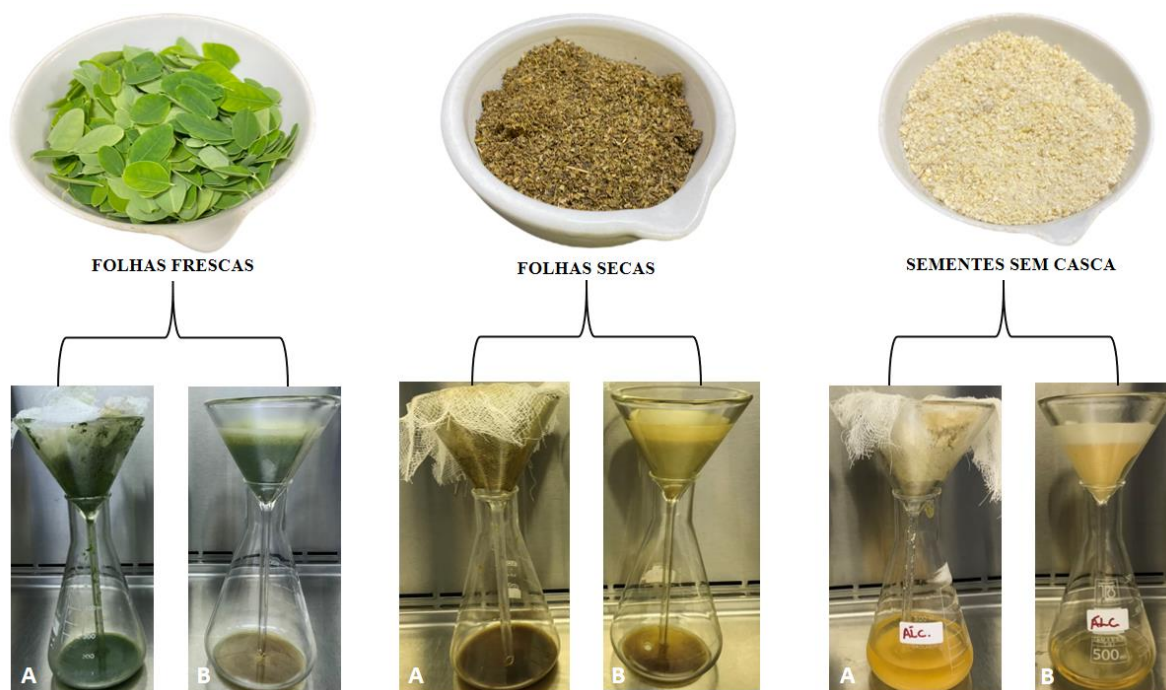
3.3 Preparo de extratos de folhas e sementes de *M. oleifera*

Foram preparados os extratos aquosos (folhas frescas, folhas secas e sementes), etanólicos e metanólicos (folhas secas e sementes). Para obtenção dos extratos foi utilizada metodologia de Dodiya e Amin (2015), com as modificações.

Para o preparo do extrato aquoso de folhas frescas 50 g de folhas recém retiradas da árvore foram pesadas e adicionadas ao blender contendo 250 mL de água destilada estéril. Após agitação por 5 min foi obtido o extrato pastoso, e após 30 min de manutenção

em temperatura ambiente (25 – 27 °C) o extrato foi filtrado utilizando gaze (tecido têxtil) e posteriormente papel filtro qualitativo (Unifil, 80 g) (Figura 3). O filtrado foi armazenado em frasco âmbar e congelados em freezer a -20 °C.

Figura 3: Processo de obtenção dos extratos de folhas frescas e secas e sementes de *M. oleifera*, demonstrando o processo de filtração.



Fonte: Autoria própria, 2022.

Legenda: Gaze (A) e papel filtro (B).

Quanto ao preparo do extrato aquoso das folhas secas, 30 g de farinha foram adicionados a um frasco escuro com 250 mL de água destilada estéril. Após 30 min de manutenção em temperatura ambiente (25 – 27 °C), o extrato foi filtrado utilizando gaze (tecido têxtil) e posteriormente um papel filtro qualitativo (Unifil, 80 g) e armazenado em freezer a -20 °C.

Para o extrato aquoso de sementes, foram adicionados a um frasco escuro 50 g da farinha e 250 mL de água destilada estéril. Após 30 min de manutenção em temperatura ambiente (25 – 27 °C), o extrato foi filtrado com auxílio de gaze e papel filtro qualitativo (Unifil, 80 g), em seguida o filtrado foi transferido para frascos âmbar e armazenados no freezer (-20 °C).

Os extratos aquosos de folhas frescas, secas e sementes foram liofilizados utilizando o equipamento L101 - Liobras, disponibilizado no Laboratório de Química de

Proteínas e Peptídeos (LQPP), localizado no Departamento de Biologia Molecular da UFPB.

Para os extratos etanólicos e metanólicos foram utilizadas 30 g de farinha de folhas secas e 50 g de farinha de sementes, adicionados a 250 mL do solvente. Os extratos acondicionados em frascos âmbar foram mantidos por seis dias em temperatura ambiente (25 - 27 °C) e foram agitados manualmente uma vez ao dia por 1min. Após esse tempo os extratos foram filtrados utilizando gaze e em seguida papel filtro (Unifil, 80g) e depositados em frascos âmbar. Os extratos foram submetidos a secagem em estufa de circulação (SL-102, Solab) à 40 °C.

Após a liofilização ou secagem, os extratos obtidos foram pesados e posteriormente solubilizados em Dimetilsulfóxido (DMSO) a 10 % (CORDOVA *et al.*, 2010). Os extratos foram armazenados em geladeira à aproximadamente 4 °C.

O rendimento dos extratos, em porcentagem, foi calculado de acordo com a equação 1 proposta por Mahmoud *et al.* (2017):

Equação 1. Porcentagem de rendimento de extrato vegetal.

$$\text{Rendimento de extração (\%)} = \frac{\text{Peso do extrato seco (g)}}{\text{Peso total do material vegetal (g)}} \times 100$$

3.4 Atividade antimicrobiana dos extratos de *M. oleifera*

3.4.1 Método de difusão em ágar

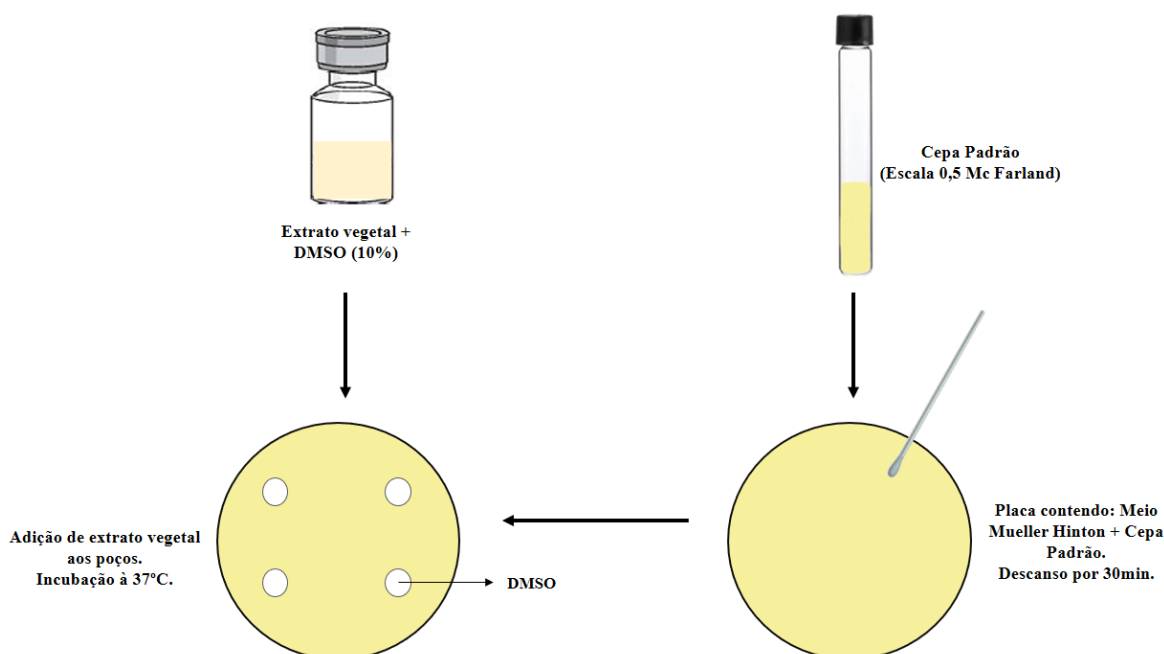
Avaliação de atividade antimicrobiana foi realizada pela técnica de difusão em ágar (HUDZICKI, 2009).

Os extratos foram ressuspensos em solvente DMSO 10% para obter a concentração de 500 mg/mL e em seguida foram filtrados em membrana de 0,22 µm, com filtro de seringa.

As cepas de bactérias e de levedura foram inoculadas em tubos contendo 10 mL de Caldo BHI (HiMedia), incubadas à 37 °C por 24 horas até a cultura atingir a densidade 0,5 da escala McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL). Quando necessário, a densidade foi ajustada adicionando a quantidade de meio estéril necessário.

Posteriormente, as células bacterianas foram espalhadas com o auxílio de um swab estéril na superfície de ágar Mueller- Hinton em placa de Petri. As placas ficaram em repouso por aproximadamente 30 minutos e em seguida em cada placa foram feitos quatro poços com 5 mm de diâmetro. Aos poços adicionou-se 50 μ L do extrato (três poços) ou 50 μ L de DMSO 10% (um poço - controle negativo). O teste foi feito em triplicata. As placas foram incubadas a 37 °C por 24 horas e após o período de incubação os diâmetros dos halos de inibição foram medidos utilizando paquímetro digital (Figura 4).

Figura 4: Análise da atividade antimicrobiana de extratos de *M. oleifera* pelo método de difusão em ágar.



Fonte: Autoria própria, 2022.

3.4.2 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

Para o ensaio da Concentração Inibitória Mínima foram utilizados os extratos que demonstraram atividade antimicrobiana no teste de difusão em ágar, ou seja, foram analisados todos os extratos, com exceção do extrato aquoso de folhas secas. A determinação da CIM foi realizada pelo método de microdiluição em caldo em microplacas de 96 poços de acordo com método de referência M7-A6 (NCCLS, 2003) para bactérias.

Os extratos foram ressuspensos em solvente DMSO 10% para obter a concentração de 50 mg/mL e em seguida foram filtrados em membrana de 0,22 μ m, com

filtro de seringa. Alguns dos extratos foram usados também em uma concentração de 200 mg/mL.

As cepas foram inoculadas em 10 mL de caldo BHI e incubadas em estufa bacteriológica, por 24 horas a 37 °C. Por seguinte, alíquotas de 1,5 mL da cultura foram transferidas para tubos de eppendorf e centrifugados a 12.000 rpm por 5 min a 25 °C. O sobrenadante foi descartado e as células foram ressuspensas em 500 µL de solução salina (0,9% de NaCl) e a densidade foi ajustada para a escala McFarland, nível 0,5 (3×10^8 UFC/mL).

Para a montagem da microplaca de 96 poços, foram adicionados aos poços das colunas 1-12 100 µL de caldo BHI, exceto coluna 9. Em seguida, alíquotas de 100 µL do extrato (50 mg/mL ou 200 mg/mL) foram adicionadas aos poços da coluna 1, e foram feitas diluições seriadas seguindo da coluna 1 a 9, homogeneizando o conteúdo do poço e transferindo alíquotas de 100 µL para poços da próxima coluna utilizando pipeta multicanal. Nessa etapa o volume final dos poços foi 100 µL de extrato e de meio de cultura. Em seguida, alíquota de 10 µL do inóculo de bactérias foi adicionada a cada poço, com exceção da coluna 11.

As colunas 10 a 12 foram usadas como controle do teste (sem extrato): controle positivo - coluna 10 (100 µL de meio de cultura, 10 µL de NaCl 0,9% e 10 µL de inóculo), controle do meio de cultura - coluna 11 (100 µL de meio de cultura e 10 µL de NaCl 0,9%, sem inóculo), controle negativo - coluna 12 (100 µL meio de cultura e 10 µL de inóculo e 50 µL do antibiótico amoxicilina 50 mg/mL).

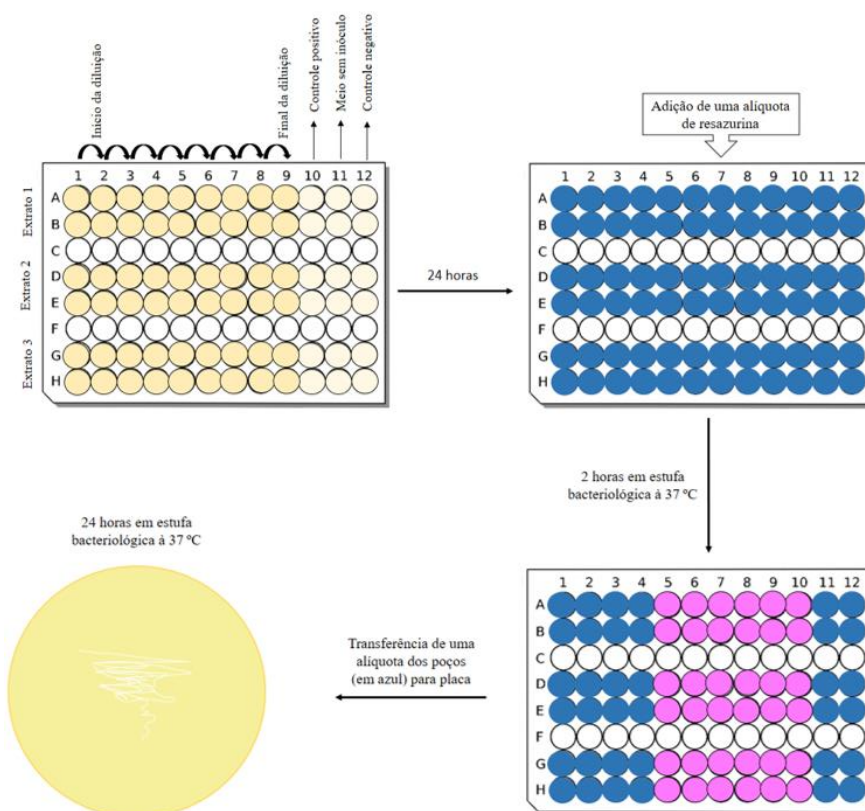
As placas foram incubadas em estufa bacteriológica por 24 hrs à 37 °C. Em seguida, para análise do crescimento bacteriano foi adicionado a cada poço 10 µL de resazurina (0,01%). Após duas horas de incubação da microplaca à 37 °C realizou-se a leitura visual, no qual a cor azul da resazurina caracterizou ausência de crescimento microbiano, enquanto sua modificação para cor rosa revelou o crescimento do microrganismo testado (Figura 5).

3.4.3 Determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM)

Para estimar a CBM, as alíquotas de 10 µL de cada poço, de coloração azul, da microplaca de 96 poços, contendo meio de cultura, extrato e inóculo bacteriano, foram semeadas em meio ágar BHI em placas de Petri, as quais foram incubadas à 37 °C por 24 h. Após o tempo de incubação, as placas foram avaliadas com relação ao crescimento de

bactérias. O CBM foi considerado a menor concentração do extrato a partir da qual não foi observado crescimento microbiano (Figura 5).

Figura 5: Determinação de Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) no ensaio em microplaca de 96 poços utilizada nos testes de microdiluição de extratos de *Moringa oleifera*.



Fonte: Autoria própria, 2022.

Legenda: Coloração da resazurina, em azul demonstra a ausência do crescimento microbiano e em rosa demonstra presença do crescimento microbiano.

3.5 Atividade antioxidante dos extratos de *M. oleifera*

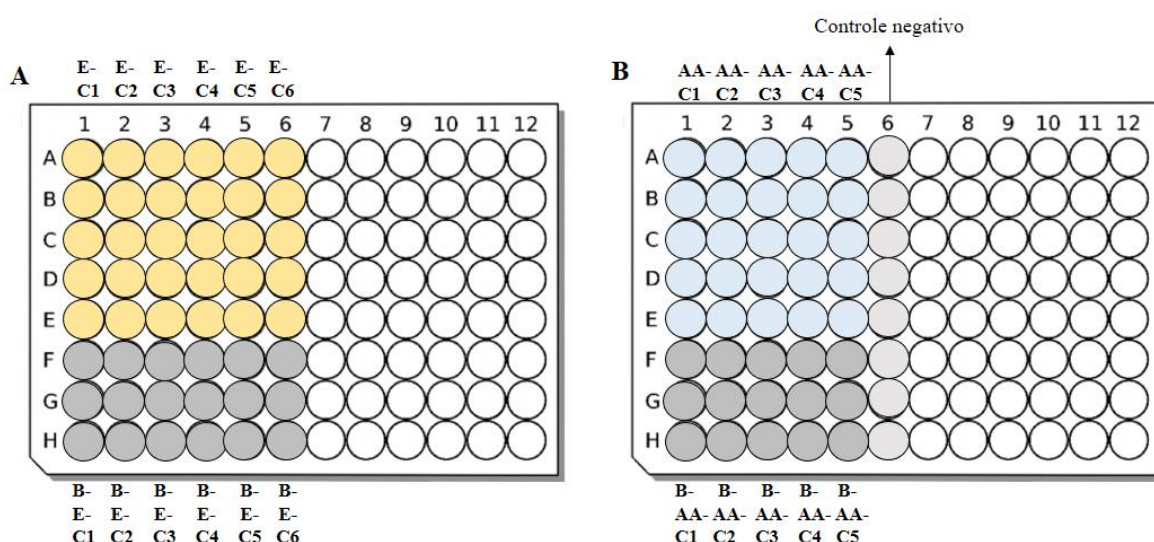
As análises do potencial antioxidante dos extratos foram realizadas no Laboratório Multiusuário de Caracterização e Análises (LMCA/UFPB).

O potencial antioxidante dos extratos de moringa foi determinado pela capacidade de sequestro do radical 2,2 - difenil-1-picrilhidrazila (DPPH) utilizando a metodologia descrita por Garcez *et al.* (2009), com algumas adaptações.

O método consiste em verificar o consumo do radical livre DPPH através da diminuição da absorbância quando submetido a diferentes concentrações dos extratos. Foi preparada uma solução estoque de cada extrato cuja concentração inicial foi 1mg/mL, utilizando o solvente metanol – água (1:1) para a dissolução. Posteriormente, foram feitas diluições seriadas dessa solução inicial, resultando em seis concentrações: 150 µg/mL, 200 µg/mL, 250 µg/mL, 300 µg/mL, 350 µg/mL e 400 µg/mL. Em paralelo, foi feita a solução inicial de ácido ascórbico (AA) cuja concentração inicial foi 1mg/mL, usando o metanol como solvente, em seguida foram feitas diluições seriadas, resultando nas concentrações 5 µg/mL, 7,5 µg/mL, 12,5 µg/mL, 15 µg/mL e 17,5 µg/mL. A solução com AA foi utilizada como controle positivo do teste.

