UNIVERSIDADE REGIONAL DO CARIRI - URCA

CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE - CCBS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA BIOLÓGICA - PPQB

FÁZIA FERNANDES GALVÃO RODRIGUES

PERFIL QUÍMICO E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DO ÓLEO ESSENCIAL DAS SEMENTES DE *Cynophalla flexuosa* L. (Capparaceae)

Crato - CE
2026

UNIVERSIDADE REGIONAL DO CARIRI
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA BIOLÓGICA

FÁZIA FERNANDES GALVÃO RODRIGUES

PERFIL QUÍMICO E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DO ÓLEO ESSENCIAL DAS SEMENTES DE *Cynophalla flexuosa* L. (Capparaceae)

Relatório de Dissertação apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Química Biológica, da Universidade Regional do Cariri, como requisito necessário para obtenção do Título de Mestre em Química Biológica.

Orientador: Prof. Dr. José Galberto Martins da Costa

Crato - CE
2026

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELO AUTOR ATRAVÉS DO SISTEMA DE GERAÇÃO AUTOMÁTICO DA BIBLIOTECA CENTRAL DA UNIVERSIDADE REGIONAL DO CARIRI – URCA

Rodrigues, Fázia Fernandes Galvão

R696p PERFIL QUÍMICO E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DO ÓLEO ESSENCIAL DAS SEMENTES DE *Cynophalla flexuosa* L. (Capparaceae) / Fázia Fernandes Galvão Rodrigues. Crato-CE, 2026.

65p. il.

Dissertação. Programa de Pós-Graduação em Química Biológica da Universidade Regional do Cariri - URCA.

Orientador (a): Prof. Dr. José Galberto Martins da Costa

1.Atividades biológicas, 2. *Cynophalla flexuosa*, 3. Isotiocianatos, 4. Óleo essencial; I. Universidade Regional do Cariri – Centro de Ciências Biológica e da Saúde – Departamento de Química Biológica.

FÁZIA FERNANDES GALVÃO RODRIGUES

PERFIL QUÍMICO E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DO ÓLEO ESSENCIAL DAS SEMENTES DE *Cynophalla flexuosa* L. (Capparaceae)

Relatório de Dissertação apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Química Biológica, da Universidade Regional do Cariri, como requisito necessário para obtenção do Título de Mestre em Química Biológica.

Relatório de Dissertação defendida e aprovada em: 23/ 01/2026.

BANCA EXAMINADORA

gov.br Documento assinado digitalmente
JOSE GALBERTO MARTINS DA COSTA
Data: 10/08/2026 15:39:04-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dr. José Galberto Martins da Costa
Orientador - URCA

gov.br Documento assinado digitalmente
ERLANIO OLIVEIRA DE SOUSA
Data: 10/08/2026 16:10:50-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dr. Erlânio Oliveira de Sousa
Membro Titular Externo - FATEC

gov.br Documento assinado digitalmente
RAIMUNDO NONATO PEREIRA TEIXEIRA
Data: 10/08/2026 13:29:57-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dr. Raimundo Nonato Pereira Teixeira
Membro Titular Interno - URCA

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus, pelas graças e bênçãos derramadas em minha vida, pela presença constante e pelo cuidado diário ao longo de todo o mestrado. Sua fidelidade foi essencial em cada etapa dessa caminhada. A Ele sejam dadas toda honra e toda glória.

À minha família, expresso minha profunda gratidão. Ao meu pai Almir, pelo apoio, incentivo e confiança; à minha mãe Edilma (*in memoriam*), cujo amor, ensinamentos e exemplo permanecem como fonte permanente de força e inspiração; e aos meus irmãos: Fabricio, Fabíola e Fábio, pelo carinho, apoio, companheirismo e compreensão ao longo dessa trajetória. Aos meus cunhados, pelo incentivo e às minhas sobrinhas (Marina e Helena), que com suas alegrias renovaram minhas forças durante essa caminhada.

Ao meu orientador Prof. Dr. Galberto, agradeço pela orientação, dedicação, paciência e contribuições científicas, que foram fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho e para meu crescimento acadêmico.

Aos amigos, agradeço pelo apoio, companheirismo e palavras de incentivo nos momentos de dificuldade, tornando essa jornada mais leve. Aos companheiros de laboratório, minha gratidão pela convivência, troca de conhecimentos, colaboração e apoio durante a execução das atividades experimentais.

Aos professores do programa, agradeço pelos ensinamentos, contribuições acadêmicas e pela formação científica proporcionada ao longo do curso. À banca examinadora, sou grata pela disponibilidade, pelas valiosas contribuições e pelas considerações que enriqueceram este trabalho.

Por fim, agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro concedido, fundamental para a realização deste Mestrado.

"É fiel Aquele que fez a promessa, e n'Ele encontramos força para seguir, esperança para esperar e coragem para perseverar. "

(Hebreus 10, 23)

TABELAS, FIGURAS E ANEXOS

INTRODUÇÃO

Figura 1: Fluxograma com a organização geral da estrutura da dissertação.....18

FUNDAMENTAÇÃO TEORICA

Figura 1. Folhas, frutos e sementes de *Cynophalla flexuosa*..... 21
Figura 2. Distribuição geográfica de *Cynophalla flexuosa*..... 23
Quadro 1. Uso popular de *Cynophalla flexuosa*..... 24
Figura 3. Isotiocianatos derivados da hidrólise enzimática de glucosinolatos..... 26

CAPÍTULO 1: PRODUÇÃO CIENTÍFICA (ARTIGO 1)

Figura 1. Cromatograma de GC/MS do óleo essencial das sementes de *Cynophalla flexuosa*
.....33
Tabela 1. Componentes químicos do óleo essencial das sementes de *Cynophalla flexuosa* obtidos por hidrodestilação (GC/MS)
.....33
Figura 2. Percentagem de germinação (A) e índice de velocidade de germinação (B) em mudas de *Calotropis procera* sujeitas a diferentes formulações de óleo essencial de *Cynophalla flexuosa*. Os valores representam a média ± erro padrão (DP) para 20 ensaios/grupo. As barras indicam o erro padrão. Valores seguidos por letras diferentes são significativamente diferentes de acordo com a análise de variância de uma via (ANOVA) seguida pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) 34
Figura 3. Tempo para 50% das sementes germinarem (T50) (A) e sincronia (B) em plântulas de *Calotropis procera* sujeitas a diferentes concentrações de óleo essencial de *Cynophalla flexuosa*. Os valores representam a média ± erro padrão (EP) para 20 ensaios/grupo. As barras indicam o erro padrão. Valores seguidos por letras diferentes são significativamente diferentes de acordo com a análise de variância de um fator (ANOVA) seguida pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$)
.....35

Tabela 2. Potencial fitotóxico do óleo essencial de *Cynophalla flexuosa* no comprimento médio da radícula e hipocótilo de *Calotropis procera* 36
CAPÍTULO 2: PRODUÇÃO CIENTÍFICA (MANUSCRITO 1)

Figura 1. Cromatograma de GC/MS do óleo essencial das sementes de *Cynophalla flexuosa*..... 45
Figura 2. Cromatografia de CG/FID do óleo essencial das sementes de *Cynophalla flexuosa* 46
F**igura 3.** Componentes majoritários: Isotiocianato de butila (1) e isotiocianato de isobutila (2) 46
Tabela 1. Componentes químicos do óleo essencial das sementes de *Cynophalla flexuosa* obtidos por hidrodestilação (GC/MS) 46
Tabela 2. Concentração inibitória mínima (CIM) (µg/mL) do EOCF..... 47
Figura 4. Resultado do potencial modificador do EOCF, na atividade antibiótica frente às cepas *de E. coli* ATCC 25922..... 49
Figura 5. Resultado do potencial modificador do EOCF, na atividade antibiótica frente às cepas *de E. coli* ATCC 25226..... 50
Figura 6. Resultado do potencial modificador do EOCF, na atividade antibiótica frente às cepas *de E. coli* 06..... 50

ANEXOS

Anexo 1. Número de herbário e Identificação botânica..... 59

Anexo 2. Produção durante mestrado..... 61

SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

GSLs	Glicosinolatos
ITCs	Isotiocianatos
IVG	Índice de velocidade de germinação
CG	Cromatografia gasosa
EM	Espectrometria de massa
CIM	Concentração inibitória mínima
PANC	Planta alimentícia não convencional
SFN	Sulforafano
PEITC	Feniletil isotiocianato
BITC	Benzil isotiocianato
AITC	Alil isotiocianato
MRSA	*Staphylococcus aureus* resistente à meticilina
DNA	Ácido desoxirribonucleico
Nrf2	Fator nuclear eritroide 2 relacionado ao fator 2
NF-κB	Fator nuclear kappa B
MAPK	Proteína quinase ativada por mitógeno
PI3K	Fosfoinositídeo 3-quinase
Akt	Proteína quinase B
Wnt	Via de sinalização Wnt
β	Beta
TNF-α	Fator de necrose tumoral alfa
IL	Interleucina
COX-2	Ciclooxigenase-2
iNOS	Óxido nítrico sintase induzível
IκBα	Inibidor do fator nuclear kappa B
DDS	Dextrano sulfato de sódio
LPS	Lipopolissacarídeo
HO-1	Heme oxigenase-1

NAD(P)H	Nicotinamida adenina dinucleotídeo (fosfato)
NQO1	NAD(P)H:quinona oxidorredutase 1
FID	Detector de ionização em chama
EOCF	Óleo essencial de *Cynophalla flexuosa*
BHI	Brain Heart Infusion
DPPH•	Radical 1,1-difenil-2-picril-hidrazil

SUMÁRIO

1 RESUMO....12
ABSTRACT....13
IMPORTÂNCIA E RELEVÂNCIA PARA A SOCIEDADE....14
INTRODUÇÃO GERAL....15
1.1 Estratégias de Pesquisa....17
1.2 Estrutura da Dissertação....18
2 OBJETIVOS....19
2.1 Objetivo Geral....19
2.2 Objetivos Específicos....19
2.3 Objetivos e Questionamentos....19
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA....21
4 PRODUÇÃO CIENTÍFICA....31
5 CAPÍTULO 1 – Artigo 1 – Allelopathic Effect of *Cynophalla flexuosa* Essential Oil on the Germination and Growth of Calotropis procera....32
5.1 CAPÍTULO 2 – Manuscrito 1 – GC-MS-FID and antibacterial activity of the essential oil of *Cynophalla flexuosa* (L.) J. Presl. against different strains of …....40
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS....54
6.1 ASPECTOS GERAIS DA PRODUÇÃO CIENTÍFICA....54
6.2 CONCLUSÕES GERAIS....55
6.3 Perspectivas de Investigações Futuras....56
REFERÊNCIAS....57
ANEXOS....59

PERFIL QUÍMICO E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DO ÓLEO ESSENCIAL DAS SEMENTES DE *Cynophalla flexuosa* L. (Capparaceae)

RESUMO

Introdução: Alguns óleos essenciais apresentam substâncias químicas com elevado potencial biológico, sobretudo quando ricos em metabólitos secundários bioativos, como os isotiocianatos, amplamente distribuídos em espécies das famílias Capparaceae e Brassicaceae. Nesse contexto, destaca-se *Cynophalla flexuosa*, conhecida popularmente como feijão-bravo, cujos metabólitos bioativos apresentam relevância química e biológica. Os isotiocianatos (ITCs) são formados a partir da hidrólise dos glicosinolatos, apresentando diversidade estrutural determinada pelas variações na cadeia lateral desses precursores. **Objetivo:** Este estudo teve como objetivo avaliar o perfil químico e atividades biológicas do óleo essencial das sementes de *C. flexuosa*. **Metodologia:** O óleo essencial das sementes de *C. flexuosa* foi obtido por hidrodestilação e sua composição química foi determinada por GC/MS, confirmada por GC/FID. A atividade antibacteriana foi avaliada por microdiluição em caldo, incluindo testes de modulação usando antibióticos aminoglicosídeos e beta-lactâmicos. Ensaios alelopáticos foram conduzidos para investigar efeitos sobre germinação e crescimento de *Calotropis procera*. **Resultados e discussões:** Os resultados obtidos na análise cromatográfica mostraram que os compostos majoritários foram isotiocianato de butila (42,60%) e isotiocianato de isobutila (42,28%). A CIM para as bactérias testadas variou de 512 á ≥ 1024 µg/mL, apresentando potencial na atividade modificadora em combinação com os antibióticos. O índice de velocidade de germinação (IVG) nos ensaios alelopáticos, apresentou resultados negativos para todos os tratamentos avaliados, com maior significância para as maiores concentrações. As diferentes concentrações do óleo causaram resultados negativos no crescimento médio da radícula e do caule de *C. procera*. **Conclusões:** Pode-se concluir com esse estudo que o óleo essencial das sementes de *C. flexuosa* apresenta uma composição química incomum e peculiar o que favorevece a investigação de atividades biológicas ainda não estudadas como também alternativa promissora ao controle da resistência bacteriana. No aspecto ambiental o óleo apresentou-se como um pontente bioherbicida natural sendo similar ou superior ao produto usado comercialmente, o que favorece um controle benéfico sem efeitos colaterais tanto ao meio ambiente como a saúde humana. Portanto, o estudo com essa espécie merece continuidade para elucidas outras atividades biológicas.

Palavras-Chave: Atividades biológicas; *Cynophalla flexuosa*; Isotiocianatos; Óleo essencial.

ABSTRACT

CHEMICAL PROFILE AND BIOLOGICAL ACTIVITIES OF THE ESSENTIAL OIL FROM *Cynophalla flexuosa* L. (Capparaceae)

ABSTRACT

Introduction: Some essential oils contain chemical compounds with high biological potential, particularly when rich in bioactive secondary metabolites such as isothiocyanates, which are widely distributed in species of the Capparaceae and Brassicaceae families. In this context, *Cynophalla flexuosa* stands out, as its bioactive metabolites exhibit significant chemical and biological relevance. Isothiocyanates (ITCs) are formed through the hydrolysis of glucosinolates and display structural diversity determined by variations in the side chains of these precursors. **Objective:** This study aimed to evaluate the chemical profile and biological activities of the essential oil from *Cynophalla flexuosa* seeds. **Methodology:** The essential oil was obtained by hydrodistillation, and its chemical composition was determined by GC/MS and confirmed by GC/FID. Antibacterial activity was assessed using broth microdilution, including tests of modulation with aminoglycoside and beta-lactam antibiotics. Allelopathic assays were conducted to investigate effects on the germination and growth of *Calotropis procera*. **Results and Discussion:** Chromatographic analysis revealed that the major compounds were butyl isothiocyanate (42.60%) and isobutyl isothiocyanate (42.28%). MIC values for tested bacteria ranged from 512 to ≥1024 µg/mL, indicating potential modulatory activity in combination with antibiotics. The germination rate index (GRI) in allelopathic assays showed inhibitory effects at all treatments, with greater significance at higher concentrations. Different oil concentrations negatively affected the radicle and stem growth of *C. procera*. **Conclusions:** The essential oil from *C. flexuosa* seeds exhibits an uncommon chemical composition, supporting the investigation of previously unexplored biological activities and offering a promising alternative for bacterial resistance management. Environmentally, the oil demonstrated potent bioherbicidal activity comparable or superior to commercial herbicides, providing effective control without adverse effects on the environment or human health. Therefore, further studies are warranted to explore additional biological activities of this species.

Keywords: Biological activities; *Cynophalla flexuosa*; Isothiocyanates; Essential oil

IMPORTÂNCIA/RELEVÂNCIA PARA A SOCIEDADE

A pesquisa com o óleo essencial de *C. flexuosa* (espécie conhecida popularmente como feijão-bravo) apresenta significativa relevância científica e social, especialmente por ser uma espécie ainda pouco explorada na literatura científica. O óleo essencial das suas sementes apresenta composição química incomum e peculiar a outros óleos essenciais, destacando os isotiocianatos uma classe de compostos raramente encontrada. Estes constituintes químicos estão diretamente associados a diversas atividades biológicas de interesse farmacológico e agroindustrial. Entre as principais propriedades relatadas dos isotiocianatos, destacam-se antimicrobiana, antioxidante, anti-inflamatória, anticancerígena, além do potencial repelente e uso como planta forrageira. As investigações dessas propriedades contribuem tanto para o avanço do conhecimento sobre espécies vegetais pouco conhecidas, como também para o desenvolvimento de novos produtos naturais com aplicações promissoras nas áreas da saúde, agricultura e controle de vetores. Os resultados desta pesquisa podem gerar impactos positivos tanto no campo científico quanto na qualidade de vida da população na busca de alternativa natural no controle de enfermidades.

1 INTRODUÇÃO GERAL

1. INTRODUÇÃO

As características farmacológicas das plantas medicinais estão relacionadas a produção de compostos químicos bioativos, originados prevalentemente de metabólitos secundários que apresentam inúmeras atividades como efeito antimicrobiano, antioxidante, entre outros. A produção desses compostos ocorre como resposta de defesa contra o ambiente ou a processos fisiológicos da planta, apresentando a função de proteção do vegetal, e são esses compostos que apresentam vasta utilização para a saúde humana (ALBA; TESSARO; SOBOTTKA, 2022).

