

1 **Determinação da atividade antimicrobiana e desenvolvimento farmacotécnico de**
2 **gel dermatológico a partir do extrato bruto seco das folhas, cascas e frutos da**
3 ***Prosopis juliflora* (SW). DC (Algaroba)**

4

5 Andreza Maysa Calado^{1*}, Risonildo Pereira Cordeiro² & Analúcia Guedes Silveira Cabral²

6 ^{1*} Graduanda em Farmácia no Centro Universitário Tabosa de Almeida (ASCES/UNITA), Caruaru,

7 PE, Brasil

8 ² Docente do Centro Universitário Tabosa de Almeida (ASCES/UNITA), Caruaru, PE, Brasil

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24 Andreza Maysa Calado, Centro Universitário Tabosa de Almeida, Associação Caruaruense de
25 Ensino Superior, Avenida Portugal 584, Bairro Universitário Caruaru, Pernambuco, CEP 55.016-
26 400, E-mail: andrezamaysa@hotmail.com, Telefone: (87) 9.9963-5778

27 **RESUMO:** No presente trabalho foram avaliadas as atividades antimicrobiana e toxicológica dos
28 extratos etanólico das folhas, cascas e frutos da *Prosopis juliflora*, avaliado pelas técnicas de poços
29 para determinar a concentração inibitória mínima e a mínima bactericida (CIM e CBM), difusão em
30 ágar para testar o potencial dos extratos usando como antibiótico padrão a amoxicilina e a
31 Concentração Inibitória Mínima de Aderência (CIMA), determinada na presença de sacarose a 5%,
32 onde se usou em todos os testes as concentrações de 100%, 50%, 25%, 12,5% e 6,25% (p/v) dos
33 extratos secos. A avaliação toxicológica foi realizada empregando-se o bioensaio de letalidade
34 contra *Artemia salina* Leach. Resultados evidenciaram que os extratos da *Prosopis juliflora* possui
35 capacidade de inibir o crescimento das espécies bacterianas *Staphylococcus aureus* ATCC 3613,
36 *Escherichia coli* e o fungo *Candida albicans* ATCC 76615, com halos de inibição em milímetros de
37 30, 27 e 43 respectivamente. Os extratos mostraram-se praticamente atóxico para a *Artemia salina*
38 nas concentrações testadas, resultando numa Determinação da Concentração Letal 50% (CL₅₀)
39 389,6999 µg/mL para cascas, Determinação da Concentração Letal 50% (CL₅₀) 916,8483 µg/mL
40 para as folhas e Determinação da Concentração Letal 50% (CL₅₀) 3.972,296 µg/mL para os frutos.
41 Esses resultados demonstram um potencial dessa espécie como fonte de compostos antibióticos.
42 **Palavras-chave :** Atividade antimicrobiana, *Prosopis juliflora*, Potencial Tóxico.

43 **ABSTRACT:** In the present study we evaluated the antimicrobial and toxicological activity of
44 ethanol extracts of leaves, bark and fruit of *Prosopis juliflora*, assessed by techniques wells to
45 determine the minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal (CIM and CBM), agar
46 diffusion to test potential of extracts using as an antibiotic standard amoxicillin and the Minimal
47 Inhibitory Concentration Adherence (CIMA) determined in the presence of 5% sucrose, which was
48 used in all test concentrations of 100%, 50%, 25%, 12,5% and 6,25% of the extracts. The
49 toxicological evaluation was conducted employee is the bioassay lethality against *Artemia salina*
50 *Leach*. Results showed that extracts from *Prosopis juliflora* has the capacity to inhibit the growth
51 of bacterial species *Staphylococcus aureus* ATCC 3613, *Escherichia coli* and the fungus *Candida*
52 *albicans* ATCC 76615 with inhibition halos in millimeters of 30, 27 and 43 respectively. The
53 extracts proved to be practically non-toxic to *Artemia salina* in concentrations, resulting in a
54 determination of the lethal concentration 50% (CL₅₀) 389.6999 / mL for shells, Determination of the
55 lethal concentration 50% (CL₅₀) 916.8483 mg / mL for leaves and Determination of 50% Lethal
56 Concentration (CL₅₀) 3972.296 mg / mL for the fruits. These results demonstrate the potential of
57 this species as a source of antibiotic compounds.

58 **Keywords:** Antimicrobial activity, *Prosopis juliflora*, Toxic Potential.

59 INTRODUÇÃO

60 O Nordeste possui 56% de sua superfície coberta com uma vegetação denominada Caatinga, que se
61 caracteriza por uma baixa produtividade madeireira e pequena diversidade de espécies em relação à
62 floresta tropical úmida. Nessa região, predominam os tipos climáticos áridos e semiáridos, com um
63 período seco de aproximadamente nove meses, sendo as precipitações anuais de 250 a 1000 mm. A
64 temperatura média é de 25 °C, não apresentando grandes variações; os solos são, em geral, rasos e
65 de baixa fertilidade (Pires & Kageyma, 1985). Mudanças no uso da terra têm diminuído
66 drasticamente as florestas no mundo, com a pesquisa enfatizando a perda de habitat e fragmentação
67 como as principais ameaças à floresta tropical a biodiversidade e os serviços prestados por este
68 insubstituível ecossistema (Laurence, Sayer & Cassman, 2014).