Para montagem da microplaca de 96 poços, foram adicionados aos poços 100µL de cada solução do extrato e 100 µL de DPPH 3 mM, assim, cada coluna representa uma concentração. Para preparação do controle positivo foi adicionado aos poços 100 µL do ácido ascórbico e 100 µL de DPPH 3 mM, já para o branco foram adicionados aos poços 100 µL do extrato vegetal e 100 µL de MeOH, por fim, para o controle negativo foram adicionados aos poços 100 µL de DPPH e 100 µL de MeOH. Todos ensaios foram feitos em triplicata (Figura 6).

Figura 6: Montagem da microplaca de 96 poços para o teste de sequestro do radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil).



Fonte: Autoria própria, 2022.

Legenda: Microplaca A: com o extrato de *M. oleifera* (E) em diferentes concentrações (C) e o branco (B). Microplaca B: microplaca com ácido ascórbico (AA) em diferentes concentrações (C), o branco (B) e controle negativo.

Após o tempo necessário para que a reação ocorresse, foi medida a absorbância das soluções através do espectrofotômetro UV-Visível, utilizando o comprimento de onda de 517 nm. A porcentagem de sequestro de radicais livres de DPPH por extratos em diferentes concentrações foi calculada expressando a porcentagem do índice de inibição, através da equação 2:

Equação 2. Índice de inibição de radicais livres de DPPH.

$$\% \text{ de inibição} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100$$

Onde: A0 é a absorbância do controle negativo e A1 é a absorbância da amostra + DPPH.

Os resultados foram expressos em CE₅₀ (concentração efetiva 50%) que corresponde a concentração do extrato (µg/mL) necessária para reduzir em 50% a quantidade do radical DPPH em solução.

3.6 Análise química dos extratos de *M. oleifera*

3.6.1 Determinação do teor de compostos fenólicos totais

As análises de determinação do teor de fenólicos totais foram feitas com colaboração do Laboratório Multiusuário de Caracterização e Análises (LMCA/UFPB), seguindo a metodologia de Singleton *et al.* (1999) com as modificações.

Inicialmente foi preparada a solução do reagente Folin-Ciocalteu a 10 % em água destilada e a solução de carbonato de sódio (Na₂CO₃) a 7,5 % em água destilada.

Foram preparadas as soluções dos sete extratos de *M. oleifera* em metanol: água (1:1) na concentração inicial de 1 mg/mL. Foi preparada a solução padrão de ácido gálico (AG), cuja concentração inicial foi 1 mg/mL. Em seguida foram feitas diluições seriadas de extratos e de ácido gálico obtendo as seguintes concentrações: 150, 100, 75, 50 e 25 µg/mL.

Para preparação do branco, foi transferido para um epperndorff 120 µL da amostra (extrato ou padrão) e adicionado 900 µL de água destilada.

Para preparação da reação, no escuro, foram transferidos 500 μL do reagente Folin-Ciocolteu (10%) para um eppendorff contendo 120 μL da amostra (extrato ou padrão; 1 mg/mL). As amostras ficaram em repouso por 8 minutos, e em seguida foi adicionada alíquota de 400 μL de Na_2CO_3 ao eppendorff com a mistura de reação. Os tubos ficaram em repouso por 120 minutos.

Após esse período, alíquotas de 200 μL da reação citada anteriormente foi transferida para a microplaca de 96 poços. Cinco poços de uma coluna (posição vertical) foram preenchidos com essas soluções para cada amostra, incluindo as amostras de ácido gálico. Para o branco foram transferidos 200 μL da solução previamente preparada anteriormente para três ultimas colunas e linhas da microplaca. Então, foi realizada a leitura da microplaca em espectrofotômetro UV-Visível no comprimento de onda de 765 nm. Os dados foram expressos em mg equivalentes de ácido gálico (EAG) por grama de amostra (mg EAG/g).

3.6.2 Análise de composição de extratos de *M. oleifera* pelo HPLC-MS

As análises de composição química dos extratos foram realizadas com colaboração do Laboratório Multiusuário de Caracterização e Análises (LMCA/UFPB).

Para realizar a análise cromatográfica foram utilizados os seguintes equipamentos: um sistema composto por unidade de bomba de solvente LC-20AD (vazão de 600 $\mu\text{L}/\text{min}^{-1}$); um desgaseificador online DGU-20A5; um controlador de sistema CBM-20A e um detector de arranjo de diodos SPD-M20A (190–800 nm).

A separação foi feita em 100-5-C18 4,6 $\times$ 250 mm (Kromasil, Bohus, Suécia). As injeções (20 μL) foram realizadas usando um amostrador automático (SIL-10AF). O solvente A era água acidificada (ácido fórmico a 0,1%) e o solvente B era metanol. A eluição consistiu em um gradiente exploratório linear (5 $\times$ 100% B) em 60 min.

Para determinar o perfil químico pelo padrão de fragmentação (MSn) foi utilizado um Sistema de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência Shimadzu (Kyoto, Japão), acoplado a uma fonte de íons de eletrospray (ESI) Amazon X (Bruker Daltonics, Billerica, MA, EUA).

Os parâmetros aplicados foram: capilar 4,5 kV, ESI em modo negativo, placa final offset 500 V, nebulizador 40 psi, gás seco (N_2) com vazão de 8 mL/min e temperatura de 200 °C. A fragmentação de CID, no Amazon X, foi obtida no modo MS/MS automático usando o modo de resolução aprimorado para o modo MS e MS/MS. Os espectros (m/z

50–1000) foram registrados a cada 2 segundos. As análises de HRMS foram realizadas seguindo os mesmos parâmetros citados anteriormente.

Os dados apresentados através dos espectros de massa, foram analisados a partir da interpretação de seus padrões de fragmentação de massa. E, para a avaliação abrangente das amostras, foram empregados dados fornecidos da literatura.

3.7 Análises estatísticas

Para os dados obtidos em ensaios de rendimentos de extratos, do teste de difusão em agár, da análise de Concentração Inibitória Mínima e de Concentração Bactericida Mínima foram calculadas as médias e desvio padrão utilizando o programa Excel 2016.

Para o teste de atividade antioxidante (DPPH) foi utilizado o Excel 2016 para cálculo das médias e desvio padrão, e o programa estatístico SisVar, versão 5.6, e teste Tukey para análise de variância.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Rendimentos dos extratos de *M. oleifera*

Os rendimentos dos extratos vegetais estão mostrados na tabela 1. Os dados indicam que o maior rendimento foi obtido para os extratos etanólicos e metanólicos tanto de folhas secas quanto de sementes, variando de 19,13 a 22,24 %. O rendimento de extratos aquosos variou de 7,26% (folhas frescas) a 9,36% (sementes).

Tabela 1: Rendimento dos extratos vegetais da *M. oleifera*.

Parte da planta	Solvente	Rendimento
Folhas Frescas	Água	3,63 g (7,26 %)
Folhas Secas	Água	2,20 g (7,35%)
	Etanol 70%	6,57 g (21,92%)
	Metanol 80%	5,73 g (19,13%)
Sementes	Água	4,68 g (9,36%)
	Etanol 70%	11,12 g (22,24%)
	Metanol 80%	10,54 g (21,10%)

Fonte: Autoria própria, 2022.

Corroborando com essa pesquisa, Adeoye *et al.* (2014) e Adepoju-Bello *et al.* (2017) avaliando os efeitos dos solventes no rendimento dos extratos de folhas de moringa, observaram que os extratos etanólicos e metanólicos possuíam um rendimento maior que os extratos aquosos.

Esses dados mostram que o etanol e metanol utilizados como solventes aumentam o rendimento devido sua maior solubilidade e forte capacidade de extração de fitoquímicos vegetais (ADEBAYO; ARSAD; SAMIAN, 2017).

4.2 Atividade antimicrobiana dos extratos de *M. oleifera*

4.2.1 Extratos de folhas

Os resultados da atividade antimicrobiana dos extratos de folhas frescas e secas de *M. oleifera* são mostrados na tabela 2.

Foi observado que entre os extratos testados, o extrato de folhas frescas apresentou a mais forte inibição (halos > 15mm) de *B. cereus*, *E. faecalis* e *S. aureus* (Tabela 2,

Figura 7). Os maiores halos de inibição foram observados para a MRSA R2 (25,56 mm) MRSA S1 (25,06 mm) e MRSA 712 (23,53 mm) (Tabela 2, Figura 7).

Quanto aos extratos de folhas secas, atividade inibitória foi observada apenas para extratos metanólicos e etanólicos (Tabela 2). Os extratos aquosos não demonstraram atividade antimicrobiana frente as cepas testadas (Tabela 2, Figura 8).

O extrato etanólico de folhas secas mostrou atividade frente a quatro cepas MRSA, sendo que a maior zona de inibição (13,90 mm) foi registrada frente a MRSA S1 (Tabela 2, Figura 9). Quanto ao extrato metanólico de folhas secas foi observada sua atividade inibitória frente a *B. cereus* e quatro cepas MRSA, com o maior halo de inibição para MRSA 984 (13,74 mm) (Figura 9).

Tabela 2: Atividade antimicrobiana de extratos de folhas frescas e secas de *M. oleifera*.

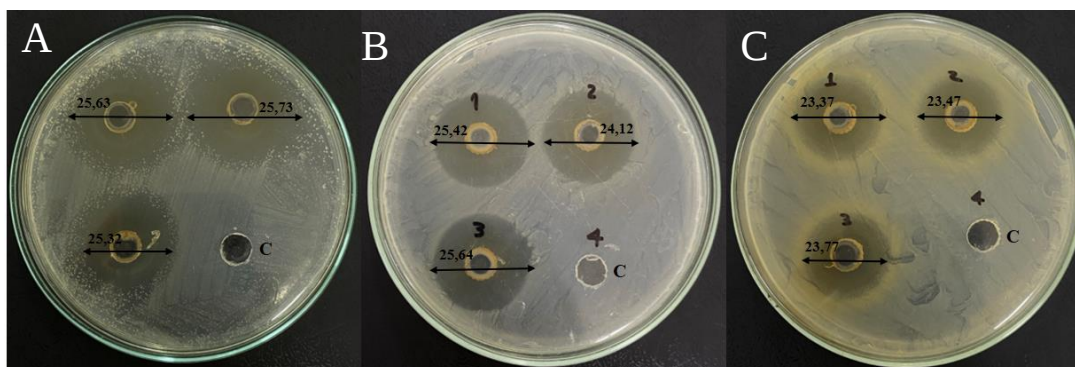
Isolado	Zona de inibição em mm ($\bar{x} \pm DP$)			
	Extrato Aquoso		Extrato Etanólico	Extrato Metanólico
	F. frescas	F. secas	F. secas	F. secas
<i>Bacillus cereus</i>	21,00 $\pm$ 0,82	-	-	13,04 $\pm$ 1,24
<i>Enterococcus faecalis</i>	15,72 $\pm$ 0,80	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	16,91 $\pm$ 1,27	-	12,90 $\pm$ 0,64	11,99 $\pm$ 0,37
MRSA S1	25,06 $\pm$ 0,82	-	13,99 $\pm$ 1,22	12,25 $\pm$ 1,21
MRSA R2	25,56 $\pm$ 0,21	-	13,42 $\pm$ 0,11	-
MRSA 712	23,53 $\pm$ 0,20	-	10,14 $\pm$ 0,67	11,43 $\pm$ 0,53
MRSA 984	17,99 $\pm$ 0,45	-	-	13,74 $\pm$ 1,26
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-
<i>Candida albicans</i>	-	-	-	-

Fonte: Autoria própria, 2022.

Legenda: (-) sem atividade; F. frescas – folhas frescas; F. secas – folhas secas; $\bar{x} \pm DP$: média $\pm$ desvio padrão.

Diversas plantas e seus extratos têm sido amplamente estudadas devido as suas atividades, especialmente antimicrobianas, pois demonstram ser altamente eficientes frente a diversas cepas microbianas (SOHAIB *et al.*, 2021). Os resultados apresentados demonstram que o potencial inibitório depende principalmente da parte da planta e do solvente utilizado no processo de extração (VANKWANI *et al.*, 2022).

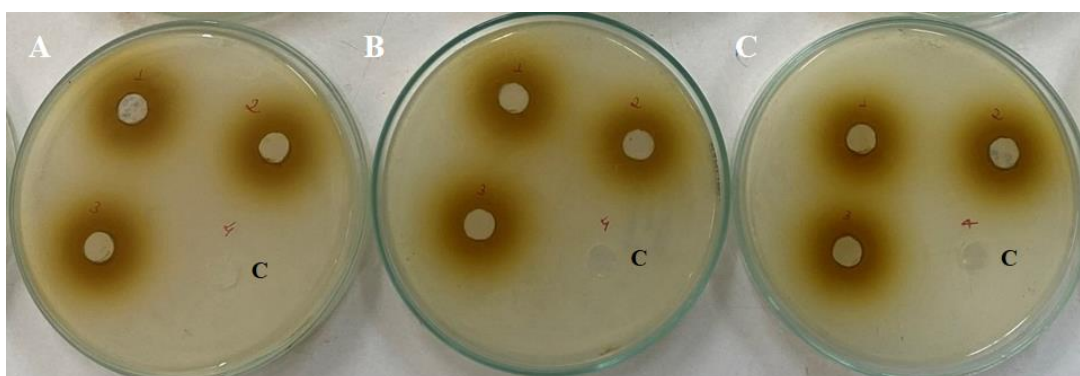
Figura 7: Atividade antibacteriana do extrato aquoso de folhas frescas de *M. oleifera* frente as cepas MRSA R2 (A), MRSA S1 (B) e MRSA 712 (C).



Fonte: Autoria própria, 2022.

Legenda: C – controle (10% DMSO)

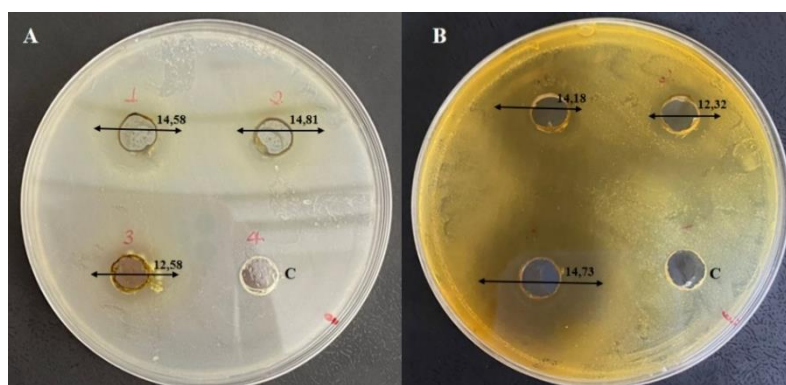
Figura 8: Atividade antibacteriana do extrato aquoso de folhas secas de *M. oleifera* frente as cepas MRSA 984 (A); MRSA S1 (B) e *B. cereus* (C).



Fonte: Autoria própria, 2022.

Legenda: C – controle (10% DMSO)

Figura 9: Atividade antibacteriana do extrato etanólico e metanólico de folhas secas de *M. oleifera* frente as cepas MRSA S1 (A) e MRSA 984 (B).



Fonte: Autoria própria, 2022.

Legenda: C – controle (10% DMSO)

Estudos sobre atividade antimicrobiana de extrato aquoso de folhas frescas de moringa ainda são poucos. Em nosso trabalho o extrato aquoso de folhas frescas demonstrou maior atividade antibacteriana frente aos microrganismos testados, especialmente, MRSA. A pesquisa realizada por Amabye e Tadesse (2016) também mostra a atividade antimicrobiana de extratos aquosos de folhas frescas frente a diversos microrganismos patogênicos como *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Streptococcus mutans*, *Bacillus subtilis* e *S. epidermidis*.

Nossos dados demonstram que os extratos aquosos de folhas secas não apresentaram atividade frente as dez cepas testadas. Semelhante, dados relatados por Vankwani *et al.* (2022) mostram que os extratos aquosos de folhas secas não apresentaram atividade contra *S. aureus* resistente a meticilina, no entanto quando se utilizou etanol e metanol como solventes foram observados halos de inibição de 10,5 mm e 11,5 mm, respectivamente. Akinduti e colaboradores (2022), estudando a atividade antimicrobiana de extratos aquosos frente a *S. aureus*, observou que em comparação a outras plantas, como *Acalypha wilkesiana* Mueli. Arg, *Azadirachta indica* Juss e *Vernonia amygdalina* Del., os extratos aquosos de folhas de *M. oleifera* exibiram uma baixa atividade, sendo inferior a 10 % comparado aos extratos das demais plantas.

Quanto aos extratos de folhas secas analisados no nosso trabalho foi possível observar que o extrato metanólico foi mais eficiente frente a *B. cereus*, *S. aureus*, MRSA S1, 712 e 984. Dodiya e Amin (2015), verificaram que o melhor solvente utilizado foi o metanol 80 % e em seguida o etanol 70 %, apresentando atividade antibacteriana frente a *S. aureus*, com zonas de inibição > 25mm. Garga e colaboradores (2019), avaliando a atividade antibacteriana de extratos metanólicos de folhas contra *S. aureus*, observaram zona de inibição (> 20 mm) foi verificada apenas na concentração de 500 mg/mL, e em concentrações inferiores não houve atividade.

4.2.2. Extratos de sementes

Os extratos aquoso e etanólico apresentaram atividade inibitória frente a *B. cereus*, *E. faecalis*, *S. aureus*, enquanto extrato metanólico frente *B. cereus* e *S. aureus* (Tabela 1). Nenhum extrato inibiu o crescimento de *E. coli*, *P. aeruginosa* e *C. albicans*.

O extrato aquoso de sementes apresentou maiores halos de inibição frente as cepas MRSA R2 (34,88 mm), MRSA S1 (31,93 mm) e MRSA 712 (30,02 mm) (Tabela 3, Figura 10).

O extrato etanólico demonstrou atividade frente as linhagens de *B. cereus*, *E. faecalis* e *S. aureus* padrão e todos MRSA, com halos de inibição variando entre 24,57 - 39,83 mm (Figura 11).

O extrato metanólico, diferente do aquoso e etanólico, não apresentou atividade frente *E. faecalis* e MRSA R2. Os maiores halos de inibição foram observados para MRSA S1 (29,34 mm), MRSA 712 (28,23 mm) e MRSA 984 (26,14 mm) (Tabela 3, Figura 12).