Dentre os compostos de ampla potencialidade destacam-se os glicosinolatos (GSLs), compostos sulfurados abundantes em vegetais da família Brassicaceae, como brócolis, couve-flor e repolho. Esses metabólitos secundários despertam interesse devido à sua conversão em isotiocianatos (ITCs) bioativos, catalisada pela enzima mirosinase durante a mastigação ou o processamento dos alimentos (OLAYANJU *et al*., 2024). A diversidade estrutural dos GSL**s**, determinada principalmente pelas variações na cadeia lateral derivada de diferentes aminoácidos, influencia diretamente as propriedades químicas e biológicas dos ITCs formados (CONNOLLY *et al*., 2021).

Os ITCs, presentes principalmente em vegetais crucíferos das famílias Brassicaceae e Capparaceae, incluindo a espécie *Cynophalla flexuosa*, apresentam atividade quimiopreventiva e antioxidante, contribuindo para a redução do risco de doenças crônicas, como determinados tipos de câncer, e atuando nos processos de desintoxicação celular. Contudo, esses compostos exercem papel preventivo, sem efeito curativo, especialmente quando associados ao consumo regular na dieta (DINH *et al*., 2021).

Essas variações estruturais afetam a reatividade, estabilidade e capacidade de interação com alvos moleculares, resultando em efeitos biológicos distintos, incluindo atividades anticancerígenas, antimicrobianas e anti-inflamatórias (OLAYANJU *et al*., 2024; CONNOLLY *et al*., 2021). Além disso, fatores como o tipo de tecido vegetal, condições ambientais e métodos de preparo dos alimentos podem afetar a concentração e a eficácia

desses compostos bioativos (OLAYANJU *et al*., 2024).

Dentre os diversos fitoquímicos estudados, os isotiocianatos (ITCs) têm ganhado destaque por suas múltiplas propriedades bioativas. Os ITCs vêm sendo amplamente investigados devido à sua capacidade de modular processos biológicos fundamentais, apresentando uma diversidade de efeitos terapêuticos, incluindo ações anticarcinogênicas, antimicrobianas, antioxidantes, anti-inflamatórias, entre outras. Esse amplo espectro de atividades reforça o potencial dos ITCs como agentes promissores na prevenção e tratamento de doenças crônicas não transmissíveis, sendo, portanto, de grande interesse para a pesquisa em produtos naturais e farmacologia (SHOAIB et al., 2023).

A espécie *Cynophalla flexuosa* L., popularmente conhecida como "feijão-bravo" ou "feijão-de-boi", é nativa do Brasil e ocorre amplamente em áreas do semiárido e do bioma Caatinga. Trata-se de uma espécie altamente resistente à seca e com elevada tolerância à salinidade, sendo utilizada em programas de regeneração e restauração de solos salinizados. Além disso, fornece madeira para estacas, é empregada como planta forrageira e apresenta usos na medicina popular, atuando como analgésico, vermífugo, entre outras aplicações (MAIA *et al*., 2012; SOUSA *et al*., 2021).

Apesar de sua importância ecológica e econômica, as informações disponíveis na literatura sobre essa espécie ainda são limitadas. Dados químicos referentes ao isolamento e à composição química de *C. flexuosa* permanecem escassos, embora estudos indiquem a presença de metabólitos secundários característicos da família Capparaceae, como os glicosinolatos, cuja hidrólise resulta na formação de isotiocinantos e nitrilas (SOUZA, 2020).

O óleo essencial extraído das suas sementes permanece pouco explorado do ponto de vista químico e biológico, ausência de estudos sistemáticos sobre o perfil químico do óleo essencial das sementes de *C. flexuosa*, bem como suas potenciais atividades biológicas, representa uma lacuna relevante na literatura científica. Considerando a diversidade fitoquímica presente em espécies adaptadas a condições ambientais extremas, como o semiárido, torna-se pertinente investigar o potencial terapêutico dessa espécie pouco estudada. Portanto, compreender a relação entre a estrutura química dos GSLs e as atividades biológicas dos ITCs é essencial para explorar seu potencial terapêutico e aplicações.

Nesse contexto, este trabalho oferece contribuições valiosas acerca da composição química e potencial biológico de *C. flexuosa*, visto a escassez de estudos encontrados na literatura e a importância química-biológica dos ITC's derivados dessa espécie, com ênfase em seu potencial terapêutico e relevância como fonte alternativa de metabólitos secundários bioativos.

O presente estudo teve como objetivo avaliar o perfil químico e avaliar as atividades biológicas, dentre elas a alelopática, bacteriana e modificadora da atividade de antibióticos aminoglicosídeos e beta-lactâmicos do óleo essencial das sementes de *C. flexuosa*, frente a cepas bacterianas *E. coli* padrões e multirresistentes.

1.1 Estratégias de Pesquisa

Esta dissertação adotou uma abordagem experimental e exploratória, motivada pela limitada disponibilidade de informações científicas sobre *Cynophalla flexuosa*, especialmente no que se refere à sua composição química e às suas atividades biológicas. A escassez de estudos prévios justificou a escolha de estratégias metodológicas capazes de gerar dados inéditos e relevantes, alinhados ao problema e aos objetivos propostos.

A investigação do óleo essencial das sementes de *C. flexuosa* foi definida com base no potencial dos metabólitos secundários, como os isotiocianatos, compostos característicos da família Capparaceae e associados a diversas atividades biológicas. Para a caracterização química, a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas foi selecionada por sua alta sensibilidade e confiabilidade na identificação de compostos voláteis, sendo considerada mais adequada em comparação a outras técnicas analíticas.

As avaliações biológicas foram delineadas para investigar tanto o potencial antibacteriano do óleo essencial quanto sua capacidade de atuar como agente modulador da atividade de antibióticos convencionais, estratégia escolhida em função da crescente preocupação com a resistência bacteriana. Além disso, a inclusão de ensaios alelopáticos permitiu avaliar os efeitos fitotóxicos do óleo essencial, ampliando a compreensão de seu potencial ambiental e sua possível aplicação como bioherbicida natural.

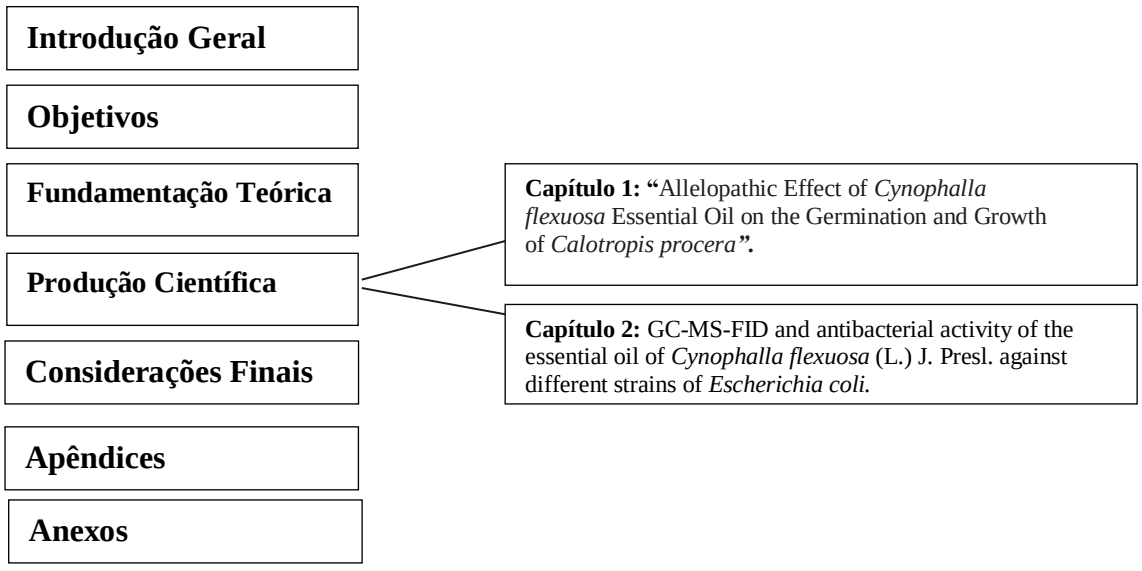
1.1.ESTRUTURA DA DISSERTAÇÃO

Esta Dissertação está organizada em: Introdução geral (dividida em estratégias de pesquisa e estrutura da dissertação; Objetivos (divididos em objetivos geral, objetivos específicos e objetivos e questionamentos); Fundamentação teórica (que abrange os seguintes tópicos: *Cynophalla flexuosa*, Ditribuição geográfica, Uso popular, Composição química dos isotiocianatos, Atividade biológica dos isotiocianatos, Atividade antibacteriana, Atividade Cancerígena, Atividade Antiinflamatória e Anticolinesterase) e Produção científica (dividida em Capítulo 1 e Capítulo 2), conforme descrita a seguir:

1) O Capítulo 1: apresenta o primeiro artigo experimental vinculado a dissertação intitulado "Allelopathic Effect of *Cynophalla flexuosa* Essential Oil on the Germination and Growth of *Calotropis procera*, publicado na revista *Chemistry & Biodiversity*, fator de impacto 2.3, Qualis A4.
2) O Capítulo 2: apresenta o manuscrito experimental vinculado à dissertação intitulado: "GC-MS-FID e atividade antibacteriana do óleo essencial de *Cynophalla flexuosa* (L.) J. Presl. contra diferentes cepas de *Escherichia coli*", em processo de submissão.

Por fim, a dissertação é finalizada com as Considerações Finais (dividida em aspectos gerais da produção científica, conclusões gerais e perspectivas de investigações futuras); seguida pelas Referências e Anexos. A estrutura geral da dissertação encontra-se na Figura 1:

Figura 2: Fluxograma com a organização geral da estrutura da dissertação.



2 OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar o perfil químico e atividades biológicas do óleo essencial das sementes de *Cynophalla flexuosa* L.

2.2. Objetivos Específicos

- Obter o óleo essencial das sementes de *C. flexuosa;*
- Identificar e quantificar constituintes químicos presentes no óleo essencial das sementes de *C. flexuosa* através de Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (GC/MS);
- Determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) do óleo essencial das sementes de *C. flexuosa* frente as cepas padrões e multirresistentes de *E. coli*;
- Investigar o efeito alelopático do óleo essencial das sementes de *C. flexuosa* sobre a espécie *Calotropis procera*;

2.3 OBJETIVOS E QUESTIONAMENTOS

Esta dissertação foi desenvolvida com o propósito de investigar o óleo das sementes de *Cynophalla flexuosa* (feijão-bravo), cujo perfil químico apresenta características pouco descritas na literatura. Embora amplamente estudada em espécies de outras famílias botânicas, a classe dos isotiociantaos permanece pouco explorada em *C. flexuosa*, o que

evidencia a importância e a originalidade desta investigação. Ao revisar a literatura científica, foi verificado que apesar das propriedades benéficas amplamente relatadas para esses compostos, ainda existem lacunas significativas no entendimento sobre sua ocorrência específica neste óleo e suas múltiplas atividades biológicas, como ações antimicrobianas, antioxidantes, anti-inflamatórias, anticancerígenas, alelopáticas, além do potencial repelente e uso como planta forrageira.

Diante disso, surgiram questionamentos que orientaram esta pesquisa: quais compostos específicos estão presentes no óleo essencial de *Cynophalla flexuosa*? De que forma a composição química contribui para as atividades biológicas observadas? Quais os mecanismos envolvidos nessas ações? E como esses conhecimentos podem ser aplicados de forma prática nas áreas da saúde, agricultura e controle ambiental?

Assim, buscamos compreender detalhadamente a composição química do óleo essencial e seus efeitos biológicos, a fim de preencher essas lacunas e ampliar o conhecimento científico sobre essa espécie nativa e pouco estudada. Além disso, pretenemos valorizar a biodiversidade brasileira e apoiar o desenvolvimento de produtos naturais inovadores e sustentáveis com aplicações promissoras.

Assim, este trabalho se insere no contexto atual da literatura científica, que busca soluções naturais e sustentáveis para desafios globais, promovendo um diálogo entre o conhecimento tradicional e as evidências científicas, com o objetivo de incentivar a inovação e o uso consciente dos recursos naturais.

3.REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Cynophalla flexuosa

O gênero *Cynophalla* é composto por aproximadamente 18 espécies, no Brasil existe a ocorrência de seis: *Cynophalla declinata, Cynophalla flexuosa, Cynophalla hastata, Cynophalla linearis, Cynophalla mattogrossensis, Cynophalla retusa* (NETO *et al.*, 2014). Dentre estas, *Cynophalla flexuosa* (Figura 1), popularmente conhecida como "feijão-bravo" ou "feijão-de-boi" é comumente encontrada no bioma da Caatinga, principalmente na região semiárida, pertence a Magnolliophyta (Angiospermae); Classe Magnoliopsida (Dicotyledonae); Ordem; Caryophyllales.

A espécie *C. flexuosa* destaca-se devido ao seu reconhecido valor nutricional e potencial terapêutico. Estudos indicam que seus extratos concentram compostos bioativos derivados de glucosinolatos, cujos ITCs apresentam propriedades relevantes, como ação antioxidante, atividade anti-inflamatória e efeitos antitumorais (ROMEO *et al.*, 2018).

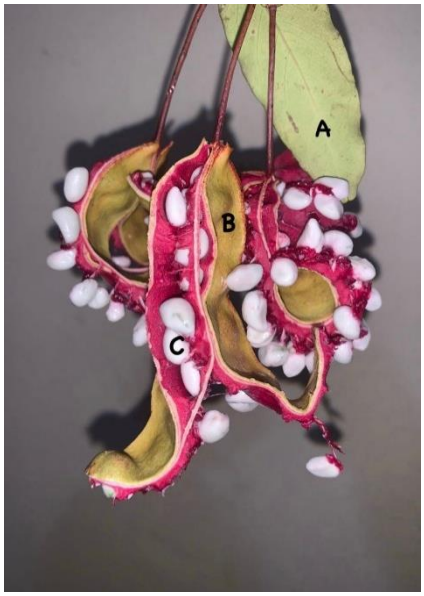


Figura 1: Folhas (A), fruto (B) e sementes (C) de *Cynophalla flexuosa*.
Fonte: RODRIGUES (2025).

A *C. flexuosa* é considerada uma angiosperma eudicotiledônea core, xerófita e heliófita, que se destaca como forrageira no Nordeste brasileiro (SOUZA *et al.*, 2021). Pode chegar até 6 m de altura, o caule arbusto com ramos flexíveis, sua raiz é considerada pivotante. As flores encontram-se agrupadas em inflorescência racemosa, formando corimbos terminais ou axilares. As pétalas e sépalas são livres e apresentam coloração verde, enquanto os filetes exibem base vinácea contrastando com ápice branco, conferindo à estrutura floral um contraste marcante e facilitando sua identificação.

O fruto apresenta-se deiscente, constituído por uma cápsula folicular cilíndrica de coloração verde na face externa, cujo endocarpo exibe tom vermelho vibrante, realçando-se contra o revestimento externo e indicando o ponto de ruptura natural para a dispersão das sementes (Figura 1B, 1C). As folhas (Figura 1A) são simples e alternas, apresentando formato oblonga-elíptico com ápice que varia entre arredondado e levemente emarginado.

3.2 Distribuição Geográfica

A família Capparaceae agrupa em torno de 25 gêneros e cerca de 500 espécies, distribuídas globalmente, com maior concentração nas zonas tropicais e subtropicais. Essas plantas são especialmente comuns em florestas tropicais com estações secas. No Brasil, são identificados 12 gêneros e 28 espécies dessa família, das quais 12 são endêmicas do território nacional (ALMEIDA NETO *et al.*, 2011).

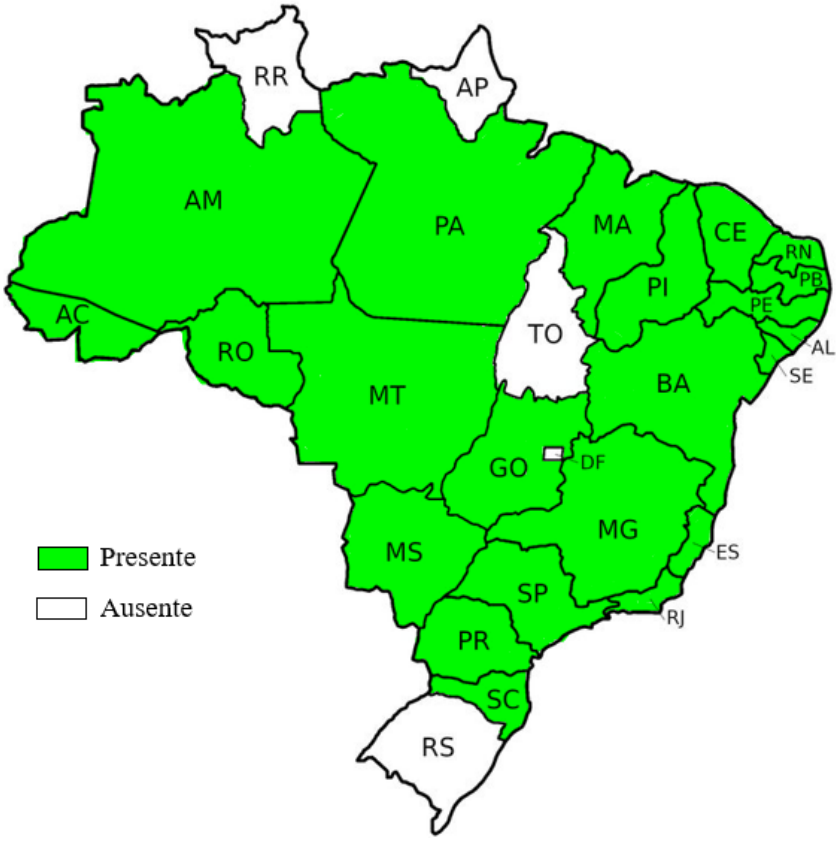


Figura 2. Distribuição geográfica de *C. flexuosa* no Brasil.
Fonte: Reflora Brasil (2025).