69 A Caatinga do nordeste do Brasil é região de espécies de madeira com grande potencial de manejo e
70 desenvolvimento a curto espaço de tempo; as árvores, ainda que tortuosas já oferecem, a partir de 7
71 anos, condições de uso (Maia, 2004); dentre essas espécies se destacam: angico (*Anaderanthera*
72 *colubrina var. cebil*), a jurema-preta (*Mimosa tenuiflora*) e algaroba (*Prosopis juliflora*). Com
73 relação à algaroba, é perfeitamente possível admitir que um planejamento florestal, conduzido com
74 base nas mais recentes técnicas silviculturais, garanta a sustentabilidade para vários usos (Farias,
75 2003).

76 A Caatinga é uma região semiárida e um bioma brasileiro exclusivamente Nordeste, além das
77 características ecológicas, que são bem conhecidas para várias regiões áridas, incluindo a baixa
78 umidade relativa do ar, vegetação escassa e altas temperaturas pela manhã, a Caatinga é
79 caracterizada pela sazonalidade bastante imprevisível de chuvas. A estação das chuvas geralmente
80 vem em Janeiro, mas os padrões de chuva são variáveis, levando a incerteza no comprimento
81 periódicos de estivação e na duração de lagoas temporárias. Apesar destes desafios eco fisiológicos,
82 a Caatinga apresenta uma fauna de anuros que podem ser considerados exuberantes para um
83 ambiente de seres resistentes (Navas, 2004).

84 A algaroba, pertencente à família Mimosaceae é uma árvore que atinge 18 m de altura (Mendes,
85 1987), de tronco curto e tortuoso, podendo atingir 8 m (Braga, 1976) e diâmetro de até 0,8 m
86 (Azevedo, 1984; Sousa & Tenório, 1982); sua madeira é elástica, pesada, compacta e dura (Braga,
87 1976), mas apresenta facilidade de ser trabalhada, recebendo bem tintas e vernizes; além dessas
88 características, (Gomes, 1999; Karlin & Ayerza, 1982) citam que a madeira tem boa textura, boa
89 durabilidade natural e apresenta estabilidade dimensional, sendo madeira de boa qualidade para
90 carpintaria e marcenaria, sendo empregada para confecção de móveis rústicos, dormente, postes,
91 mourões, (Braga, 1976; Mendes, 1987), lenha e carvão (Barbosa, 1986).

92 A administração de vagens de *P. juliflora*, pra bovinos, na concentração equivalente a 2,1% do peso
93 corporal durante toda a gestação não causou malformações, sugerindo a possibilidade de que haja
94 uma perda parcial de toxicidade das vagens após a colheita, ou que as vagens de diferente
95 procedência tenham diferente toxicidade (Riet.Correa et al., 2012).

96 As plantas medicinais da Caatinga são usadas na medicina popular para tratar infecções, estes dados
97 etnofarmacológicos que pode contribuir para a obtenção de novos extratos
98 antimicrobiana/antibiofilme e protótipos de produtos naturais para o desenvolvimento de novos
99 medicamentos (Trentin, 2011). As infecções por bactéria são frequentemente propícias a
100 multirresistência, mesmo fora dos serviços de saúde e esse termo pode ser definido de várias
101 maneiras, o Centro Europeu de Prevenção e Controle das Doenças (ECDC) e os Centros dos EUA
102 para Controle e Prevenção de Doenças (CDC) padronizam a classificação de diversos perfis de
103 resistência antimicrobiana e relatórios de comparáveis dados para facilitar o trabalho desses
104 profissionais (Magiorakos, 2011).

105 Tendo em vista o potencial terapêutico das plantas medicinais, as indústrias farmacêuticas estão
106 cada vez mais expandindo seus investimentos em pesquisas de novos compostos advindos dessas
107 fontes, em decorrência principalmente de fatores como: efeitos adversos que os fármacos sintéticos
108 provocam, baixo custo dos medicamentos provenientes dessas fontes e resistência aos antibióticos
109 (Moreira et al., 2010).

110 A resistência a antibióticos se desenvolvendo como uma consequência natural a sua exposição,
111 tornou-se o principal problema de saúde pública no mundo, afetando todos os países, seja ele
112 desenvolvido ou não (Santos, 2004). Foi com aparecimento de novos antimicrobianos no mercado
113 que ocorreu essa resistência, como consequência uma diminuição na efetividade dos mesmos,
114 levando pacientes infectados a ficarem sem opções de tratamento (Álvarez, 2010). Uma das razões
115 para o aumento dessa resistência é o uso indiscriminado, tanto em comunidades quanto em
116 hospitais.

117 A escolha empírica dos antibióticos no tratamento da infecção do trato urinário é determinada por
118 alguns fatores como o germe causador mais provável, o padrão local da resistência bacteriana, a
119 história prévia de uso de antibióticos pelo paciente, a imunidade do paciente, o custo, a
120 disponibilidade e a farmacocinética do fármaco. No Brasil, os antibióticos recomendados para o
121 tratamento empírico da infecção do trato urinário adquirida na comunidade em adultos são
122 sulfametoxazol/trimetoprima (SMZ-TMP), quinolonas (norfloxacina ou ciprofloxacina)
123 cefalosporinas de 1ª ou 2ª gerações, amoxiciclina/clavulanato ou nitrofurantoína. No entanto, o
124 crescimento da resistência antimicrobiana dos uropatógenos deixa dúvida sobre a validade dessas
125 recomendações (Ribeiro, 2004).

