

ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE EXTRATOS PEPTÍDICOS OBTIDOS DAS FLORES DE *Spondias purpurea* L. CONTRA ESPÉCIES DE INTERESSE CLÍNICO

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF PEPTIDE-RICH EXTRACTS OBTAINED FROM FLOWERS OF *Spondias purpurea* L. AGAINST CLINICALLY RELEVANT SPECIES

Bianca Pereira Lima de Souza

Bacharel em Biomedicina.

UNINASSAU Petrolina, Brasil

Email: souzzbia1710@gmail.com

Temístocles Ítalo de Santana

Doutor em Ciências Farmacêuticas.

Pós-Doutorando na Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF),
Brasil

Email: temistoclesitalo@gmail.com

Cynthia Layse Ferreira de Almeida

Doutora em Ciências Farmacêuticas.

Professora da Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF), Brasil

Email: cynthia.almeida@univasf.edu.br

Gyllyandeson de Araújo Delmondes

Doutor em Química Biológica.

Professor da Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF), Brasil

Email: gyllyandeson.delmondes@univasf.edu.br

Henrique Douglas Melo Coutinho

Doutor em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos

Professor da Universidade Regional do Cariri (URCA)

Email: hdmcoutinho@gmail.com

Maryluce Albuquerque da Silva Campos

Doutora em Biologia de Fungos.

Professor da Universidade de Pernambuco (UPE), Brasil

Email: maryluce.campos@upe.br

Melquisedec de Sousa Oliveira

Doutor em Biotecnologia.

Professor da Universidade de Pernambuco (UPE), Brasil

E-mail: melquisedec.oliveira@upe.br

Resumo

A resistência antimicrobiana (RAM) tem se intensificado nas últimas décadas, comprometendo a

eficácia dos antibióticos disponíveis e impulsionando a prospecção de novas alternativas terapêuticas. Os peptídeos antimicrobianos (PAMs) de origem vegetal destacam-se devido à sua diversidade estrutural e eficiência frente a espécies bacterianas de interesse clínico. *S. purpurea* L é uma espécie que ocorre no bioma *Caatinga*, importante por produzir frutos e por possuir atividades farmacológicas, como antimicrobiana. No entanto, não há relatos sobre os efeitos de extratos peptídicos contra microrganismos patogênicos. Assim, o presente estudo teve como objetivo obter extratos peptídicos fracionados a partir de flores de *S. purpurea* e avaliar a atividade antibacteriana frente a diferentes cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. A extração dos peptídeos foi realizada em tampão fosfato, seguida de fracionamento por precipitação com sulfato de amônio entre 50 e 90%, resultando nas frações SpF-50-70% e SpF-70-90%. Independentemente da concentração testada ou espécie bacteriana, nenhum extrato resultou em inibição igual ou maior a 50%, impossibilitando a determinação da IC₅₀. Em relação as cepas de *E. coli* os dois extratos inibiram o crescimento de forma dependente de concentração, com percentuais variando de 10% a 40%. O efeito dependente de concentração não foi observado nos testes com *S. aureus*. O extrato SpF-70-90% foi mais eficaz contra a cepa ATCC e MRSA, enquanto a SpF-50-70% demonstrou maior efeito inibitório frente ao isolado clínico de *S. aureus*. Em todos os tratamentos, os maiores percentuais de inibição foram observados na concentração 200 µg/mL. Os resultados sugerem que as flores de *S. purpurea* constituem uma fonte potencial de peptídeos bioativos com ação antibacteriana, especialmente contra espécies de interesse clínico, porém, esses resultados são etapa preliminar na prospecção de peptídeos isolados. Isso reforça a necessidade de estudos adicionais de purificação, caracterização e avaliação funcional dessas moléculas.

Palavras-chave: Bioprospecção; Caatinga; antimicrobianos; biotecnologia

Abstract

Antimicrobial resistance (AMR) has intensified in recent decades, compromising the efficacy of available antibiotics and driving the search for new therapeutic alternatives. Plant-derived antimicrobial peptides (AMPs) stand out due to their structural diversity and effectiveness against bacterial species of clinical interest. *S. purpurea* L. is a species found in the Caatinga biome, notable for its fruit production and pharmacological activities, such as antimicrobial properties. However, there are no reports on the effects of its peptide extracts against pathogenic microorganisms. Therefore, this study aimed to obtain fractionated peptide extracts from *S. purpurea* flowers and evaluate their antibacterial activity against different strains of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* by using microdilution method. Peptide extraction was performed using phosphate buffer, followed by fractionation with ammonium sulfate precipitation (ranging between 50% and 90% saturation), resulting in the SpF-50-70% and SpF-70-90% fractions. Regardless of the tested concentration or bacterial species, no extract resulted in inhibition equal to or greater than 50%, preventing the determination of the IC₅₀. Regarding *E. coli* strains, both extracts inhibited growth in a concentration-

dependent manner, with percentages ranging from 10% to 40%. This concentration-dependent effect was not observed in tests with *S. aureus*. The SpF-70-90% extract was more effective against the ATCC strain and MRSA, while the SpF-50-70% fraction demonstrated a greater inhibitory effect against the clinical isolate of *S. aureus*. In all treatments, the highest inhibition percentages were observed at the concentration of 200 µg/mL. The results suggest that flowers from *S. purpurea* constitute a potential source of bioactive peptides with antibacterial action, particularly against species of clinical interest. However, these findings represent a preliminary step in the prospection of isolated peptides. This reinforces the need for further purification, characterization, and functional evaluation studies of these molecules.