Essa espécie está distribuída nas regiões tropicais e subtropicais das Américas, incluindo o Caribe, América Central e América do Sul. No Brasil, é relatado a presença em todas as regiões, como ilustrado na Figura 2 em destaque, Norte (Acre, Amazonas, Pará, Rondônia), Nordeste (Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte, Sergipe), Centro6-Oeste (Goiás, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso), Sudeste (Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo), Sul (Paraná, Santa Catarina), exceto no extremo sul. Encontra-se sob os domínios fitogeográficos; Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica, Pantanal (REFLORA BRASIL, 2025).

3.3 Uso popular de *C. flexuosa*

O Quadro 1 sintetiza os usos populares de diferentes partes de *C. flexuosa*, evidenciando a ampla gama de aplicações atribuídas a essa espécie por populações tradicionais, tanto em contextos medicinais quanto alimentares e utilitários.

Quadro 1. Uso e aplicações populares de *C. flexuosa.*

Parte da planta	**Aplicação**	**Referência**
Botões florais, frutos e brotos	Tônico ou expectorantes, Condimentos	INOCÊNCIO *et al*., (2000)
Folhas	Febre; Depurativo; Forrageira para alimentação animal	ALMEIDA NETO *et al*., (2011) RIBEIRO et al., (2016)
Folhas, casca e madeira	Restauração do fluxo mestrual, Tosse; Veneno abortivo e Combustível	SALAZAR *et al*., (2022)

Do ponto de vista terapêutico, destaca-se o uso das folhas em forma de decocção para o tratamento de febres e como agente depurativo, conforme relatado por Ribeiro *et al.*, (2016). Adicionalmente, Salazar *et al*., (2022) apontam o uso popular das folhas, casca e madeira na restauração do fluxo menstrual e no alívio da tosse, o que sugere possíveis propriedades emenagogas e expectorantes. Tais práticas indicam um conhecimento empírico relacionado a efeitos sobre os sistemas respiratório e reprodutor, reforçando o potencial farmacológico da espécie.

No contexto alimentar, algumas espécies do gênero *Capparis* (sinônimo anterior) os botões florais, frutos e brotos são utilizados como condimento, sendo valorizados especialmente na Grécia pelo sabor picante e amargo, que também se atribui essas características a *C. flexuosa* (INOCÊNCIO *et al.*, 2000). Esse uso ressalta o potencial de como planta alimentícia não convencional (PANC), com relevância cultural e gastronômica em diferentes regiões do mundo.

Outro aspecto relevante refere-se às aplicações tóxicas e veterinárias. Salazar *et al.*, (2022), relatam o uso de folha, casca e madeira para a produção de venenos com efeito abortivo, prática que sugere a presença de compostos com possível toxicidade reprodutiva. Embora

enraizada no saber popular, essa utilização demanda cautela e investigação científica rigorosa, visando avaliar os riscos toxicológicos associados.

Além das aplicações medicinais e alimentares, a espécie também desempenha papel importante em contextos agropecuários. No semiárido brasileiro, *C. flexuosa* é utilizada como forragem para alimentação animal, mantendo-se verde durante todo o ano e apresentando boa palatabilidade, o que a torna um recurso valioso em períodos de estiagem (ALMEIDA NETO *et al.*, 2011). Complementarmente, partes lenhosas da planta são aproveitadas como combustível (SALAZAR *et al.*, 2022), evidenciando sua multifuncionalidade e importância socioeconômica em áreas rurais.

3.4 Composição química e isotiocianatos

Embora os estudos sobre a composição química de *C. flexuosa* ainda sejam limitados, os dados disponíveis na literatura indicam a presença de isotiocianatos (ITCs) bioativos em concentrações significativas em seu óleo essencial.

Análises realizadas por Carvalho *et al*. (2021), utilizando cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC/MS), identificaram a presença de ITCs e nitrilas, os quais representaram 39,4% da composição do óleo essencial das vargens do feijão-bravo, além disso, os autores reportaram potencial antioxidante e antiacetilcolinesterase. Mais recentemente, Rodrigues *et al*. (2025) confirmaram, por meio da mesma técnica analítica, uma predominância ainda maior desses compostos no óleo essencial das sementes, com 95,7% da composição constituída por ITCs alifáticos, com potencial alelopático superior ao controle positivo, reforçando o potencial bioativo dessa espécie.

Os ITCs são metabólitos secundários voláteis pertencentes à classe dos compostos organossulfurados. Sua biossíntese ocorre predominantemente a partir da hidrólise enzimática de glucosinolatos, catalisada pela mirosinase (Figura 3). Essa reação é desencadeada nas plantas por estímulos físicos ou mecânicos, como a ruptura celular ou a mastigação, resultando na liberação de glicose e formação de intermediários instáveis, os quais sofrem rearranjos químicos que originam os ITCs (YADAV *et al.*, 2022).

As estruturas dos produtos majoritariamente formados, ITC de alila, ITC de benzila, ITC de fenetila e sulforafano, apresentam cadeia lateral idêntica à dos glicosinolatos de que se

originaram, se diferenciando pelo grupamento N=C=S que o identifica, conforme ilustrado na Figura 3.

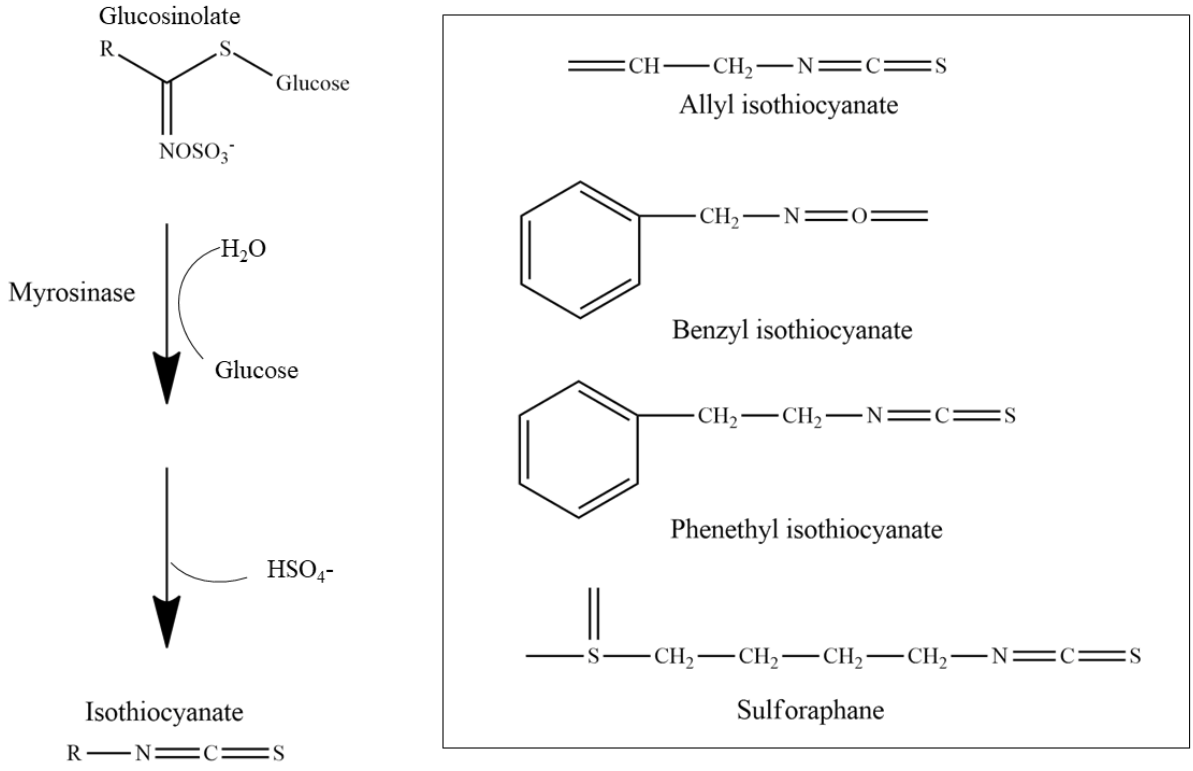


Figura 3. Isotiocianatos derivados da hidrolise enzimática de glucosinolatos.
Fonte: VALÉRIO (2017).

A formação de ITCs é afetada por vários fatores internos e externos, como pH, temperatura, disponibilidade de íons ferrosos e presença de proteínas como a proteína epitioespecificadora (YADAV *et al*., 2022).

3.5 Atividade biológica dos isotiocianatos

3.5.1. Atividade antibacteriana

Diversos ITCs destacam-se por sua elevada concentração em determinados vegetais, sendo, portanto, mais estudados e reconhecidos por suas propriedades biológicas. Dentre os mais investigados, destacam-se o sulforafano (SFN), o feniletil isotiocianato (PEITC), o benzil isotiocianato (BITC) e o alil isotiocianato (AITC), todos amplamente associados a atividades

antimicrobianas relevantes. Esses compostos apresentam múltiplos mecanismos de ação, o que justifica sua eficácia frente a diferentes espécies microbianas (ANDRÉS et.al. 2025).

Em uma revisão realizada por Romeo *et al*. (2018), foram demonstradas as atividades antimicrobianas de diversos ITCs frente a uma ampla gama de microrganismos, incluindo *Helicobacter pylori*, uma bactéria Gram-negativa frequentemente resistente a tratamentos convencionais, principalmente em função de sua capacidade de aderência à mucosa gastrointestinal. Ensaios *in vivo* com camundongos revelaram que o sulforafano (SFN) foi capaz de eliminar completamente a infecção por *H. pylori*, evidenciando seu potencial terapêutico.

O benzil isotiocianato (BITC), por sua vez, tem se mostrado especialmente eficaz contra cepas bacterianas multirresistentes, como *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) e *Escherichia coli* O157:H7. Sua ação antimicrobiana está relacionada à indução de estresse oxidativo nas células bacterianas, à ruptura da integridade da membrana plasmática e à inibição de genes associados à virulência e à formação de biofilmes (DUFOUR *et al*., 2015).

Já o feniletil isotiocianato (PEITC) demonstrou elevada eficácia frente a bactérias Gram-positivas anaeróbias, como *Clostridium difficile*. Seus principais mecanismos de ação incluem a alteração do equilíbrio redox intracelular e a desestabilização da membrana celular, comprometendo a viabilidade microbiana (DUFOUR *et al*., 2015).

3.5.2 Atividade anticancerígena

Os isotiocianatos (ITCs) têm se destacado nas últimas décadas pelo seu potencial quimiopreventivo e terapêutico frente a diversos tipos de câncer. Esses compostos bioativos demonstram a capacidade de modular múltiplas vias celulares associadas à carcinogênese, atuando na indução de enzimas de desintoxicação, inibição da proliferação celular e promoção de apoptose (CONNOLLY *et al*., 2021; OLAYANJU *et al*., 2024). Além disso, fortalecem os sistemas endógenos de defesa antioxidante, protegem o DNA contra danos oxidativos e regulam a expressão de genes envolvidos no ciclo celular e na sobrevivência tumoral, contribuindo para a redução do crescimento neoplásico e inibição da metástase.

Entre os ITCs mais estudados, destacam-se o sulforafano (SFN), o fenetil isotiocianato (PEITC), o benzil isotiocianato (BITC) e o isotiocianato de alila (AITC), todos com atuação

comprovada em diferentes estágios da carcinogênese. Além de funcionarem como agentes profiláticos, esses compostos podem potencializar os efeitos de quimioterápicos convencionais, promovendo sinergismo terapêutico e superando mecanismos de resistência celular (KIM *et al*., 2021).

O SFN e o PEITC têm demonstrado eficácia significativa na indução de morte celular programada, no bloqueio da progressão do ciclo celular e na ativação da via Nrf2, que regula genes antioxidantes e citoprotetores (JIANG *et al*., 2018). Esses efeitos resultam não apenas na redução da viabilidade de células tumorais, mas também na preservação das células normais. O SFN, em particular, também é capaz de regular epigeneticamente genes associados à carcinogênese, reforçando seu papel preventivo (MA *et al*., 2018).

O AITC, por sua vez, atua diretamente sobre a estrutura citosquelética das células, ainibindo a função dos microtúbulos — estruturas fundamentais para a divisão celular. Esse mecanismo resulta na interrupção da multiplicação de células neoplásicas, além de promover apoptose de maneira semelhante à observada com o SFN (MI *et al*., 2011; LEE *et al*., 2019).

Outro aspecto relevante na ação dos ITCs é sua atividade anti-inflamatória, intimamente relacionada ao microambiente tumoral. Esses compostos são capazes de inibir a via de sinalização NF-κB, frequentemente hiperativada em tecidos cancerosos e responsável pela produção de citocinas inflamatórias. Ao suprimir essa via, os ITCs contribuem para um ambiente menos favorável à progressão tumoral e à evasão imunológica (PRAWAN *et al*., 2008).

O PEITC, naturalmente presente no agrião, tem sido amplamente estudado por suas propriedades antineoplásicas. Estudos demonstram que esse composto pode induzir apoptose, bloquear a angiogênese e inibir a proliferação celular em diferentes tipos de câncer, como os de mama, próstata e pulmão. Seu mecanismo de ação está associado à modulação de vias de sinalização como MAPK, PI3K/Akt e Wnt/β-catenina, fundamentais para a sobrevivência tumoral. Ensaios clínicos com extratos ricos em PEITC, como o suco de agrião, têm apresentado resultados promissores quanto à segurança e eficácia na prevenção de lesões pré-neoplásicas (OLAYANJU *et al*., 2024; BARAL *et al*., 2024).

O BITC, encontrado em alimentos como o mamão, também possui ação anticancerígena significativa. Estudos recentes indicam que ele induz apoptose, causa parada do ciclo celular e inibe mecanismos envolvidos na migração e invasão de células tumorais. Além disso, o BITC

pode sensibilizar células cancerosas à quimioterapia, aumentando a eficácia dos tratamentos convencionais. Esses efeitos estão associados à modulação de vias críticas do estresse oxidativo, à regulação de proteínas pró-apoptóticas e à repressão de genes envolvidos em processos de sobrevivência celular (OLAYANJU et al., 2024).

3.5.3 Atividade anti-inflamatória

A atividade anti-inflamatória dos ITCs está relacionada à sua capacidade de interferir em processos que regulam a inflamação no organismo. Um dos principais mecanismos é a inibição de uma proteína NF-κB, que controla a produção de substâncias inflamatórias como TNF-α, IL-1β, IL-6, COX-2 e iNOS. O sulforafano (SFN), um dos ITCs mais estudados, consegue bloquear a ativação do NF-κB ao impedir que uma proteína inibitória (IκBα) seja degradada, o que evita que o NF-κB entre no núcleo da célula e ative os genes ligados à inflamação, ajudando a reduzir o processo inflamatório (KENSLER et al., 2013).

Estudos pré-clínicos evidenciam os efeitos anti-inflamatórios dos ITCs em diversos modelos de inflamação. Em camundongos com colite induzida por dextrano sulfato de sódio (DSS), o PEITC reduziu significativamente a produção de IL-6 e TNF-α, além de preservar a integridade da mucosa intestinal (YIN et al., 2020). De forma semelhante, o SFN atenuou inflamações pulmonares e sistêmicas induzidas por lipopolissacarídeo (LPS) em modelos murinos (LIN et al., 2008).

A eficácia dos ITCs também está relacionada à sua estrutura química. A presença do grupo isotiocianato (-N=C=S) confere alta reatividade eletrofílica, permitindo a modificação de resíduos de cisteína em proteínas sensoras, como Keap1 (inibidor de Nrf2), de forma seletiva e reversível (ZHANG, 2004). Essa característica confere aos ITCs a capacidade de atuar como reguladores redox sem promover efeitos tóxicos significativos em concentrações fisiologicamente relevantes.

Assim, os ITCs representam uma classe promissora de compostos naturais com potencial anti-inflamatório, atuando por múltiplos mecanismos sinérgicos. Apesar das evidências experimentais robustas, são necessários estudos clínicos controlados que validem a eficácia e segurança desses compostos em humanos, especialmente considerando sua variabilidade de biodisponibilidade e metabolismo.

