ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO DE *Bauhinia cheilantha* SOBRE CEPAS ATCC E MULTIRRESISTENTE DE *Klebsiella pneumoniae*

Graciele Vilela Carvalho[1], Samsara Viviani dos Santos[2], Vanessa Marques Meccatti-Domiciano[2], Luciane Dias de Oliveira[2], Antônio Carlos Victor Canettieri[1].

[1]Universidade do Vale do Paraíba, Univap, Faculdade de ciências da Saúde, Avenida Shishima Hifumi, 2911, Urbanova - 12244-000 - São José dos Campos-SP, Brasil, vilelacarvalhog@gmail.com, canettieri@univap.br

[2]Instituto de Ciência e Tecnologia (ICT), Unesp, Universidade Estadual Paulista, Av. Engenheiro Francisco José Longo, 777 - Jardim São Dimas - 12245-000 – São José dos Campos-SP, Brasil, luciane.oliveira@unesp.br

Resumo

A crescente resistência bacteriana tem impulsionado a busca por novas alternativas terapêuticas. Com isso, *Bauhinia cheilantha*, conhecida como Pata-de-vaca do Nordeste, destaca-se como planta medicinal com potencial biológico. Este estudo teve como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana do extrato hidroetanólico de *B. cheilantha* frente a cepas de *Klebsiella pneumoniae*, incluindo uma cepa padrão ATCC 4352 e uma multirresistente. O extrato foi obtido das folhas, caracterizado fitoquimicamente e avaliado por microdiluição em caldo, segundo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, M7-A9), para determinação da concentração inibitória mínima e concentração bactericida mínima. Após a análise fitoquímica, foram obtidos 67,7 mg/mL de sólidos solúveis, 7,21 mg/mL de fenóis, 3,29 mg/mL de flavonoides e 30,79 µg/mL de compostos antioxidantes. Quanto aos resultados microbiológicos, o extrato apresentou atividade bactericida para todas as cepas, com CBM de 8,40 mg/mL. Conclui-se que o extrato de *Bauhinia cheilantha* é bactericida para *K. pneumoniae* na concentração mínima de 8,40 mg/mL, evidenciando potencial biológico para futuras investigações.

Palavras-chave: *Bauhinia Cheilantha*. Atividade antimicrobiana. *Klebsiella pneumoniae*. Resistência bacteriana. Fitoterapia.

Área do Conhecimento: Biomedicina.

Introdução

A resistência bacteriana aos antimicrobianos representa um dos principais desafios para a saúde pública mundial. Estimativas indicam que, caso medidas eficazes não sejam adotadas, as infecções causadas por bactérias resistentes poderão resultar em milhões de mortes nas próximas décadas (Naghavi *et al*., 2024). Esse problema está diretamente relacionado ao uso inadequado e indiscriminado de antibióticos, favorecendo a seleção de microrganismos resistentes e reduzindo a eficácia dos tratamentos disponíveis (Ventola, 2015; Rocha *et al.,* 2024). Entre os patógenos de maior relevância clínica destaca-se *Klebsiella pneumoniae*, bactéria Gram-negativa, frequentemente associada a infecções hospitalares. Sua capacidade de adquirir mecanismos de resistência, como β-lactamases e carbapenemases, dificulta ainda mais o tratamento (Martin; Bachman, 2018; WHO, 2021).

Diante do aumento da resistência bacteriana, a busca por novas substâncias com atividade antimicrobiana tem despertado crescente interesse científico. Nesse contexto, as plantas medicinais representam uma importante fonte de investigação, especialmente aquelas utilizadas tradicionalmente e que apresentam potencial para a obtenção de compostos bioativos. Entre elas, destaca-se *Bauhinia cheilantha*, popularmente conhecida como Pata-de-vaca do Nordeste, espécie nativa da Caatinga e tradicionalmente utilizada no Nordeste brasileiro. O gênero *Bauhinia* apresenta relevância integrando a Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde, o RENISUS, com espécies como *B. affinis, B. forficata e B. variegata* (Brasil, 2021). Embora *B. cheilantha* não esteja especificamente entre as espécies listadas, sua ocorrência na Caatinga e seus usos tradicionais, associados às evidências de atividades biológicas, justificam o interesse científico pela espécie.