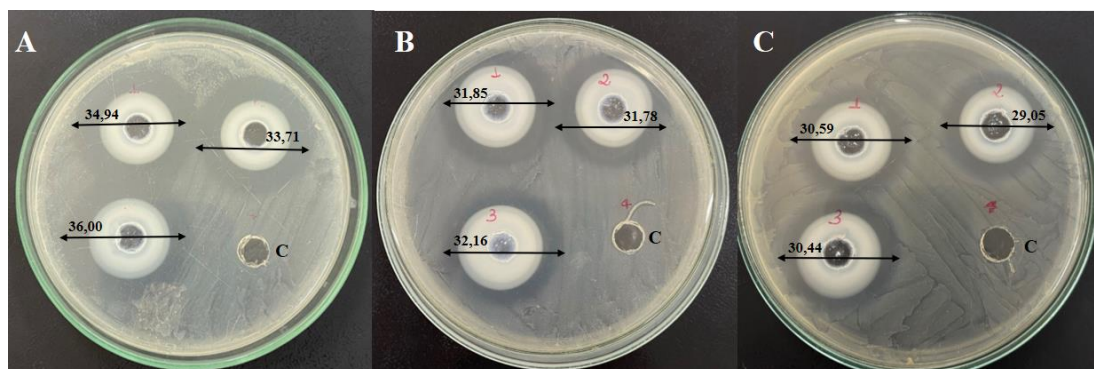
Tabela 3: Atividade antimicrobiana de extratos de sementes de *M. oleifera*.

Isolado	Zona de inibição em mm ($\bar{x} \pm DP$)		
	Extrato Aquoso	Extrato Etanólico	Extrato Metanólico
<i>Bacillus cereus</i>	26,63 $\pm$ 0,89	25,61 $\pm$ 1,92	23,94 $\pm$ 0,88
<i>Enterococcus faecalis</i>	24,80 $\pm$ 1,03	24,57 $\pm$ 0,32	-
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	30,00 $\pm$ 1,13	28,42 $\pm$ 1,01	24,72 $\pm$ 1,90
MRSA S1	31,93 $\pm$ 0,20	31,93 $\pm$ 1,35	29,34 $\pm$ 2,18
MRSA R2	34,88 $\pm$ 1,14	39,83 $\pm$ 0,35	-
MRSA 712	30,02 $\pm$ 0,84	35,92 $\pm$ 4,54	28,23 $\pm$ 0,43
MRSA 984	29,84 $\pm$ 1,45	30,27 $\pm$ 0,42	26,14 $\pm$ 1,12
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-
<i>Candida albicans</i>	-	-	-

Fonte: Autoria própria, 2022.

Legenda: (-) sem atividade; $\bar{x} \pm DP$: média $\pm$ desvio padrão.

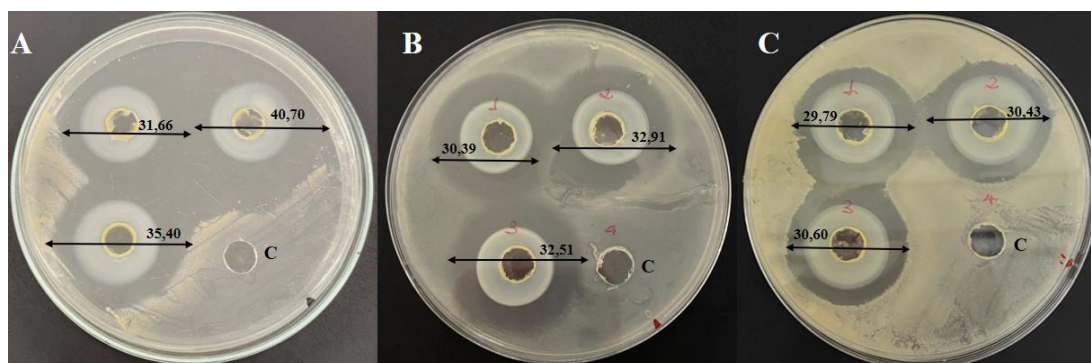
Figura 10: Atividade antibacteriana do extrato aquoso de sementes de *M. oleifera* frente as cepas MRSA R2 (A), MRSA S1 (B) e MRSA 712 (C).



Fonte: Autoria própria, 2022.

Legenda: C – controle (10% DMSO).

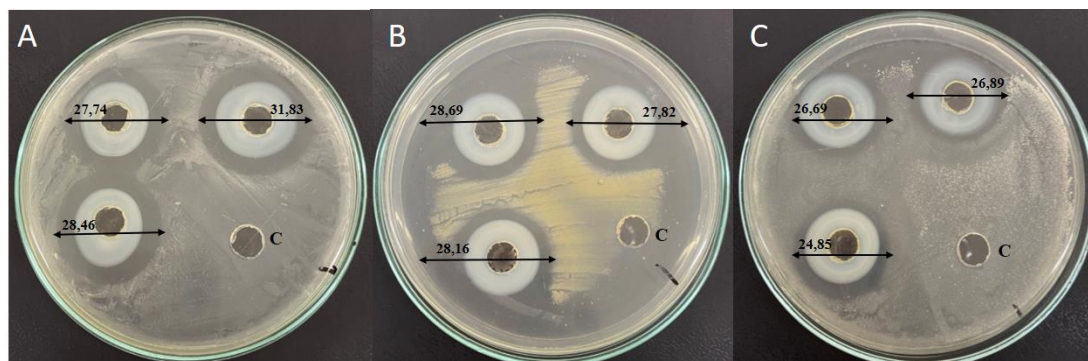
Figura 11: Atividade antibacteriana do extrato etanólico de sementes de *M. oleifera* frente as cepas MRSA R2 (A), MRSA 712 (B) e MRSA S1 (C).



Fonte: Autoria própria, 2022.

Legenda: C – controle (10% DMSO).

Figura 12: Atividade antibacteriana do extrato metanólico de sementes de *M. oleifera* frente as cepas MRSA S1 (A), MRSA 712 (B) e MRSA 984 (C).



Fonte: Autoria própria, 2022.

Legenda: C – controle (10% DMSO).

No nosso trabalho o extrato etanólico de sementes foi mais eficaz frente aos isolados de *S. aureus* quando comparado ao extrato metanólico. Dodiya *et al.* (2015), avaliando os extratos etanólico (70 %) e metanólicos (80 %) de sementes, obtiveram resultados semelhantes aos descritos nesse trabalho, pois os extratos etanólicos foram mais eficazes contra *S. aureus* (> 15mm).

O extrato aquoso de sementes demonstrou atividade frente aos microrganismos resistentes (MRSA S1, R2, 712 e 984) e padrão. Resultado semelhante foi observado na pesquisa de Abadallah e Ali (2019) em que avaliando o potencial antimicrobiano de extratos aquoso e etanólico de sementes da *M. oleifera* observaram atividade frente a *S. aureus* (7,23 – 12,60 mm) e *E. faecalis* (6,00 – 11,60 mm), os halos de inibição variando de acordo com a concentração do extrato, ou seja, quanto maior a concentração do extrato maior o diâmetro da zona de inibição.

Sharma, Wichaphon e Klangpetch (2020) relataram também maior atividade antimicrobiana dos extratos etanólicos de sementes de *M. oleifera* frente as cepas de *B. cereus* (19,75 mm) e *S. aureus* (19,25 mm). No entanto, o extrato etanólico de sementes não demonstrou atividade frente a *P. aeruginosa*, *E. coli* e *C. albicans*, resultado semelhante ao encontrado por Okafo, Akpo e Okafor (2020), em que o extrato foi capaz de inibir a cepa de *S. aureus*, mas não as bactérias gram-negativas e a levedura.

Os extratos aquoso, etanólico e metanólico não demonstraram atividade frente a duas bactérias: *P. aeruginosa* e *E. coli*, essa ausência de atividade antimicrobiana pode esta associada a diversos fatores, como à sua resistência (o que torna mais difícil sua suceptabilidade e gera problemas para os pesquisadores) e acredita-se que a menor suscetibilidade das bactérias gram-negativas esteja atribuída à presença da membrana externa de fosfolipídeos e lipopolissacarídeos, a qual as torna menos impenetráveis do que as bactérias gram-positivas (ABALAKA *et al.* 2012; SHARMA; WICHAPHON; KLANGPETCH 2020).

Além das bactérias citadas no paragrafo anterior, o fungo *C. albicans* também demonstrou resistência aos extratos de sementes. Resultado semelhante foi observado por Saadabi e Zaid (2011), em que os extratos aquoso e metanólico não apresentou atividade frente a *C. albicans*.

4.2.3 Sensibilidade das linhagens de *S. aureus* aos antibióticos

Os dados referentes a ação dos cinco antibióticos frente aos isolados de MRSA utilizados nesse trabalho são mostrados na Tabela 4.

As três cepas MRSA das cinco testadas demonstraram resistência a ciprofloxacina e uma a estreptomicina e ciprofloxacina (Tabela 4). Todas as cepas testadas foram sensíveis aos antibióticos tetraciclina, vancomicina e amoxicilina + ácido clavulânico (Tabela 4, Figura 13).

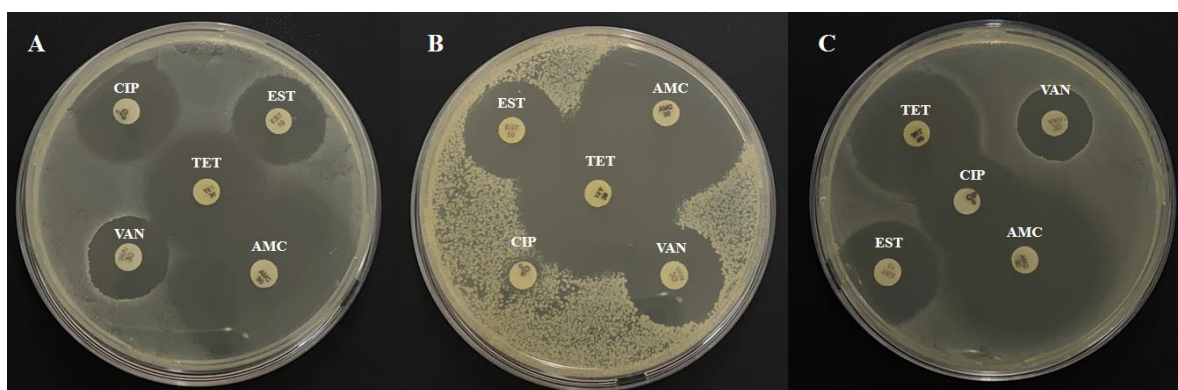
Tabela 4: Ação dos antibióticos frente as linhagens de *Staphylococcus aureus*.

Antibiótico	Zona de inibição em mm ($\bar{x} \pm DP$)				
	Cepas Padrão				
	<i>S. aureus</i> (ATCC 25923)	<i>S. aureus</i> R2	<i>S. aureus</i> S1	<i>S. aureus</i> 984	<i>S. aureus</i> 712
AMC	41,73 $\pm$ 2,71	45,07 $\pm$ 2,57	38,17 $\pm$ 2,36	41,63 $\pm$ 0,84	24,49 $\pm$ 0,41
CIP	25,04 $\pm$ 2,48	-	24,09 $\pm$ 0,93	-	-
EST	20,2 $\pm$ 3,30	30,01 $\pm$ 0,53	23,93 $\pm$ 0,25	23,87 $\pm$ 2,99	-
VAN	17,91 $\pm$ 1,76	29,62 $\pm$ 0,94	19,09 $\pm$ 0,81	22,53 $\pm$ 0,44	19,51 $\pm$ 0,18
TET	26,49 $\pm$ 3,09	43,42 $\pm$ 2	28,89 $\pm$ 0,89	38,05 $\pm$ 1,56	12,41 $\pm$ 0,61

Fonte: Autoria própria, 2022.

Legenda: AMC (Ácido Clavulânico + Amoxicilina); CIP (Ciprofloxacina); EST (Estreptomicina); TET (Tetraciclina); VAN (Vancomicina); (-) sem atividade, $\bar{x} \pm DP$: média $\pm$ desvio padrão.

Figura 13: Antibiógrama das linhagens *S. aureus* (A), MRSA 984 (B), MRSA S1 (C).



Fonte: Autoria própria, 2022.

Legenda: AMC (Ácido Clavulânico + Amoxicilina); CIP (Ciprofloxacina); EST (Estreptomicina); TET (Tetraciclina) e VAN (Vancomicina).

Dados sobre o perfil de resistência de isolados de *S. aureus* são muito importantes, uma vez que essa espécie é vista como um dos principais patógenos responsáveis por diversas manifestações clínicas como intoxicação alimentar em humanos e infecções em pele, pulmões e corrente sanguínea. Um agravante nas infecções por *S. aureus* é a resistência aos antimicrobianos, dentre as formas mais alarmantes está a resistência aos beta-lactâmicos meticilina, cefoxitina e/ou oxacilina, frequentemente observada para essa espécie (SOUZA *et al.*, 2020).

Resultados semelhantes são encontrados na literatura. Pereira *et al.* (2021) observou que 100 % dos isolados de *S. aureus* foram sensíveis a amoxicilina. Rath, Das e Padhy (2017) coletaram amostras de secreção purulenta de pacientes, onde as bactérias mais comumente isoladas foram *S. aureus* e *P. aeruginosa*, dentre os *S. aureus* 95,2% das amostras eram sensíveis à cloxacilina, 83,3 % à eritromicina e 78,5 % à gentamicina. Todos os isolados de MRSA eram multirresistentes; no entanto, nenhum era resistente à vancomicina.

Em nosso trabalho os extratos de moringa, assim como alguns antibióticos testados, demonstraram atividade antimicrobiana contra as linhagens MRSA, sendo que foram observadas algumas diferenças entre a atividade dos extratos nas quatro cepas testadas. O extrato aquoso de folhas frescas e, o extrato aquoso e etanólico de sementes demonstraram atividade contra todas linhagens (S1, R2, 712 e 984). O extrato metanólico de folhas e de sementes mostrou atividade contra os isolados MRSA S1, 984 e 712, e o extrato etanólico de folhas secas frente S1, R2 e 712. A linhagem MRSA 712 apresentou resistência aos antibióticos estreptomicina e ciprofloxacina, entretanto foi sensível à todos extratos de moringa testados.

4.3. Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos extratos de *M. oleifera*

A concentração inibitória mínima dos extratos foi avaliada para os isolados de *B. cereus*, *E. faecalis*, *S. aureus* ATCC 25923, MRSA S1, R2, 712 e 984 (Tabelas 5 – 6). Os extratos apresentaram ação inibitória frente esses isolados no teste de difusão em ágar.

4.3.1 Extratos de folhas

Para o extrato aquoso de folhas frescas foram obtidos os valores de CIM variando entre 0,78 - 50 mg/mL, sendo que a menor CIM foi verificada frente à *S. aureus* ATCC 25923 (Tabela 5, Figura 14 – A).

Quanto ao extrato etanólico de folhas secas, os valores de CIM encontradas foram entre 25 e 50 mg/mL, sendo que CIM de 25 mg/mL foi observada para *S. aureus* ATCC 25923 e MRSA S1 (Tabela 5, Figura 14 – B).

O menor valor de concentração inibitória mínima para os extratos metanólicos de folhas secas foi de 25 mg/mL para *S. aureus* e três cepas MRSA (Tabela 5, Figura 15).

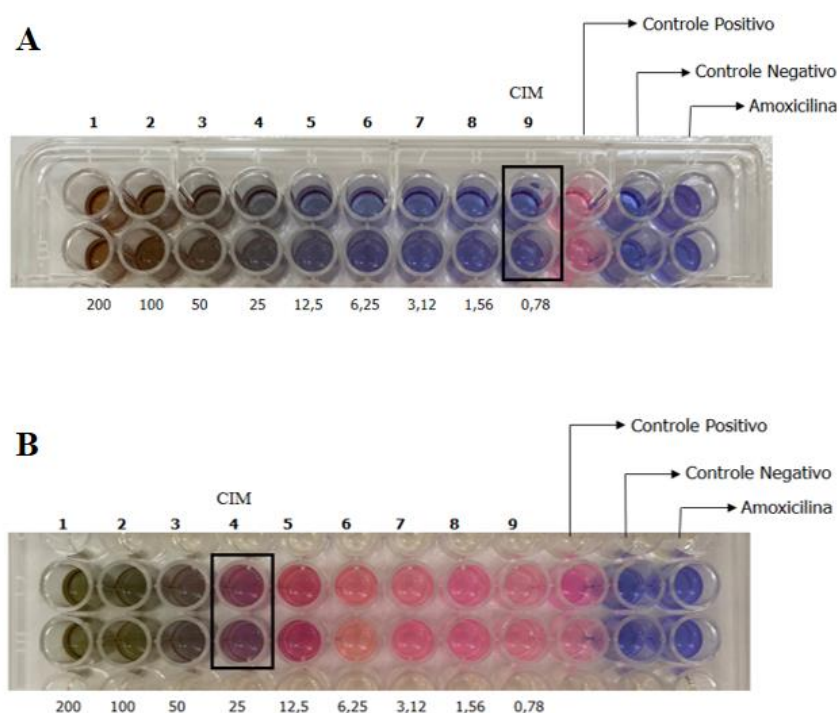
Tabela 5: Concentração Inibitória Mínima (CIM) expressa em mg/mL dos extratos de folhas frescas e secas de *M. oleifera*.

Parte da planta	Solvente	Linhagem						
		<i>B. cereus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S. aureus</i> (ATCC 25923)	MRSA S1	MRSA R2	MRSA 712	MRSA 984
Folhas frescas	Água	3,12	3,12	0,78	12,50	50,00	3,12	25,00
Folhas secas	Etanol 70%	-	-	25,00	25,00	50,00	50,00	-
	Metanol 80%	25,00	-	25,00	25,00	-	25,00	25,00

Fonte: Autoria própria, 2022.

Legenda: (-) sem atividade.

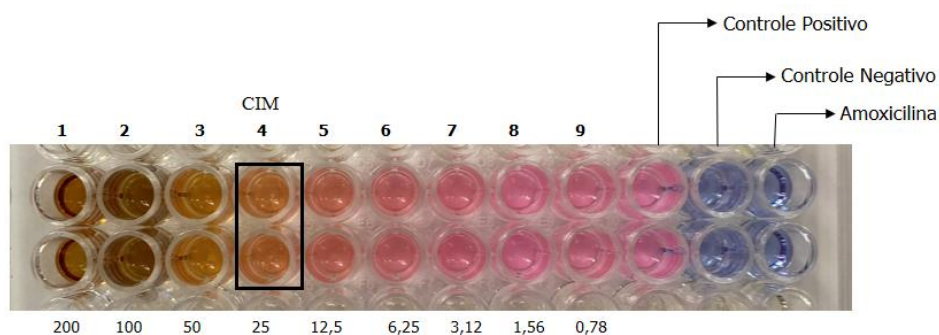
Figura 14: Concentração Inibitória Mínima (CIM) expressa em mg/mL do extrato aquoso de folhas frescas (A) e extrato etanólico de folhas secas (B) frente a *S. aureus* ATCC 25923.