3.5.4 Anticolinesterase

Pesquisas recentes têm buscado novos compostos para tratar a doença de Alzheimer, com foco em melhorar a ação no cérebro e reduzir efeitos colaterais. Os ITCs naturais foram investigados como possíveis inibidores das enzimas colinesterases, que estão ligadas ao avanço da doença. Entre 11 compostos testados, o ITC de fenila e seus derivados se destacaram. O 2-metoxifenil isotiocianato apresentou a melhor inibição da enzima acetilcolinesterase, enquanto o 3-metoxifenil isotiocianato foi mais eficaz contra a butirilcolinesterase. Além disso, esses compostos mostraram boas atividades antioxidantes e forte ação anti-inflamatória, com destaque para a inibição de cerca de 99% da enzima COX-2, envolvida em processos inflamatórios. Esses resultados indicam um potencial promissor dos ITCs no desenvolvimento de novos tratamentos para o Alzheimer (BURČUL, *et al*, 2018).

Outro mecanismo relevante envolve a ativação da via do fator nuclear eritroide 2 relacionado ao fator 2 (Nrf2), que regula a expressão de genes antioxidantes e citoprotetores. A ativação de Nrf2 por ITCs, como o SFN e o fenetil isotiocianato (PEITC), induz a transcrição de enzimas como heme oxigenase-1 (HO-1), glutationa S-transferase (GST) e NAD(P)H:quinona oxidoredutase-1 (NQO1), promovendo um ambiente antioxidante que contribui para a resolução da inflamação (DINKOVA-KOSTOVA *et al*., 2002; ZHANG *et al*., 2016).

4 PRODUÇÃO CIENTÍFICA

CAPÍTULO 1

Artigo 1 – Allelopathic Effect of *Cynophalla flexuosa* Essential Oil on the Germination and Growth of *Calotropis procera*

Fázia Fernandes Galvão Rodrigues, Natália Kelly Gomes de Carvalho, Mariana Pereira da Silva, Maria Arlene Pessoa da Silva, Bruno Melo de Alcântara, José Galberto Martins da Costa

Revista: *Chemistry & Biodiversity*/ **link:** https:// onlinelibrary.wiley.com/ cbdv.202500152

Qualis: A4| **Situação:** Publicado (DOI: https://doi.org/10.1002/cbdv.202500152)

RESUMO

Este trabalho relata a avaliação de aleloquímicos presentes no óleo essencial de *Cynophalla flexuosa* sob a germinação e crescimento de *Calotropis procera*. A composição química foi determinada por Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas (CG/EM). O potencial alelopático do óleo efoi avaliado em *C. procera*. Os dados foram submetidos à análise de variância unidirecional, e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, 5% de probabilidade ($p < 0,05$). Os resultados obtidos na análise por CG/EM mostraram que os compostos majoritários foram isotiocianato de butila (42,60%) e isotiocianato de isobutila (42,28%). O índice de velocidade de germinação (IVG) apresentou resultados negativos para todos os tratamentos avaliados, com maior significância para as maiores concentrações. As diferentes concentrações do óleo causaram resultados negativos no crescimento médio da radícula e do caule de *C. procera*. Estudos adicionais sobre os compostos responsáveis pelas atividades observadas e novos testes para confirmar o uso de herbicidas naturais são essenciais para garantir sua utilização.

Chemistry & Biodiversity

WILEY-VCH

CHEMISTRY & BIODIVERSITY

RESEARCH ARTICLE

Allelopathic Effect of *Cynophalla flexuosa* Essential Oil on the Germination and Growth of *Calotropis procera*

Fázia Fernandes Galvão Rodrigues[1] | Natália Kelly Gomes de Carvalho[1] | Mariana Pereira da Silva[1] | Maria Arlene Pessoa da Silva[2] | Bruno Melo de Alcântara[2] | José Galberto Martins da Costa[1]

[1]Postgraduate Program in Chemical Biology, Department of Chemical Biology, Universidade Regional do Cariri, Crato, Ceará, Brazil | [2]Postgraduate Program in Biological Diversity and Natural Resources, Universidade Regional do Cariri, Crato, Ceará, Brazil

Correspondence: José Galberto Martins da Costa (galberto.martins@gmail.com)

Received: 13 January 2025 | **Revised:** 11 March 2025 | **Accepted:** 2 April 2025

Funding: This study was funded by Productivity and Research Program, Stimulus for Interiorization and Technological Innovation (BPI), Process: BP4-0172-00252.01.00/20, in addition, to support from the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), the Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP), and the Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia—Alimentos (INCT ALIM).

Keywords: Allelopathy | *Cynophalla flexuosa* | essential oil | isothiocyanates

ABSTRACT

This work reports the evaluation of allelochemicals present in the essential oil of *Cynophalla flexuosa* under the germination and growth of *Calotropis procera*. The chemical composition was determined by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC/MS). The allelopathic potential of the oil was evaluated in *C. procera*. The data were subjected to a one-way analysis of variance, and the means were compared by Tukey's test, 5% probability ($p < 0.05$). The results obtained in the GC/MS analysis showed that the major compounds were butyl isothiocyanate (42.60%) and isobutyl isothiocyanate (42.28%). The germination speed index (GSI) showed negative results for all treatments evaluated, with greater significance for higher concentrations. The different concentrations of the oil caused negative results in the average growth of the radicle and stem of *C. procera*. Additional studies on the compounds responsible for the observed activities and new tests to confirm the use of natural herbicides are essential to ensure their use.

1 | Introduction

Allelopathy is a biological phenomenon mediated by chemical compounds produced through the secondary metabolism of plants that influence the germination, growth, and development of other closely related plants of the same or different species [1]. This process can have significant implications for ecology and agriculture, as it can be used for natural weed control and to promote more sustainable agricultural practices. The study of native plant allelopathy can contribute to the appreciation of local biodiversity and the development of new agricultural practices adapted to the specific conditions of each region. In addition, the search for natural and environmentally friendly alternatives for weed control is a growing priority in modern agriculture, aiming to reduce dependence on synthetic herbicides that can cause negative environmental impacts [2, 3]. The *Cynophalla flexuosa* (L.) J. Presl. species popularly known as "feijão-bravo," is a plant native to arid and semi-arid regions of Latin America and the Caribbean. Preliminary studies indicate that its essential oils have diverse biological properties, including antimicrobial, antioxidant, and insecticidal activities. However, there is a knowledge gap regarding the allelopathic potential of these essential oils, especially concerning their ability to influence the germination and growth of other plants, including weeds such as *Calotropis procera* (Aiton) W.T. Aiton [4].

© 2025 Wiley-VHCA AG, Zurich, Switzerland

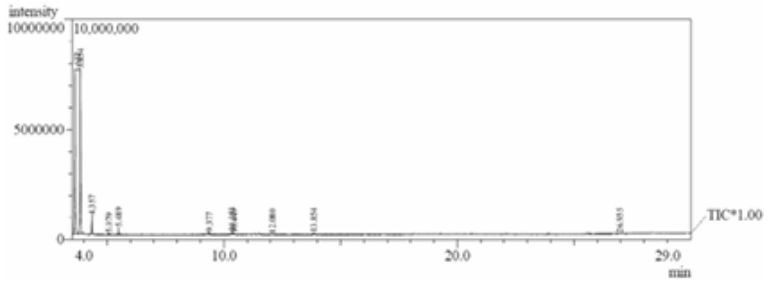


FIGURE 1 | GC/MS chromatogram of essential oil from *Cynophalla flexuosa* pods.

TABLE 1 | Chemical components of essential oil in pods of *Cynophalla flexuosa* obtained by hydrodistillation (GC/MS).

Compounds	(%)	Retention time (min)	RI	Molecular formula	Molecular mass (g/mol)
Isothiocyanates					
Butyl isothiocyanate	42.60	3.633	1.029	C_5H_9NS	115.20
Isobutyl isothiocyanate	42.28	3.855	1.056	C_5H_9NS	115.20
2-Methylbutyl isothiocyanate	1.02	5.081	1.160	$C_6H_{11}NS$	129.23
Pentyl isothiocyanate	1.90	5.488	1.189	$C_6H_{11}NS$	129.23
Alkane					
5-Butylnonane	0.44	7.388	1.290	$C_{13}H_{28}$	184.36
2,6,10-Trimethyltetradecane	1.60	9.309	1.447	$C_{17}H_{36}$	240.5
Dotriacontane	1.52	13.865	1.786	$C_{32}H_{66}$	450.9
Sesquiterpenes					
Trans-caryophyllene	1.53	10.362	1.553	$C_{15}H_{24}$	204.35
(−)-β-Elemene	1.28	9.386	1.456	$C_{15}H_{24}$	204.35

Abbreviation: RI, Kovats index calculation.

C. procera is an exotic species naturally found in Africa and Asia [5]. Considered a ruderal species, it occupies areas modified by human activity. Its rapid establishment makes it an invasive species, often dominant in abandoned and/or physically and chemically degraded areas. Widely distributed in Brazil, it occurs in natural ecosystems such as the Caatinga, Cerrado, and Restinga [6], as well as in artificial ecosystems, including cultivated areas. Research focused on its population control is of utmost importance.

First, the search for natural and environmentally friendly alternatives for weed control is a growing priority in modern agriculture, aiming to reduce dependence on synthetic herbicides that can cause negative environmental impacts. In addition, the study of the allelopathy of native plants can contribute to the valorization of local biodiversity and the development of new agricultural practices adapted to the specific conditions of each region [7]. By investigating the allelopathic properties of *C. flexuosa* essential oil, this research could provide valuable insights into potential new uses of this plant, both for crop management and for the conservation of natural ecosystems. This integrated approach could pave the way for the development of innovative and sustainable phytosanitary products aligned with current demands for environmental protection and public health. Considering the above aspects and the certainty that little is known about the allelopathic effects of *C. flexuosa* essential oil, the aim of this work was to evaluate the action of allelochemicals present in its essential oil on the germination and growth of *C. procera*.

2 | Results and Discussion

2.1 | Chemical Composition of *C. flexuosa* Essential Oil

GC/MS analyses allowed the identification of 94.17% of the chemical components of the *C. flexuosa* essential oil, consisting mainly of isothiocyanates (87.80%), also presenting minor alkanes (3.56%) and sesquiterpenes (2.81%) (Figure 1). Natural compounds of the isothiocyanate class appear to be good candidates as chemical markers of *Cynophalla* species. The essential oil components, their percentage composition, and retention indices (RIs) are listed in Table 1.

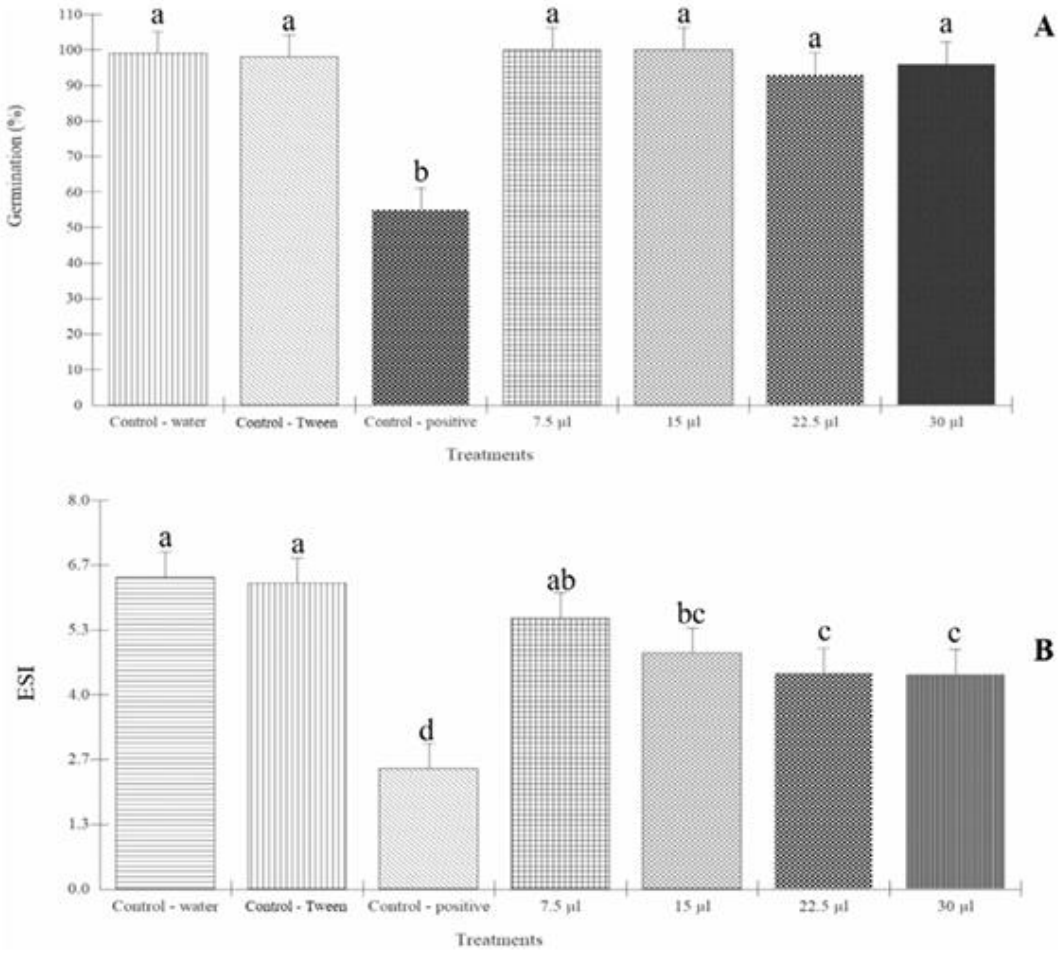


FIGURE 2 | Germination percentage (A) and germination speed index (B) in *Calotropis procera* seedlings subjected to different formulations of *Cynophalla flexuosa* essential oil. The values represent the mean ± standard error (SD) for 20 assay/group. Bars indicate the standard error. Values followed by different letters are significantly different according to one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's test ($p \leq 0.05$).

Isothiocyanates are volatile and biologically active compounds synthesized from the hydrolysis of glucosinolates, which play an important role in defense against insects/microorganisms. The volatility of isothiocyanates allows the use of this class of compounds in soil fumigation [8]. Among the major compounds observed for this class, we can mention the isomers (C_5H_9NS) butyl isothiocyanate and isobutyl isothiocyanate, with 42.60% and 42.28% of the total concentration identified, respectively, identified in this study.

2.2 | Allelopathic Potential of *C. flexuosa* Essential Oil

The germination percentage of *C. procera* seeds did not show a significant response in any of the concentrations of *C. flexuosa* essential oil (Figure 2A). On the other hand, the germination speed index (GSI) showed a negative result for all treatments evaluated, with greater significance for the last two concentrations (Figure 2B). The essential oil of the donor species showed a dose-dependent effect, with a greater negative response at higher concentrations.

The GSI showed a negative result for the treatments 15, 22.5, and 30 µL, with greater significance for the last two concentrations (Figure 2B) compared to the water and tween control groups. The essential oil from the donor species showed a dose-dependent effect, with a more significant negative response at higher concentrations. Meanwhile, the positive control showed a significant negative result compared to all the treatments.

Several studies have demonstrated the allelopathic and phytotoxic potential of volatile compounds, mainly essential oils [9,10]. Among the class of volatile compounds with studies on their allelopathic applications, we can mention isothiocyanates, a group derived from glucosianthus [11,12]. Typically, volatile

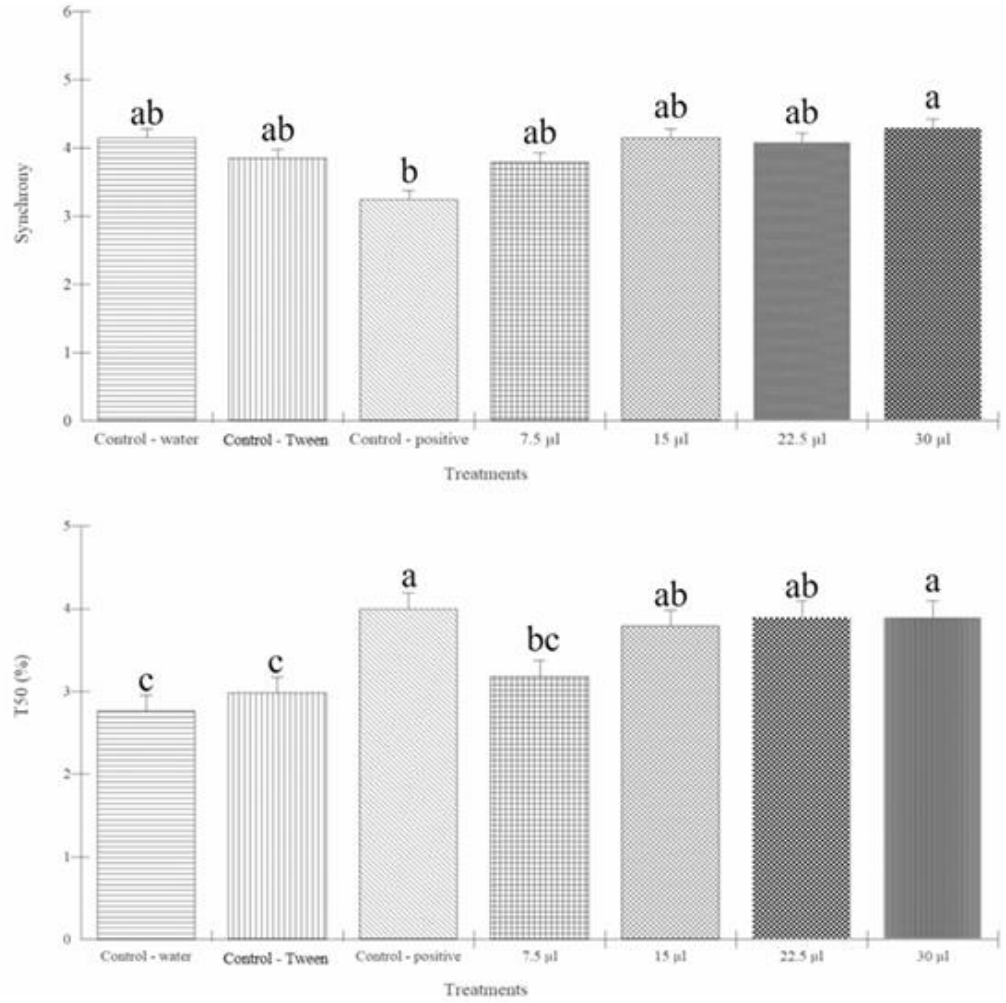


FIGURE 3 | Time for 50% of the seeds to germinate (T_{50}) (A) and synchrony (B) in *Calotropis procera* seedlings subjected to different concentrations of *Cynophalla flexuosa* essential oil. The values represent the mean ± standard error (SD) for 20 assay/group. Bars indicate the standard error. Values followed by different letters are significantly different according to one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's test ($p \leq 0.05$).

compounds act mainly in the control of herbivorous predators and against pathogens, but they may present strong indications of allelopathic potential, which is still little explored [10,13].