Bauhinia cheilantha apresenta diferentes propriedades biológicas descritas na literatura. Caffaro *et al.* (2019) observaram atividade antimicrobiana e antioxidante em extratos da espécie. Além disso, estudos com extratos aquosos das folhas identificaram diferentes classes de metabólitos secundários, incluindo compostos fenólicos, flavonoides, lignanas, saponinas e taninos, associados à atividade antioxidante (Oliveira *et al*., 2025). Adicionalmente, o óleo essencial de *B. cheilantha* apresentou composição química diversificada, predominada por sesquiterpenos, e demonstrou atividades larvicida e citotóxica *in vitro* (Silva *et al*., 2020). Esses achados reforçam o potencial da espécie como fonte de constituintes bioativos e justificam a investigação de sua atividade antimicrobiana e de suas características fitoquímicas.

Dessa forma, considerando a relevância da resistência antimicrobiana, a importância clínica de *K. pneumoniae* e o potencial biológico previamente descrito para *B. cheilantha*, o presente estudo teve como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana do extrato hidroetanólico de *Bauhinia cheilantha* (Pata-de-vaca do Nordeste) frente a cepas de *K. pneumoniae*, incluindo uma cepa ATCC e uma clínica multirresistente, bem como caracterizar o extrato quanto ao teor de sólidos solúveis, compostos fenólicos, flavonoides e a atividade antioxidante.

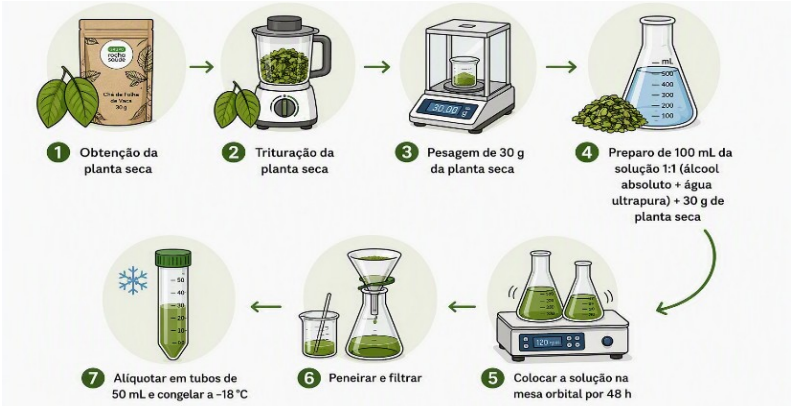
Metodologia

O extrato hidroetanólico foi preparado a partir das folhas secas de *Bauhinia cheilantha* (Pata-de-vaca do Nordeste), obtidas de fornecedor comercial (Grupo Rocha Saúde). O material vegetal foi triturado e 30 g foram submetidos à extração com 250 mL de solução hidroetanólica 50% (v/v), com etanol absoluto 99,5% (Merck, Darmstadt, Alemanha) e água ultrapura obtida pelo sistema Milli-Q®. A extração ocorreu durante 48 h, à temperatura ambiente, sob agitação em mesa orbital (Figura 1). Posteriormente, o material foi filtrado, acondicionado em tubos Falcon e armazenado a -18 °C (Figura 2).

Figura 1: Extrato hidroetanólico em mesa orbital.



Figura 2: Processo de extração do extrato hidroetanólico de *Bauhinia cheilantha.*



Fonte: Autoria própria com melhoramento de IA GPT-5 (2026).

Em seguida o teor de sólidos solúveis (TSS) foi determinado em triplicata. Alíquotas de 5 mL do extrato foram transferidas para béqueres previamente pesados e submetidas à secagem em estufa a 50 °C por 48 h, então novamente pesados e calculados segundo (Baldoni *et al.,* 2023):

$$\% \text{ de sólidos solúveis (m/V)} = (m - b) \times 100/Va$$

$$\% \text{ de sólidos solúveis (m/m)} = \% \text{ de sólidos solúveis (m/V)/densidade}$$

Onde:

b = massa do béquer;

m = massa final do extrato após a secagem;

Densidade do extrato = m/V (massa da alíquota de 5 mL pesada, onde V é o volume de 5 mL).