126

127 MATERIAL E MÉTODOS

128 As cascas, folhas e frutos foram coletados na cidade da Jurema-PE, as coletas foram realizadas em
129 fevereiro de 2015. Os materiais botânicos foram identificados pela Prof.^a Dr.^a. Rita de Cássia Araújo
130 Pereira (curadora do Herbário – IPA) e a exsicata depositada no mesmo, sob o número 89849.

131 Os extratos foram preparados separadamente a partir das folhas, cascas e frutos da *Prosopis*
132 *juliflora*, usando 3,126 kg do vegetal. Estas foram colocadas em estufa para secagem com posterior
133 redução a pó em um moinho industrial. A droga vegetal foi submetida à maceração usando uma
134 solução extrativa etanólica a 96% (p/v), por sete dias. Posteriormente, o solvente foi filtrado e a
135 solução obtida foi rotaevaporada á pressão reduzida. Sendo este método ineficaz para secagem total,

136 utilizou-se o dessecador obtendo-se ao final o extrato bruto seco das cascas, extrato bruto seco das
137 folhas e o extrato bruto seco dos frutos.

138 A atividade antimicrobiana foi realizada utilizando quatro microrganismos com os extratos
139 separadamente das cascas, folhas e frutos, os tais microrganismos foram *Candida albicans* ATCC
140 76615, *Staphylococcus aureus* ATCC 3613, *Escherichia coli*, e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC
141 7546.

142 O meio de cultura utilizado para os testes foi o ágar Mueller-Hinton, preparado de acordo com as
143 recomendações do fabricante, pronto para uso. A determinação da Concentração Inibitória Mínima
144 (CIM) dos Extratos da *Prosopis juliflora* (SW). DC, frente às bactérias patógenas e o fungo
145 analisado, foram realizados a partir da técnica de poços preparando-se inóculos das respectivas
146 bactérias em solução salina, a partir de semeio por esgotamentos feitos anteriormente, para
147 controlar a concentração bacteriana foram utilizados a escala 0,5 de Marc- Farland com o auxílio de
148 um swab, foram semeadas com o inóculo em toda a extensão das placas de Petri contendo Ágar
149 Mueller-Hinton. Em cada placa semeada foram confeccionados Cinco poços de seis mm de
150 diâmetro, para a inserção de 50µL dos extratos bruto alcoólico separadamente das cascas, folhas e
151 frutos em diferentes concentrações, partindo de 100% (puro), seguido pelas diluições de 50%, 25%,
152 12,5% e 6,25% dos extratos bruto seco das cascas, folhas e frutos da *Prosopis juliflora* (SW). DC.
153 Após essa etapa, as placas foram incubadas a 37°C por 24 horas, para posterior mensuração dos
154 halos em milímetros (mm) e determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM), sendo esta
155 entendida como a menor concentração dos extratos capaz de inibir o crescimento bacteriano (United
156 States Pharmacopeia).

157 Para determinação da Concentração Mínima Bactericida (CBM), sendo esta entendida como a
158 maior concentração dos extratos capaz de inibir o crescimento bacteriano com maior
159 expressividade, foi feita a mensuração dos halos em milímetros (mm), sendo os valores retirados do
160 teste da Concentração Inibitória Mínima (CIM). A Concentração Inibitória Mínima de Aderência
161 (CIMA) da bactéria foi determinada na presença de sacarose a 5% em caldo BHI em tubos de

162 ensaio, usando-se as concentrações de 100% (puro), 50%, 25%, 12,5% e 6,25% dos extratos das
163 cascas, folhas e frutos, pipetando um ml, de cada concentração, e transferindo para o tubo de BHI
164 com Sacarose. As cepas foram suspensas em BHI, pipetando um ml e transferidas para o tubo de
165 BHI com Sacarose, colocando os tubos inclinados a 30⁰ e incubadas a 37°C por 24 horas. A leitura
166 foi realizada através da observação visual da aderência da bactéria às paredes do tubo após
167 coloração com o marcador Azul de Metileno. A Concentração Inibitória Mínima de Aderência
168 (CIMA) é definida como a menor concentração do agente antibacteriano em meio com Sacarose
169 que impediu a aderência ao tubo de vidro.

170 O método analítico biológico empregado para a determinação da potência dos extratos bruto
171 alcoólico das cascas, folhas e frutos da *Prosopis juliflora* (SW). DC é a difusão em ágar Muller-
172 Hinton em placas, com aplicação de diferentes concentrações dos extratos bruto alcoólico das
173 cascas, folhas e frutos e do antimicrobiano padrão (amoxicilina). Preparou-se uma solução padrão
174 com 0.50g de amoxicilina diluída em soro fisiológico. Para a preparação dos inoculo, a princípio
175 fez-se suspensões bacterianas, comparando-se a turbidez com o padrão 0,5 da escala de
176 MacFarland. Para as amostras dos extratos bruto alcoólico das cascas, folhas e frutos analisados
177 separadamente, foram preparadas soluções em soro fisiológico nas concentrações de 100% (puro)
178 50%, 25%, 12,50% e 6,25% do extrato bruto seco da Algaroba. Sendo estas pipetadas na quantidade
179 de 100µl para os cilindros previamente preparados sob as placas de Petri com os microrganismos
180 padrões. Sendo estas posteriormente levadas à incubação por 18-24 horas em estufa a 37°C. Os
181 resultados foram lidos na forma de halos de inibição tabelados e comparados.