Fonte: Autoria própria, 2022.

Legenda: Controles: positivo (meio de cultura sem extrato com inoculo); negativo (meio de cultura); amoxicilina (meio de cultura com amoxicilina 50 mg/mL e inoculo).

Figura 15: Concentração Inibitória Mínima (CIM) expressa em mg/mL do extrato metanólico de folhas secas frente a *S. aureus* MRSA 712.



Fonte: Autoria própria, 2022.

Legenda: Controles: positivo (meio de cultura sem extrato com inoculo); negativo (meio de cultura); amoxicilina (meio de cultura com amoxicilina 50 mg/mL e inoculo).

Os dados obtidos indicam que o extrato aquoso de folhas frescas demonstra uma eficiente atividade contra as cepas de *S. aureus*, inclusive contra as cepas MRSA. Esses dados são importantes, também devido ao fato que os estudos sobre extratos de folhas frescas de *M. oleifera* são ainda escassos.

Existem mais dados sobre os valores de CIM dos extratos de folhas secas e de sementes de *M. oleifera*. Taemchuay *et al.* (2021) relataram os valores de CIM de 64 e 128 mg/mL de extratos etanólicos de folhas secas para a *S. aureus*. Esses resultados são menores aos encontrados no presente trabalho.

Avaliando os extratos etanólicos de folhas de *M. oleifera*, Abadallah e Ali (2019) verificaram que a CIM (12,5 mg/mL) para *S. aureus* foi menor comparando com *E. coli* e *E. faecalis*. Unegbu *et al.* (2020), estudando os extratos aquosos e etanólicos de folhas secas de moringa verificou que a menor CIM observada para *S. aureus* e o extrato etanólico (25,5 mg/mL). No nosso trabalho, os valores de CIM do extrato etanólico de folhas observados para duas cepas de MRSA foram semelhantes (25 mg/mL) aos encontrados nos trabalhos citados.

Tabidi e colaboradores (2019) analisaram atividade de extrato metanólico de folhas secas frente *B. subtilis*, *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* e *Salmonella typhi*, e observaram o menor valor de CIM (25 mg/mL) para *S. aureus*, assemelhando-se ao encontrado nesta pesquisa frente a cepas MRSA.

4.3.2. Extratos de sementes

Os valores de CIM observadas para diferentes extratos e microrganismos testados variaram de 0,78 mg/mL a 200 mg/mL (Tabela 6).

Os menores valores de CIM (0,78 - 12,5 mg/mL) foram registrados para extrato aquoso, principalmente para linhagens MRSA S1 e R2 (Tabela 6, Figura 16 – A).

Para os extratos etanólicos CIM variou entre 25 (MRSA R2) e 200 mg/mL (*E. faecalis*) (Tabela 6, Figura 16 – B).

O extrato metanólico exibiu os valores de CIM de 50 – 100 mg/mL, sendo o valor mais frequente foi de 50 mg/mL (Tabela 6, Figura 17).

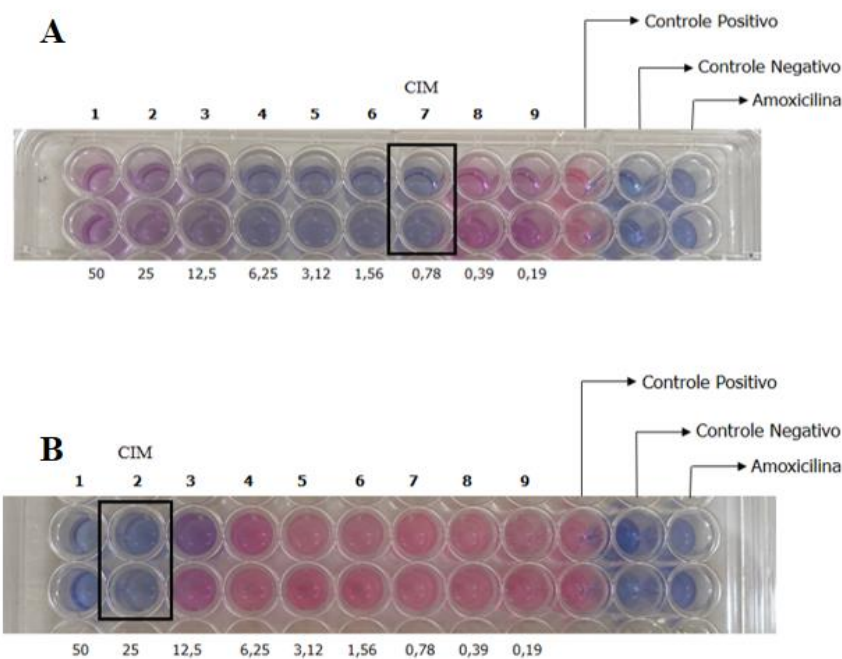
Tabela 6: Concentração Inibitória Mínima (CIM) expressa em mg/mL dos extratos de sementes de *M. oleifera*.

Parte da planta	Solvente	Linhagem						
		<i>B. cereus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S. aureus</i> (ATCC 25923)	MRSA S1	MRSA R2	MRSA 712	MRSA 984
Sementes	Água	3,12	12,50	3,12	0,78	0,78	6,25	3,12
	Etanol 70%	50,00	200,00	50,00	50,00	25,00	50,00	50,00
	Metanol 80%	50,00	-	100,00	50,00	-	50,00	50,00

Fonte: Autoria própria, 2022.

Legenda: (-) sem atividade.

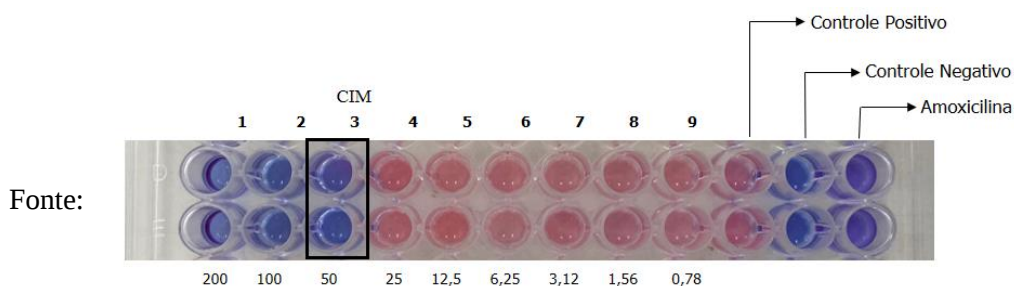
Figura 16: Concentração Inibitória Mínima (CIM) expressa em mg/mL do extrato aquoso (A) e etanólico (B) de sementes frente a *S. aureus* MRSA R2.



Fonte: Autoria própria, 2022.

Legenda: Controles: positivo (meio de cultura sem extrato com inoculo); negativo (meio de cultura); amoxicilina (meio de cultura com amoxicilina 50 mg/mL e inoculo).

Figura 17: Concentração Inibitória Mínima (CIM) expressa em mg/mL do extrato metanólico de sementes frente a *S. aureus* MRSA 984.



Autoria própria, 2022.

Legenda: Controles: positivo (meio de cultura sem extrato com inoculo); negativo (meio de cultura); amoxicilina (meio de cultura com amoxicilina 50 mg/mL e inoculo).

Os resultados referentes a ação antibacteriana apresentados nesse e outros trabalhos podem indicar a possibilidade do uso da *M. oleifera* no tratamento de infecções causados por *S. aureus*, incluindo MRSA

Nesse trabalho os menores valores de CIM foram observados para o extrato aquoso de sementes (0,78 - 6,25 mg/mL). Dados semelhantes foram relatados por Virk *et al.* (2019), onde foi determinado o valor de CIM de 6,25 mg/mL para o extrato aquoso de sementes frente a cepa de *S. aureus* multirresistente.

Com relação aos extratos etanólicos de sementes, Kheir, Kafi e Elbir (2015) e Abdulkadir *et al.* (2015) obtiveram resultados semelhantes. Kheir, Kafi e Elbir (2015) relataram os valores de CIM de 62,5 mg/mL e 31,25 mg/mL para MRSA, e *S. aureus* ATCC, respectivamente, e Abdulkadir *et al.* (2015) observou CIM de 50 mg/mL para *S. aureus*.

O extrato metanólicos de sementes apresentaram variação de CIM de 50 a 100mg/ml. Bello e Jamiu (2017) verificou que para a cepa *S. aureus* o CIM de extratos do extrato metanólico de sementes verificou que frente a cepa *S. aureus* foi de 50 mg/ml. Esses resultados colaboram com os encontrados nesta pesquisa, pois o CIM apresentado demonstra o mesmo valor frente as cepas *B. cereus*, MRSA S1, 712 e 948.

4.4 Concentração Bactericida Mínima (CBM) dos extratos de *M. oleifera*

4.4.1 Extratos de folhas

A concentração bactericida mínima do extrato aquoso de folhas frescas variou entre 6,25 e 100 mg/mL para *B. cereus*, *S. aureus*, MRSA S1, R2, 712 e 984 (Tabela 7). Apenas para *E. faecalis* não foi observada ação bactericida desse extrato, bem como de outros extratos analisados.

Para o extrato etanólico e metanólico de folhas secas, os valores de CBM foram maiores, variando entre 50 e 200 mg/mL. Esses extratos apresentaram ação bactericida frente menor número de linhagens testadas que o extrato de folhas frescas.

Tabela 7: Concentração Bactericida Mínima (CBM) expressa em mg/mL do extrato de folhas frescas e secas de *M. oleifera*.

Parte da planta	Solvente	Linhagem						
		<i>B. cereus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S. aureus</i> (ATCC 25923)	MRSA S1	MRSA R2	MRSA 712	MRSA 984
Folhas frescas	Água	6,25	-	100,00	25,00	50,00	100,00	50,00
Folhas secas	Etanol 70%	-	-	100,00	-	200,00	100,00	-
	Metanol 80%	200,00	-	-	-	-	100,00	50,00

Fonte: Autoria própria, 2022.

Legenda: (-) sem atividade.

Com relação ao extrato etanólico de folhas secas de moringa Unegbu *et al.* (2020) relataram a CBM de 25,5 mg/mL, enquanto Issa, Muazu e Rabi'u (2021) o valor de CBM de 80 mg/mL. Taemchuay *et al.* (2021) registraram os valores de CBM entre 64 e 128mg/mL para *S. aureus*. No nosso trabalho valores de CBM variaram de 100 e 200 mg/mL para esse extrato.

Mukhtar, Orah e Mohammed (2017) avaliando a atividade dos extratos metanólicos de folhas secas, obtiveram como CBM o valor de 100 mg/mL, valor igual ao encontrado nesse trabalho para MRSA 712.

A atividade bactericida dos extratos pode ser o resultado da ação dos constituintes fitoquímicos que podem afetar as enzimas e danificar membrana plasmática, alterando dessa forma processos fisiológicos de bactérias (NJOKUOCHA; EWENIKE, 2020).

4.4.2. Extratos de sementes

Todos os extratos de sementes de moringa demonstraram atividade bactericida (Tabela 8). O extrato aquoso apresentou os menores valores de CBM (0,78 – 25 mg/mL) para *B. cereus*, *S. aureus*, MRSA S1, R2, 712 e 984.

O extrato etanólico demonstrou valores de CBM entre 25 e 200 mg/mL para *B. cereus*, *E. faecalis*, *S. aureus*, MRSA S1, R2, 712 e 984. Enquanto, o extrato metanólico demonstrou atividade bactericida apenas frente *B. cereus*, MRSA 712 e 984, com CBM de 50 – 100 mg/mL (Tabela 8).

Tabela 8: Concentração Bactericida Mínima (CBM) expressa em mg/mL dos extratos de sementes de *M. oleifera*.

Parte da planta	Solvente	Linhagem						
		<i>B. cereus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S. aureus</i> (ATCC 25923)	MRSA S1	MRSA R2	MRSA 712	MRSA 984
Sementes	Água	3,12	-	25,00	3,12	0,78	12,50	6,25
	Etanol (70%)	50,00	-	200,00	50,00	25,00	100,00	12,50
	Metanol 80%)	50,00	-	-	-	-	100,00	25,00

Fonte: Autoria própria, 2022

Legenda: (-) sem atividade.

Alguns trabalhos relatam os valores de CBM para *S. aureus* e outras espécies de bactérias. No estudo com extratos aquosos de semente de moringa de Virk *et al.* (2019), foi observado o valor de CBM de 100 mg/mL a todas as cepas estudadas, incluindo MRSA.

Abdulkadir *et al.* (2015), avaliando os extratos etanólicos de sementes comprovou o potencial bactericida frente a cepa *S. aureus*, em que o valor de CBM foi superior a 100 mg/mL.

Quanto aos extratos metanólicos de sementes, Bello e Jamiu (2017) relatou o valor da CBM de 200 mg/mL para *S. aureus*, o valor superior ao observado nesta pesquisa. Mesmo que os extratos metanólicos tenham demonstrado atividade bactericida em altas concentrações, dados como esses são importantes, uma vez que evidenciaram atividade frente a isolados multirresistentes.

4.5 Atividade antioxidante de extratos de *M. oleifera*

A tabela 9 mostra os dados referentes a atividade antioxidante dos extratos realizada pelo método DPPH. Apenas os extratos de folhas mostraram atividade antioxidante nas concentrações testadas.

O DPPH é um radical livre estável que pode se transformar em uma molécula diamagnética estável quando aceita um elétron, portanto o ensaio de atividade sequestrante do radical DPPH representa o potencial da atividade antioxidante contra os radicais livres no corpo humano (TSHABALALA *et al.*, 2020). A concentração efetiva (CE₅₀) é um parâmetro comumente utilizado para determinar a atividade antioxidante. No geral, quanto maior o consumo de DPPH, maior o potencial antioxidante da amostra e menor a concentração efetiva dos extratos capaz de neutralizar em 50% a ação do radical (CE₅₀), ou seja, quanto menor o valor de CE₅₀ maior o potencial antioxidante do extrato testado (FERNANDES *et al.*, 2015; TSHABALALA *et al.*, 2020).

Os valores de CE₅₀ variaram de 223,82 µg/mL a 305,47 µg/mL para o extrato aquoso de folhas secas e frescas, respectivamente. Foram observadas as diferenças significativas entre atividade antioxidante dos extratos testados (Figura 18). O maior potencial antioxidante foi verificado para o extrato aquoso de folhas secas, seguido por extratos etanólicos e metanólicos das folhas secas (Tabela 9, Figura 18).

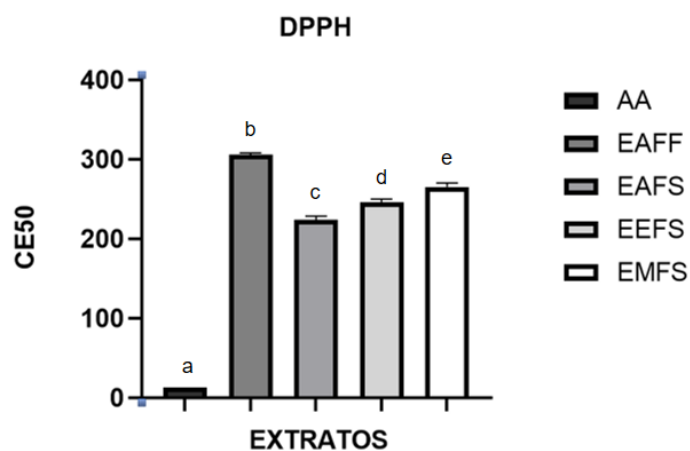
Tabela 9: Atividade antioxidante de extratos de *M. oleifera*.

Parte da planta	Solvente	DPPH CE ₅₀ (µg/mL)
Folhas Frescas	Água	305,47 ± 2,48
Folhas Secas	Água	223,82 ± 4,76
	Etanol 70%	245,65 ± 4,31
	Metanol 80%	265,04 ± 5,06
Sementes	Água	-
	Etanol 70%	-
	Metanol 80%	-

Fonte: Autoria própria, 2022.

Legenda: (-) sem atividade; DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil).

Figura 18: Atividade antioxidante de extratos de *Moringa oleifera* expressa em CE_{50} ($\mu\text{g/mL}$).



Fonte: Autoria própria, 2022.

Legenda: AA (ácido ascórbico - controle), EAFF (extrato aquoso de folhas frescas), EAFS (extrato aquoso de folhas secas), EMFS (extrato metanólico de folhas secas), EEFS (extrato etanólico de folhas secas).

Embora o antioxidante padrão (ácido ascórbico) tenha uma maior atividade de eliminação de radicais DPPH quando comparado com as amostras analisadas, os extratos mostraram atividade antioxidante promissora. Estudos tem relatado que a atividade antioxidante de plantas como a *M. oleifera* pode ser atribuída à presença de diversos compostos fenólicos, incluindo flavonoides (MWAMATOPE *et al.*, 2020; PRASAJAK *et al.*, 2021) (Figura 18).

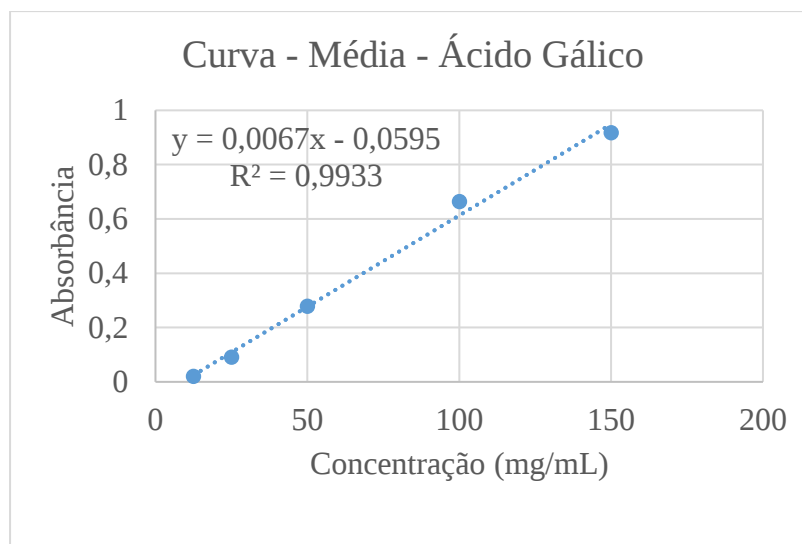
No estudo de Prasajak e colaboradores (2021) o extrato aquoso de folhas secas de moringa também apresentou maior atividade antioxidante (CE_{50} – 49,85) comparado ao extrato etanólico (CE_{50} - 189,41). Os autores associaram essa atividade ao maior teor de compostos fenólicos totais no extrato aquoso (67, 18 EAG/g) comparado com o extrato etanólico ($41,49 \pm 0.04$ mg EAG/g).