Keywords: Bioprospecting; Caatinga; antimicrobials; biotechnology

1. Introdução

A resistência antimicrobiana (RAM) representa uma ameaça crescente à eficácia dos antibióticos atualmente disponíveis, sendo *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* exemplos emblemáticos de patógenos com elevada capacidade adaptativa (OMS, 2023; Naghavi et al., 2024). Cepas multirresistentes dessas espécies estão associadas a infecções recorrentes e persistentes, o que limita as opções terapêuticas e impulsiona a prospecção de novas abordagens antimicrobianas baseadas em mecanismos de ação alternativos (Holmes et al., 2016; Denissen et al., 2022).

E. coli e *S. aureus* são patógenos bacterianos de elevada relevância clínica, associados a infecções intestinais, extraintestinais, comunitárias e hospitalares, e que apresentam crescente resistência a múltiplas classes de antimicrobianos. *E. coli* destaca-se pela produção de β-lactamases de espectro estendido (ESBLs) e carbapenemases, além de mecanismos como redução da permeabilidade da membrana externa e sistemas de efluxo, comprometendo a eficácia de antibióticos utilizados (Poirel et al., 2018). De forma semelhante, *S. aureus* possui grande plasticidade adaptativa, sendo a resistência à meticilina (penicilinas), mediada pelo gene *mecA* considerada um dos principais entraves terapêuticos. A ocorrência frequente de fenótipos multirresistentes nessas espécies reforça a necessidade de estratégias antimicrobianas alternativas com mecanismos de ação distintos dos antibióticos convencionais (Lakhundi; Zhang, 2018).

Nesse cenário, a prospecção de moléculas bioativas de origem natural tem se consolidado como uma estratégia promissora para a descoberta de novos agentes antibacterianos. Entre essas moléculas, os peptídeos antimicrobianos (PAMs) destacam-se por sua ampla distribuição na natureza, atividade de amplo espectro e menor propensão ao desenvolvimento de resistência bacteriana (Li et al., 2021; Nawrot et al., 2014). PAMs atuam predominantemente por interações diretas com a membrana celular bacteriana, o que promove desorganização estrutural, aumento da permeabilidade da membrana e morte celular, além de, em alguns casos, interferirem em alvos intracelulares essenciais (Bakare et al., 2022; Mahlapuu et al., 2016)

Em plantas, os PAMs desempenham papel central na defesa inata contra microrganismos fitopatogênicos, sendo expressos de forma constitutiva ou induzida em resposta a estresses bióticos (Lima et al., 2022). Esses peptídeos apresentam características estruturais particularmente favoráveis à aplicação biotecnológica, incluindo tamanho reduzido, carga positiva, natureza anfifílica e elevada estabilidade química, o que favorece sua interação com membranas microbianas e sua resistência à degradação (Bakare et al., 2022; Han et al., 2021).

Em comparação com metabólitos secundários clássicos, tais propriedades conferem vantagens relevantes, posicionando os PAMs vegetais como candidatos promissores para o desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos. Como exemplo, o peptídeo Pg-AMP1, isolado das sementes de *Psidium guajava* L., demonstrou atividade contra bactérias Gram-negativas, como *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa*, bem como contra bactérias Gram-positivas, especificamente contra *S. aureus* e *Staphylococcus epidermidis* (Pelegri et al., 2008; Tavares et al., 2012).

S. purpurea L. (Anacardiaceae), popularmente conhecida como seriguela, é uma espécie que ocorre em regiões tropicais, e é tradicionalmente utilizada na medicina popular (Agra; Freitas; Barbosa-Filho, 2007). Estudos anteriores demonstraram que extratos obtidos de diferentes partes da planta apresentam atividades antioxidante, antifúngica e antibacteriana, atribuídas principalmente à presença de compostos fenólicos e outros metabólitos secundários (Engels et al.,

2012; Marisco et al., 2020; Almeida et al., 2017). Apesar dessas evidências, a investigação de PAMs derivados de *S. purpurea* permanece incipiente.

Até o momento, não há relatos sobre a obtenção e avaliação da atividade antibacteriana de extratos peptídicos provenientes das flores de *S. purpurea*, um tecido vegetal metabolicamente ativo e potencialmente rico em moléculas envolvidas em mecanismos de defesa (Li et al., 2021). Essa lacuna evidencia a necessidade de estudos que explorem sistematicamente o potencial peptídico dessa espécie sob a perspectiva da bioprospecção antimicrobiana.

Diante disso, o presente estudo teve como objetivo produzir extratos peptídicos a partir das flores de *S. purpurea* e avaliar a atividade antibacteriana *in vitro* frente a *S. aureus* e *E. coli*, incluindo cepas de referência e isolados clínicos, contribuindo para a prospecção de novos candidatos antimicrobianos de origem vegetal.

2. Metodologia

2.1 Material Vegetal

O material botânico utilizado foi obtido a partir de um indivíduo da espécie *S. purpurea* L. (Anacardiaceae), localizada na cidade de Juazeiro (9°27'56.2"S, 40°29'38.8"O), Estado da Bahia, Brasil. Foi coletada uma amostra representativa contendo folhas e frutos, e que depositada no Herbário Vale do São Francisco (HVASF), da Universidade Federal do Vale do São Francisco (UNIVASF), registrada sob o número 25055.