In research developed by Gheorghe et al. [14], the allelopathic effect of allyl isothiocyanate on *Raphanus sativus* L. seeds was evaluated, and no significant variation in germination was observed when compared to the control group. The germination percentage usually has a low effective response to the action of allelochemicals when compared to other germinability parameters [15]. Regarding GSI, the results presented in Figure 2B indicate that the allelochemicals present in the *C. flexuosa* essential oil negatively affected the embryonic processes in seed germination, which, according to Singh et al. [16], represents a disadvantage for the recipient species. The results obtained in this work for GSI suggest the possibility of using the essential oil of the donor species for biological control of *C. procera*, contributing to the management of this and other weeds.

Synchronization was greater in relation to the treatment with the essential oil of C. flexuosa at 30 µL, when compared to the positive control. No significant difference was observed between the four treatments and the water and tween controls. Regarding the germination time for 50% of the C. procera seeds, it was observed that there was no significant difference between the essential oil at the lowest concentration and the water and tween controls. However, a positive response was observed in all three last treatments in relation to the positive control, with a greater response in the last treatment, similar to what was observed for the GSI (Figure 3A). The delay associated with T_{50} (Figure 3B)

TABLE 2 | Phytotoxic potential of the essential oil of *Cynophalla flexuosa* on the average length of the radicle and hypocotyl of *Calotropis procera*.

Treatment	Radicle	Stem
	Medium length (cm)	
Control—water	2.648 ± 0.239^{a}	0.936 ± 0.125^{a}
Control—Tween	2.732 ± 0.151^{a}	0.932 ± 0.063^{a}
Control—positive	0.384 ± 0.064^{d}	0.348 ± 0.079^{cd}
7.5 μL	2.468 ± 0.251^{a}	0.736 ± 0.124^{ab}
15 μL	1.772 ± 0.277^{b}	0.540 ± 0.090^{bc}
22.5 μL	1.616 ± 0.229^{b}	0.492 ± 0.030^{c}
30 μL	0.980 ± 0.410^{c}	0.256 ± 0.152^{d}

Note: One-way analysis of variance (ANOVA). Means followed by different letters are statistically different according to Tukey's test, $p < 0.05$ (mean ± standard deviation) ($n = 20$ per group).

indicates that the allelochemicals present in the essential oil of the donor species are causing a delay in the germination of C. procera seeds. This evaluation helps in understanding the temporal effect of the compounds on the germination processes of the receptor species.

The parameters associated with germinability provide an overview of the effects associated with allelochemicals on the initial stages of growth of the recipient species, being common in studies of allelopathic and phytotoxic potential [17]. The delay or irregularity observed for GSI and T_{50} is detrimental to the recipient species, as the prolonged exposure of seeds in the field can increase their vulnerability to pests and diseases, reducing the likelihood of the species remaining in the location [18].

The treatments with the last three concentrations of C. flexuosa essential oil caused negative results in the average growth of the radicle and hypocotyl of C. procera, varying according to the concentrations (Table 2). The radicle showed a reduction in average length at the last three concentrations (15, 22.5, and 30 μL) compared to the water and Tween control groups, in contrast to what was observed for the positive control, with a greater negative interference in relation to it. The 30-μL treatment showed a significantly higher response (0.980 ± 0.410 cm) compared to the water control (2.648 ± 0.239 cm) and Tween control (2.732 ± 0.151 cm).

A similar result was found by Franco et al. [19] in their study on the essential oil of *Calycolpus goetheanus* (Myrtaceae) on *Mimosa pudica* L. and *Senna obtusifolia* (L.), where the authors attribute the observed allelopathic effects to factors other than the receptor species, such as the chemical profile of the essential oil. On the other hand, the positive control promoted a greater negative interference (0.384 ± 0.064), proving to be more effective in controlling the growth of the radicle of C. procera. Regarding the aerial part (hypocotyl), the last three treatments showed a significant response, with a dose-dependent result, meaning the significance increased with the concentration, with the greatest significance in the last treatment (30 μL). The treatment with the highest concentration of C. flexuosa essential oil showed a negative response similar to the positive control, demonstrating its effectiveness in containing the weed species. Overall, the highest concentration showed the greatest response (0.256 ± 0.152 cm) compared to the control groups, similar to the results observed for synchronization and T_{50}, demonstrating that the allelochemicals present in the essential oil are directly related to the observed effects (time and uniformity in seed germination and hypocotyl growth). Studies conducted with essential oils from various species have confirmed the allelopathic activity of these products on the growth of weed species, as evidenced by the works of Franco et al., Elshamy et al., and Ootani et al., among others [19–21].

In the study conducted by Gheorghe et al. [14], a negative result was also observed in the average length of R. sativus, subjected to compounds from the isothiocyanate class, the major group found in the essential oil of *C. flexuosa* (Table 1). Currently, there are no studies associated with the allelopathic potential of the major compounds observed in Table 1 (butyl isothiocyanate and isobutyl isothiocyanate); however, the antimicrobial, anticancer, and anti-inflammatory properties of the isothiocyanate class are widely documented [22–24]. There is a relationship between compounds or groups of allelochemicals with allelopathic effects and those with biological activity, considering that both studies investigate the effects of allelochemicals on living organisms. This confirms the pioneering nature of our work in presenting its allelochemical activities for controlling a weed species. The allelopathic activity of isothiocyanates [25,26] occurs through various biochemical and physiological mechanisms, such as cell membrane damage, inhibition of cellular respiration, and interference with enzymatic activity, among others, making them effective as bioherbicides.

The comparison of treatments with positive control, which uses a commercial herbicide, allows for confirming the bioactive potential of the species under study. Depending on the parameter and concentration, its action can be similar to or even superior to that of synthetic herbicides applied to weeds. In the study by Motmainna et al. [27], the allelopathic potential of Parthenium hysterophorus L. was evaluated on the weed plant Cyperus iria L., with a comparison of the effects between the metabolites of the donor species and the synthetic herbicide glyphosate, with similar results observed between both. In contrast, Imatomi et al. [28] found better results for species of the Myrtaceae family compared to the herbicide oxyfluorfen in controlling Echinochloa crus-galli (L.) Beauv., Euphorbia heterophylla L., and Ipomoea grandifolia L. These results indicate that the application of allelochemicals as natural herbicides is as effective as synthetic herbicides, with the advantage of not harming the environment or human health.

3 | Conclusions

This study is pioneering in reporting, for the first time, the presence of butyl isothiocyanate (42.60%) and Isobutyl isothiocyanate (42.28%) in the chemical composition of *C. flexuosa* essential oil, as well as its allelopathic activity. The results demonstrate that this essential oil has a strong inhibitory effect on the GSI and seedling growth of the weed *C. procera*, reinforcing its potential as a natural bioherbicide.

Given these promising findings, future studies should be conducted to isolate and/or synthesize these compounds and evaluate their individual efficacy. In addition, field trials and ecological safety assessments are essential to confirm the feasibility of using these compounds in the sustainable management of weeds, expanding the possibilities for the development of natural bioherbicides.

4 | Experimental Section

4.1 | Collection of Botanical Material

The collection of botanical material (flower and/or fruit) for identification of the species *C. flexuosa* (L.) J. Pres (7°14′95″° S and 39°29′73″° W) and *C. procera* (Aiton) W.T.Aiton (7°14′20.6″° S and 39°24′54″° W) were carried out in the municipalities of Crato and Farias Brito, respectively, both in the state of Ceará, Brazil, in October 2024. For botanical identification, both species were herborized according to usual techniques and subsequently identified by comparison with previously identified material, by Dr. Maria Arlene Pessoa Silva, and deposited in the collection of the Herbarium Caririense Dárdano de Andrade-Lima—HCDAL, of the Regional University of Cariri—URCA, under number #12620 and #15993, respectively.

4.2 | Essential Oil Extraction

The essential oil was obtained by hydrodistillation in a Clevenger apparatus. Samples of fresh pods (500 g) were crushed and subjected to distillation for 2 h. The essential oil obtained was dried with Na_2SO_4, offering a yield of 0.14% (w/w). The use of fresh pods is due to the higher concentration of active compounds compared to dried or degraded pods. These compounds are responsible for allelopathic activity, potentially inhibiting the germination and growth of weeds.

4.3 | GC/MS Analysis

Qualitative GC/MS analysis was carried out using a Shimadzu GC–MS QP2010 series, provided by Shimadzu Scientific Instruments Inc. (Columbia, MD, USA), with fused silica capillary column SH-Rtx-5 (30 m × 0.25 mm I.D.; 0.25-m film thickness) and the following temperature program: 80°C–180°C at 4°C/min, then to 246°C at 6.6°C/min, closing with 10 min at 280°C, at 3.4°C/min, totaling analysis time of 30 min. Helium was used as the carrier gas, with a flow rate of 1.5 mL/min, split mode (1:100), and the injection port was set at 220°C. The quadrupole MS operating parameters: interface temperature (280°C) and ion source (200°C); electron impact ionization at 70 eV; scan mass range of 40–350 m/z with a sampling rate of 1.0 scan/s. Injection volume: 1 µL of 5.000 ppm solution prepared with dichloromethane. The constituents were identified by computational search using digital libraries of mass spectral data (NIST 08) and by comparing their authentic mass spectra and reported in the literature [28].

The linear RI was obtained by injecting a mixture of C8–C40 linear hydrocarbons under the same conditions as the samples, as described by Van Den Dool and Kratz (1963) [29]. The identity of the compounds was confirmed by comparing their RIs and mass spectra with those taken from the literature [28].

4.4 | Allelopathic Assays

The allelopathic potential of the essential oil of *C. flexuosa* (donor species) was evaluated on *C. procera* (recipient species). The seeds of the recipient species were disinfected with a 5% sodium hypochlorite solution for 5 min and subsequently washed in running water for the same period of time [30]. The germination bioassays were set up in quintuplicate with 20 seeds per replicate in a randomized design.

The bioassays were conducted according to the protocol by El-Gawad [31], where the essential oil was emulsified with Tween 80 (Sigma-Aldrich, Germany), in a 1:1 (v/v) ratio and dissolved in distilled water to obtain the bioassay concentrations (7.5, 15, 22.5, and 30 µL/mL).

Three control groups were used for the experiment: one composed of the Tween solution and distilled water (1:1, v/v); the second, containing only distilled water; and the third, positive control with the commercial herbicide Glyphosate, at a concentration of 7.5 µL/mL. Subsequently, 5 mL aliquots for each concentration and control group were placed in previously sterilized glass Petri dishes with two layers of germiest paper as substrate and distributed over the seeds of the recipient species. The seeds were considered germinated when they reached 2 mm of root protrusion. The substrate was kept moist with the addition of distilled water whenever necessary. The experiment was installed in a biochemical oxygen demand (BOD) climate chamber with a constant temperature of 25°C and a 12 h photoperiod (light/dark). The number of germinated seeds was observed daily for 7 days. At the end of the experiment, germination and growth parameters were evaluated. For germinability, the following were evaluated: Germination rate (%), GSI, synchrony, and average time for germination of 50% of the seeds (T_{50}). For growth, the average length of the stem and radicle was evaluated in a randomized design, with five seedlings selected per replicate for each treatment and control group.

The measurements of the structures were performed using a digital caliper. To calculate the germination percentage of the receptor species' seeds, the following formula was used: $G = (N/A) \times 100$, where G is the germinability, N is the number of germinated seeds, A is the total number of seeds placed for germination (Labouriau 1983) [32].

The GSI was calculated according to Maguire [33] using the formula:

$$\mathrm{GSI} = E_1/N_1 + E_2/N_2 + \cdots + E_n/N_n$$

where E_1, E_2, E_n is the number of seedlings recorded in the first, second, and last count; N_1, N_2, N_n is the number of days after sowing for the first, second, and last counts. Synchronization was obtained using the formula described by Ranal and Santana [34].

$$E = -\sum f_i \log_2 F_i$$

where f_i is the relative germination frequency and $\log_2$ is the logarithm base 2.

To determine the time required to reach 50% germination (T_{50}), the formula proposed by Coolbear et al. [35] was used:

$$T_{50} = t_i + (N/2 - n_i) \times (t_j - t_i) / (n_j - n_i)$$

where N is the final number of germinated seeds, n_j and n_i is the accumulated number of germinated seeds at time counts (t_j and t_i), respectively, where $n_i < N/2 < n_j$.

4.5 | Statistical Analysis

One-way analysis of variance (ANOVA) was used for statistical analysis and means were compared using Tukey's test, 5% probability ($p < 0.05$). Data were subjected to normality tests (D'Agostino and Pearson, Shapiro–Wilk, and KS test). Data that did not meet normality tests were subjected to the Kruskal–Wallis test. Statistical analyses were performed using Assistat software version 7.7 and BioEstat version 5.0.

Author Contributions

Fázia Fernandes Galvão Rodrigues: research, writing, formatting, chemical and biological assays, collection of botanical material and essential oil extraction, formal analysis, writing – review and editing. **Natália Kelly Gomes de Carvalho**: chemical analysis of essential oil. **Mariana Pereira da Silva**: collection of botanical material and essential oil extraction, writing, formatting and revision. **Bruno Melo de Alcântara**: allelopathic assays and statistical analysis, writing, formatting and revision. **José Galberto Martins da Costa**: formal analysis, writing – review and editing, idea conception, and revision. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Acknowledgments

This work was conducted with the support of the Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico (FUNCAP), financial assistance granted under the Productivity and Research Program, Stimulus for Interiorization and Technological Innovation (BPI), Process: BP4-0172-00252.01.00/20, in addition to support from the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), the Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP), and the Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia—Alimentos (INCT ALIM).

Conflicts of Interest

The authors declare no conflicts of interest.

Data Availability Statement

The data that support the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

References

1. Z. Shan, S. Zhou, A. Shah, Y. Arafat, S. Arif Hussain Rizvi, and H. Shao, "Plant Allelopathy in Response to Biotic and Abiotic Factors," *Agronomy* 13 (2023): 2358, https://doi.org/10.3390/agronomy13092358.

2. M. Mehdizadeh and W. Mushtaq, "Biological Control of Weeds by Allelopathic Compounds From Different Plants: A BioHerbicide Approach," in *Natural Remedies for Pest, Disease and Weed Control*, ed. C. Egbuna and B. Sawicka (Elsevier, 2020), 107–117, https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819304-4.00009-9.

3. M. Hasan, M. S. Ahmad-Hamdani, A. M. Rosli, and H. Hamdan, "Bioherbicides: An Eco-Friendly Tool for Sustainable Weed Management," *Plants* 10 (2021): 1212–1232, https://doi.org/10.3390/plants10061212.

4. E. M. Souza, P. Ebss, and I. S. Miranda, "CAPPARACEAE (Feijão-bravo)," in: *(Organizadora). E-book: Plantas da Caatinga: Um Olhar multidisciplinar*, ed. E. M. Souza (IFSertãoPE, 2021), 94–98.

5. D. Brandes, *Calotropis procera on Fuerteventura Germany* (Technical University Braunschweig, 2005), https://www.zobodat.at/pdf/BrandesDietmar_47_2005_0001-0007.pdf.

6. J. R. Fabricante, M. N. A. de Oliveira, and J. A.de Siqueira Filho, "Aspectos da Ecologia de Calotropis procera (Apocynaceae) em Uma área de Caatinga Alterada pelas Obras do Projeto de Integração do Rio São Francisco em Mauriti, CE," *Rodriguésia* 64 (2013): 647–654, https://doi.org/10.1590/S2175-78602013000300015.

7. M. P. Silva, F. B. Dutra, G. O. B. Santos, et al., "A Brief Theoretical Approach on Allelopathic Potential in Plant Communities," *Research, Society and Development* 11 (2022): e20511426021, https://doi.org/10.33448/rsd-v11i4.26021.