Ali e Chatterton (2018) e Baldisserotto *et al.* (2018) avaliando a atividade antioxidante de folhas de moringa observaram resultados semelhantes aos obtidos nesse trabalho. Baldisserotto *et al.* (2018) relatou o valor do CE_{50} de 232.8 $\mu\text{g/mL}$ para o extrato aquoso de folhas e 305,8 $\mu\text{g/mL}$ para o extrato metanólico. Ali e Chatterton (2018) mostraram que o extrato aquoso e etanólico de folhas secas apresentaram maior atividade antioxidante através do método DPPH, quando comparado a extratos obtidos com outros solventes como acetato de etila.

4.6 Teor de Compostos Fenólicos Totais (CFT)

A determinação do teor de compostos fenólicos totais foi realizada pelo método do reagente de Folin-Ciocalteu, utilizando como padrão o ácido gálico, cuja curva padrão apresentou $r^2 = 0,9933$, equação $y = 0,0067x + 0,0595$ (Figura 19).

Figura 19: Curva de calibração de ácido gálico.



Fonte: Autoria própria, 2022.

Todos os extratos analisados apresentaram compostos fenólicos (Tabela 10).

O maior teor desses compostos nos extratos de folhas secas foi obtido para o extrato metanólico (67 mg EAG/g), em seguida para aquoso (54 mg EAG/g) e etanólico (42 mg EAG/g). O extrato de folhas frescas apresentou menor teor de compostos fenólicos.

Tabela 10: Teor de compostos fenólicos totais nos extratos de *M. oleifera* expresso em mg de equivalente de ácido gálico (EAG) por g de extrato (média $\pm$ desvio padrão).

Parte de planta	Solvente	Fenólicos Totais (mg EAG/g)
Folhas Frescas	Água	37,5816 $\pm$ 1,65
	Água	54,4610 $\pm$ 1,37
Folhas Secas	Etanol 70%	42,0149 $\pm$ 0,52
	Metanol 80%	67,6525 $\pm$ 2,86
Sementes	Água	19,4279 $\pm$ 0,96
	Etanol 70%	15,1990 $\pm$ 0,38
	Metanol 80%	13,9552 $\pm$ 0,26

Fonte: Autoria própria, 2022.

O metanol mostrou-se o melhor solvente de extração para os compostos fenólicos totais das folhas da *M. oleifera*.

Semelhantes resultados obtiveram Prabakaran *et al.* (2018) observando o maior teor de fenólicos no extrato metanólico (112 mg EAG/g), seguido pelo extrato aquoso (102 mg EAG/g) e extrato etanólico (90 mg EAG/g) de folhas de *M. oleifera*.

Quanto aos extratos de sementes, foi observado que o extrato aquoso teve maior teor de fenólicos totais comparado ao extrato etanólico e metanólico. Semelhante ao apresentado nesse trabalho, Jahan *et al.* (2018) revelou que o extrato aquoso de sementes continha maior quantidade de compostos fenólicos totais (91 mg EAG/g) que o extrato metanólico (61 mg EAG/g). Adebayo, Arsad e Samian (2018) também observou que o extrato aquoso teve a maior teor dos fenólicos totais (20 mg EAG/g) quando comparado ao extrato etanólico.

As variações de teores de fenólicos nos extratos obtidos com diferentes solventes podem ser explicadas pela complexidade estrutural dos compostos e diferenças na sua polaridade, bem como pela solubilidade seletiva de alguns fitoquímicos em um determinado solvente (NOBOSSÉ; FOMBANG; MBOFUNG, 2018).

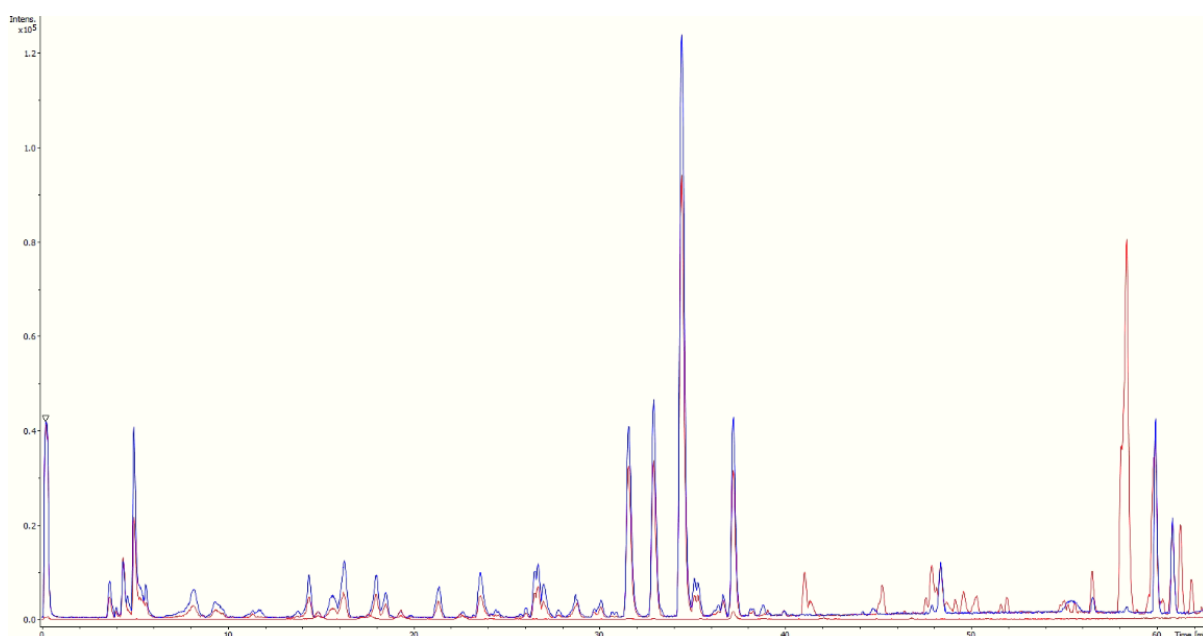
Os compostos fenólicos são os principais antioxidantes de origem vegetal e, dentre os mecanismos associados a atividade farmacológica está à sua capacidade de eliminação de radicais livres atribuída a grupos hidroxila, e esses radicais estão envolvidos em diversas patologias como diabetes, obesidade, aterosclerose, câncer, transtornos

neurodegenerativos e doenças cardiovasculares (GHAFAR *et al.*, 2017; ANUNCIAÇÃO *et al.*, 2020).

4.7 Composição de extratos de *M. oleifera*

O extrato etanólico e metanólico das folhas de *M. oleifera* foi analisado utilizando a técnicas de cromatografia HPLC-ESI-HRMS e HPLC-DAD-ESI-MSⁿ. Os dados obtidos mostraram a presença de 18 compostos (Tabela 11, Figura 20).

Figura 20: Cromatogramas de pico de base dos extratos etanólico e metanólico de folhas secas de *M. oleifera* mostrando a distribuição dos principais metabólitos secundários em cada solvente.



Fonte: Autoria própria, 2022

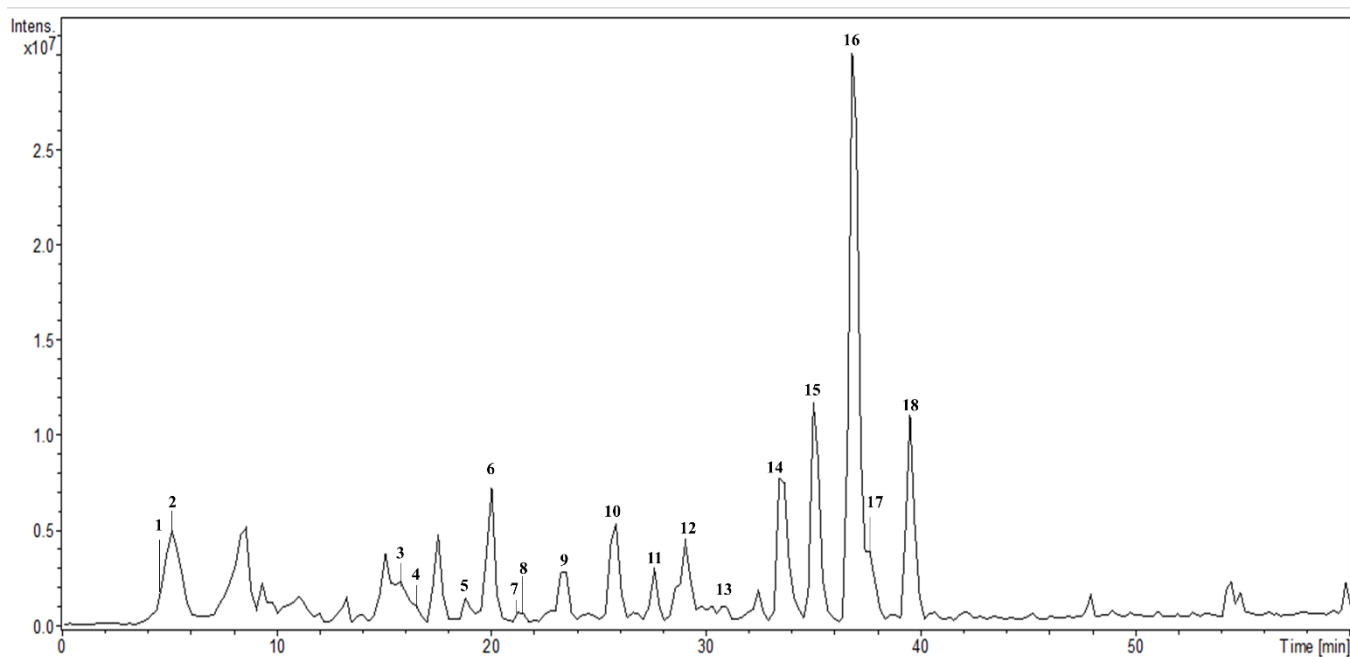
Legenda: Em azul - extrato metanólico de folhas secas e em vermelho - extrato etanólico de folhas secas.

A partir da análise cromatográfica, foi possível observar que os extratos etanólico e metanólico de folhas de moringa possuíam perfis semelhantes. Os picos podem ser observados na figura 20, em que 1-10 e 12 foram identificados como ácidos fenólicos, sendo que o composto mais abundante foi o isômero cafeoilglicosídeo – ácido quínico (picos 3, 7 e 8), seguido do 3- ácido cafeoilquínico (picos 6 e 9).

Os picos 11, 13-18 foram identificados como flavonoides individuais, no qual o mais abundante foi o composto apigenina (apigenina-6-C-glicosídeo-7-O-glicosídeo,

apigenina-8-C-hexose e apigenina-6-C-hexose), seguidos dos quercetina (quercetina-O-hexosídeo e quercetina 3-O-(6-O-ramnosilglicosídeo) e kaempferol (kaempferol-O-dihexosídeo e kaempferol-3-O-glucoídeo) (Figura 21).

Figura 21: Cromatograma de pico de base do extrato metanólico de folhas secas de *Moringa oleifera* mostrando a distribuição dos 18 compostos detectados.



Fonte: Autoria própria, 2022.

Tabela 11: Caracterização dos compostos presentes nos extratos etanólico e metanólico de folhas de *M. oleifera* através da HPLC-ESI-HRMS e HPLC-DAD-ESI-MSⁿ.

Pico No.	t_R (min.)	UV (nm)	m/z $[M-H]^-$	Formula Molecular	Erro (ppm)	MS ² /MS ³	Nome do Composto	Referência
1	5.2	204	1.910.562	C ₇ H ₁₂ O ₆	0.2	MS ² [191]: 85(23); 93(26); 111(35); 127(27); 173(100)/ [MS ³ à173]: 71(11); 93(90); 111(86); 127(100)	Ácido quínico	Jaiswal <i>et al.</i> (2010)
2	5.5	194	3.410.910	C ₁₅ H ₁₈ O ₉	1.7	MS ² [341]: 161(5); 179(13); 215(10); 341(100); 353(78) / [MS ³ à341]: 131(7); 143(23); 161(22); 179(100)	Cafeoilglicosídeo	Gouveia; Castilho (2010)
3	16.5	275	5.151.420	C ₂₂ H ₂₈ O ₁₄	-2.7	MS ² [515]: 191(20); 335(18); 341(100); 353(78) / [MS ³ à341]: 135(6); 179(100)	Cafeoilglicosil – ácido quínico	Jaiswal <i>et al.</i> (2010)
4	16.8	275	515. 1353	C ₂₂ H ₂₈ O ₁₄	5.0	MS ² [515]: 191(11); 341(45); 353(100) / [MS ³ à353]: 135(28) 179(71); 191(100)	Cafeoilglicosil – ácido quínico (isômero)	Zhang <i>et al.</i> (2018)
5	19.3	275	5.151.398	C ₂₂ H ₂₈ O ₁₄	-2.3	MS ² [515]: 191(20); 323(14); 335(18); 341(100); 353(50) / [MS ³ à341]: 135(15); 179(100)	4-cafeoilglicosil – ácido quínico	Jaiswal <i>et al.</i> (2014)
6	20.0	255	3.530.878	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	0.1	MS ² [353]: 135(10); 139(38); 191(100) /MS ³ [353à191]: 85 (71); 127 (86); 173(100)	3- ácido cafeoilquínico	Makita <i>et al.</i> (2017)
7	21.1	275	5.151.409	C ₂₂ H ₂₈ O ₁₄	0.5	MS ² [515]: 191(1); 323(1); 341(100); 353(75); 416(5); 467(5) / [MS ³ à341]: 135(16); 179(100)	Cafeoilglicosil– ácido quínico (isômero)	Jaiswal <i>et al.</i> (2014)
8	21.5	275	5.151.418	C ₂₂ H ₂₈ O ₁₄	-2.0	MS ² [515]: 341(81.3); 353(100) / [MS ³ à353]: 135(11); 173(72); 179(100); 191(35)	Cafeoilglicosil – ácido quínico (isômero)	Zhang <i>et al.</i> (2018)

9	23.5	280	3.370.941	C ₁₆ H ₁₈ O ₈	-3.5	MS ² [337]: 163 (100); 173(9.17); 191(10.5) / MS ³ [337à163]: 119 (100)	3-ácido cumaroilquínico	Jaiswal <i>et al.</i> (2010)
10	25.8	253	3.530.886	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	-2.4	MS ² [353]: 135(11.6); 173(100); 179(63); 191(15) / MS ³ [353à173]: 93(100)	5-ácido cafeoilquínico	Clifford <i>et al.</i> (2007)
11	28.3	269	6.091.451	C ₂₇ H ₂₉ O ₁₆	1.7	MS ² [609]:285(18); 327(11); 447(100); 489(14) / MS ³ [609à447]: 227(8); 255(67); 285(100)	Kaempferol-O-dihexosídeo	Cabral <i>et al.</i> (2021)
12	29.3	280	3.370.936	C ₁₆ H ₁₈ O ₈	-2.0	MS ² [337]: 163 (12.78); 173(100); 191(5.19) / MS ³ [337à173]: 93 (100)	4- ácido cumaroilquínico	Clifford <i>et al.</i> (2007)
13	31.2	265	5.931.393	C ₂₇ H ₂₉ O ₁₅	3.1	MS ² [593]:239(3); 283(6); 311(31); 431(100) / MS ³ [593à431]: 283(12); 311(100); 341(6) ³	Apigenina-6-C-glicosídeo-7-O-glicosídeo	Hu <i>et al.</i> (2022)
14	33.4	269	4.310.967	C ₂₁ H ₁₉ O ₁₀	-3.9	MS ² [431]:283(6); 311(100); 341(8) / MS ³ [431à311]: 283(100)	Apigenina-8-C-hexose	Hu <i>et al.</i> (2022)
15	35.0	269	4.310.981	C ₂₁ H ₁₉ O ₁₀	0.6	MS ² [431]: 283(3); 311(100); 341(48); 413(8) / MS ³ [431à311]: 283(100)	Apigenina-6-C-hexose	Cabral <i>et al.</i> (2021)
16	36.8	259	4.630.887	C ₂₇ H ₂₉ O ₁₆	-1.2	MS ² [463]: 179(2); 271(3); 301(100); 343(2) / MS ³ [463à301]: 151(70); 179(100); 255(60); 271(95)	Quercetina-O-hexosídeo	Hu <i>et al.</i> (2022)
17	37.8	260	6.091.503	C ₂₇ H ₂₉ O ₁₆	4.3	MS ² [609]: 301 (100) / MS ³ [609à301]: 179 (100), 273 (20), 257 (14), 151 (94);	Quercetina 3-O-(6-O-ramnosilglicosídeo)	Cabral <i>et al.</i> (2021)
18	39.5	265	4.470.946	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	-2.9	MS ² [477]: 227(6); 255(47); 285(100)/ MS ³ [477à285]: 227(11); 255(100); 267(11)	kaempferol-3-O-glucosídeo	Cabral <i>et al.</i> (2021)

Fonte: Autoria própria, 2022

Diversos estudos relataram a presença de compostos fenólicos, como os flavonoides, em diferentes partes de *Moringa* e sua bioatividade em testes *in vitro* e *in vivo*, incluindo alto poder antioxidante (SUACEDO-POMPA *et al.*, 2018; BENNOUR *et al.*, 2020). Os compostos fenólicos diferem quanto a sua estrutura química e podem ocorrer em sua forma livre (como agliconas) ou, comumente, ligados a uma porção de açúcar (como glicosídeos) (MAKITA *et al.*, 2016)

Al Juhaimi *et al.* (2017) fazendo um estudo comparativo, na base dos dados obtidos pelo HPLC, das espécies *Moringa peregrina* e *M. oleifera* relataram que o conteúdo fenólico total de folhas de *M. oleifera* é 22 % maior que o de folhas de *M. peregrina*, o que provavelmente torna a *M. oleifera* uma ótima fonte para obtenção de compostos ativos. Dentre as moléculas bioativas, o ácido clorogênico foi um dos principais compostos fitoquímicos encontrados das folhas de *M. oleifera*, o qual apresentou alta atividade antioxidante (AL JUHAIMI *et al.*, 2017), assim como encontrado no extrato etanólico estudado nesse trabalho.