2.2 Cepas bacterianas

Foram utilizadas cepas de referência conforme especificado pelos códigos do *American Type Culture Collection* (ATCC), além de isolados clínicos. Para os ensaios com *S. aureus* foram utilizadas a cepa ATCC 25923, um isolado clínico obtido a partir de cultura de *swab* retal e uma cepa resistente à metilicina (MRSA). Nos ensaios com *E. coli* foram testadas a cepa ATCC 25922 e um isolado clínico de obtido a partir de cultura de urina (Bezerra et al., 2017). Os isolados clínicos de *E. coli* e *S. aureus* foram gentilmente cedidos pelo laboratório Laboratório de Microbiologia e Biologia

Molecular da Universidade Regional do Cariri (URCA). A cepa MRSA foi cedida pelo Laboratório de Microbiologia e Imunologia Animal da UNIVASF.

2.3 Extração e fracionamento dos extratos

A técnica utilizada para a extração de peptídeos de *S. purpurea* seguiu o protocolo desenvolvido por Taveira *et al.* (2014), com adaptações.

Cem gramas de flores frescas foram pulverizados em almofariz e pistilo com solução extratora composta por 15 mM de fosfato de sódio monobásico, 10 mM de fosfato de sódio dibásico, 100 mM de cloreto de potássio, 2% de tioureia e 1,5% de EDTA e 1 mM de PMSF (fluoreto de fenilmetilsulfonil). A extração foi conduzida a frio (4 °C) por 2 h, com homogeneização periódica, visando à preservação da estabilidade dos peptídeos extraídos.

Após esse período, o material foi centrifugado a 4000 rpm por 20 min, e o sobrenadante obtido foi submetido ao fracionamento por precipitação salina utilizando concentrações progressivas de sulfato de amônio (50%-90%). Para cada nível de saturação, as amostras foram centrifugadas a 4000 rpm por 20 min, sendo os precipitados coletados e ressuspensos em água destilada. Ao final, os peptídeos totais, correspondentes as frações 50-70% (SpF-50-70%) e 70-90% (SpF-70-90%) foram quantificados pelo método de Bradford, 1976, utilizando albumina bovina como padrão.

As frações obtidas foram transferidas para microtubos, congeladas e posteriormente liofilizadas, resultando em extratos enriquecidos em peptídeos para as análises subsequentes.

2.4 Ensaio de atividade antimicrobiana

A atividade antimicrobiana dos extratos peptídicos foi avaliada pelo método de microdiluição em caldo utilizando placas de 96 poços, de acordo com as diretrizes do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2012). As cepas foram previamente cultivadas em placas de Petri contendo ágar Mueller-Hinton e incubadas a 37 °C por 24 h. Todos os experimentos foram realizados e avaliados de forma independente.

Após o crescimento, colônias isoladas foram suspensas em caldo triptona de

soja (TBS) e ajustadas à turbidez equivalente ao padrão 0,5 da escala de McFarland, correspondendo aproximadamente a 1×10^8 UFC/mL. Em seguida, as suspensões bacterianas foram diluídas em TBS para obtenção de uma concentração final de aproximadamente 1×10^6 UFC/mL, que foi utilizada como inóculo nos ensaios.

O crescimento bacteriano foi determinado por espectrofotometria (Loccus- LMR 96i), com leituras realizadas a 625 nm após 24 horas da inoculação nos poços. As microplacas foram incubadas a 37°C durante o período experimental. Os efeitos dos tratamentos testados foram expressos em percentual de inibição, calculado com a seguinte fórmula: Percentual de inibição (%) = (absorbância do controle de crescimento – absorbância do tratamento) / (absorbância do controle de crescimento) x 100.

2.5 Delineamento experimental

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado. Os tratamentos avaliados incluíram: (i) controle positivo com gentamicina; (ii) controle positivo de crescimento contendo apenas meio de cultura e inóculo, sem gentamicina ou extratos peptídicos; (iii) controle negativo contendo apenas meio de cultura estéril, sem inoculação; (iv) fração peptídica precipitada entre 50–70% de sulfato de amônio (SpF-50–70%); e (v) fração peptídica precipitada entre 70–90% de sulfato de amônio (SpF-70–90%). Para cada tratamento, foram testadas as concentrações de 200; 100; 50; 25; 12,5; 6,25 µg/mL. Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

Os valores de absorbância obtidos após os ensaios foram submetidos à análise de variância para dados não paramétricos (Kruskal-Wallis) e as médias comparadas pelo teste de Dunn (efeito de concentração) ou Dwass-Steel-Critchlow-Fligner - DSCF (tipo de extrato) ($p < 0,05$). As análises estatísticas e a construção dos gráficos foram realizadas no *software GraphPad Prism* versão 9.5.0 e *Jamovi* 2.7.6.

3. Resultados

Os fracionamentos com sulfato de amônio resultaram em rendimentos de 270 mg para a fração SpF-50-70% e de 590 mg para a fração SpF-70-90%.