8. N. A. Lopez-Rodriguez, M. Gaytán-Martínez, M. de la Luz Reyes-Vega, and G. Loarca-Piña, "Glucosinolates and Isothiocyanates From *Moringa oleifera*: Chemical and Biological Approaches," *Plant Foods for Human Nutrition* 75 (2020): 447–457, https://doi.org/10.1007/s11130-020-00851-x.

9. J. Kim and G. W. Felton, "Priming of Antiherbivore Defensive Responses in Plants," *Insect Science* 20 (2013): 273–285, https://doi.org/10.1111/j.1744-7917.2012.01584.x.

10. V. D. Zheljazkov, E. A. Jeliazkova, and T. Astatkie, "Allelopathic Effects of Essential Oils on Seed Germination of Barley and Wheat," *Plants* 10 (2021): 2728, https://doi.org/10.3390/plants10122728.

11. M. J. Morra and J. A. Kirkegaard, "Isothiocyanate Release From Soil-Incorporated *Brassica* Tissues," *Soil Biology Biochemistry* 34 (2002): 1683–1690, https://doi.org/10.1016/S0038-0717(02)00153-0.

12. J. K. Norsworthy and J. T. Meehan, "Use of Isothiocyanates for Suppression of Palmer Amaranth (*Amaranthus palmeri*), Pitted Morningglory (*Ipomoea lacunosa*), and Yellow Nutsedge (*Cyperus esculentus*)," *Weed Science* 53 (2005): 884–890, https://doi.org/10.1614/WS-05-056R.1.

13. S. L. Al-Rowaily, A. M. Abd-ElGawad, A. M. Assaeed, et al., "Essential Oil of *Calotropis procera*: Comparative Chemical Profiles, Antimicrobial Activity, and Allelopathic Potential on Weeds," *Molecules* 25 (2020): 5203, https://doi.org/10.3390/molecules25215203.

14. B. Gheorghe, S. Andrada, and S. Monica, "Allelopathic Effects of Allyl Isothiocyanate on Seeds Germination Ability and Seedling Growth of *Raphanus sativus* L.," *Annals of the University of Oradea: Environmental Protection Fascicle* 24 (2017): 89–93, https://www.cabidigitallibrary.org/doi/pdf/10.5555/20183382253.

15. A. G. Ferreira and M. E. A. Aquila, "Alellopathy, An Emerging Topic in Ecophysiology," *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* 12 (2000): 175–204, https://www.esalq.usp.br/LPV/sites/default/files/4%20-%20Referencia%2011%20%20Alelopatia%20na%20agricultura.pdf.

16. H. P. Singh, D. R. Batish, and R. K. Kohli, "Allelopathy in Agroecosystems," *Journal of Crop Production* 4 (2014): 1–41, https://doi.org/10.1201/9781003578253.

17. M. Reigosa, A. S. Gomes, A. G. Ferreira, and F. Borghetti, "Allelopathic Research in Brazil," *Acta Botânica Brasilica* 27 (2013): 629–646, https://doi.org/10.1590/S0102-33062013000400001.

18. S. R. Alencar, M. A. P. Silva, M. S. Macêdo, D. A. Ribeiro, M. A. F. Santos, and N. C. Costa, "Phytotoxic Effect of *Mangifera indica* L. (Anacardiaceae) at Diffekrent Times of Collection," *Iheringia* 71 (2016): 175–183, https://isb.emnuvens.com.br/iheringia/article/view/534/298.

19. C. D. J. P. Franco, O. O. Ferreira, J. N. Cruz, et al., "Phytochemical Profile and Herbicidal (Phytotoxic), Antioxidants Potential of Essential Oils

From *Calycolpus goetheanus* (Myrtaceae) Specimens, and In Silico Study," *Molecules* 27 (2022): 4678, https://doi.org/10.3390/molecules27154678.

20. A. I. Elshamy, A. M. Abd-Elgawad, Y. A. El-Amier, A. E.-N. G. El Gendy, and S. L. Al-Rowaily, "Interspecific Variation, Antioxidant and Allelopathic Activity of the Essential Oil From Three *Launaea* Species Growing Naturally in Heterogeneous Habitats in Egypt," *Flavour and Fragrance Journal* 34 (2019): 316–328, https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.04.018.

21. M. A. Ootani, M. R. dos Reis, A. S. R. Cangussu, et al., "Phytotoxic Effects of Essential Oils in Controlling Weed Species *Digitaria horizontalis* and *Cenchrus echinatus*," *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 12 (2017): 59–65, https://doi.org/10.1016/j.bcab.2017.08.016.

22. C. Dias, A. Aires, and M. J. Saavedra, "Antimicrobial Activity of Isothiocyanates From Cruciferous Plants Against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)," *International Journal of Molecular Sciences* 15 (2014): 19552–19561, https://doi.org/10.3390/ijms151119552.

23. L. Romeo, R. Iori, P. Rollin, P. Bramanti, and E. Mazzon, "Isothiocyanates: An Overview of Their Antimicrobial Activity Against Human Infections," *Molecules* 23 (2018): 624, https://doi.org/10.3390/molecules23030624.

24. J. Yang, T. A. Hediyal, S. B. Chidambaram, R. Kaul-Ghanekar, and M. K. Sakharkar, "Benzyl Isothiocyanate as an Alternative to Antibiotics? A Comparative *In Vivo* Study Using *Pseudomonas aeruginosa* Infection as a Model," *PLoS One* 19 (2024): 3490–3498, doi.org/10.1371/journal.pone.0303490.

25. J. K. Norsworthy, M. S. Malik, P. Jha, and M. J. Oliveira, "Effects of Isothiocyanates on Purple (*Cyperus rotundus* L.) and Yellow Nutsedge (*Cyperus esculentus* L.)," *Weed Biology and Management* 6 (2006): 131–138, https://doi.org/10.1111/j.1445-6664.2006.00208.x.

26. A. M. Abd-ElGawad, A. M. Assaeed, A. E.-N. G. El Gendy, B. A. Dar, and A. I. Elshamy, "Volatile Oils Discrepancy Between Male and Female *Ochradenus arabicus* and Their Allelopathic Activity on *Dactyloctenium aegyptium*," *Plants* 12 (2023): 110, https://doi.org/10.3390/plants12010110.

27. M. Motmainna, A. S. Juraimi, M. K. Uddin, et al., "Phytochemical Constituents and Allelopathic Potential of *Parthenium hysterophorus* L. in Comparison to Commercial Herbicides to Control Weeds," *Plants* 10 (2021): 1445, https://doi.org/10.3390/plants10071445.

28. M. Imatomi, P. Novaes, M. A. F. Machado Miranda, and S. C. J. Gualtieri, "Phytotoxic Effects of Aqueous Leaf Extracts of Four *Myrtaceae* Species on Three Weeds," *Acta Scientiarum Agronomy* 37 (2015): 241–248, https://doi.org/10.4025/actasciagron.v37i2.19079.

29. H. Vandendool and P. D. Kratz, "A Generalization of The Retention Index System Including Linear Temperature Programmed Gas—Liquid Partition Chromatography," *Journal of Chromatography* 11 (1963): 463–471, https://doi.org/10.1016/s0021-9673(01)80947-x.71.

30. R. P. Adams, *Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatographya/Mass Spectrometry* 5th ed. (Allured Pub. Corp. Carol Stream, 2017).

31. El-Gawad, A. M. A., "Chemical Constituents, Antioxidant and Potential Allelopathic Effect of the Essential oil from the Aerial Parts of Cullen Plicata," *Industrial Crops and Products* 80 (2016): 36–41, https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.10.054.

32. L. G Labouriau, "Some Effects of Deuterium Oxide on the Isothermal Germination of Tomato Seeds," *Boletin de la Sociedad Venezolana de Ciencies Naturales* 38 (1983): 153–166.

33. J. D. Maguire, "Speed of Germination—Aid in Selection and Evaluation for Seedling Emergence and Vigor 1," *Crop Science* 2 (1962): 176–177, https://doi.org/10.2135/cropsci1962.0011183X000200020033x.

34. Ranal, M. A. and Santana, D. G. "How and Why to Measure the Germination Process?," *Revista Brasileira De Botanica* 29 (2006): 1–11, https://doi.org/10.1590/S0100-84042006000100002.

35. Coolbear, P., A. Francis, and D. Grierson. "The Effect of Low Temperature pre-sowing Treatment on the Germination Performance and Membrane integrity of Artificially Aged Tomato Seeds," *Journal of Experimental Botany* 35 (1984): 1609–1617, https://doi.org/10.1093/jxb/35.11.1609.

CAPÍTULO 2

Manuscrito 1 – Análise por GC-MS/FID e avaliação da atividade antibacteriana e moduladora do óleo essencial de *Cynophalla flexuosa* frente *Escherichia coli.*

Fázia Fernandes Galvão Rodrigues, Natalia Kelly Gomes de Carvalho,
Debóra Odilia Duarte Leite, Ana Cecília Calixto Donelardy, Cicera Alane Coelho Gonçalves, Geane Gabriele Oliveira Souza, José Walber Gonçalves Castro, Rafael Pereira da Cruz, Fabíola Fernandes Galvão Rodrigues e José Galberto Martins da Costa*

Situação: Em submissão

Composição química GC-MS-FID e atividade antibacteriana do óleo essencial das sementes de *Cynophalla flexuosa* (L.) J. Presl. contra diferentes cepas de *Escherichia coli.*

Resumo: O uso excessivo de antibióticos nas últimas décadas levou ao aumento significativo da resistência microbiana. Diante desse desafio, a busca por substâncias terapêuticas naturais, como óleos essenciais, se tornou uma alternativa para combater microrganismos resistentes como *Escherichia coli*. Nesse contexto, a espécie *Cynophalla flexuosa* conhecida como feijão-bravo, surge como uma opção frente a sua ação antimicrobiana por apresentarem os isotiocianatos na sua composição. Em vista disso, esse trabalho teve como objetivo avaliar a composição química e os efeitos do óleo essencial de *C. flexuosa* contra as cepas padrão e multiresistente de *E. coli* em associação com antibióticos. A identificação química foi determinada por Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas (CG/EM) e confirmados por CG/FID. A avaliação da atividade antibacteriana foi realizada por meio do método de microdiluição em caldo, visando à determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM). Adicionalmente, foi investigado o efeito modulador do óleo essencial sobre a ação de antibióticos das classes dos aminoglicosídeos (gentamicina e amicacina) e dos β-lactâmicos (benzilpenicilina e cefalosporina). A análise da composição química permitiu a identificação predominante de isotiocianatos (87,80%), com destaque para o isotiocianato de butila (42,60%) e o isotiocianato de isobutila (42,28%). O óleo essencial apresentou efeito modulador seletivo, potencializando principalmente a ação dos aminoglicosídeos e das cefalosporinas. Os resultados indicam o potencial do óleo essencial de *C. flexuosa* como candidato a agente adjuvante antibacteriano, especialmente em associação com antibióticos.

Palavras-chave: Atividade antibacteriana; *Cynophalla flexuosa*; Óleo essencial; Isotiocianatos; modulação de antibióticos, resistência antimicrobiana.

1. Introdução

A resistência microbiana tornou-se desafio nas últimas décadas, impulsionada pelo uso excessivo de antibióticos que selecionou microrganismos resistentes. Diante desse cenário, pesquisas têm se direcionado para identificar produtos naturais, como óleos essenciais, com potencial terapêutico contra microrganismos resistentes (da Cruz, 2022).

Os antimicrobianos convencionais atuam sobre um conjunto limitado de funções celulares cruciais, como replicação de DNA/RNA, síntese de parede celular e produção de proteínas. No entanto, a crescente resistência bacteriana exige uma abordagem inovadora sendo imprescindível explorar alvos mais específicos e eficazes para o desenvolvimento de novos antimicrobianos, substituindo os inibidores globais de processo que perderam eficácia (Krause *et al*., 2021).

Escherichia coli é uma bactéria Gram-negativa e especificamente, demonstra resistência a múltiplos fármacos antimicrobianos, o que torna o tratamento de infecções graves como diarreia, disenteria, gastroenterite, infecção do trato urinário e meningite um desafio constante. As infecções por essa bactéria representam um risco significativo a saúde pública, tornando imprescindível o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas como os óleos essenciais (de Oliveira *et al*., 2021).

Além disso, existem vários sorotipos de *E. coli* patogênica, classificados com base em sua patogenicidade, virulência e potencial de danos. É fundamental adotar medidas preventivas e tratamentos eficazes para controlar a disseminação dessa bactéria (Costa *et al.*, 2023). Somado a esses fatores o crescente aumento da resistência bacteriana de *E. coli* na última década, implica na busca por abordagens terapêuticas de melhor custo-benefício, que apresentem atividade inibitória desse microrganismo, assim como níveis de toxicidade seguros.

Os óleos essenciais são misturas quimicamente complexas e voláteis, produzidos por plantas aromáticas, sendo responsáveis por propriedades farmacológicas, associadas com mecanismos de defesa contra estresses ambientais e fisiológicos, favorecendo a proteção das plantas e oferecendo benefícios terapêuticos para a saúde humana (Alba; Tessaro; Sobottka, 2024).

Biosinteticamente os óleos essenciais são formados por várias classes químicas, com predominância de monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanoides, embora muito raramente outras classes de metabólitos secundários possam ocorrer, como o caso dos isotiocianatos, que se destacam por várias atividades biológicas, tais como antioxidantes, anti-inflamatórias, antimicrobianas e anticancerígenas, contribuindo para os benefícios da saúde, incluindo redução do risco de câncer, proteção cardiovascular e melhoria da função cognitiva (Rutz *et al.*, 2022).

De forma abundante os isotiocianatos (ITCs), são encontrados em plantas da família Brassicaceae (Pereira, *et al*., 2024), geralmente em vegetais crucíferos, como brócolis, agrião, rúcula e mostarda. Esses compostos são derivados da hidrólise enzimática de glucosinolatos contendo enxofre, um processo catalisado pela enzima mirosinase. Durante essa reação, os glucosinolatos são convertidos em isotiocianatos, que incluem compostos como sulforafano, glucorafanina, isotiocianato de fenetila e isotiocianato de benzila (dos Santos *et al.*, 2022).

Cynophalla flexuosa L. (Capparaceae), popularmente conhecida como "feijão-bravo" e "feijão-de-boi" é uma espécie nativa do Brasil, com ocorrência em áreas da região semi-árida e Caatinga. Trata-se de uma planta resistente a temperaturas elevadas, e tolerante a salinidade, sendo utilizada na regeneração e restauração de solos salinizados. *C.flexuosa* também fornece madeira para estacas, usada como planta forrageira e na medicina popular, tem aplicações como analgésico, vermífugo, entre outros (Maia *et al*., 2012; Sousa *et al*., 2021).

O presente estudo teve como objetivo avaliar a composição química e os efeitos frente a cepas de *Escherichia coli* em combinação com antibióticos aminoglicosídeos e betalactâmicos.

2. Metodologia

2.1 Material vegetal

As sementes da *Cynophalla flexuosa* L., foram coletadas no distrito de Betânia, no Município de Farias Brito, Ceará, Brasil, em abril de 2024. O material vegetal foi depositado Herbário Dárdamo de Andrade Lima da Universidade Regional do Cariri - URCA, sob registro 17.044.

2.1.1 Obtenção o óleo essencial

O óleo essencial das sementes da *Cynophalla flexuosa* L. (OECF) (500 g) foi obtido em aparelho tipo Clevenger durante 2h. Em seguida, o óleo foi coletado e tratado com sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4), com rendimento de 0,14 % (m/m), armazenado sob refrigeração a 4 °C, até análise química e realização de testes antibacterianos.

2.2 Composição Química

2.2.1. Análise por CG/EM

A análise qualitativa por GC-MS foi realizada utilizando um Shimadzu GC–MS série QP2010, fornecido pela Shimadzu Scientific Instruments Inc. (Columbia, MD, EUA), com coluna capilar de sílica fundida SH-Rtx-5 (30 m × 0,25 mm D.I.; 0,25 μm de espessura do filme) e o seguinte programa de temperatura: 80–180 ºC a 4 ºC/min, depois até 246 ºC a 6,6 ºC/min, finalizando com 10 min a 280 ºC, a 3,4 ºC/min, totalizando um tempo de análise de 30 min. Hélio foi utilizado como gás de arraste, com fluxo de 1,5 mL/min, modo split (1:100), e o injetor foi ajustado para 220 ºC. Os parâmetros de operação do quadrupolo MS: temperatura da interface (280 ºC) e da fonte de íons (200 ºC); ionização por impacto eletrônico a 70 eV; faixa de varredura de massa de 40–350 m/z com taxa de amostragem de 1,0 varredura/s. Volume de injeção: 1 μL de solução a 5.000 ppm preparada com diclorometano. Os constituintes foram identificados por busca computacional utilizando bibliotecas digitais de dados espectrais de massa (NIST 08) e pela comparação com espectros autênticos relatados na literatura (Adams, 2017).