Os ácidos clorogênicos (ACG) são os principais compostos fenólicos das espécies de *Moringa*, antioxidantes naturais e fazem parte dos polifenóis mais abundantes na dieta humana. ACGs são ésteres de um ou mais ácidos cinâmicos e ácido quínico, os ácidos cinâmicos mais comuns identificados são os ferúlico, *p*-cumárico e ácidos cafeico, que dão origem aos ácidos *p* – cumaroilquínico, cafeoilquínico e feruloilquínico (MAKITA *et al.*, 2017).

Diversos ácidos clorogênicos já foram observados em espécies do gênero *Moringa*, no entanto em *M. oleifera* os dados são escassos. Nesta pesquisa foram identificados seis ácidos clorogênicos associados a glicosídeos (açúcar) (2 – 5, 7 e 8, Tabela 11), no qual nenhum desses foram descritos ainda na espécie de *M. oleifera*.

Compostos semelhantes ao cafeoilglicosil-ácido quínico (Tabela 11) já foram descritos em espécies de plantas como *Lonicera henryi* e *Helichrysum italicum*. Jaiswal *et al.* (2014) identificaram a partir das folhas da planta *Lonicera henryi* L. (Caprifoliaceae) ácidos clorogênicos associados a glicosídeos, dentre eles 5-O-(4'-O-Cafeiol glicosil) ácido quínico (C₂₂H₂₈O₁₄), 5-O-(3'-O-Cafeiol glicosil) ácido quínico (C₂₂H₂₈O₁₄), Cis-5-O-(4' -O- Cafeiol glicosil) ácido quínico (C₂₂H₂₈O₁₄), 3-O-(4'-O-Cafeiol glicosil) ácido quínico (C₂₂H₂₈O₁₄), A cis-4-O-(4'-O- Cafeiol glicosil)-5-O-ácido cafeoilquínico (C₃₁H₃₄O₁₇) entre outros.

Krambeger e colaboradores (2020) avaliaram os compostos bioativos de extratos etanólico e aquoso da espécie *Helichrysum italicum*, e identificaram dois compostos inéditos que são 3-O-(4'-cafeoil glicosil) ácido quínico e 5-O-(4'-cafeoil glicosil) ácido quínico, ácido clorogênicos que se aproximam estruturalmente aos que encontramos nesta pesquisa.

Avaliando os compostos em semen Cuscutae uma semente madura seca de *Cuscuta australis*, Zhang *et al.* (2018) identificaram 45 composto, dentre eles ácidos clorogênicos como cafeoil glicosídeo, cafeoil diglicosídeo, 6-O-cafeoil- β -glicose, 6-O-cafeoil- α -glicose, 3-O-(4'-O-cafeoil glicosil) ácido quínico, 5-O-(3'-O-cafeoil glicosil) ácido quínico entre outros compostos semelhantes aos encontrados em nossa pesquisa.

Um dos compostos fenólicos mais comuns encontrados em folhas de *M. oleifera* é o ácido quínico, um ciclitol importante intermediário bioquímico na via do chiquimato, no qual está envolvido na biossíntese de diversos compostos aromáticos em plantas. Além disso esse ácido possui propriedade antioxidantes, anti-inflamatórias e hepatoprotetoras (Mezhoudi *et al.*, 2022). Assim como identificado em nosso estudo, o ácido quínico já foi observado em outras pesquisas como as de Braham *et al.* (2018) e Mezhoudi e colaboradores (2022), em que foram utilizadas as folhas da *M. oleifera*.

Compostos como 3-ácido cafeoilquínico e 5-ácido cafeoilquínico identificado nesta pesquisa já foi observado em outros trabalhos como Bennett e colaboradores (2003), Braham *et al.* (2018) e Teclegeorgish *et al.* (2021).

Bennett e colaboradores (2003), utilizando folhas de moringa identificaram compostos como 3-ácido cafeoilquínico, 4- ácido cafeoilquínico 5- ácido cafeoilquínico, kaempferol 3-O-Glc, kaempferol 3-O-(6''-malonil-Glc), qercetin 3-O-Glc, quercetin 3-O-(6''-malonil-Glc), quercetina3-O-(X''-malonil-Glc) e quercetina 3-O -Glc-rham. Braham *et al.* (2018), além de identificar o composto fenólico 3-ácido cafeoilquínico, observou a presença de cis-3- ácido cafeoilquínico, 4-ácido cafeoilquínico, cis-4-ácido cafeoilquínico, quercetina-3-O-glucosídeo ou quercetina-3O-galactosídeo, quercetina 3-O-(6''-malonil) glicosídeo e outros.

Teclegeorgish *et al.* (2021), além do 3-ácido cafeoilquínico, compostos semelhantes aos encontrados neste estudo, ácido 3-cumaroilquínico e ácido 4-cumaroilquínico, foram identificados sendo eles ácido 3-*p*-cumaroilquínico e ácido 4-*p*-cumaroilquínico, além de 4-ácido cafeoilquínico, quercetina-3-O-rutinosídeo, apigenina

C-hexose, quercetina-7-hexose, quercetina-3-hexose, kaempferol-3-O-rutinosídeo, kaempferol-3-hexose, entre outros.

Estudo realizado por Zhao *et al.* (2019) observaram um total de 14 picos nos cromatogramas de folhas de moringa, dos quais 6 foram identificados como ácidos fenólicos e 7 como flavonoides; um pico não foi identificado. O composto mais abundante dentro dos ácidos fenólicos foi o ácido 3-cafeoilquínico, e em seguida ácido 4-cafeoilquínico. Alguns dos compostos encontrados, como ácido 3- cafeoilquínico e kaempferol-3-O-glucosídeo, foram observados no presente trabalho.

Os dados apresentados por Rodríguez-Pérez *et al.* (2015) e Castro López *et al.* (2017), referentes ao perfil fitoquímico das folhas de moringa, indicaram a presença de diversos compostos bioativos como 5 lignanas (medioresinol, isolariciresinol, secoisolariciresinol e glicosídeos de epipinoresinol), 26 flavonóides (quercetina, kaempferol, apigenina, luteolina e glicosídeos de miricetina) e 11 ácidos fenólicos e seus derivados (ácidos cafeoilquínico, feruloilquínico e cumaroilquínico e seus isômeros).

A presença de alguns compostos detectados nos extratos de *M. oleifera* nesse trabalho foi relatada nos trabalhos Rufino *et al.* (2010), Rodríguez-Pérez *et al.* (2015), Nouman e colaboradores (2016), Castro López *et al.* (2017), Al Juhaimi *et al.* (2017), Zhao *et al.* (2019), Zhu, Yin e Yang (2020).

Nouman e colaboradores (2016) avaliaram a composição polifenólica de folhas de *M. oleifera* de acordo com o tempo de retenção, massas moleculares e padrões de fragmentação, e observaram doze flavonoides individuais (quercetina-3,7-diglicosídeo, quercetina-3,7-diglicosídeo (isômero), apigenina-8-C - glicosídeo, quercetina-3-glicosídeo, apigenina-7-C-glicosídeo (isorhoifolina), kaempferol-3,7-diglicosídeo, apigenina-7-rutinosídeo, quercetina-3-ramnosídeo, quercetina-3- O - soforosídeo, quercetina-3- acetil-glucósido, kaempferol-3-glucósido e kaempferol-7-glucósido, os quais foram derivados de kaempferol, apigenina e quercetina, que corresponderam a 47,0, 20,9 e 30,0% do total de flavonoides, respectivamente.

Zhu, Yin e Yang (2020) relataram que os teores totais de polifenóis foram maiores em folhas e menores em outras partes da *M. oleifera*, como segue: folhas > caules > sementes > raízes. Ácido clorogênico, isoquercetina e tutina foram os polifenóis mais evidentes. A grande variação observada nos níveis desses compostos fenólicos nas

diferentes partes da moringa é provavelmente devido a diferenças da origem, condições ambientais e período de coleta de amostras.

Segundo Rufino *et al.* (2010) a atividade antioxidante está estreitamente ligada aos polifenóis, ou seja, quanto maior o teor de polifenóis, maior atividade antioxidante. No nosso trabalho essa relação pode ser observada para os extratos de folhas de moringa. Lin, Zhang e Chen (2018), afirmaram que a forte atividade antioxidante dos flavonóides *in vitro* se deve principalmente à sua capacidade de capturar radicais livres diretamente por meio da quelatação de metais e doar elétrons ou átomos de hidrogênio.

Os dados obtidos no presente trabalho apontam a presença de compostos mais polares como flavonóides e seus derivados, os quais têm maior afinidade por solventes polares devido às suas estruturas químicas, especialmente presença de grupos OH (OLDONI *et al.*, 2019).

Os antioxidantes naturais geralmente são a primeira escolha dos consumidores e são melhores do que os antioxidantes sintéticos. Ácido ascórbico, quercetina, kaempferol, ácido ascórbico, β -caroteno, isotiocianatos, polifenóis e rutina são fortes antioxidantes encontrados em folhas da *M. oleifera*. A maior atividade antioxidante das folhas da planta tem uma relação linear com os compostos fenólicos, o que auxilia no desenvolvimento de produtos que melhoram a estabilidade oxidativa dos produtos alimentícios, por exemplo (KASHYAP *et al.*, 2022).

As plantas produzem compostos fenólicos para atuar como mecanismo de defesa contra herbivoria por animais ou microrganismos (TSHABALALA *et al.*, 2020). Alcalóides, terpenóides e compostos fenólicos (ácido gálico, ácido clorogênico, ácido cafeico, ácido ferúlico, quercetina e kaempferol) possuem atividade antimicrobiana significativa. Inclusive, a presença de alguns fenólicos pode sugerir que a atividade antimicrobiana pode ser devido a esses compostos, em que são bastante conhecidos por suas interações com proteínas e enzimas da membrana celular microbiana (PAZ *et al.*, 2018; PRABAKARAN *et al.*, 2019). Além de atuarem na quebra da estrutura das membranas celulares, consequentemente inibindo as funções celulares, causando a morte dos microrganismos (MOSTAFA *et al.*, 2018).

Diante da grande variedade de compostos bioativos, que normalmente são produzidos como metanólitos secundários, a planta pode aumentar sua capacidade geral de sobrevivência e superar os desafios locais, permitindo que interajam com seus arredores. A abundância desses compostos fitoquímicos geralmente são influenciados por diversos fatores como espécie da planta, idade da planta, épocas de colheita, nutrientes do solo, localização geográfica e condições climáticas (VÁZQUEZ-LEÓN *et al.*, 2017).

Vázquez-león e colaboradores (2017) avaliando a interferência de fatores climáticos (radiação solar, precipitação, radiação ultravioleta e temperatura média), idade das árvores, parâmetros de solo (pH, capacidade de troca catiônica, condutividade elétrica, K, P, matéria orgânica, argila, silte, areia entre outros) sobre os compostos bioativos de folhas de *M. oleifera* verificaram que fatores citados estão correlacionados com o teor de compostos das folhas de moringa com diferenças significativa ($p < 0,05$).

Diante disso, estudos sobre parâmetros químicos e físicos do solo de coleta da *M. oleifera* ainda se fazem necessário para avaliarmos as interferências na composição fitoquímica dos extratos folheares, e comparar com outros trabalhos. Além disso, a partir desse estudo foi possível verificar a presença de compostos nunca descritos em espécies de *M. oleifera*, o que torna a pesquisa inovadora e, conseqüentemente promissora.

5 CONCLUSÕES

- Os extratos etanólicos de folhas e de sementes de *M. oleifera* apresentaram maior rendimento, superior aos extratos aquoso e metanólico de folhas e sementes.
- Entre os extratos folheares de *M. oleifera*, o extrato aquoso de folhas frescas demonstrou melhor atividade antimicrobiana inibindo o crescimento de *B. cereus*, *E. faecalis*, *S. aureus* e MRSA.
- Entre os extratos de sementes de *M. oleifera*, o extrato aquoso demonstrou melhor atividade antimicrobiana inibindo *B. cereus*, *E. faecalis*, *S. aureus* e MRSA.
- Nenhum dos extratos de *M. oleifera* foi capaz de inibir o crescimento das linhagens de *E. coli*, *P. aeruginosa* e *C. albicans*.
- Os extratos aquosos de folhas frescas e de sementes apresentaram os menores valores de CIM para *S. aureus*, MRSA, *E. faecalis* e *B. cereus*.
- Atividade bactericida foi observada para todos extratos de folhas e de sementes, apresentando diferenças com relação a concentração do extrato e linhagem bacteriana. Os menores valores de CBM foram observados para o extrato aquoso de folhas secas frente a *B. cereus* e para o extrato aquoso de sementes frente MRSA.
- Todos os extratos folheares apresentaram atividade antioxidante, sendo que o extrato aquoso de folhas secas apresentou maior atividade. Os extratos de sementes não apresentaram atividade antioxidante.
- Dentre os extratos folheares o extrato metanólico de folhas secas apresentou o maior teor de compostos fenólicos. Os extratos de sementes demonstraram menor teor desses compostos.
- O perfil fitoquímico foi semelhante para os extratos etanólico e metanólico de folhas secas, apresentando 18 compostos classificados na sua maioria como

flavonoides e ácidos fenólicos. Seis ácidos clorogênicos identificados não foram escritos em *M. oleifera* anteriormente.

- *M. oleifera* demonstrou ser uma espécie promissora para finalidades fitoterapêuticas, uma vez que apresentou-se como agente antimicrobiano frente a diversas bactérias, incluindo *S. aureus* resistente a metilicina.
- Estudos mais detalhados sobre composição fitoquímica dos extratos aquoso de folhas frescas e secas e sementes de *M. oleífera*, bem como como estudo sinérgico entre os extratos de moringa e antimicrobianos, são necessários para uma melhor utilização na fitoterapia.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABADALLAH, M. S.; ALI, M. Antibacterial activity of *Moringa oleifera* leaf extracts against bacteria isolated from patients attending general Sani Abacha Specialist Hospital Damaturu. **Journal of Allied Pharmaceutical Sciences**, v. 1, p. 61-66, 2019.

ABALAKA, M. E. et al. The antibacterial evaluation of *Moringa oleifera* leaf extracts on selected bacterial pathogens. **Journal of Microbiology research**, v. 2, n. 2, p. 1-4, 2012.

ABDULKADIR, I. S. et al. Phytochemical screening and antimicrobial activities of ethanolic extracts of *Moringa oleifera* Lam on isolates of some pathogens. **Journal of applied pharmacy**, v. 7, n. 4, p. 2-7, 2015.

ACIOLY, D. N. Avaliação da ocorrência de *Enterococcus* spp. resistentes à vancomicina em um hospital público de Fortaleza. **Journal of Infection Control**, v. 5, n. 4, 2016.

ADEBAYO, I. A.; ARSAD, H.; SAMIAN, M. R. Antiproliferative effect on breast cancer (MCF7) of *Moringa oleifera* seed extracts. **African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines**, v. 14, n. 2, p. 282-287, 2017.

ADEJUMO O. E., KOLAPO, A. L., FOLARIN A. O. *Moringa oleifera* Lam. (*Moringaceae*) grown in Nigeria: *in vitro* antisickling activity on deoxygenated erythrocyte cells. **Journal Pharmacy and Bioallied Sciences**, v. 4, p. 118–122, 2012.

ADEOYE, M. D.; OLAYIWOLA, O. A. Effect of solvent type on the yields and mineral compositions of the leaf extracts of *Moringa oleifera* L. **African Journal of Pure and Applied Chemistry**, v. 8, n. 9, p. 134-146, 2014.

ADEPOJU-BELLO, A. A. et al. Preliminary phytochemical screening, antioxidant and antihyperglycaemic activity of *Moringa oleifera* leaf extracts. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 30, n. 6, 2017.

AJA, P. M. et al. Chemical constituents of *Moringa oleifera* leaves and seeds from Abakaliki, Nigeria. **American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics**, v. 2, n. 3, p. 310-321, 2014.

AKINDUTI, P. A. et al. Antibacterial activities of plant leaf extracts against multi-antibiotic resistant *Staphylococcus aureus* associated with skin and soft tissue infections. **BMC Complementary Medicine and Therapies**, v. 22, n. 1, p. 1-11, 2022.

ALI, E. N.; CHATTERTON, C. C. Anticancer activity of *Moringa oleifera* leaves extract. In: **AIP Conference Proceedings**. AIP Publishing LLC, 2018. p. 020125.

AL JUHAIMI, F. et al. Comparative study of mineral and oxidative status of *Sonchus oleraceus*, *Moringa oleifera* and *Moringa peregrina* leaves. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 11, n. 4, p. 1745-1751, 2017.

AL TAWHEEL, S. K.; AL-ANBARI¹, I. H. A. *Moringa oleifera*: a review on the phytochemical screening, proximate analysis, medicinal, nutritional, and plant biostimulants values of its leaves, pods, seeds and roots. **Plant Archives**, v. 19, n. 2, p. 1612-1622, 2019.

ALGAMMAL, A. M. et al. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): one health perspective approach to the bacterium epidemiology, virulence factors, antibiotic-resistance, and zoonotic impact. **Infection and Drug Resistance**, v. 13, p. 3255, 2020.

ALGHAMDI, F.; SHAKIR, M. The influence of *Enterococcus faecalis* as a dental root canal pathogen on endodontic treatment: A systematic review. **Cureus**, v. 12, n. 3, 2020.

AMABYE, T. G.; TADESSE, F. M. Phytochemical and antibacterial activity of *Moringa oleifera* available in the market of Mekelle. **Journal of Analytical & Pharmaceutical Research**, v. 2, n. 1, p. 1-4, 2016.

AMAGLO, N. K. et al. Profiling selected phytochemicals and nutrients in different tissues of the multipurpose tree *Moringa oleifera* L., grown in Ghana. **Food Chemistry**, v. 122, p. 1047–1054, 2010.

AMAGLOH, F. K.; BENANG, A. Effectiveness of *Moringa oleifera* seed as coagulant for water purification. **African Journal of Agriculture Research**. v. 4, n. 1, p.119-123, 2009.

ANDRADE, T. M.; GORLACH-LIRA, K. Antibacterial activity of the white lily *Moringa oleifera* seed extract and its use in water treatment. **Brazilian Journal of Biological Sciences**, v. 5, n. 11, p. 699-707, 2018.

ANH, D. N. et al. Prevalence, species distribution and antifungal susceptibility of *Candida albicans* causing vaginal discharge among symptomatic non-pregnant women of reproductive age at a tertiary care hospital, Vietnam. **BMC Infectious Diseases**, v. 21, n. 1, p. 1-10, 2021.

ANUNCIAÇÃO, K. F. et al. Avaliação da atividade antioxidante e fenóis totais dos óleos extraídos das sementes de *Moringa oleifera* Lam. **Revista Virtual de Química**, v. 12, n. 1, p. 148-154, 2020.