Para a determinação de fenóis totais, foi preparada uma solução estoque de 100 mL a partir de 1 mL do extrato diluído em etanol absoluto e água destilada. Em triplicata, 200 µL dessa solução foram transferidos para balões de 10 mL contendo 5 mL de água destilada, seguidos da adição de 800 µL do

reagente Folin–Ciocalteu. Após 8 min, foram adicionados 1,2 mL de carbonato de sódio a 20% e completou-se com água destilada. Após 2 h em banho-maria a 25 °C, a absorbância foi determinada a 760 nm, com o espectrofotômetro, utilizando etanol como branco. A quantificação foi realizada a partir de curva analítica do padrão correspondente.

O teor de flavonoides totais foi determinado em triplicata pelo método colorimétrico com cloreto de alumínio. Então 100 µL do extrato foram diluídos em 10 mL com metanol e 200 µL da solução foram transferidos para balões de 10 mL, adicionando-se 200 µL de alumínio ($AlCl_3$) a 5% e metanol. Após 30 min de incubação em banho-maria a 25 °C, a absorbância foi determinada a 425 nm, utilizando metanol como branco. A quantificação foi realizada por curva analítica utilizando quercetina como padrão (Mecatti *et al*., 2023; Santos *et al*., 2020; Marcucci *et al.,* 2021).

A atividade antioxidante foi determinada pelo método do DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil). A solução de DPPH foi preparada em álcool absoluto e padronizada para absorbância entre 0,6 e 0,8, mantendo-se protegida da luz. A partir do TSS foi preparada uma solução na concentração de 0,01%, utilizando-se 36 µL do extrato e etanol absoluto até 10 mL. Foram utilizados 11 tubos de ensaio, contendo volumes crescentes da solução do extrato (0 a 400 µL), volumes complementares de etanol absoluto e 1.000 µL da solução de DPPH, que foi realizada em intervalos de 1 min entre os tubos. A leitura no espectrofotômetro em 517 nm foi iniciada após 30 min, em triplicatas, utilizando álcool absoluto como branco, para posterior cálculo da atividade antioxidante em função da concentração do extrato.

Para avaliação da atividade antimicrobiana, o extrato foi previamente filtrado em membrana de 0,22 µm. Foram utilizadas duas cepas de *K. pneumoniae*: uma cepa padrão ATCC 4352, do banco de cepas do Laboratório de Aeróbios e Anaeróbios do Instituto de Ciência e Tecnologia da Unesp, e uma clínica multirresistente P2816 da Coleção de Bactérias Patogênicas - CBP, FIOCRUZ-INCQS, Rio de Janeiro, RJ.

As cepas foram semeadas em ágar Macconkey (figura 3) e posteriormente em ágar BHI (Brain-Heart infusion) e incubadas em estufa microbiológica (37ºC) por 24 h. Para avaliar a atividade antimicrobiana em cepas planctônicas, o método de microdiluição em caldo em microplacas de 96 poços, sendo uma para cada bactéria, foi realizado de acordo com os documentos M7-A9 do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).

As Suspensões microbianas foram preparadas em solução salina estéril (NaCl 0,9%) ajustadas para 10^8 UFC/mL em espectrofotômetro, e diluída posteriormente para 10^6 UFC/mL. Em microplacas de 96 poços, para cada cepa bacteriana, foram adicionados 100 µL/poço de caldo Mueller-Hinton (MH), exceto na coluna 9, utilizada como separação, e na 12 que recebeu 200 µL, constituindo o controle de esterilidade. Em seguida, foram adicionados 100 µL do extrato na coluna 1, realizando-se oito diluições seriadas. Na coluna 10, foi adicionado Gluconato de clorexidina 0,12%, utilizado como controle negativo. Posteriormente, a suspensão bacteriana padronizada foi adicionada aos poços das colunas 1 a 8, 10 e a coluna 11 que foi constituída pelo controle positivo.