Em relação aos ensaios de microdiluição, foi registrado efeito dos tratamentos sobre o crescimento das diferentes cepas de *S. aureus* e *E. coli*. Entretanto,

nenhum dos extratos peptídicos avaliados foi capaz de promover inibição igual ou superior a 50 % do crescimento, o que impossibilitou a determinação da concentração inibitória mínima para 50 % da população (IC₅₀) com validade estatística. As maiores concentrações testadas resultaram em inibição de aproximadamente 40%, a depender da espécie, cepa e do tipo de extrato analisado. Em contraste, a gentamicina apresentou atividade inibitória até nas menores concentrações avaliadas, com respostas variando de acordo com espécie e cepa testada.

Tabela 1. Níveis de significância do efeito antibacteriano de extratos peptídicos oriundos das flores de *S. purpurea*, e gentamicina testados contra diferentes cepas bacterianas

Cepas Bacterianas	Efeito do Tipo de Extrato	Efeito da Concentração
<i>S. aureus</i> ATCC	**	NS
<i>S. aureus</i> isolado clínico	**	NS
MRSA	**	NS
<i>E. coli</i> ATCC	NS	**
<i>E. coli</i> isolado clínico	NS	**

NS = Não significativo; ** ($p < 0,01$) pelo teste de Kruskal-Wallis

Tabela 2. Percentual de inibição de crescimento resultante do efeito dos diferentes extratos peptídicos oriundos das flores de *S. purpurea*, independentemente da concentração testada

Cepas Bacterianas					
Tipo de Extrato	<i>S. aureus</i> ATCC	<i>S. aureus</i> isolado clínico	MRSA	<i>E. coli</i> ATCC	<i>E. coli</i> isolado clínico
Fração 50-70 %	13,80 C	31,63 B	17,70 C	9,55 B	6,31 B
Fração 70-90 %	16,53 B	23,15 C	23,35 B	8,76 B	6,90 B
Gentamicina	95,20 A	92,95 A	93,45 A	93,65 A	93,85 A

Medianas seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste DSCF ($p < 0,05$)

3.1 Atividade antimicrobiana das frações peptídicas

3.1.1 Percentual de inibição das frações peptídicas contra cepas de *S. aureus*

Ambos os extratos resultaram em efeito inibitório baixo sobre a cepa MRSA, com percentuais variando entre 12% e 26%, dependendo da concentração testada. De forma geral, a fração SpF-70–90% resultou em efeito mais potente (Tabela 1;

Figura 1A).

Para *S. aureus* ATCC 25923, os dois extratos apresentaram atividade antibacteriana, com maiores percentuais de inibição observados na concentração de 200 µg/mL. Observou-se diferença entre a potência dos extratos, sendo SpF-70–90% ligeiramente mais potente que a SpF-50–70% em diversas concentrações, similar ao observado para MRSA (Figuras 1B e 2B).

Os maiores percentuais de inibição foram registrados nos experimentos com o isolado clínico (Tabela 2; Figura 2C). Diferentemente do observado para as demais cepas, o extrato SpF-50–70% foi mais potente (Figura 1C), promovendo maior inibição em todas as concentrações testadas e atingindo aproximadamente 40% de inibição na concentração de 200 µg/mL (Figura 2C).

3.1.2 Percentual de inibição das frações peptídicas contra cepas de *E. coli*.

Para a cepa ATCC 25922, tanto SpF-50-70% quanto SpF-70-90% resultaram em inibição dependente da concentração, com típico efeito dose-resposta, porém, sem diferença de potência entre os extratos (Figura 1D e 1E). A maior atividade inibitória foi observada na concentração de 200 µg/mL. O mesmo padrão foi observado nos ensaios com isolado clínico (Figura 2D e 2E).

4. Discussão

O presente estudo demonstrou que extratos peptídicos obtidos das flores de *S. purpurea* apresentam moderada atividade antibacteriana frente a cepas de *S. aureus* e *E. coli*, incluindo isolados clínicos e uma cepa MRSA.

Figura 1. Efeito antibacteriano de extratos peptídicos de flores de *S. purpurea* contra diferentes cepas (comparação entre extratos, independente da concentração). (A) MRSA: SpF-70-90% mais potente que SpF-50-70% (Kruskal-Wallis, $p < 0,05$). (B) *S. aureus* ATCC 25923: SpF-70-90% mais potente ($p < 0,05$). (C) Isolado clínico de *S. aureus*: SpF-50-70% mais potente ($p < 0,05$). (D) *E. coli* ATCC 25922: extratos não diferem ($p < 0,05$). (E) Isolado clínico de *E. coli*: extratos não diferem ($p < 0,05$). Gentamicina foi o controle positivo.