ANWAR, F. et al. *Moringa oleifera*: a food plant with multiple medicinal uses. **Phytotherapy Research**, v. 21, p. 17–25, 2007.

AONDO, T. O. et al. Phytochemical and antifungal efficacy of different parts of *Moringa oleifera* plant extracts. **Asian Journal of Biotechnology and Bioresource Technology**, v. 3, n. 2, p. 1-8, 2018.

ARAÚJO, S. et al. Resistência bacteriana a antibióticos em vegetais e águas de irrigação: um problema de saúde pública. **Revista Captar: Ciência e Ambiente para Todos**, v. 6, n. 1, p. 1-3, 2016.

ASLAM, B. et al. Antibiotic resistance: a rundown of a global crisis. **Infection and Drug Resistance**, v. 11, p. 1645, 2018.

BALDISSEROTTO, A. et al. *Moringa oleifera* leaf extracts as multifunctional ingredients for “natural and organic” sunscreens and photoprotective preparations. **Molecules**, v. 23, n. 3, p. 664, 2018.

BANCESSI, A. et al. The antimicrobial properties of *Moringa oleifera* Lam. for water treatment: a systematic review. **SN Applied Sciences**, v. 2, n. 3, p. 323, 2020.

BAPTISTA, A. T. A. et al. Protein fractionation of seeds of *Moringa oleifera* lam and its application in superficial water treatment. **Separation and Purification Technology**, v. 180, p. 114-124, 2017.

BELLO, S. A.; JAMIU, A. T. Antibacterial activity of *Moringa oleifera* seed extracts on *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. **Niger Journal Microbiology**, v. 31, p. 3873-81, 2017.

BENNETT, R. N. et al. Profiling glucosinolates and phenolics in vegetative and reproductive tissues of the multi-purpose trees *Moringa oleifera* L.(horseradish tree) and *Moringa stenopetala* L. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 51, n. 12, p. 3546-3553, 2003.

BENNOUR, N. et al. Effect of solvent evaporation method on phenolic compounds and the antioxidant activity of *Moringa oleifera* cultivated in Southern Tunisia. **South African Journal of Botany**, v. 129, p. 181-190, 2020.

BHARDWAJ, S.; VERMA, R.; GUPTA, J. Challenges and future prospects of herbal medicine. **International Research in Medical and Health Sciences**, v. 1, n. 1, p. 12-15, 2018.

BONNET, V. et al. Influence of bacterial resistance on mortality in intensive care units: a registry study from 2000 to 2013 (IICU Study). **Journal of Hospital Infection**, v. 102, n. 3, p. 317-324, 2019.

BORGES, F. V.; SALES, M. D. C. Políticas públicas de plantas medicinais e fitoterápicos no Brasil: sua história no sistema de saúde. **Pensar Acadêmico, Manhuaçu**, v. 16, n.1, p. 13-27, 2018.

BRAGA, I. A. et al. Multi-hospital point prevalence study of healthcare-associated infections in 28 adult intensive care units in Brazil. **Journal of Hospital Infection**, v. 99, n. 3, p. 318-324, 2018.

BRAHAM, F. et al. Phenolic extraction of *Moringa oleifera* leaves in DES: characterization of the extracts and their application in methylcellulose films for food packaging. **Foods**, v. 11, n. 17, p. 2641, 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Política e Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica. - Brasília: Ministério da Saúde, p. 190, 2016.

BRILHANTE, R. S. N. et al. *Vibrio* spp. from *Macrobrachium amazonicum* prawn farming are inhibited by *Moringa oleifera* Extracts. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 8, n. 11, p. 919-922, 2015.

BRUINSMA, N. et al. Antibiotic usage and resistance in different regions of the Dutch community. **Microbial Drug Resistance**, v. 8, n. 3, p. 209-214, 2002.

CABRAL, B. et al. Cardiovascular effects induced by fruit peels from *passiflora edulis* in hypertensive rats and fingerprint analysis by HPLC-ESI-MSn spectrometry. **Planta Medica**, v. 88, n.5, p. 356-366, 2021.

CANTANTE, A. P. S. R. et al. Arte de cuidar milenar: crenças e saberes de idosos sobre a fitoterapia. **Temperamentvm: Revista Internacional de Historia y Pensamiento Enfermero**, n. 18, p. 20, 2022.

CÁCERES, A. et al. Pharmacological properties of *Moringa oleifera*. 1: Preliminary screening for antimicrobial activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 33, n. 3, p. 213-216, 1991.

CASTRO, F. D. et al. Potencial efeito terapêutico das folhas de *Moringa oleifera* Lamarck (*Moringaceae*): uma revisão do seu papel no controle da glicemia em estudos in vivo. **Revista Fitos - Revisão**, 2022.

CASTRO, R. D. et al. Atividade antibacteriana in vitro de produtos naturais sobre *Lactobacillus casei*. **IJD. International Journal of Dentistry**, v. 9, n. 2, p. 74-77, 2010.

CASTRO-LÓPEZ, C. et al. Impact of extraction techniques on antioxidant capacities and phytochemical composition of polyphenol-rich extracts. **Food Chemistry**, v. 237, p. 1139–1148, 2017.

CHAVES, B. R. L. et al. Características epidemiológicas de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas em dois laboratórios na cidade de Governador Valadares, Minas Gerais, Brasil no ano de 2018. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, v. 11, n. 18, p. e1658-e1658, 2019.

CHOPRA, R.N.; NAYER, S.L.; CHOPRA, I.C. Glossary of India Medicinal Plants. **Council of Scientific & Industrial Research**, New Delhi, India, p. 79-80, 1965.

CLIFFORD, M. N. et al. Profiling the chlorogenic acids and other caffeic acid derivatives of herbal *Chrysanthemum* by LC– MSⁿ. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 3, p. 929-936, 2007.

CRAFT, K. M. et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): antibiotic-resistance and the biofilm phenotype. **MedChemComm**, v. 10, n. 8, p. 1231-1241, 2019.

DAHOT, M. U. Antimicrobial activity of small protein of *Moringa oleifera* leaves. **Journal of the Islamic Academy of Sciences**, v. 11, n. 1, p. 6, 1998.

DALUKDENIYA, D. A. C. K.; DE SILVA, K. L. S. R.; RATHNAYAKA, RMUSK. Antimicrobial activity of different extracts of leaves bark and roots of *Moringa oleifera*

(Lam). **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 5, n. 7, p. 687-691, 2016.

DIÈYE, A. M. et al. Medicinal plants and the treatment of diabetes in Senegal: survey with patients. **Fundamental & Clinical Pharmacology**, v. 22, n. 2, p. 211-216, 2008.

DILBATO, T.; BEGNA, F.; JOSHI, R. K. Reviews on challenges, opportunities and future prospects of antimicrobial activities of medicinal plants: Alternative solutions to combat antimicrobial resistance. **International Journal of Herbal Medicine**, v. 7, p. 10-18, 2019.

DODIYA, B. et al. Antibacterial activity and phytochemical screening of different parts of *Moringa oleifera* against selected gram positive and gram-negative bacteria. **Journal of Pharmaceutical, Chemical and Biological Sciences**, v. 3, p. 421-425, 2015.

DZOTAM, J. K.; TOUANI, F. K.; KUETE, V. Antibacterial and antibiotic-modifying activities of three food plants (*Xanthosoma mafaffa* Lam., *Moringa oleifera* (L.) Schott and *Passiflora edulis* Sims) against multidrug-resistant (MDR) gram-negative bacteria. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 16, n. 1, p. 9, 2015.

ELLER, S. C. W. S. et al. Avaliação antimicrobiana de extratos vegetais e possível interação farmacológica *in vitro*. **Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences**, v. 36, n. 1, 2015.

ESMAIL, M. A. M.; ABDULGHANY, H. M.; KHAIRY, R. M. M. Prevalence of multidrug-resistant *Enterococcus faecalis* in hospital-acquired surgical wound infections and bacteremia: Concomitant analysis of antimicrobial resistance genes. **Infectious Diseases: Research and Treatment**, v. 12, p. 1178633719882929, 2019.

ESTEVES, C. O. et al. Medicamentos fitoterápicos: prevalência, vantagens e desvantagens de uso na prática clínica e perfil e avaliação dos usuários. **Revista de Medicina**, v. 99, n.5, p. 463-472, 2020.

FALOWO, A. B. et al. Multi-functional application of *Moringa oleifera* Lam. in nutrition and animal food products: A review. **Food research international**, v. 106, p. 317-334, 2018.

FEITOSA, M. H. A. et al. Inclusion of phytotherapy content in health training courses. **Revista Brasileira de Educação Médica**, v. 40, p. 197-203, 2016.

FEJÉR, J. et al. First report on evaluation of basic nutritional and antioxidant properties of *Moringa oleifera* Lam. from Caribbean Island of Saint Lucia. **Plants**, v. 8, n. 12, p. 537, 2019.

FERNANDES, D. M. et al. *Moringa oleifera*: A potential source for production of biodiesel and antioxidant additives. **Fuel**, v. 146, p. 75-80, 2015.

- FIEDLER, G. et al. Antibiotics resistance and toxin profiles of *Bacillus cereus*-group isolates from fresh vegetables from German retail markets. **BMC Microbiology**, v. 19, n. 1, p. 1-13, 2019.
- FOUAD, E. A.; ELNAGA, A. S. M. A.; KANDIL, M. M. Antibacterial efficacy of *Moringa oleifera* leaf extract against pyogenic bacteria isolated from a dromedary camel (*Camelus dromedarius*) abscess. **Veterinary World**, v. 12, n. 6, p. 802, 2019.
- GALDINO, F. S. et al. Avaliação das atividades antioxidante e gastroprotetora de *Moringa oleifera*. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 4, 2021.
- GARCEZ, F. R. et al. Fenilpropanóides e outros constituintes bioativos de *Nectandra megapotamica*. **Química Nova**, v. 32, p. 407-411, 2009.
- GARGA, M. A. et al. Antibacterial activity and phytochemical screening of *Moringa oleifera* Lam, leaves and seeds extract on *Staphylococcus aureus*. **International Journal of Research Granthaalayah**, v. 7, n. 11, 2019.
- GHAFFAR, F. et al. Total phenolic content and total flavonoid content in *Moringa oleifera* seed. **Galeri Warisan Sains**, v. 1, n. 1, p. 23-25, 2017.
- GIACOPPO, S. et al. The α -cyclodextrin complex of the *Moringa* isothiocyanate suppresses lipopolysaccharide-induced inflammation in RAW 264.7 macrophage cells through Akt and p38 inhibition. **Inflammation Research**, v. 66, p. 487–503, 2017.
- GOMES, D. J. et al. Possibilidades de uso do *Anacardium occidentale* em uma perspectiva Farmacológica. **Revista de Agroecologia no Semiárido**, v. 2, n.2, p.10-17, 2019.
- GOUVEIA, S. C.; CASTILHO, P. C. Characterization of phenolic compounds in *Helichrysum melaleucum* by high-performance liquid chromatography with on-line ultraviolet and mass spectrometry detection. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 24, n. 13, p. 1851-1868, 2010.
- GOWRISHANKAR, R. et al. Trace element studies on *Tinospora cordifolia* (Menispermaceae), *Ocimum sanctum* (Lamiaceae), *Moringa oleifera* (Moringaceae), and *Phyllanthus niruri* (Euphorbiaceae) using PIXE. **Biological Trace Element Research**, v. 133, n. 3, p. 357-363, 2010.
- GUIMARÃES, D. O.; MOMESSO, L. S.; PUPO, M. T. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. **Química Nova**, v. 33, n. 3, p. 667-679, 2010.
- HECK, R. M., RIBEIRO, M. V.; BARBIERI, R. L. Plantas medicinais do bioma pampa no cuidado em saúde. **Embrapa**, Brasília - DF, 2017.
- HOBSON, C.; CHAN, A. N.; WRIGHT, G. D. The antibiotic resistome: a guide for the discovery of natural products as antimicrobial agents. **Chemical Reviews**, v. 121, n. 6, p. 3464-3494, 2021.

HOLVOET, K. et al. Moderate prevalence of antimicrobial resistance in *E. coli* isolated from lettuce, irrigation water and soil. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 79, n. 21, p. 6677-6683, 2013.

HU, L. et al. Identification of C-glycosyl flavones and O-glycosyl flavones in five *Dendrobium* species by high-performance liquid chromatography coupled with electrospray ionization multi-stage tandem MS. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 36, n. 2, p. e9158, 2022.

HUDZICKI, J. Kirby-Bauer disk diffusion susceptibility test protocol. **American Society for Microbiology**, v. 15, p. 55-63, 2009.

ISITUA, C. C.; IBEH, I. N.; OLAYINKA, J. N. In Vitro Antifungal activity of *Moringa oleifera* Lam leaf on some selected clinical fungal strains. **Indian Journal of Applied Research**, v. 6, n. 8, 2016.

ISSA, S. B.; MUAZU, M.; RABI'U, I. Phytochemical Analysis and Antibacterial Activity of *Moringa oleifera* Leaves Extracts against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. **Phytochemical Analysis**, v. 7, n. 1, 2021.

JAHAN, I. A. et al. Antioxidant activity of *Moringa oleifera* seed extracts. **Oriental Pharmacy and Experimental Medicine**, v. 18, n. 4, p. 299-307, 2018.

JAISWAL, R. et al. Profiling and characterization by LC-MS n of the chlorogenic acids and hydroxycinnamoyl shikimate esters in mate (*Ilex paraguariensis*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 9, p. 5471-5484, 2010.

JAISWAL, R. et al. Identification and characterization of chlorogenic acids, chlorogenic acid glycosides and flavonoids from *Lonicera henryi* L.(Caprifoliaceae) leaves by LC-MSn. **Phytochemistry**, v. 108, p. 252-263, 2014.

KANDIL, O. M. et al. Anthelmintic efficacy of *Moringa oleifera* seed methanolic extract against *Fasciola hepatica*. **Journal of Parasitic Diseases**, v. 42, p. 391-401, 2018.

KAO, P. H. N.; KLINE, K. A. Dr. Jekyll and Mr. Hide: how *Enterococcus faecalis* subverts the host immune response to cause infection. **Journal of Molecular Biology**, v. 431, n. 16, p. 2932-2945, 2019.

KARIM, N. A. A. et al. *Moringa oleifera* Lam targeting chemoprevention. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, v. 17, n. 8, p. 3675-3686, 2016.

KASHYAP, P. et al. Recent advances in Drumstick (*Moringa oleifera*) leaves bioactive compounds: Composition, health benefits, bioaccessibility, and dietary applications. **Antioxidants**, v. 11, n. 2, p. 402, 2022.

KASOLO, J. N. et al. Phytochemicals and uses of *Moringa oleifera* leaves in Ugandan rural communities. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 4, n. 9, 2010

- KHEIR, S. M.; KAFI, S. K.; ELBIR, H. The antimicrobial activity and phytochemical characteristic of *Moringa oleifera* seeds, leaves, and flowers. **WJPR**, v. 3, p. 4, 2014.
- KHOR, K. Z. et al. The *in vitro* and *in vivo* anticancer properties of *Moringa oleifera*. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2018, 2018.
- KUMAR, E. K; JAMES, T. J. Antibacterial activity of *Moringa oleifera* and *Leucas aspera* flower extract against fish pathogens. **Journal of the Marine Biological Association of India**, v. 61, n. 2, p. 90, 2019.
- KUMAR, P. S. et al. Medicinal uses and pharmacological properties of *Moringa oleifera*. **International Journal of Phytomedicine**, v. 2, n. 3, 2010.
- LEE, Y. et al. Antifungal drug resistance: molecular mechanisms in *Candida albicans* and beyond. **Chemical Reviews**, v. 121, n. 6, p. 3390-3411, 2020.
- LEONÍDIO, A. R. A. et al. Atividade antimicrobiana de *Moringa oleifera* Lam. **Revista Gestão & Tecnologia**, v. 1, n. 28, p. 4-15, 2019.
- LIN, M.; ZHANG, J.; CHEN, X. Bioactive flavonoids in *Moringa oleifera* and their health-promoting properties. **Journal of Functional Foods**, v. 47, p. 469-479, 2018.
- LIU, Y. Y. et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 16, n. 2, p. 161-168, 2016.
- LOPEZ-RODRIGUEZ, N. A. et al. Glucosinolates and isothiocyanates from *Moringa oleifera*: Chemical and biological approaches. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 75, n. 4, p. 447-457, 2020.
- LORENZI, H.; MATOS, F. J. Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas. **Nova Odessa: Instituto Plantarum**. p. 346-347, 2002.
- MACHADO, A. D. et al. Prevalência de infecção urinária em um laboratório de análises clínicas da cidade de Jaraguá do Sul, SC, no ano de 2017. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 51, p. 213-218, 2019.
- MAHMOUD, M. H.; ABOU-ARAB, A. A.; ABU-SALEM, F. M. Research Article Quality Characteristics of Beef Burger as Influenced by Different Levels of Orange Peel Powder. **American Journal of Food Technology**, v. 12, p. 262-270, 2017.
- MAKITA, C. et al. Comparative analyses of flavonoid content in *Moringa oleifera* and *Moringa ovalifolia* with the aid of UHPLC-qTOF-MS fingerprinting. **South African Journal of Botany**, v. 105, p. 116-122, 2016.
- MAKITA, C. et al. UPLC-qTOF-MS profiling of pharmacologically important chlorogenic acids and associated glycosides in *Moringa ovalifolia* leaf extracts. **South African Journal of Botany**, v. 108, p. 193-199, 2017.

MALLENKUPPE, R. et al. History, taxonomy and propagation of *Moringa oleifera*—a review. **SSR Institute of International Journal of Life Sciences**, v. 3, n. 3.28, p. 3.15, 2019.

MANGURO, L. O., LEMMEN, P. Phenolics of *Moringa oleifera* leaves. **Natural Product Research**, v. 21, n. 1, p. 56–68, 2007.

MARANHÃO, F. C. A. et al. Mycoses in northeastern Brazil: epidemiology and prevalence of fungal species in 8 years of retrospective analysis in Alagoas. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 50, n. 4, p. 969-978, 2019.

MATIC, I. et al. Investigation of medicinal plants traditionally used as dietary supplements: A review on *Moringa oleifera*. **Journal of Public Health in Africa**, v. 9, n. 3, 2018.

MEZHOUDI, M. et al. *Moringa oleifera* leaves: LC-ESI-MS analysis of phenolic compounds and antioxidant activities. **Journal of Oasis Agriculture and Sustainable Development**, v. 4, 2022.

MILLA, P. G.; PEÑALVER, R.; NIETO, G. Health benefits of uses and applications of *Moringa oleifera* in bakery products. **Plants**, v. 10, n. 2, p. 318, 2021.