2.2.2 Análise por GC-FID

O OECF foi analisado utilizando um Shimadzu GC-2010 Plus equipado com detector de ionização por chama (FID), fornecido pela Shimadzu Scientific Instruments Inc. (Columbia, MD, EUA), com coluna capilar de sílica fundida SH-Rtx-5 (30 m × 0,25 mm D.I.; 0,25 μm de espessura do filme) e o seguinte programa de temperatura: 80–180 ºC a 4 ºC/min, depois até 246 ºC a 6,6 ºC/min, finalizando com 10 min a 280 ºC, a 3,4 ºC/min, totalizando um tempo de análise de 30 min. Hélio foi utilizado como gás de arraste, com fluxo de 1,5 mL/min, modo split (1:15), e o injetor foi ajustado para 220 ºC. Volume de injeção: 1 μL de solução a 5.000 ppm preparada com diclorometano. A temperatura do detector foi ajustada para 300 °C. O índice de retenção linear foi obtido injetando uma mistura de hidrocarbonetos lineares C8–C40 sob as mesmas condições das amostras, conforme descrito por Van Den Dool e Kratz (1963). A identidade dos compostos foi confirmada comparando seus índices de retenção e espectros de massa com aqueles descritos na literatura (Adams, 2017).

2.3 Atividade antibacteriana

2.3.1 Avaliação antibacteriana e concentração inibitória mínima (CIM)

Foram utilizadas cepas padrão *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Escherichia coli* (ATCC 25226) e multirresistente *Escherichia coli* (06). Na avaliação da atividade antibacteriana foi preparada uma solução mãe contendo 10 mg do óleo essencial em 1 mL de DMSO (Dimetilsulfóxido) e 9 mL de água destilada.

As linhagens bacterianas foram ativadas em meio BHI 3,8 % e incubadas por 24 h. Em seguida, foi padronizada uma suspensão com concentração de 10^8 UFC/mL (turbidez de 0,5 da escala de McFarland). A suspensão bacteriana foi diluída em caldo BHI a 10 % e adicionada em poços de placa de microdiluição. Foram realizadas diluições seriadas do OECF variando de 512 a 0,5 µg/mL e placas incubadas a 37°C por 24 h. Os experimentos foram realizados em triplicata (CLSI, 2012).

A leitura foi realizada pelo método colorimétrico, com a adição de 25 µL de resazurina sódica (0,01 %) após incubação. O último poço da placa de microdiluição serviu como controle positivo, contendo apenas o inóculo bacteriano. A Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi determinada como a menor concentração do OECF de inibir o crescimento bacteriano (CLSI, 2012).

2.3.2 Avaliação da atividade modificadora

O potencial modificador de antibióticos ocorreu na presença e ausência do OECF por meio de microdiluição, em triplicata, utilizando a CIM, frente aos antibióticos das classes dos aminoglicosídeos (gentamicina e amicacina) e dos β-lactâmicos (bezilpenicilina e cefalosporina).

A quantidade do OECF utilizada foi calculada pelo resultado da concentração subinibitória (CIM/8). Os inóculos bacterianos em BHI a 10 % associados ao OECF foram distribuídos nas microplacas seguido da microdiluição de 100 µL das soluções de antibióticos (1024 µg/mL). As diluições seriadas dos antibióticos variaram de 512 a 0,5 µg/mL. A monitoração do teste ocorreu com controle de inibição apresentando apenas os antibióticos e as cepas testadas. As placas microdiluidas foram incubadas a 37 º C por 24 h, e a leitura realizada pelo método colorimétrico com auxílio da resazurina sódica (0,01 %) (Coutinho *et al*., 2008).

2.4 Análise estatística

Os resultados dos ensaios foram feitos em triplicata e expressos como a média geométrica. A análise estatística foi aplicada à análise de variância de duas vias seguida pelo teste de Bonferroni utilizando o software GraphPad Prism 6.0.

3. Resultados e discussão

3.1 Composição química

Os compostos identificados no OECF por GC/MS e confirmados por GC/FID (Figura 1 e 2), representaram 94,17 % da composição química (Tabela 1), com 87,80 % pertencem a classe dos ITCs, com destaque os majoritários isoméricos Isotiocianato de butila (42.60 %) e Isotiocianato de isobutila (42.28 %), que representam 84,88 % dos componentes identificados como mostra a Figura 3.

Figura 1. Cromatograma GC/MS do óleo essencial das sementes de *C. flexuosa*.

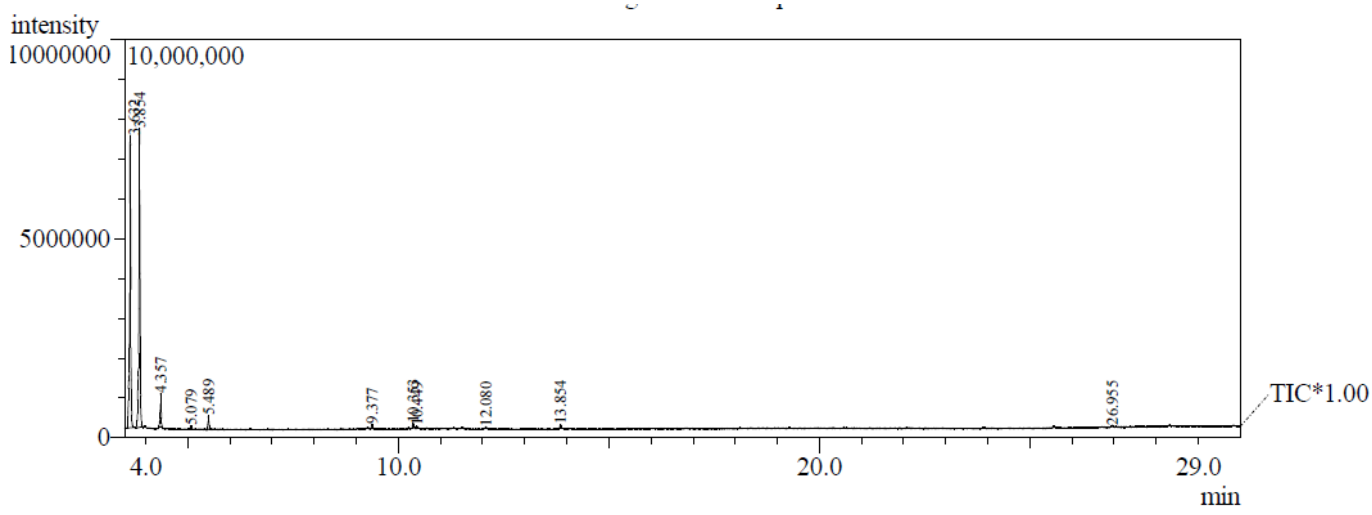


Figura 2. Cromatograma GC/FID do óleo essencial das sementes de *C. flexuosa*.

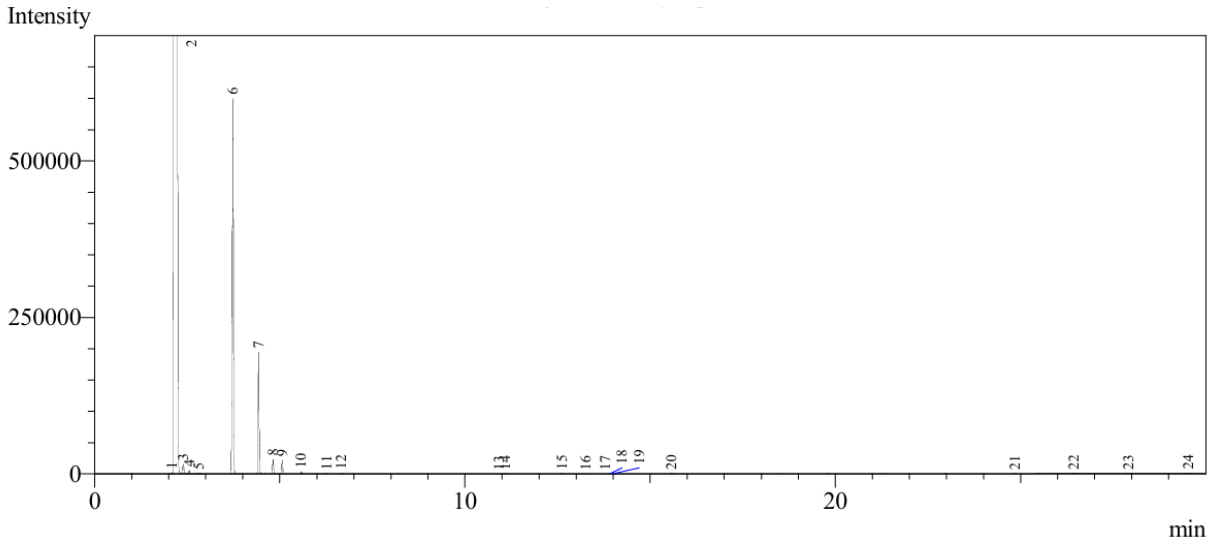


Figura 3. Isotiocianato de butila (1); Isotiocianato de isobutila (2)

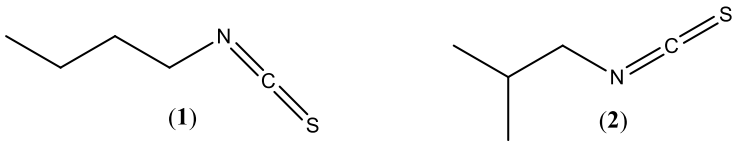


Tabela 1. Componentes químicos do óleo essencial das sementes de *Cynophalla flexuosa*.

	Compostos	**%**	**TR**[1]	**IR**[1]
1	Isotiocianato de butila	42.60	3.633	1.029
2	Isotiocianato de isobutila	42.28	3.855	1.056
3	Isotiocianato de 2-metilbutila	1.02	5.081	1.160
4	Isotiocianato de pentila	1.90	5.488	1.189
5	5-butilonano	0.44	7.388	1.290
6	2,6,10- trimetiltetradecano	1.60	9.309	1.447
7	(-)-β-elemene	1.28	9.386	1.456
8	*trans*-cariofileno	1.53	10.362	1.553
9	Dotriacontano	1.52	13.865	1.786

TR[1:] Tempo de retenção (min), IR[2]: Kovats experimental relative retention indices: n-alkanes (C8-C40). Foram usados como pontos de referência no cálculo dos índices de retenção relativos.

Pesquisas com diferentes partes de *C. flexuosa* corroboram com os dados encontrados nesse estudo, como Carvalho *et al*., (2021), confirmam a presença de ITCs e nitrilas (39.4%) no óleo essencial das vargens. Estudo recente de Pereira *et al*., (2024), acerca do óleo essencial das cascas identificaram como majoritário o isopropil isotiocianato (25,9 %), um composto da classe dos isotiocianatos (ITCs).

Os ITCs são compostos voláteis, biologicamente ativos, sintetizados a partir da hidrólise de glucosinolatos, que desempenham papel importante na defesa contra-ataques de insetos/microorganismos (Bangarwa and Norsworthy, 2016). A sua formação é afetada por vários fatores internos e externos, como pH, temperatura, disponibilidade de íons ferrosos e presença de proteínas como proteína epitioespecificadora (Yadav *et al*., 2022).

A literatura relata que os isotiocianatos, apresentam uma ampla gama de atividades biológicas, incluindo efeitos fungicidas e bactericidas, além de estarem associados a propriedades anticancerígenas (Yadav *et al*., 2022). Nesse contexto, os compostos naturais pertencentes à classe dos ITCs configuram-se como constituintes relevantes para a caracterização química de espécies do gênero *Cynophalla* (Eid and Bhatnagar, 2024).

3.2 Atividade antibacteriana

A maior atividade antibacteriana foi observada para a cepa de *E. coli* ATCC 25922, com CIM de 512 µg/mL.Por outro lado, nas cepas multirresistentes 06 e ATCC 25226 a CIM ≥ 1024 µg/mL (Tabela 2).

Tabela 2. Concentração inibitória mínima (CIM) (µg/mL) do EOCF

BACTÉRIAS	**CIM (µg/mL)**
Escherichia coli ATCC 25922	512
Escherichia coli ATCC 25226	≥ 1024
Escherichia coli 06	≥ 1024

A ausência de inibição do crescimento bacteriano nas cepas testadas, na concentração máxima 1024 µg/mL, sugere a presença de mecanismos de resistência bacteriana. Esses mecanismos podem estar relacionados à produção de enzimas degradativas, alterações na

parede celular ou membrana, fluxo de substâncias ou mutações genéticas. A resistência bacteriana pode contribuir para o alto grau de patogenicidade dessas cepas, especialmente em infecções hospitalares, como infecção urinária por *E. coli* (KotraeuP, HaddadEu, MobasheryS. 2000).

O estudo de Kim e Lee (2009), com *E. coli* mostrou que compostos derivados do isotiocianato inibem o crescimento, especialmente quando contêm hidrocarbonetos aromáticos como grupos benzil, fenetil e benzoíla.

O estudo de Clemente *et al*., (2016) mostra a composição do óleo essencial de mostarda como componente majoritário o isotiocinato de alila (AITC), assim como comprova também Luciano e Holley (2009) no seu estudo, sua ação antimicrobiana contra *E. coli*. O AITC é um composto alifático, ele produz uma ação bactericida mais rápida, contra a *E. coli.*

No estudo de Romeo *et al.* (2018), avaliaram a atividade antimicrobiana de fitoquímicos e combinações de antibióticos com produtos naturais. Os resultados mostraram que os isotiocianatos têm um efeito antimicrobiano seletivo, relacionado à sua estrutura química. O benzilisotiocianato se destacou como o composto eficaz tanto contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, oferecendo uma promissora opção para o desenvolvimento de novos tratamentos.

3.2.1 Atividade modificadora de antibióticos

O OECF exibiu potencial como agente modificador da atividade de antibióticos, atuando de forma sinérgica sobre β-lactâmico (cefalosporina) e aminoglicosídeos (gentamicina e amicacina) para as cepas de *E. coli* (Figura 4, 5 e 6). Por outro lado, bezilpenicilina (β-lactâmico) apresentou resultados iguais na ausência (controle) e presença do OECF nas cepas de *E. coli.*

A ausência de efeitos associados a benzilpenicilina contra as cepas de *Escherichia coli* pode estar relacionado ao seu mecanismo de resistência do tipo produtor da enzima β-lactamase, que hidrolisa o anel β-lactâmico desses antibióticos, inibindo sua eficácia (Arruda *et al*., 2019; Cornaglia *et al.*, 2011).

No estudo de Murray *et al*. (2022), destaca a resistência antimicrobiana de algumas bactérias, a *E. coli* aparece como uma das principais bactérias responsáveis por mortes

relacionadas à resistência a antibióticos. Além disso, essa bactéria está se tornando cada vez mais resistente a antibióticos, incluindo os betalactâmicos que atuam a nível de parede celular e devido a camada de lipopolissacarídeos presente nas bactérias Gram-negativas apresentam dificuldade na permeabilidade. Nesse estudo, os resultados foram diferentes com as cefalosporina em associação com o OECF observando um resultado significativo na inibição do crescimento, tanto nas cepas padrões, como na multirresistente.

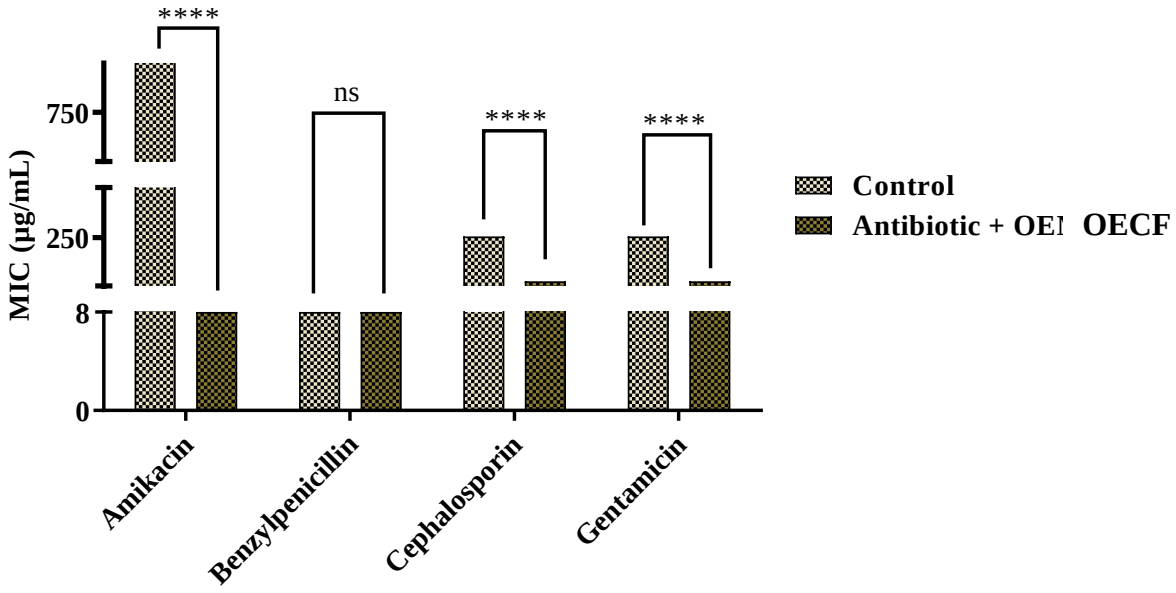


Figura 4. Potencial modificador do EOCF, na atividade antibiótica frente as cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922.

Fonte: Autor. ANOVA bidirecional seguida pelo pós-teste de Bonferroni, usando o software GraphPad Prism 9.3. ****p <0,0001; ns: não significativo.