182 O ensaio da atividade toxicológica do extrato foi avaliada através do bioensaio de letalidade contra
183 *Artemia salina* Leach, de acordo com o método proposto por Meyer et al. (1982). Os ovos de
184 *Artemia salina* foram encubados em água do mar por um período de 24 horas para que houvesse a
185 eclosão das larvas, onde as mesmas foram separadas em sete grupos com 10 a 13 larvas em cada
186 grupo. O primeiro grupo recebeu a solução controle e as seis seguintes receberam as diferentes
187 concentrações (1000 µg/mL, 750 µg/mL, 500 µg/mL, 250 µg/mL, 100 µg/mL e 50 µg/mL) dos

188 extratos das cascas, folhas e frutos da Algaroba e colocados por um período de 24 horas sobre
189 iluminação artificial. As observações foram feitas após este período, quando se contabilizou as
190 larvas vivas e mortas. Os ensaios foram realizados em triplicata. É considerada com baixa
191 toxicidade substâncias que tenham TAS > 1000 µg/mL (1 µg/mL = 1ppm).

192

193 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

194 Os resultados obtidos através do teste antimicrobiano da Algaroba estão sumarizados na Tabela 1.

195 Nos testes de susceptibilidade para a avaliação da atividade antimicrobiana, pode-se constatar que
196 os extratos bruto seco das folhas, cascas e frutos analisados separadamente tiveram os mesmos
197 resultados em todos os testes sumarizados em um único valor para o extrato inibindo o crescimento
198 bacteriano sobre as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, bem como atividade
199 antifúngica frente o fungo do gênero *C. albicans*. Sua atividade antimicrobiana variou de acordo
200 com as diluições do extrato, sendo que nas concentrações de 100% e 50% houve inibição do
201 crescimento de todos os patógenos avaliados.

202 Quando avaliamos o desempenho do extrato das cascas, folhas e frutos sobre o crescimento da
203 bactéria Gram negativa *Escherichia coli*, verificamos que a maior inibição ocorreu com a
204 concentração de 100%, induzindo um halo de inibição de 27 mm: Comparando os resultados
205 obtidos com o antibiótico padrão Amoxicilina, podemos concluir que os extratos mostraram-se uma
206 atividade que equivale a 51,8 % desse antimicrobiano.

207 Nos resultados obtidos com a bactéria Gram positiva *Staphylococcus aureus*, verificamos que o
208 halo de inibição foi de 30 mm na concentração de 100%, decaindo para 25, 20 e 2 mm, nas
209 concentrações de 50, 25 e 12,5%, respectivamente. Comparando os resultados obtidos com o
210 antibiótico, os extratos das cascas, folhas e frutos para essa bactéria demonstraram-se uma atividade
211 que equivale a 54,51% do antimicrobiano.

212 Avaliando a atuação dos extratos das cascas, folhas e frutos sobre o fungo leveduriforme *C.*
213 *albicans*, verificamos que este foi o microrganismo com os maiores halos de inibição formada. Foi

214 possível observar que o halo de inibição foi de 43 mm na concentração de 100%, decrescendo para
215 39, 35 e 34 mm, nas concentrações de 50, 25 e 12,5%, respectivamente, sendo com isso considerado
216 esta última concentração, a Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos extratos, sobre o fungo *C.*
217 *albicans*. Na concentração de 6,25% o extrato não conseguiu formar halo inibitório. A correlação
218 dos extratos etanólico da Algaroba com antibiótico padrão utilizado (amoxicilina), não dá pra ser
219 realizada porque esse antibiótico não possui espectro de atuação contra fungos, logo já era esperado
220 o não crescimento da *C. albicans* no meio com antibiótico.

221 A potência dos antibióticos é determinada, comparando-se a dose com a qual se inibe o crescimento
222 de um microrganismo testado e susceptível com a dose da preparação do antibiótico de referência
223 nas mesmas condições de trabalho. Uma redução na atividade microbiana pode revelar mudanças
224 não demonstráveis por métodos químicos (United States Pharmacopeia, 1990).

225 Nas concentrações e condições avaliadas foi possível verificar que os extratos das cascas, folhas e
226 frutos da Algaroba não apresentou atividade frente à cepa bacteriana *Pseudomonas aeruginosa*.

227 De acordo com a tabela II. A partir dos valores obtidos anteriormente da *Escherichia coli* os valores
228 foram declinando, chegando a 1 mm na concentração de 6,25%, sendo com isso considerado esta
229 concentração a Concentração Inibitória Mínima (CIM) para os extratos bruto seco das cascas, folhas
230 e frutos da *Prosopis juliflora* sobre a bactéria *E. coli*.

231 A bactéria Gram positiva *Staphylococcus aureus*, verificamos com esses valores foi possível
232 determinar a concentração inibitória mínima (CIM) dos extratos bruto seco das cascas, folhas e
233 frutos da *Prosopis juliflora*, sobre a bactéria *S. aureus* na concentração de 6,25% ocorrendo
234 nenhuma formação de halos de inibição.

235 O fungo leveduriforme *C. albicans* decrescendo para 39, 35 e 34 mm, nas concentrações de 50, 25 e
236 12,5%, respectivamente, sendo com isso considerado esta última concentração, a Concentração
237 Inibitória Mínima (CIM) dos extratos das cascas, folhas e frutos, sobre o fungo *C. albicans*. Na
238 concentração de 6,25% os extratos não conseguiu formar halo inibitório.