As placas foram incubadas a 37 °C por 24 h e avaliadas para determinação da concentração inibitória mínima (CIM), de acordo com a turbidez dos poços. Para a concentração bactericida mínima (CBM), o conteúdo dos poços foi semeado em ágar BHI e incubado nas mesmas condições, a CBM foi determinada como a menor concentração do extrato que não apresentou crescimento de colônias. Todo o experimento foi realizado em duplicata, sob as mesmas condições experimentais.

Figura 3: Colônias de *Klebsiella pneumoniae* em ágar Macconkey.



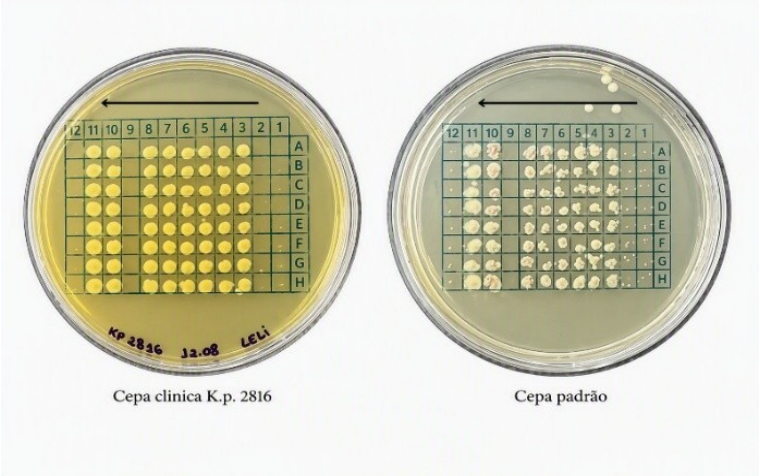
Fonte: autoria própria com melhoramento de IA GPT-5 (2026).

Resultados

O teor de sólidos solúveis no extrato hidroetanólico de *B. cheilantha* foi de 67,7 mg/mL. Além disso, constatou-se que o teor total de flavonoides no extrato avaliado foi de 3,29 mg/mL, utilizando a curva padrão de quercetina. Adicionalmente o teor total de fenóis apresentou uma concentração de 7,21 mg/mL, utilizando a curva padrão de ácido gálico. O extrato apresentou atividade antioxidante pelo método de sequestro do radical DPPH com CE50 de 30,79 µg/mL, onde o coeficiente de determinação (R^2 = 0,984) demonstrou bom ajuste da curva obtida.

O extrato de *Bauhinia cheilantha* apresentou atividade bactericida para as 2 cepas de *K. pneumoniae* avaliadas, conforme demonstrado na figura 4, com concentração bactericida mínima (CBM) de 8,40 mg/mL tanto para a cepa-padrão ATCC como para a cepa multirresistente. Não foi possível determinar a concentração inibitória mínima (CIM) devido à coloração e turvação do extrato no meio de cultura.

Figura 4: Placas de ágar com o teste de CBM



Fonte: autoria própria com melhoramento de IA GPT-5 (2026).

Discussão

O extrato hidroetanólico de *Bauhinia cheilantha* apresentou atividade bactericida frente às duas cepas de *Klebsiella pneumoniae* avaliadas, com CBM de 8,40 mg/mL, incluindo cepa clínica multirresistente. Esse resultado é relevante por demonstrar que, nas condições experimentais avaliadas, o extrato foi capaz de eliminar o crescimento bacteriano mesmo diante de um perfil de resistência antimicrobiana. Caffaro *et al.* (2019), também, observaram atividade biológica em extratos de *B. cheilantha*, incluindo atividade antimicrobiana e antioxidante. Entretanto, os resultados do presente estudo ampliam essas evidências ao demonstrar atividade bactericida frente a *K. pneumoniae*, uma bactéria Gram-negativa de importância clínica. As diferenças entre os estudos podem estar relacionadas às características dos microrganismos avaliados, ao solvente empregado, à parte vegetal utilizada e às condições de extração e ensaio.