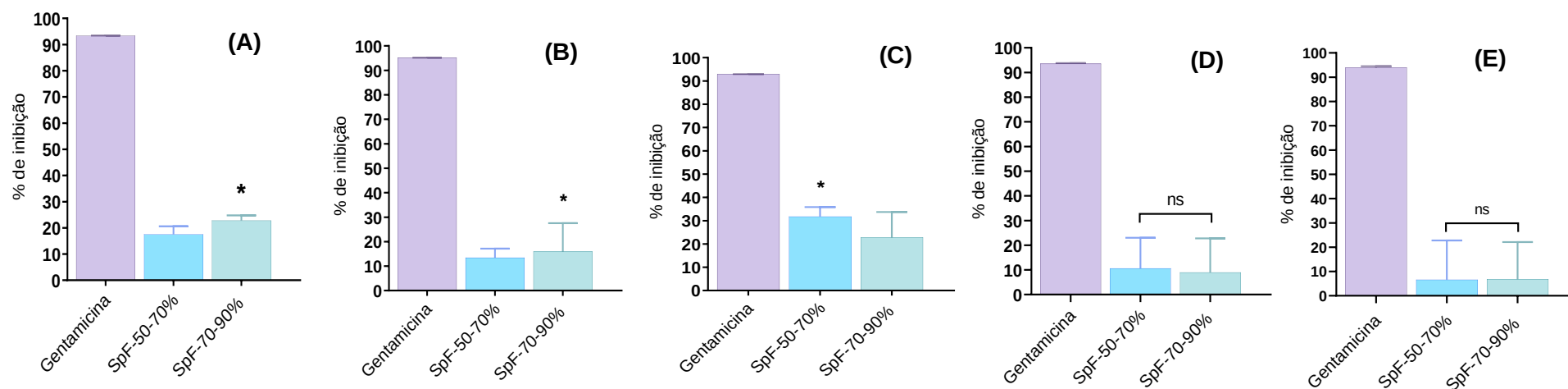
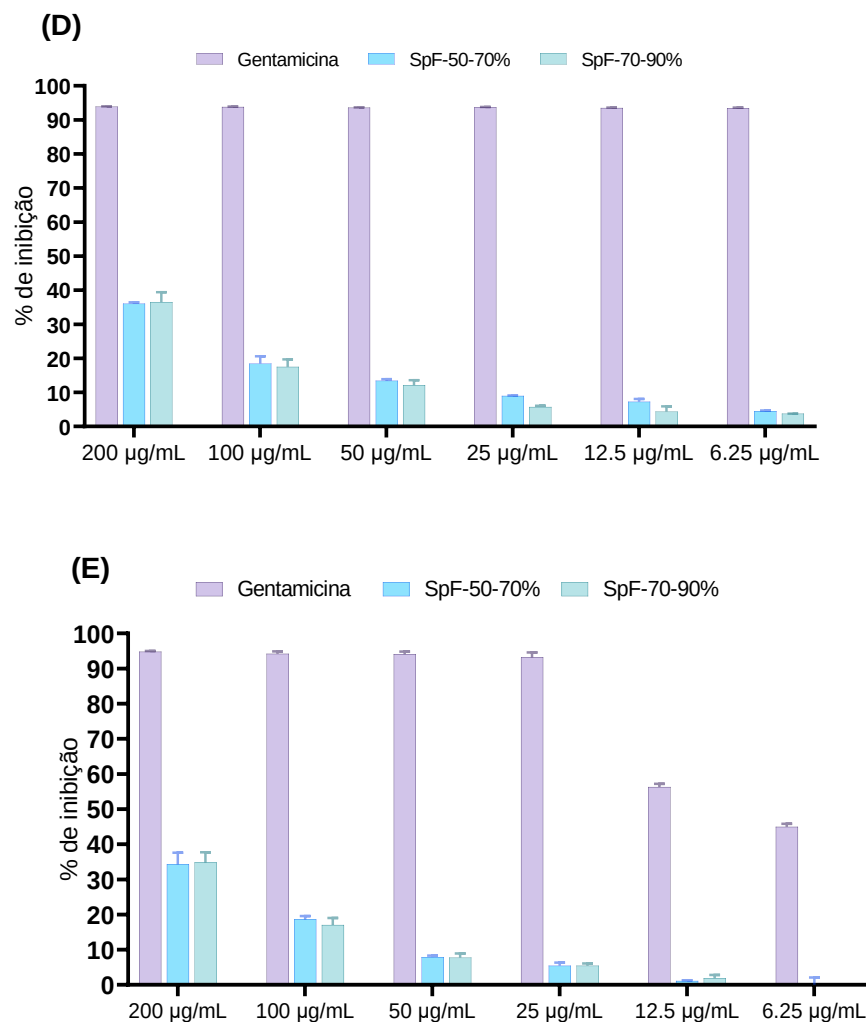
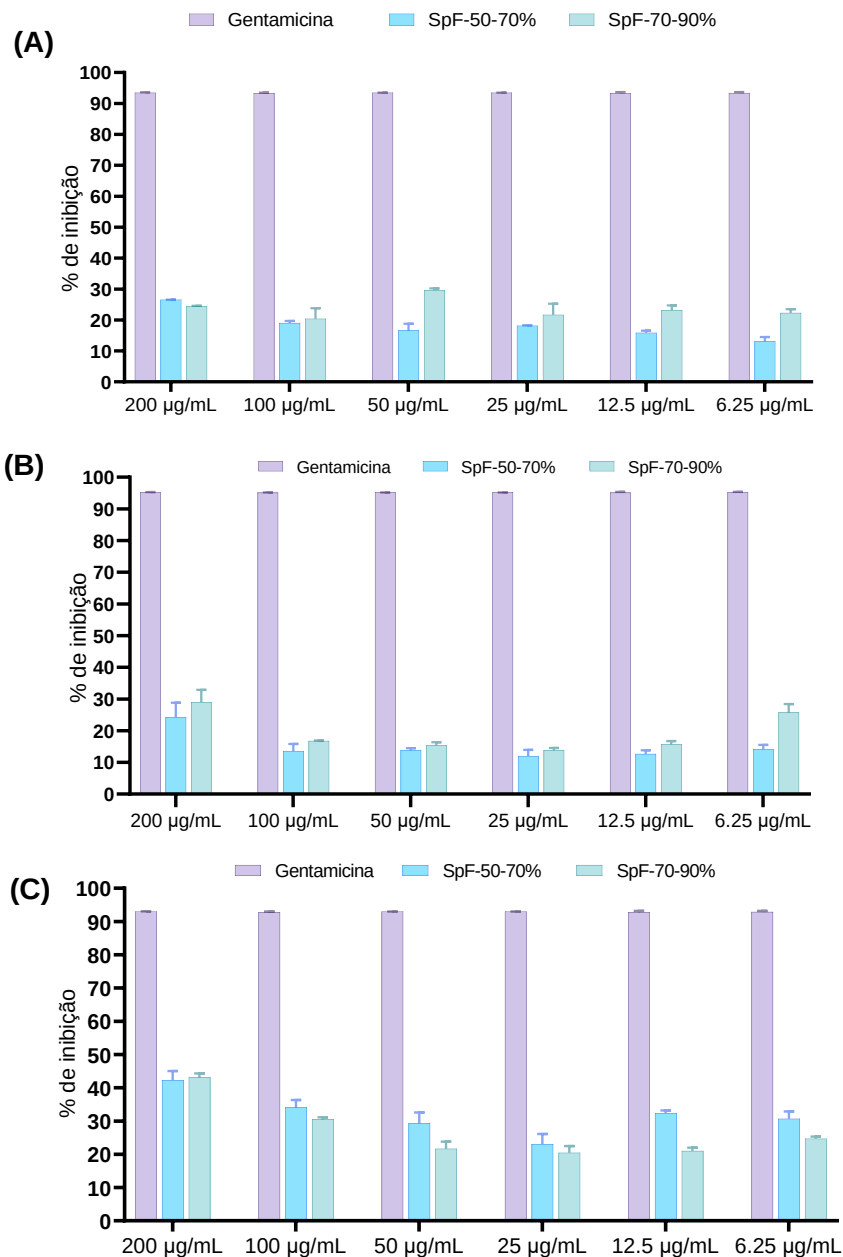