239 Na Concentração Mínima Bactericida (CMB), definida como a maior concentração capaz de matar
240 com melhor expressividade, em todos os microrganismos testados, a concentração de 100% foi a
241 que os extratos das cascas. Folhas e frutos induziu a formação dos maiores halos de inibição: *S.*
242 *aureus* = 30 mm, *E. coli* = 27 mm, e o fungo *C. albicans* = 43 mm.

243 A formação de biofilmes bacterianos é um estilo de vida microbiana que ocorre em todos os tipos
244 de superfícies (Lindsay & Von Holy, 2006). São constituídos de multicamadas de células
245 bacterianas ou fungos, agrupadas e envoltas por material extracelular composto de
246 exopolissacarídeos (EPS) de origem bacteriana, que têm por função juntar as células firmemente às
247 superfícies dos biomateriais e entre elas, formando uma matriz extracelular composta
248 fundamentalmente de carboidratos e proteínas, mas também de DNA extracelular e detritos de
249 células mortas (Balsamo et al., 2012). Apesar de o produto possuir atividade direta sobre os
250 microrganismos *S. aureus*, *E. coli*, e *C. albicans*, quando ocorreu a formação do biofilme, os
251 extratos das cascas, folhas e frutos não conseguiram atravessar, ou seja, os extratos apresentam
252 baixo poder de penetrabilidade sobre o biofilme, apesar de possuir ação sobre os microrganismos
253 testados.

254 Na avaliação da Concentração Inibitória Mínima de Aderência (CIMA), os extratos etanólico das
255 cascas, folhas e frutos da Algaroba não conseguiram impedir a formação de biofilmes frente os
256 microrganismos testados, se apresentando negativo para atividade antiaderente.

257 O ensaio da atividade toxicológica é determinado através da concentração letal 50% (CL₅₀), descrito
258 nos gráficos I (cascas), II (folhas) e III (frutos), segundo a metodologia de Mayer.

259 Os ovos de *Artemia salina* foram incubados em água do mar a temperatura ambiente por 24 horas.
260 Com a ajuda de uma fonte de luz, as larvas foram atraídas e coletadas. Soluções do extrato e água
261 do mar em concentrações variando de 20-1000 µg/ml. Cerca de 10 a 13 metanúplios foram
262 transferidos para tubos de ensaio contendo 5 ml de cada uma das soluções a serem testadas. Um
263 grupo controle foi preparado contendo apenas os solventes e as larvas. Os ensaios foram realizados
264 em triplicata. A contagem do número de larvas mortas foi realizada após 24 horas e esse número foi

265 usado para o cálculo da CL_{50} . No ensaio de toxicidade frente à *Artemia salina* através do extrato da
266 *Prosopis juliflora* (cascas), houve grande número de mortos na maioria das concentrações testadas
267 da amostra de *Prosopis juliflora*, nas concentrações mais elevadas de 1000 e de 750 $\mu\text{g/mL}$. A
268 amostra apresentou uma Determinação da Concentração Letal - $CL_{50} = 389,6999 \mu\text{g/mL}$, que
269 representa que o extrato analisado possui uma toxicidade moderada para a *Artemia salina* nas
270 concentrações e condições testadas. Segundo (Bussmann et al., 2011) CL_{50} entre 250 e 499 $\mu\text{g/mL}$
271 apresentam toxicidade moderada este resultado pode conferir uma possível atividade
272 microbiológica ou citotóxica.

273 No ensaio de toxicidade frente à *Artemia salina* através do extrato da *Prosopis juliflora* (folhas),
274 não houve grande número de mortos na maioria das concentrações testadas da amostra de *Prosopis*
275 *juliflora*, nas concentrações mais elevadas de 1000 e de 750 $\mu\text{g/mL}$ as *Artemias salina* apresentaram
276 movimento parecido com a do controle. A amostra apresentou uma Determinação da Concentração
277 Letal - $CL_{50} = 916,8483 \mu\text{g/mL}$, que representa que o extrato analisado possui uma toxicidade leve
278 para a *Artemia salina* nas concentrações e condições testadas.

279 No ensaio de toxicidade frente à *Artemia salina* através do extrato da *Prosopis juliflora* (frutos), não
280 houve grande número de mortos na maioria das concentrações testadas da amostra de *Prosopis*
281 *Juliflora*, nas concentrações mais elevadas de 1000 e de 750 $\mu\text{g/mL}$ as *Artemias salina*
282 apresentaram movimento parecido com a do controle. A amostra apresentou uma Determinação da
283 Concentração Letal - $CL_{50} = 3.972,296 \mu\text{g/mL}$, que representa que o extrato analisado é considerado
284 atóxico para a *Artemia salina* nas concentrações e condições testadas.

285 A toxicidade moderada dos extratos das cascas, e a toxicidade leve das folhas sendo atóxico aos
286 frutos no teste de letalidade contra *Artemia salina* é um indicador de que a planta pode ser bem
287 tolerada frente ao sistema biológico. Entretanto estudos mais detalhados para a avaliação da
288 toxicidade dos extratos bioativo empregando-se outros modelos (*in vitro*) se fazem necessários.
289 Assim, com base nos resultados obtidos, foi possível, verificar que os extratos bruto seco das
290 cascas, folhas e frutos analisados tem uma atividade promissora contra os microrganismos testado,

291 o que nos incentiva a realização de novos estudos com esta espécie vegetal, para se determinar
292 quais as substâncias presentes nos extratos que contribuem para a atividade biológica, como
293 também para entender seu mecanismo de ação. Os extratos das cascas, folhas e frutos mostraram-se
294 relevantes para *a Artemia salina* Leach nas concentrações testadas, por esta razão, a potencialidade
295 da *Prosopis juliflora* como fonte de novos medicamentos antimicrobianos se faz necessária.