A atividade observada pode estar relacionada à composição fitoquímica do extrato, que apresentou 7,21 mg/mL de fenóis totais e 3,29 mg/mL de flavonoides. Caffaro *et al.* (2019) identificaram flavonoides, taninos, esteroides e outros constituintes em extratos de *B. cheilantha*, enquanto Oliveira *et al.* (2025) identificaram diferentes classes de metabólitos em extratos aquosos das folhas, incluindo compostos fenólicos, flavonoides, lignanas, saponinas e taninos. A presença desses constituintes fornece uma possível explicação para a atividade biológica observada, uma vez que compostos fenólicos e flavonoides são reconhecidos como componentes bioativos de origem vegetal. Entretanto, os resultados obtidos não permitem estabelecer relação causal entre uma classe específica de metabólitos e a atividade bactericida, uma vez que o extrato apresenta uma composição química complexa.

A atividade antioxidante também foi evidenciada pelo ensaio de DPPH, com CE50 de 30,79 µg/mL e bom ajuste da curva (R^2 = 0,984). Esse resultado é compatível com a presença de compostos fenólicos e flavonoides observada na caracterização do extrato e está de acordo com estudos anteriores que descrevem essa ação para *B. cheilantha* (Caffaro *et al*., 2019; Oliveira *et al*., 2025). A capacidade antioxidante observada reforça o potencial biológico do extrato, embora não seja possível estabelecer, a partir dos ensaios realizados, quais constituintes são diretamente responsáveis pelo efeito antioxidante ou pela atividade bactericida, pois a presença simultânea de diferentes classes de metabólitos pode contribuir para as atividades observadas, considerando a complexidade da composição química dos extratos vegetais.

No presente estudo, o extrato de *Bauhinia cheilantha* apresentou atividade bactericida para cepas padrão e multirresistente de *K. pneumoniae*, com CBM em 8,40 mg/mL. Esse resultado traz contribuição relevante para a área, pois esse microrganismo é frequentemente associado a infecções nosocomiais de pacientes hospitalizados, que apresentam sistema imunológico debilitado, de modo que a ação bactericida do extrato é de grande interesse na busca de novos fármacos antimicrobianos. Esses resultados concordam com Palma *et al*. (2023) e Santos *et al*. (2020) que também verificaram ação bactericida de extratos de plantas sobre *K. pneumoniae*.

Em conjunto, os resultados indicam potencial biológico do extrato hidroetanólico de *B. cheilantha*, tanto pela atividade bactericida frente às cepas de *K. pneumoniae* quanto pela presença de compostos fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante. Contudo, estudos posteriores envolvendo fracionamento, identificação dos constituintes químicos, investigação dos mecanismos de ação e avaliação de citotoxicidade são necessários para determinar quais compostos contribuem para os efeitos observados e avaliar a possibilidade de futuras aplicações biológicas.

Conclusão

O extrato hidroetanólico de *Bauhinia cheilantha* apresentou atividade bactericida frente às cepas padrão e clínica multirresistente de *Klebsiella pneumoniae*, com CBM de 8,40 mg/mL. Além da atividade antimicrobiana, o extrato apresentou fenóis totais (7,21 mg/mL), flavonoides totais (3,29 mg/mL) e atividade antioxidante pelo método de DPPH, com CE50 de 30,79 µg/mL. Dessa forma, os resultados obtidos atendem ao objetivo proposto e evidenciam o potencial biológico do extrato de *B. cheilantha* frente às condições experimentais avaliadas. A atividade observada, especialmente frente ao isolado clínico multirresistente, reforça a relevância da espécie como objeto de investigação para a prospecção de produtos naturais com potencial antimicrobiano.