MONTEIRO, E. W. S. et al. Estudo fitoquímico do extrato etanólico das folhas de *Moringa oleifera* Lam. **Plantas Medicinais do Estado do Amapá: dos relatos da população à pesquisa científica**. Cap. 11, p. 137 – 152, 2021.

MORICONI, P. R. et al. Intoxicação alimentar por *Bacillus cereus* e *Staphylococcus aureus*: relato de uma investigação de surto. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v. 18, n. 2, 2020.

MOSTAFA, A. A. et al. Antimicrobial activity of some plant extracts against bacterial strains causing food poisoning diseases. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 25, n. 2, p. 361-366, 2018.

MUELLER, M.; TAINTER, C. R. *Escherichia coli*. StatPearls [Internet], 2022. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK564298/>>. Acesso em: 25 de jul de 2022.

MUKHTAR, M. D.; ORAH, S. A.; MOHAMMED, Y. Antimicrobial activity of moringa on ear, nose and throat associated fungi, and vancomycin resistant cocci isolated at Aminu Kano Teaching Hospital, Kano, Nigeria. **African Journal of Clinical and Experimental Microbiology**, v. 18, n. 3, p. 159-166, 2017.

MUNHOZ, V. M. et al. Estudo Farmacognóstico de Flores de *Tagetes patula* L. (Asteraceae). **Revista Fitos**, p. 225-230, 2012.

MWAMATOPE, B. et al. Total phenolic contents and antioxidant activity of *Senna singueana*, *Melia azedarach*, *Moringa oleifera* and *Lannea discolor* herbal plants. **Scientific African**, v. 9, p. e00481, 2020.

NCCLS. Standards performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved Standard—Eighth. NCCLS document M2- A8, Pennsylvania, **USA: Edition Wayne**, 2003.

NISAR, B.; SULTAN, A.; RUBAB, S. L. Comparison of medicinally important natural products versus synthetic drugs-a short commentary. **Natural Products Chemistry & Research**, v. 6, n. 2, p. 308, 2018.

NJOKUOCHA, R. C.; EWINIKE, A. E. Antibacterial and phytochemical properties of crude leaf extract of *Moringa oleifera* Lam., *Pterocarpus santalinoides* L'Herit DC and *Ceiba pentandra* L. on some clinical bacteria isolates in Nigeria. **Journal of Complementary and Alternative Medical Research**, v. 10, n. 4, p. 1-15, 2020.

NOBOSSÉ, P.; FOMBANG, E. N.; MBOFUNG, C. M. F. Effects of age and extraction solvent on phytochemical content and antioxidant activity of fresh *Moringa oleifera* L. leaves. **Food Science & Nutrition**, v. 6, n. 8, p. 2188-2198, 2018.

NOUMAN, W. et al. Profiling of polyphenolics, nutrients and antioxidant potential of germplasm's leaves from seven cultivars of *Moringa oleifera* Lam. **Industrial Crops and Products**, v. 83, p. 166-176, 2016.

NY, S. et al. Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolates from outpatient urinary tract infections in women in six European countries including Russia. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 17, p. 25-34, 2019.

OKAFO, S. E.; AKPO, C. O.; OKAFOR, C. C. Formulation and evaluation of antimicrobial herbal creams from aqueous extract of *Moringa oleifera* LAM seeds. **Nigerian Journal of Science and Environment**, v. 18, n. 1, 2020.

OLADEJI, O. S.; ODELADE, K. A.; OLOKE, J. K. Phytochemical screening and antimicrobial investigation of *Moringa oleifera* leaf extracts. **African Journal of Science, Technology, Innovation and Development**, v. 12, n. 1, p. 79-84, 2019.

OLDONI, T. L. C. et al. Bioguided extraction of phenolic compounds and UHPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS characterization of extracts of *Moringa oleifera* leaves collected in Brazil. **Food Research International**, v. 125, p. 108647, 2019.

OTUNOLA, G. A.; AFOLAYAN, A. J. Chemical composition, antibacterial and in vitro anti-inflammatory potentials of essential oils from different plant parts of *Moringa oleifera* Lam. **American Journal Biochemistry Biotechnology**, v. 14, n. 3, p. 210-220, 2018.

PACHORI, P.; GOTHALWAL, R.; GANDHI, P. Emergence of antibiotic resistance *Pseudomonas aeruginosa* in intensive care unit; a critical review. **Genes & Diseases**, v. 6, n. 2, p. 109-119, 2019.

PADAYACHEE, B.; BAIJNATH, H. An updated comprehensive review of the medicinal, phytochemical and pharmacological properties of *Moringa oleifera*. **South African Journal of Botany**, v. 129, p. 304-316, 2020.

PAITAN Y. Current trends in antimicrobial resistance of *Escherichia coli*. **Curr Top Microbiol Immunol**, v. 416, 2018.

PALADA, M. C. The miracle tree: *Moringa oleifera*. **Xlibris Corporation**, 2019.

PARAY, A. R. et al. Antimicrobial activity of crude aqueous extracts of *Moringa oleifera*, *Azadirachta indica*, *Carica papaya*, *Tinospora cordifolia* and *Curcuma longa* against certain bacterial pathogens. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 7, n. 4, p. 984-994, 2018.

PAZ, J. E. W. et al. Phenolic content and antibacterial activity of extracts of *Hamelia patens* obtained by different extraction methods. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 49, p. 656-661, 2018.

PEIXOTO, J. R. et al. *In vitro* antibacterial effect of aqueous and ethanolic *Moringa* leaf extracts. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 4, n. 3, p. 201-204, 2011

PEREIRA, C. S. et al. Proteomics characterization of *Staphylococcus* spp. from goat mastitis and phenogeno-typical assessment of resistance to beta-lactamics. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 41, 2021.

POZZOBON, L.; KEMPKA, A. P. Sementes de *Moringa oleifera* na clarificação de efluente de indústria de ingredientes para alimentação animal: comparação com o coagulante convencional e estudo das condições operacionais. **Engevista**, v. 17, n. 2, p. 196-206, 2015.

PRABAKARAN, M. et al. Polyphenol composition and antimicrobial activity of various solvent extracts from different plant parts of *Moringa oleifera*. **Food Bioscience**, v. 26, p. 23-29, 2018.

PRASAJAK, P. et al. Antioxidant and antimicrobial properties of *Moringa oleifera* leaves and pods extracts in pork meatballs during cold storage. **Chiang Mai University Journal of Natural Sciences**, v. 20, n. 2, p. e2021033, 2021.

PROCÓPIO, R. E. L. et al. Antibiotics produced by *Streptomyces*. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 16, n. 5, p. 466-471, 2012.

RABBANI, A. R. C. et al. Restrição hídrica em sementes de moringa (*Moringa oleifera* L.). **Revista Científica UDO Agrícola**, v. 12, n. 3, p. 563-569, 2012.

RABIE, G.; TAHA, M.; YOUSSEF, K. Atividade Antifúngica de Extratos de Éter de Petróleo e Etanol de Sementes de *Moringa Oleifera*. **Jornal Asiático de Ciências Aplicadas**, v. 7, n. 1, 2019.

RAMAKRISHNA, C. et al. Antimicrobial, phytochemical and quantitative hplc analysis of *Moringa oleifera* root. **Innoriginal: International Journal Of Sciences**, v. 5, n.6, p. 25-28, 2018.

RASHID, U.; ANWAR, F.; KNOTHE, G. *Moringa oleifera* oil: a possible source of biodiesel. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 8175-8179, 2008.

RATH, S.; DAS, S. R.; PADHY, R. N. Surveillance of bacteria *Pseudomonas aeruginosa* and MRSA associated with chronic suppurative otitis media. **Brazilian Journal of Otorhinolaryngology**, v. 83, p. 201-206, 2017.

REIS, L. M. et al. Avaliação da atividade antimicrobiana de antissépticos e desinfetantes utilizados em um serviço público de saúde. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 64, n. 5, p. 870-5, 2011.

RIBEIRO, J. V. M.; ANDRADE, P. V.; REIS, A. G. *Moringa oleifera* seed as a natural coagulant to treat low-turbidity water by in-line filtration. **Revista Ambiente & Água**, v. 14, n. 6, 2019.

RICARDO, L. M. et al. Evidence of traditionality of Brazilian medicinal plants: The case studies of *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (barbatimão) barks and *Copaifera* spp. (copaíba) oleoresin in wound healing. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 219, p. 319-336, 2018.

ROCCHETTI, G. et al. Phenolic profiling and *in vitro* bioactivity of *Moringa oleifera* leaves as affected by different extraction solvents. **Food Research International**, v. 127, p. 108712, 2020.

RODRIGUES, M. A. et al. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a University Hospital in the South of Brazil. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 51, p. 35-41, 2015.

RODRÍGUEZ-PÉREZ, C. et al. Green downstream processing using supercritical carbon dioxide, CO₂-expanded ethanol and pressurized hot water extractions for recovering bioactive compounds from *Moringa oleifera* leaves. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 116, p. 90-100, 2016.

RUFINO, M. S. M. et al. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, p. 996-1002, 2010.

RUTTARATTANAMONGKOL, K.; PETRASCH, A. M. Antimicrobial activities of *Moringa oleifera* seed and seed oil residue and oxidative stability of its cold pressed oil comparing with extra virgin olive oil. **Songklanakarin Journal of Science and Technology**, v. 37, p. 58-594, 2015.

SAADABI, A. M.; ZAID, I. E A. An in vitro antimicrobial activity of *Moringa oleifera* L. seed extracts against different groups of microorganisms. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 5, n. 5, p. 129-134, 2011.

SAFWAT, A. M. et al. Estimating apparent nutrient digestibility of diets containing *Leucaena leucocephala* or *Moringa oleifera* leaf meals for growing rabbits by two methods. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, v. 28, n.8, p.1155-1162, 2015.

- SAINI, R. K.; SIVANESAN, I.; KEUM, Y. S. Phytochemicals of *Moringa oleifera*: a review of their nutritional, therapeutic and industrial significance. **3 Biotech**, v. 6, n. 2, p. 1-14, 2016.
- SAMANTA, S. K. et al. Phytochemical portfolio and anticancer activity of *Murraya koenigii* and its primary active component, mahanine. **Pharmacological Research**, v. 129, p. 227-236, 2018.
- SANTOS, A. F. S. et al. *Moringa oleifera*: Resource Management and Multiuse Life Tree. **Advances in Research**, v. 4, n. 6, 2015.
- SARAIVA, L. C. F. et al. Triagem fitoquímica das folhas de *Moringa oleifera*. **Boletim Informativo Geum**, v. 9, n. 2, p. 12, 2018.
- SHARMA, P.; WICHAPHON, J.; KLANGPETCH, W. Antimicrobial and antioxidant activities of defatted *Moringa oleifera* seed meal extract obtained by ultrasound-assisted extraction and application as a natural antimicrobial coating for raw chicken sausages. **International Journal of Food Microbiology**, v. 332, p. 108770, 2020.
- SILVA, M. V. S.; PADILHA, R. T.; PADILHA, D. M. M. Benefícios da *Moringa oleifera* para saúde humana e animal: Revisão de Literatura. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 8, 2021.
- SILVA, P. P.; NASCIMENTO, W. M. Definição da metodologia para realização do teste de raios X em sementes de abóbora. **Horticultura Brasileira**, v. 28, n. 2, 2010.
- SINGH, A. K. et al. Phytochemical, nutraceutical and pharmacological attributes of a functional crop *Moringa oleifera* Lam: An overview. **South African Journal of Botany**, v. 129, p. 209-220, 2020.
- SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In: **Methods in Enzymology**. Academic press, p. 152-178, 1999.
- SIQUEIRA, C. P. et al. Relato epidemiológico da resistência de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina em unidades de atendimento intensivo. **Pubsaúde**, n. 10, 2022.
- SOARES, D. M. et al. Candidíase vulvovaginal: uma revisão de literatura com abordagem para *Candida albicans*. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research**, v. 25, n. 1, p. 28-34, 2018.
- SOHAIB, M. et al. Comparative study among *Avicennia marina*, *Phragmites australis*, and *Moringa oleifera* based ethanolic-extracts for their antimicrobial, antioxidant, and cytotoxic activities. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 29, n. 1, p. 111-122, 2021.
- SOUZA, G. A. A. D. et al. *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina e meropenem em leite de vacas com mastite subclínica. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 12, p. 98067-98081, 2020.

- STOHS, S. J.; HARTMAN, M. J. Review of the safety and efficacy of *Moringa oleifera*. **Phytotherapy Research**, v. 29, n. 6, p. 796-804, 2015.
- SAUCEDO-POMPA, S. *et al.* Moringa plants: Bioactive compounds and promising applications in food products. **Food Research International**, v. 111, p. 438-450, 2018.
- SULTAN, I. *et al.* Antibiotics, resistome and resistance mechanisms: a bacterial perspective. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 2066, 2018.
- TABIDI, R. H.; BABEKER, E. A.; ELLAITHI, S. O. Phytochemical and antibacterial of *Moringa oleifera* leaves. **World Journal of Pharmaceutical Research**, v. 8, n. 2, p. 212-224, 2018.
- TAEMCHUAY, D. *et al.* The Effect of *Moringa oleifera* Lam. Extracts on Antibacterial Activity against *Staphylococcus aureus* from Bovine Mastitis. **Journal of Mahanakorn Veterinary Medicine**, v. 16, n. 2, p. 273-282, 2021.
- TALAPKO, J. *et al.* *Candida albicans* - the virulence factors and clinical manifestations of infection. **Journal of Fungi**, v. 7, n. 2, p. 79, 2021.
- TALREJA, T. Screening of crude extract of flavonoids of *Moringa oleifera* against bacteria and fungal pathogen. **Journal of Phytology**, v. 1, n. 11, p. 31-35, 2010.
- TECLEGEORGISH, Z. W. *et al.* Nutrients, secondary metabolites and anti-oxidant activity of *Moringa oleifera* leaves and *Moringa*-based commercial products. **South African Journal of Botany**, v. 142, p. 409-420, 2021.
- TINTINO, S. R. *et al.* Atividade antimicrobiana e efeito combinado sobre drogas antifúngicas e antibacterianas do fruto de *Morinda citrifolia* L. **Acta Biológica Colombiana**, v. 20, n. 3, p. 193-200, 2015.
- TRIGO, C. *et al.* *Moringa oleifera*: An unknown crop in developed countries with great potential for industry and adapted to climate change. **Foods**, v. 10, n. 1, p. 31, 2020.
- TSHABALALA, T. *et al.* Potential substitution of the root with the leaf in the use of *Moringa oleifera* for antimicrobial, antidiabetic and antioxidant properties. **South African Journal of Botany**, v. 129, p. 106-112, 2020.
- UNEGBU, V. *et al.* Phytochemical and Antibacterial Properties of *Moringa oleifera* leaf extracts on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **Nigerian Journal of Microbiology**, v. 34, n. 1, p. 5145-5152, 2020.
- VANKWANI, S. *et al.* Synergistic evaluation of *Moringa oleifera* extract and β -lactam antibiotic to restore the susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Molecular Biology Reports**, v. 49, n. 1, p. 421-432, 2022.
- VÁZQUEZ-LEÓN, L. A. *et al.* Variation in bioactive compounds and antiradical activity of *Moringa oleifera* leaves: influence of climatic factors, tree age, and soil parameters. **European Food Research and Technology**, v. 243, n. 9, p. 1593-1608, 2017.

- VÁZQUEZ-SÁNCHEZ, D. et al. Control of *Staphylococcus aureus* biofilms by the application of single and combined treatments based in plant essential oils. **International Journal of Food Microbiology**, v. 286, p. 128-138, 2018.
- VENTURA, P.A.O. et al. Análise fitoquímica e avaliação da susceptibilidade antimicrobiana de diferentes tipos de extratos de *Plantago major* L. (Plantaginaceae). **Infarma Ciências Farmacêuticas**, v.28, p 33-39, 2016.
- VIEIRA, G. H. et al. Antibacterial effect (in vitro) of *Moringa oleifera* and *Annona muricata* against gram positive and gram negative bacteria. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 52, n. 3, p. 129-132, 2010.
- VIRK, A. K. et al. Development and efficacy analysis of a *Moringa oleifera* based potable water purification kit. **Journal of Water Process Engineering**, v. 27, p. 37-46, 2019.
- VON NUSSBAUM, F. et al. Antibacterial natural products in medicinal chemistry—exodus or revival? **Angewandte Chemie International Edition**, v. 45, n. 31, p. 5072-5129, 2006.
- WALSH, T. R. Emerging carbapenemases: a global perspective. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 36, p. S8-S14, 2010.
- WANG, L.; CHEN, X.; WU, A. Mini review on antimicrobial activity and bioactive compounds of *Moringa oleifera*. **Medical Chemistry**, v. 6, n. 9, p. 578-582, 2016.
- XIE, J. et al. Alkaloid Extract of *Moringa oleifera* Lam. Exerts Antitumor Activity in Human Non-Small-Cell Lung Cancer via Modulation of the JAK2/STAT3 Signaling Pathway. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2021, 2021.
- YANG, X. et al. Molecular epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from lower respiratory tract of ICU patients. **Brazilian Journal of Biology**, v. 81, p. 351-360, 2020.
- YEE, M. M. A. Comparative studies on antimicrobial activity and antioxidant activity on different extracts of leaf, bark and root of *Moringa oleifera* Lam. (Drumstick tree). **International Journal of Recent Innovations in Academic Research**, v. 3, n. 7, p. 24-34, 2019.
- YU, S. et al. A study on prevalence and characterization of *Bacillus cereus* in ready-to-eat foods in China. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, p. 3043, 2020.
- ZAKU, S. G. et al. *Moringa oleifera*: An underutilized tree in Nigeria with amazing versatility: A review. **African Journal of Food Science**, v. 9, n. 9, p. 456-461, 2015.
- ZHANG, Y. et al. Compounds identification in semen cuscuteae by ultra-high-performance liquid chromatography (UPLCs) coupled to electrospray ionization mass spectrometry. **Molecules**, v. 23, n. 5, p. 1199, 2018.

ZHAO, B. et al. Optimization of phenolic compound extraction from Chinese *Moringa oleifera* leaves and antioxidant activities. **Journal of Food Quality**, v. 2019, 2019.

ZHU, Y.; YIN, Q.; YANG, Y. Comprehensive investigation of *Moringa oleifera* from different regions by simultaneous determination of 11 polyphenols using UPLC-ESI-MS/MS. **Molecules**, v. 25, n. 3, p. 676, 2020.

ZIMERMAN, R. A. Uso indiscriminado de antimicrobianos e resistência microbiana. **Brasília, DF: OPAS Brasil**, 2010

ZONNER, A. M. *et al.* Plantas medicinais e seu uso na fitoterapia. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 5, p. 35006-35016, 2022.