296 O Gel é uma preparação semissólida formada por líquidos gelificados com a ajuda de agentes
297 gelificantes apropriados. Geralmente, as substâncias formadoras de géis são polímeros que, quando
298 dispersos em meio aquoso, assumem conformação doadora de viscosidade à preparação. Desta
299 forma, pode-se definir o gel como uma preparação semissólida que consiste em dispersões de
300 pequenas partículas inorgânicas ou grandes moléculas orgânicas penetradas internamente por
301 um líquido (Corrêa, 2005).

302 Após a constituição da formação do Gel, analisaram-se os testes de estabilidade acelerada e
303 estabilidade preliminar. O estudo de estabilidade acelerada consistiu na realização do teste na fase
304 inicial do desenvolvimento do produto, onde amostras em triplicata foram separados em recipientes
305 de plástico neutro e fechados e submetidas a condições de estresse. Estas condições foram na estufa
306 a 37°C, geladeira a 5° e uma terceira amostra foi colocada em temperatura ambiente, para que
307 possam ser comparadas as demais amostras, segundo a Agencia Nacional de Vigilância Sanitária
308 (ANVISA, 2004). Tendo uma duração de 12 dias (6 ciclos) em que as amostras a cada 24 horas
309 foram transferidas da estufa para a geladeira ou vice-versa e a cada 48h serão realizados testes
310 organolépticos e físico-químicos dos produtos, Agencia Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA,
311 2004). As amostras submetidas ao estudo de estabilidade acelerada foram empregadas em
312 condições menos extremas, porém com uma maior duração. Este estudo avaliou cada amostra em
313 uma condição distinta, durante um período de 90 dias, onde uma primeira amostra permaneceu em
314 estufa a 37°C, a segunda em geladeira a 5°C e uma terceira em temperatura ambiente, Agencia
315 Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2004).

316 Os testes organolépticos e ensaios físico-químicos foram avaliados no tempo 0, 24h, 7, 15, 30, 60 e
317 90 dias, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2004). As amostras foram avaliadas
318 durante período de armazenamento de 30 dias e, conforme os resultados observados, todas as
319 amostras acondicionadas na geladeira (5° C) e no ambiente (20° C – 25° C) não sofreram
320 modificações em relação à aparência, cor e odor. O mesmo ocorreu com as amostras em gel
321 expostas na temperatura de 37° C, não ocorrendo nenhuma separação de fases. Com relação à
322 aparência (textura), os géis apresentaram leve modificação a partir do 15° dia, caracterizada pelo
323 aumento de viscosidade, permanecendo estável até o 30° dia. Apresentando boa estabilidade quando
324 correlacionados aos testes de estresse.

325 Entretanto, nas amostras de géis acondicionadas na estufa, a leve modificação apresentada pelo
326 endurecimento da superfície a partir do 30° dia, resultou-se da perda dos componentes hidrofílicos
327 por evaporação durante o aquecimento, o que se dá de forma mais intensa na superfície,
328 aumentando, com isso, a sua viscosidade. O aumento da viscosidade é uma das situações de
329 maior ocorrência de envelhecimento das preparações semissólidas (Corrêa, 2005).

330

331 **CONCLUSÕES**

332 Com base nos resultados obtidos, foi possível verificar que os extratos secos das cascas, folhas e
333 frutos da *Prosopis juliflora* (Algaroba) apresentaram capacidade de inibir o crescimento das
334 bactérias *Staphylococcus aureus* ATCC 3613 e *Escherichia coli* e do fungo *Candida albicans* ATCC
335 76615. Nos ensaios de toxicidade frente à *Artemia salina* o extrato das cascas apresentou uma
336 toxicidade moderada, os extratos das folhas toxicidade leve, e os frutos apresentaram-se atóxico. O
337 emprego deste bioensaio para avaliar a toxicidade de extratos vegetais foi simples, eficaz e rápido
338 mostrando resultados relevantes, que podem servir como fonte para outros estudos.

339 A estabilidade química dos princípios ativos incorporados depende, frequentemente, da natureza da
340 base usada na formulação. A incorporação de drogas em estruturas de géis, frequentemente, leva a
341 uma variação em sua estabilidade (Florence & Attwood, 2003). No estudo realizado, verificou-se

342 que o PH dos géis não demonstrou variações significativas para o Carbopol. No teste de 30° dia não
343 houve alteração. Já os testes de 90° dia resultaram-se da perda dos componentes hidrofílicos por
344 evaporação aumentando a sua viscosidade quando submetido ao aquecimento a 37° C. Porém, essas
345 alterações na viscosidade não foram suficientes para a separação das fases no teste de centrifugação,
346 sugerindo a sua estabilidade física. A avaliação dos extratos das folhas, cascas e frutos da *Prosopis*
347 *juliflora* demonstraram atividade antimicrobiana e os seus respectivos géis apresentaram uma boa
348 estabilidade, portanto o presente artigo contribui de forma satisfatória para o estudo desta espécie.

349

350 **AGRADECIMENTOS**

351

352

353 Agradeço primeiramente a Deus por ter me dado saúde e força para superar as
354 dificuldades. E a Maria Adriana F. Farias por dar suporte em alguns testes realizados.