Referências

BALDONI, G. A. et al. Ação antimicrobiana do extrato de *Psidium guajava* L. contra as cepas de *Enterococcus faecalis* e *Candida albicans*: um estudo piloto. Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR, v. 27, n. 7, p. 3484–3493, 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde (RENISUS). Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2021. Disponível em: https://www.gov.br/saude/pt-br/composicao/sectics/plantas-medicinais-e-fitoterapicos/plantas-medicinais-e-fitoterapicos-no-sus/tabela-renisus. Acesso em: 17 jun. 2026.

CAFFARO, K. M. T. et al. Avaliação de atividade biológica in vitro em plantas da Caatinga. Nursing Edição Brasileira, v. 22, n. 250, p. 2788–2793, 2019. DOI: 10.36489/nursing.2019v22i250p2788-2793.

MARCUCCI, M. C. et al. Metodologias acessíveis para a quantificação de flavonoides e fenóis totais em própolis. Revista Virtual de Química, v. 13, n. 1, p. 61–73, 2021. DOI: 10.21577/1984-6835.20200131.

MARTIN, R. M.; BACHMAN, M. A. Colonization, infection, and the accessory genome of *Klebsiella pneumoniae*. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, v. 8, p. 4, 2018. DOI: 10.3389/fcimb.2018.00004.

MECATTI, V. M. et al. Synergistic antibiofilm action of *Cinnamomum verum* and Brazilian green propolis hydroethanolic extracts against multidrug-resistant strains of *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* and their biocompatibility on human keratinocytes. Molecules, v. 28, n. 19, p. 6904, 2023. DOI: 10.3390/molecules28196904.

NAGHAVI, M. et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance 1990–2021: a systematic analysis with forecasts to 2050. The Lancet, v. 404, n. 10459, p. 1199–1226, 2024. DOI: 10.1016/S0140-6736(24)01867-1.

OLIVEIRA, P. L. de et al. Aqueous leaf extracts of *Bauhinia cheilantha* (Bong.) Steud.: Phytochemical profile, antioxidant activity and in vitro safety evaluation. Drugs and Drug Candidates, v. 4, n. 4, p. 54, 2025. DOI: 10.3390/ddc4040054.

PALMA, A. L. R. et al. Effects of *Calendula officinalis* and *Capsicum annuum* glycolic extracts on planktonic cells and biofilms of multidrug-resistant strains of *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa.* Biofouling, v. 39, n. 2, p. 145–156, 2023. DOI: https://doi.org/10.1080/08927014.2023.2192406.

ROCHA, J. M. R. et al. Uso irracional de antibióticos e a resistência bacteriana no tratamento de doenças infecciosas negligenciadas: uma revisão de literatura. Brazilian Journal of Implantology and Health Sciences, v. 6, n. 6, p. 470–490, 2024. DOI: 10.36557/2674-8169.2024v6n6p470-490.

SANTOS, P. B. D. R. E. D. et al. Efeitos do extrato de própolis verde brasileira em células planctônicas e biofilmes de cepas multirresistentes de *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa*. Biofouling, v. 36, n. 7, p. 834–845, 2020. DOI: 10.1080/08927014.2020.1823972.

SILVA, A. M. A. et al. Chemical composition, larvicidal and cytotoxic activities of the leaf essential oil of *Bauhinia cheilantha* (Bong.) Steud. South African Journal of Botany, v. 131, p. 369–373, 2020. DOI: 10.1016/j.sajb.2020.03.011.

VENTOLA, C. L. The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats. P&T, v. 40, n. 4, p. 277–283, 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Antimicrobial resistance. Geneva: World Health Organization, 2021. Disponível em: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance. Acesso em: 17 jun. 2026.

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus, por me proporcionar vivenciar tudo e me acompanhar ao longo dessa trajetória. Aos meus pais e ao meu noivo, por todo o apoio, incentivo e compreensão nessa etapa. Agradeço à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo apoio financeiro, processo nº 2025/28422-3, à Universidade do Vale do Paraíba (UNIVAP) e ao Instituto de Ciência e Tecnologia da Universidade Estadual Paulista (ICT-UNESP), pela colaboração e suporte à realização deste trabalho. Agradeço também a todos os professores, pesquisadores e colaboradores que contribuíram ativamente para o desenvolvimento desta pesquisa.