Figura 2. Efeito inibitório de diferentes concentrações dos extratos SpF-50-70% e SpF-70-90% de *S. purpurea*. (A) MRSA: sem efeito de concentração (Kruskal-Wallis, $p < 0,05$). (B) *S. aureus* ATCC 25923: sem efeito. (C) Isolado clínico de *S. aureus*: sem efeito. (D) *E. coli* ATCC 25922: efeito dose-resposta para ambos ($p < 0,05$). (E) Isolado clínico de *E. coli*: efeito dose-resposta para ambos ($p < 0,05$). Gentamicina foi o controle positivo.



Esses achados reforçam o potencial de tecidos florais como fontes de peptídeos envolvidos em mecanismos de defesa vegetal (Bakare et al., 2022), e ampliam o conhecimento sobre o perfil antimicrobiano de *S. purpurea*, espécie tradicionalmente investigada sob a perspectiva de metabólitos secundários (Engels et al., 2012; Marisco et al., 2020), mas ainda inexplorada quanto ao efeito de moléculas peptídicas.

De modo geral, as frações SpF-50–70% e SpF-70–90% foram capazes de inibir o crescimento bacteriano dentro do intervalo de concentrações avaliado (6,25–200 µg/mL), embora com magnitudes distintas entre as cepas testadas. Os percentuais de inibição observados, variando aproximadamente entre 10% e 40%, não foram suficientes para a determinação de valores de IC₅₀, mas são compatíveis com estudos de triagem que empregam frações complexas enriquecidas em peptídeos, nas quais a atividade antimicrobiana decorre da ação combinada de múltiplos componentes, como polifenóis, e não de peptídeos isolados e estruturalmente caracterizados (Barashkova; Rogozhin, 2020). Assim, investigações futuras deverão considerar a avaliação de concentrações superiores, bem como etapas adicionais de purificação, para melhor caracterizar o potencial inibitório dessas frações.

Nesse contexto, a literatura demonstra que a precipitação fracionada com sulfato de amônio constitui uma estratégia eficiente para a prospecção inicial de peptídeos bioativos, como evidenciado por Almeida et al. (2008), que relataram inibição de até 100% do crescimento de *Ralstonia solanacearum* e *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* utilizando extratos peptídicos de berinjela, dialisados e fracionados por cromatografia de troca iônica. Assim, os resultados obtidos no presente estudo não devem ser interpretados como uma limitação do potencial biológico das frações avaliadas, mas sim como evidências preliminares da presença de peptídeos com atividade antibacteriana.

A comparação entre as frações obtidas por precipitação diferencial com sulfato de amônio revelou diferenças relevantes no perfil de atividade antibacteriana. A fração SpF-70–90% resultou em maior efeito inibitório contra *S. aureus* ATCC 25923 e MRSA, sugerindo que essa fração deve ser melhor

investigada quanto ao potencial contra *S. aureus*. É provável que ela concentre peptídeos com maior hidrofobicidade ou carga positiva, características frequentemente associadas à interação eficiente com membranas bacterianas (Li et al., 2021). Já para inibição do isolado clínico de *S. aureus*, a fração SpF-50-70% foi mais potente, indicando que diferentes classes ou combinações de peptídeos podem atuar de forma diferencial conforme o perfil fenotípico da cepa bacteriana.