355

356 **REFERÊNCIAS**

357

358 Allen, M. F. Pomadas, Cremes e Géis. The ecology of arbuscular mycorrhizas: a look back into the
359 20th century and a peek into the 21st. Mycological Research, v. 100, n. 7, p. 769-782, 1996.

360

361 Allen, JR, L.V.; Popovich, N.G.; Ansel, H.C. Pomadas, Cremes e Géis. Formas Farmacêuticas e
362 Sistemas de liberação de Fármacos. 8. ed. Porto Alegre: Artmed, 2007. p. 301- 339.

363

364 Álvarez, C.A. Resistencia bacteriana, transmisión cruzada y control de La infección asociada a La
365 atención en salud. Infect. vol. 14, n.2, p. 91-92, 2010.

366

367 Alves, W.F., Mota, A.S., Lima, R.A.A., Bellezoni, R., Vasconcellos, A. - Termites as bio indicators
368 of habitat quality in the Caatinga, Brazil: is there agreement between structural habitat variables and
369 the sampled assemblages. *Neotropical Entomology* 40, 39–46. 2011.

370

371 Andrade, D; Leopoldo, V.C. Ocorrência de Bactérias Multiresistentes em um Centro de terapia
372 intensiva de Hospital Brasileiro de Emergências. *Revista Brasileira Terapia Intensiva*. v.18, n.1,
373 janeiro/março, 2006.

374

375 Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 1.ed. de maio de 2004.
376 ANVISA. Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos. 1. ed. Brasília: 2004. 1 v.

377

378 Balsamo A.C.; Graziano, K.U.; Schneider, R.P.; Junior, M.A.; Lacerda, R.A. Remoción de biofilm
379 de canales de los endoscopios: evaluación de los métodos de desinfección que se utilizan
380 actualmente. *Rev Esc Enform USP*, v.46, p.91-98, 2012.

381

382 Batista, A.M.; Mustafa, A.F.; Mckinnon, J.J.; Kermasha, S. 2002. In situ ruminal and intestinal
383 nutrient digestibilities of mesquite (*Prosopis juliflora*) pods. *Animal Feed Science and Technology*
384 100: 107-112.

385

386 Bernardi C, Drago S, Sabbag N, Sanchez H, Freyre M. Formulation and sensory evaluation of
387 *Prosopis juliflora* (algaroba) pulp cookies with increased iron and calcium dialyzabilities. *Plant*
388 *Foods for Human Nutrition*. 2006; 61: 39-44.

389

390 Bussmann, R. W. et al. Toxicity of medicinal plants used in traditional medicine in Northern Peru.
391 *Journal of ethnopharmacology*, [s.l.], v. 137, p. 121-140, 2011.

392

393 Borsari, R.R.J.; Celligoi, M.A.P.C.; Buzato, J.B.; Silva, R.S.S.F. 2006. Influence of carbon source
394 and the fermentation process on levan production by *Zymomonas mobilis* analyzed by the surface
395 response. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 26: 604-609.

396

397 Bragar, R. - Plantas do Nordeste—Especialmente do Ceará. Coleção Mossoroense, 4th ed.
398 Universitária da UFRN, Natal. 1953.

399

400 Bravo L, Grados N, Saura-Calixto F. Characterization of syrups and dietary fiber obtained from
401 mesquite pods (*Prosopis pallida* L). *J Agric Food Chem.* 1998; 46: 1727-33.

402

403 Corrêa, N.F.; Camargo, F.B.J.; Ignácio, R.F.; Leonardi, G.L. Avaliação do comportamento
404 reológico de diferentes géis hidrofílicos. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas.* v.41, n.1, p.
405 73-78, 2005.

406

407 Costa, A.F. *Farmacognosia.* 2. Ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1994. 135p.

408

409 Costa-Lotufo, L. V. A Contribuição dos Produtos Naturais como Fonte de Novos Fármacos
410 Anticâncer: Estudos no Laboratório Nacional de Oncologia Experimental da Universidade Federal
411 do Ceará. *Revista de Química.* v.2, n.1, p.47-58, 2010.

412

413 Costa-Lotufo, L.V.; Montenegro, R.C.; Alves, A.P.N.N.; Madeira, S.V.F.; Pessoa, C.; Moraes,
414 M.E.A.; Moraes, M.O. . A Contribuição dos Produtos Naturais como Fonte de Novos Fármacos
415 Anticâncer: Estudos no Laboratório Nacional de Oncologia Experimental da Universidade Federal
416 do Ceará. *Revista de Química.* v.2, n.1, p.47-58, 2010.

417

- 418 Da Silva, J.M.R.; Nascimento, M.G. Epoxidação do β -cariofileno com lipases imobilizadas em gel
419 de ágar. *Química Nova*, v.37, n.6, p.1022-1027, 2014.
- 420
- 421 Deans, J.D.; Diagne, Nizinski, J.; Lindley, D.K.; Seck, M.; Ingleby, K.; Munro, R.C. 2003.
422 Comparative growth, biomass production, nutrient use and soil amelioration by nitrogen fixing tree
423 species in semi-arid Senegal. *Forest Ecology and Management* 176: 253-264.
- 424
- 425 Gennaro, A.R. - Estabilidade de Produtos Farmacêuticos. Remington: A Ciência e a Prática da
426 Fármacia. 20. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 2000. p. 1022-1031.
- 427
- 428 Laurance, W.F., Sayer, J. & Cassman, K.G. (2014) Agricultural expansion and its impacts on
429 tropical nature. *Trends in Ecology & Evolution*, 29, 107–116
- 430
- 431 Levy SB. The antibiotic paradox: how the miracle drugs are destroying the miracle. Plenum Press,
432 New York. 1992: 90
- 433
- 434 Levy, S. B. - Factors impacting on the problem of antibiotic resistance. *Journal of antimicrobial*
435 *Chemotherapy*. v.49, n.1, p.25-30, 2002.
- 436
- 437 Levy, S. B; Marshall, B. - Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses.
438 *Nat Med.*, v. 10, p.122-S129, 2004.
- 439
- 440 Lindsay, D.; Von Holy, A. Bacterial biofilms within the clinical setting: what healthcare
441 professionals should know. *J Hosp Infect.* 64(4):p.313-325, 2006.
- 442

- 443 Liu, X.; GO, M. L. - Antiproliferative activity of chalcones with basic functionalities. *Bioorganic &*
444 *Medicinal Chemistry* 15 (2007), 7021–7034.
- 445
- 446 Maciel, M.A.M.; Pinto, A.C; Junior, V.F.V. Plantas medicinais: a necessidade de estudos
447 multidisciplinares. *Química Nova*, v.25, p.429-38, 2002.
- 448
- 449 Melo, A.M. Y.; Maia, L.C.; Saggin-Junior,O.J. Fungos micorrízicos arbusculares ocorrentes na
450 rizosfera de espécies dos gêneros *Prosopis* e *Acacia* na região semi-árida brasileira. (2010) p.235
- 451
- 452 Meyer D, Becker R, Gumbmann, MR, Vohra P, Neukom H, Saunders M. Processing, composition,
453 nutritional evaluation, and utilization of Mesquite (*Prosopis spp.*) pods as a raw material for the
454 food industry. *J Agric Food Chem.* 1986; 34: 914-9.
- 455
- 456 Naseeruddin, S., Srilekha, L. Sateesh, L., Manikyam, A., Suseelendra, L. and Rao, V. Selection of
457 the best chemical pretreatment for lignocellulosic substrate *Prosopis juliflora*. *Bioresource*
458 *Technology*, 136, 2013, p. 542-549.
- 459
- 460 Navas, C. A.; Antoniazzi, M. M.; Jared, C. - A preliminary assessment of anuran physiological and
461 morphological adaptation to the Caatinga, a Brazilian semi-arid environment. *International*
462 *Congress Series* 1275 (2004) 298–305.
- 463
- 464 Novais, T.S.; Costa, J.F.D.; David, J.P.L.; David, J.M.; Queiroz, L.P.; França, F.; Giuliatti, A.M.;
465 Soares, M.B.P.; Santos, R.R. Atividade antibacteriana em alguns extratos de vegetais do semi-árido
466 brasileiro. *Rev. Bras. Farmacogn*, v.13, suppl.2, p.5-8, 2003.
- 467

- 468 Obeidat, B.S. and Shdaifat, M.M. Partial substitution of barley grain with *Prosopis juliflora* pods in
469 lactating Awassi ewes' diets: Effect on intake, digestibility, and nursing performance. *Small*
470 *Ruminant Research*, 111(1-3), 2013, p. 50-55.
- 471
- 472 Organización de las Naciones Unidas para La agricultura y La alimentación (FAO). El género
473 *Prosopis* "algarrobos" en América Latina y El Caribe. Distribución, bioecología, usos y manejo,
474 p70-92, 2000.
- 475
- 476 Pavón, N.P., Briones, O. - Phenological patterns of nine perennial plants in an intertropical semi-
477 arid Mexican scrub. *Journal of Arid Environments* 49, 265 e 277. 2001.
- 478
- 479 Poonam-Saini, P., Khans, S., Baunthiyal, M. and Sharma, V. Organ-wise accumulation of fluoride
480 in *Prosopis juliflora* and its potential for phytoremediation of fluoride contaminated soil.
481 *Chemosphere*, 89(5), 2012, p. 633-635.
- 482
- 483 Proll J, Petzke J, Ezeagu EI, Metges CC. Low nutritional quality of unconventional tropical crop
484 seeds in rats. *J Nutr* 1998; 128: 2014-22.
- 485
- 486 Rosado, J. y Moreno, M. Farmacopea guajira: El uso de las plantas medicinales xerofíticas por la
487 etnia wayu. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, 41, 2010, p. 1-10.
- 488
- 489 Rêgo Júnior, N.O.; Fernandez, L.G. Castro, R.D; Silva, L.C. Gualberto, S.A.; Pereira, M.L.A.;
490 Silva, M.V. Bioactive compounds and antioxidant activity of crude extracts of brushwood vegetable
491 species. *Braz. J. Food Technol.*, v.14, n.1, p.50-57, 2011.
- 492

- 493 Sáez, A. y Solarte, J. Evaluación de un medio de cultivo a partir del fruto de *Prosopis Juliflora*.
494 *Revista de la Universidad EAFIT*, 40 (135), 2004, p. 9-17.
495
- 496 Silva MP, Martínez MJ, Coirini R, Brunetti MA, Balzarini M, Karlin, U. Valoración nutritiva del
497 fruto del algarrobo blanco (*Prosopis chilensis*) bajo distintos tipos de almacenamiento. *Multequina*.
498 2000; 9: 65-74.