Já para *E. coli*, uma espécie Gram-negativa, ambos extratos resultaram em menor inibição em comparação ao isolado clínico de *S. aureus*. Essa diferença pode ser atribuída as diferenças estruturais entre bactérias Gram-positivas e Gram-negativas e da natureza catiônica dos peptídeos antimicrobianos. A ausência de membrana externa e a parede celular porosa de peptidoglicano em *S. aureus* favorecem a interação e a penetração desses compostos, enquanto *E. coli* apresenta uma membrana externa rica em lipopolissacarídeos e mecanismos adicionais de resistência que podem limitar a eficácia dos peptídeos (Gaubá; Rahman, 2023; Bechinger; Gorr, 2017).

A maior suscetibilidade observada para *S. aureus*, em comparação a *E. coli*, é consistente com o mecanismo de ação clássico atribuído à maioria dos PAMs (Pelegri et al., 2011). Outros estudos de peptídeos vegetais já relataram menor resposta em cepas de *E. coli*, em comparação a *S. aureus*, como para o peptídeo Pg-AMP1 isolado das sementes de goiabeira. Pg-AMP1 apresentou atividade antibacteriana com concentração inibitória mínima (CIM) de 50 µg/mL em cepas de *S. aureus* e de 100 µg/mL para cepa de *E. coli* (Tavares et al., 2012).

No entanto, estudos que avaliam diferentes extratos não peptídicos de *S. purpurea* indicam baixa atividade antibacteriana. Marisco et al. (2020) não observaram inibição frente a diversas cepas bacterianas, incluindo *E. coli*, *S. aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus saprophyticus*, tanto para o extrato etanólico bruto quanto para suas frações obtidas por partição em solventes orgânicos. De forma semelhante, Silva et al. (2025) relataram ausência de atividade relevante contra *E. coli*, com valores de CIM ≥ 2048 µg/mL para extratos aquoso e etanólico, enquanto para *S. aureus* foi observada apenas atividade limitada do extrato etanólico frente à cepa

padrão ATCC (CIM = 1024 µg/mL).

Adicionalmente, Oliveira et al. (2022) também não detectaram efeito antibacteriano dos extratos de *S. purpurea* até a concentração máxima de 5000 µg/mL. Esses estudos basearam-se na avaliação de extratos vegetais predominantemente ricos em metabólitos secundários, e não em frações contendo peptídeos bioativos. Portanto, os resultados obtidos com frações enriquecidas em peptídeos neste estudo indicam um efeito antibacteriano aparentemente maior quando comparado aos extratos ricos em metabólitos secundários, sugerindo que os peptídeos bioativos de *S. purpurea* podem contribuir de forma mais efetiva para a atividade antibacteriana da espécie.

Este estudo fornece evidências iniciais do potencial biotecnológico dessas frações peptídicas, tendo em vista a ausência de etapas de isolamento e caracterização dos peptídeos presentes. Os resultados indicam a presença de peptídeos com atividade antibacteriana nas flores de *S. purpurea*, especialmente contra *S. aureus* contribuindo para o fortalecimento da bioprospecção de PAMs vegetais como estratégia alternativa no enfrentamento da resistência antimicrobiana.

5. Conclusão

O presente estudo demonstrou, pela primeira vez, que extratos ricos em peptídeos obtidos a partir de flores de *S. purpurea* apresentam atividade antibacteriana *in vitro* frente a cepas de *S. aureus* e *E. coli*, incluindo isolados clínicos e uma cepa resistente à meticilina (MRSA). Embora os percentuais de inibição observados tenham sido moderados e não tenham atingido valores suficientes para a determinação da IC₅₀, evidenciam inibição no crescimento bacteriano.

As frações SpF-50–70% e SpF-70–90% apresentaram maior potência na inibição do crescimento de cepas de *S. aureus* em comparação a *E. coli*, destacando-se a fração SpF-70–90%, que exibiu maior eficácia frente às cepas de referência e ao MRSA. Dessa forma, estudos futuros deverão avaliar concentrações superiores às aqui testadas frente às cepas de *E. coli* e *S. aureus*, a fim de melhor

caracterizar o potencial inibitório.

Considerando tratar-se de extratos peptídicos parcialmente purificados, a presença de outros compostos bioativos pode interferir na atividade antibacteriana observada. Nesse sentido, e em razão do caráter preliminar deste estudo no contexto da prospecção de peptídeos antibacterianos, investigações futuras deverão concentrar-se no isolamento de candidatos presentes na fração SpF-70–90%, visando encontrar novos agentes antibacterianos e no enfrentamento da resistência antimicrobiana.

Assim, estudos futuros deverão contemplar o fracionamento cromatográfico das frações mais ativas, a caracterização do perfil peptídico por técnicas como SDS-PAGE e espectrometria de massas para identificação de peptídeos bioativos. A determinação de CIM, concentração bactericida mínima (CBM) e a avaliação da atividade sobre a formação de biofilmes bacterianos também representam etapas para o avanço da caracterização biológica dessas moléculas.

Referências

- AGRA, Maria de Fátima; FREITAS, Patrícia França de; BARBOSA-FILHO, José Maria. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, p. 114–140, mar. 2007.
- ALMEIDA, Hebréia Oliveira *et al.* Atividade antimicrobiana de extratos peptídicos de folhas de berinjela na inibição do crescimento de *Ralstonia solanacearum* e *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. **Summa Phytopathologica**, v. 34, n. 1, p. 62–64, fev. 2008.
- BAKARE, Olalekan Olanrewaju *et al.* Plant Antimicrobial Peptides (PAMPs): Features, Applications, Production, Expression, and Challenges. **Molecules**, v. 27, n. 12, p. 3703, 9 jun. 2022.
- BARASHKOVA, Anna S.; ROGOZHIN, Eugene A. Isolation of antimicrobial peptides from different plant sources: Does a general extraction method exist? **Plant Methods**, v. 16, p. 143, 23 out. 2020.
- BARBOSA PELEGRINI, Patrícia *et al.* Antibacterial Peptides from Plants: What They Are and How They Probably Work. **Biochemistry Research International**, v. 2011, p. 250349, 2011.

- BECHINGER, B.; GORR, S. U. Antimicrobial Peptides: Mechanisms of Action and Resistance. **Journal of Dental Research**, v. 96, n. 3, p. 254–260, mar. 2017.
- BEZERRA, Camila Fonseca *et al.* Vanillin selectively modulates the action of antibiotics against resistant bacteria. **Microbial Pathogenesis**, v. 113, p. 265–268, 1 dez. 2017.
- BRADFORD, Marion M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, n. 1, p. 248–254, 7 maio 1976.
- DE ALMEIDA, Cynthia Layse Ferreira *et al.* *Spondias purpurea* L. (Anacardiaceae): Antioxidant and Antiulcer Activities of the Leaf Hexane Extract. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2017, p. 6593073, 2017.
- DE OLIVEIRA, Thais Emboaba *et al.* Antimicrobial activity: potential of *Spondias purpurea* (Anacardiaceae) against bacterial and fungal species. **Journal of Medical Microbiology**, v. 71, n. 9, set. 2022.
- DENISSEN, Julia *et al.* Prevalence of ESKAPE pathogens in the environment: Antibiotic resistance status, community-acquired infection and risk to human health. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 244, p. 114006, jul. 2022.
- ENGELS, Christina *et al.* Caracterização de compostos fenólicos em cascas de jocote (*Spondias purpurea* L.) por cromatografia líquida de ultra alta eficiência/espectrometria de massas por ionização por eletrospray. **Food Research International**, Functional Foods and Nutraceuticals. v. 46, n. 2, p. 557–562, 1 maio 2012.
- GAUBA, Anusha; RAHMAN, Khondaker Miraz. Evaluation of Antibiotic Resistance Mechanisms in Gram-Negative Bacteria. **Antibiotics**, v. 12, n. 11, p. 1590, 3 nov. 2023
- HAN, Yajun *et al.* Chemical modifications to increase the therapeutic potential of antimicrobial peptides. **Peptides**, v. 146, p. 170666, 1 dez. 2021.
- HOLMES, Alison H. *et al.* Understanding the mechanisms and drivers of antimicrobial resistance. **Lancet (London, England)**, v. 387, n. 10014, p. 176–187, 9 jan. 2016.

- LAKHUNDI, Sahreena; ZHANG, Kunyan. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Molecular Characterization, Evolution, and Epidemiology. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 31, n. 4, p. e00020-18, out. 2018.
- LI, Junpeng *et al.* Plant antimicrobial peptides: structures, functions, and applications. **Botanical Studies**, v. 62, n. 1, p. 5, 29 abr. 2021.
- LIMA, Adrienne M. *et al.* Plant antimicrobial peptides: An overview about classification, toxicity and clinical applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 214, p. 10–21, 1 ago. 2022.
- MAHLAPUU, Margit *et al.* Antimicrobial Peptides: An Emerging Category of Therapeutic Agents. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 6, p. 194, 27 dez. 2016.
- MARISCO, Gabriele *et al.* Biotechnological activity of *Spondias purpurea* L.: Screening for antimicrobial activity and toxicity. **Textura**, v. 14, n. 2, p. 1–13, 2020.
- NAGHAVI, Mohsen *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, 28 set. 2024.
- NAWROT, Robert *et al.* Plant antimicrobial peptides. **Folia Microbiologica**, v. 59, n. 3, p. 181–196, 2014.
- PELEGRIINI, Patricia B. *et al.* Identificação de um novo peptídeo rico em glicina de armazenamento de sementes de goiaba (*Psidium guajava*) com atividade contra bactérias Gram-negativas. **Peptides**, v. 29, n. 8, p. 1271–1279, 1 ago. 2008.
- POIREL, Laurent *et al.* Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli*. **Microbiology Spectrum**, v. 6, n. 4, jul. 2018.
- SILVA, Maria Elenilda Paulino da *et al.* LC-MS Analysis and Antimicrobial Activity of Different Extracts of *Spondias purpurea* L. [S.d.].
- TAVARES, Letícia Stephan *et al.* Antimicrobial activity of recombinant Pg-AMP1, a glycine-rich peptide from guava seeds. **Peptides**, v. 37, n. 2, p. 294–300, out. 2012.
- TAVEIRA, Gabriel B. *et al.* Thionin-like peptides from *Capsicum annuum* fruits with high activity against human pathogenic bacteria and yeasts. **Biopolymers**, v. 102, n. 1, p. 30–39, jan. 2014.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Antimicrobial Resistance. Disponível em:

<<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>>.