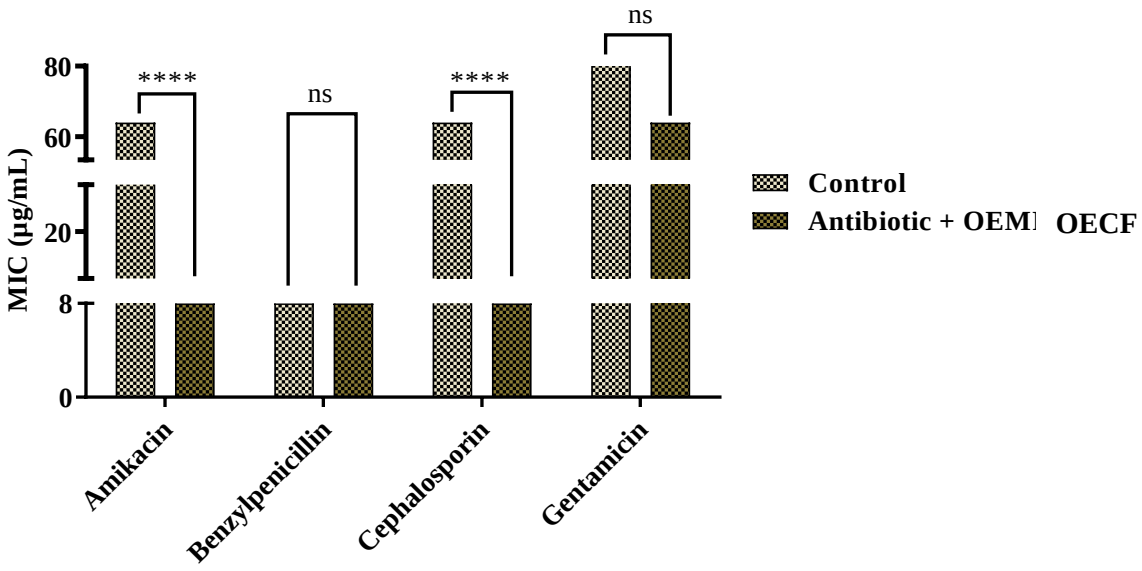


Figura 5. Resultado do potencial modulador do OECF, na atividade antibiótica frente as cepas de *Escherichia coli* ATCC 25226.

Fonte: Autor. ANOVA bidirecional seguida pelo pós-teste de Bonferroni, usando o software GraphPad Prism 9.3. ****p <0,0001; ns: não significativo.

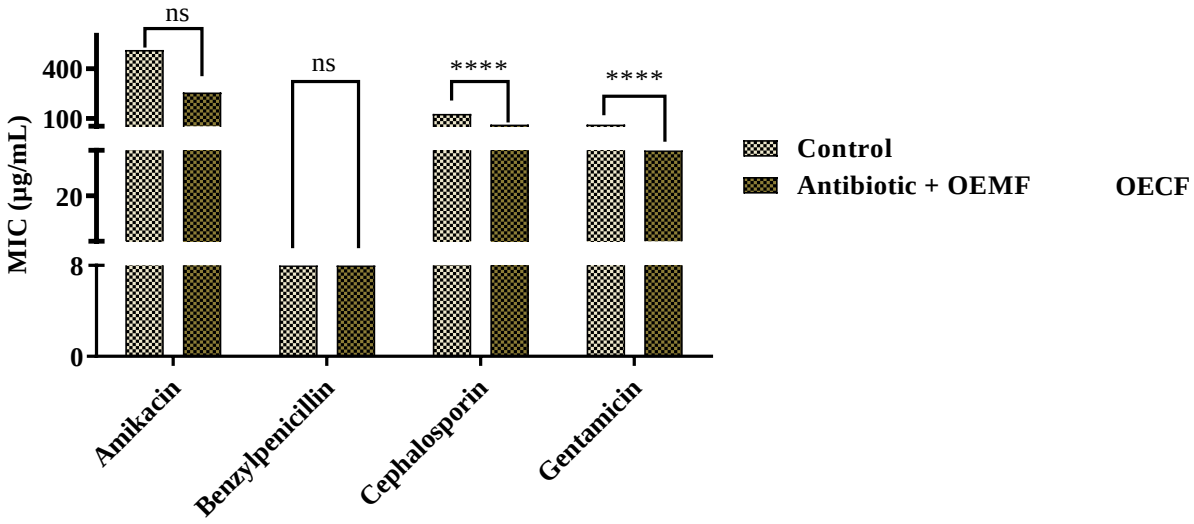


Figura 6. Resultado do potencial modulador do OECF, na atividade antibiótica frente as cepas de *Escherichia coli* 06.

Fonte: Autor.ANOVA bidirecional seguida pelo pós-teste de Bonferroni, usando o software GraphPad Prism 9.3. ****p <0,0001; ns: não significativo.

É reportado na literatura que bactérias Gram-negativas, especialmente variantes de *E. coli*, são mais sensíveis aos ITCs em comparação às bactérias gram-positivas (Yadav *et al*.,

2022). Nesse contexto, a presença majoritária de ITCs alifáticos no OECF, são os principais responsáveis pela ação antibacteriana frente a *E. coli* (Carvalho *et al.*, 2021; Yang *et al*., 2020). Do ponto de vista químico, o grupo funcional –SCN dos tiocianatos é citotóxico para as bactérias, como comparação em cianatos e tiocianatos, o substituinte enxofre e o isomerismo da estrutura também podem contribuir para as atividades antibacterianas das ITCs (Yang *et al*., 2020).

Embora o mecanismo de ação preciso dos ITCs como agentes antimicrobianos ainda não esteja completamente elucidado, algumas hipóteses têm sido sugeridas (Calmes *et al*., 2015). Entre elas, destacam-se: (a) a inibição de enzimas essenciais ou o acúmulo de ITCs nas células bacterianas, formando conjugados de ditiocarbamato de tiorredoxina e alterando a estrutura de proteínas; (b) a modificação de grupos tiol ou amina, resultando na interferência em atividades enzimáticas específicas e na regulação da transcrição gênica; e (c) a indução de estresse oxidativo, que pode desencadear processos redox capazes de comprometer o crescimento e a viabilidade microbiana (Yadav *et al*., 2022).

A utilização de ITCs oriundos do OECF pode ser uma alternativa promissora para combater a resistência bacteriana contra variantes de *E. coli*, essa abordagem viabiliza a redução da necessidade de altas doses de antibióticos e podem minimizar seus efeitos colaterais (Calmes *et al*., 2015). No entanto, pesquisas adicionais são necessárias para entender melhor os mecanismos envolvidos e garantir a segurança do uso clínico dessa combinação.

4. CONCLUSÃO

A resistência bacteriana aos medicamentos como alguns antibióticos, chega a ser uma ameaça para saúde global, por isso a importância de se pesquisar substâncias naturais para ajudar no combate as bactérias especialmente as oportunistas e patogênica como *Escherichia coli*. Este estudo demonstrou que o óleo essencial de *Cynophalla flexuosa* apresenta em sua composição mais de 80% de isotiocianatos e que, frente às cepas de *E. coli*, foi capaz de inibir o crescimento bacteriano. Além disso, quando associado a determinados antibióticos, o óleo essencial potencializou a atividade antibacteriana.

Referências

Carvalho, N. K. G.; Camilo, C. J.; Nonato, C. F. A. et al. Óleo essencial de *Cynophalla flexuosa* e seu efeito citotóxico, antioxidante e antiacetilcolinesterase. *Chemistry of Natural Compounds*, v. 57, p. 566–568, 2021. https://doi.org/10.1007/s10600-021-03418-7.

Cheng, H.; Yue, K.; Kazemzadeh-Narbat, M.; Liu, Y.; Khalilpour, A.; Li, B.; Zhang, Y. S.; Annabi, N.; Khademhosseini, A. Revestimento de hidrogel multifuncional inspirado em mexilhões para prevenção de infecções e osteogênese aprimorada. *ACS Applied Materials & Interfaces*, v. 9, p. 11428–11439, 2017.

Clemente, I.; Aznar, M.; Silva, F.; Nerín, C. Antimicrobial properties and mode of action of mustard and cinnamon essential oils and their combination against foodborne bacteria. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, v. 36, p. 26–33, 2016. https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.05.013.

Costa Da Silva, M. M.; Bezerra De Araújo Neto, J.; Lucas Dos Santos, A. T.; De Morais Oliveira-Tintino, C. D.; De Araújo, A. C. J.; Freitas, P. R. et al. Antibiotic-potentiating activity of the *Schinus terebinthifolius* Raddi essential oil against MDR bacterial strains. *Plants*, v. 12, n. 8, 1587, 2023. https://doi.org/10.3390/plants12081587.

Da Cruz, R. P.; Castro, J. W. G.; Leite, D. O. D.; De Carvalho, N. K. G.; Almeida-Bezerra, J. W.; Pereira, R. L. S. et al. Chemical composition and antimicrobial potential of essential oil of *Acritopappus confertus*. *Pharmaceuticals*, v. 15, n. 10, 1275, 2022. https://doi.org/10.3390/ph15101275.

Dias, C.; Aires, A.; Saavedra, M. J. Atividade antimicrobiana de isotiocianatos de plantas crucíferas contra *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA). *International Journal of Molecular Sciences*, v. 15, p. 19552–19561, 2014. https://doi.org/10.3390/ijms151119552.

Dos Santos, G. A. F.; Ferreira, J. D.; De Paula, J. M.; Paglarini, C. S.; Guedes, S. F.; Loss, R. A. Brotos comestíveis: Qualidade nutricional, segurança microbiológica e potencial aplicação em novos produtos. *Research, Society and Development*, v. 11, n. 9, e33911931870, 2022. https://doi.org/10.33448/rsd-v11i9.31870.

Dufour, V.; Stahl, M.; Baysse, C. The antibacterial properties of isothiocyanates. *Microbiology*, v. 161, n. 2, p. 229–243, 2015. https://doi.org/10.1099/mic.0.082362-0.

Jang, M.; Hong, E.; Kim, G.-H. Avaliação da atividade antibacteriana de isotiocianatos em vegetais *Brassica*. *Journal of Food Science*, v. 75, n. 7, p. M412–M416, 2010. https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01725.x.

Kotraeu, P.; Haddad, E. U.; Mobashery, S. Aminoglicosídeos: Perspectivas sobre mecanismos de ação e resistência. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 44, p. 3249–3256, 2000. https://doi.org/10.1128/aac.44.12.3249-3256.2000.

Krause, K.; Pyrczak-Felczykowska, A.; Karczewska, M.; Narajczyk, M.; Herman-Antosiewicz, A.; Szalewska-Pałasz, A.; Nowicki, D. Dietary isothiocyanates impair *Vibrio cholerae* virulence. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 22, n. 19, 10187, 2021. https://doi.org/10.3390/ijms221910187.

Luciano, F. B.; Hosseinian, F. S.; Beta, T.; Holley, R. A. Effect of free-SH containing compounds on allyl isothiocyanate antimicrobial activity. *Journal of Food Science*, v. 73, n. 5, p. M214–M220, 2008. https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2008.00762.x.

Luciano, F. B.; Holley, R. A. Enzymatic inhibition by allyl isothiocyanate against *Escherichia coli* O157:H7. *International Journal of Food Microbiology*, v. 131, n. 2–3, p. 240–245, 2009. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.03.005.

Murray, C. J. L. et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: A systematic analysis. *The Lancet*, v. 399, p. 629–655, 2022.

O'Callaghan, K. J.; Stone, P. J.; Hu, X.; Griffiths, D. W.; Davey, M. R.; Cocking, E. C. Effects of glucosinolates and flavonoids on root colonization. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 66, n. 5, p. 2185–2191, 2000. https://doi.org/10.1128/AEM.66.5.2185-2191.2000.

Pal, S. K.; Mukherjee, P. K.; Saha, K.; Pal, M.; Saha, B. P. Ação antimicrobiana do extrato da folha de *Moringa oleifera*. *Ancient Science of Life*, v. 14, p. 197–199, 1995.

Romeo, L.; Iori, R.; Rollin, P.; Bramanti, P.; Mazzon, E. Isothiocyanates: An overview of their antimicrobial activity. *Molecules*, v. 23, n. 3, 624, 2018. https://doi.org/10.3390/molecules23030624.

Rutz, J.; Maxeiner, S.; Grein, T.; Sonnenburg, M.; Khadir, S. E.; Makhatelashvili, N. et al. Isothiocyanates modulate Akt-mTOR signaling in resistant bladder cancer cells. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 23, n. 19, 10996, 2022. https://doi.org/10.3390/ijms231910996.

Vaughn, S. F.; Berhow, M. A. Glucosinolate hydrolysis products from various plant sources. *Industrial Crops and Products*, v. 21, n. 2, p. 193–202, 2005. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2004.03.004.

Verde, D. S. V.; Santana, A. N.; Nogueira, M. A.; Santos, F. C.; Pessoa, I. A.; Oliveira, M. S. et al. Ação antimicrobiana de óleos essenciais na pós-colheita de frutas. *Contribuciones a las Ciencias Sociales*, v. 17, n. 4, e5939, 2024. https://doi.org/10.55905/revconv.17n.4-136.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

5.1 ASPECTOS GERAIS DA PRODUÇÃO CIENTÍFICA

Os óleos essenciais de plantas medicinais estão sendo cada vez mais estudados por serem alternativas promissoras e eficientes no tratamento e controle de enfermidades como infecções bacterianas e doenças degenerativas oriundas do estresse oxidativo. Uma outra perspectiva de aplicação dos óleos essenciais é como produtores de aleloquímicos com grande potencial na agricultura e benefícios ao meio ambiente em substituição aos agrotóxicos.

Substâncias químicas oriundas de espécies vegetais como os isotiocianatos são estratégias essenciais para o controle e tratamento de doenças que não respondem aos tratamentos convencionais. Os isotiocianatos (produto de hidrólise de glucosinolatos) têm inúmeras atividades biológicas, entre elas, especialmente atividades potencialmente promotoras de saúde (efeitos antibacterianos, antioxidantes e anticarcinogênicos).

Os resultados obtidos nesse estudo permitiram concluir que aproximadamente 80% da composição química do óleo essencial é constituída por isotiocianatos, principalmente o isotiocianato de butila e isotiocianato de isobutila. A partir dessa composição, foram avaliadas as propriedades antibacterianas e alelopatícas.

Dessa foram avaliadas suas propriedades antibacteriana e modificadora de antibióticos com bactérias de interesse clínico dentre elas *Escherichia coli*.

Inicialmente, observou-se que o óleo essencial apresentou atividade antibacteriana direta frente às cepas de *Escherichia coli* testadas (ATCC 25226, ATCC 25922 e cepa multirresistente 06) verificada pela Concentração Inibitória Mínima (CIM). Quando associado aos antibióticos da classe dos aminoglicosídeos (gentamicina e amicacina), o óleo essencial demonstrou efeito potencializador significativo, evidenciado pela redução da CIM desses fármacos.

Em contrapartida, nas associações com antibióticos β-lactâmicos (benzilpenicilina e cefalosporina), a potencialização da atividade antibacteriana foi observada apenas para as cefalosporinas. Esse comportamento pode ser explicado pelas características estruturais da bactéria estudada, uma vez que *E. coli*, por ser Gram-negativa, apresenta resistência intrínseca a antibióticos que atuam predominantemente na parede celular, como a benzilpenicilina.

Esses resultados indicam a necessidade de ampliar os estudos para outras cepas bacterianas, tanto Gram-negativas quanto Gram-positivas, a fim de avaliar o potencial do óleo essencial de *C. flexuosa* como agente adjuvante na reversão da resistência bacteriana.

Além disso, a avaliação da atividade alelopática do óleo essencial, permitiu resultados de grande relevância no controle da germinação e crescimento de *Calotropis procera*, indicando uma alternativa promissora para o combate de pragas agrícolas de forma ecologicamente correta por apresentarem aleloquímicos de eficiência maior do que as substâncias de controle convencional. Em conjunto, os dados apresentados nesta pesquisa destacam a particularidade da composição química do óleo essencial de *C. flexuosa* e a necessidade da continuidade dos estudos biológicos como atividade antioxidante e a toxicidade para melhor conhecimento do potencial terapêutico, bem como no desenvolvimento de novas abordagens no combate à resistência bacteriana e no controle de pragas.

5.2 CONCLUSÕES GERAIS

Os resultados deste estudo reforçam o uso trandicional do óleo essencial das sementes de *Cynophalla flexuosa* evidencianado seu relevante potencial antibacteriano, associado principalmente à presença de isotiocianatos, compostos com reconhecida atividade contra microrganismos patogênicos, que são capazes de inibir seu crescimento, configurando-se como uma alternativa promissora no tratamento de doenças infecciosas, inclusive em associação com antibióticos convencionais contra cepas padrões e multirresistentes. Além disso, apresentou atividade alelopática, com efeito inibitório sobre a germinação e o crescimento de espécies vegetais, indicando potencial aplicação agrícola no manejo sustentável de plantas invasoras. Ressalta-se que os compostos majoritários identificados em seu óleo essencial são considerados raros, o que aumenta a relevância científica da espécie. Contudo, trata-se de um óleo pouco estudado, com caracterização química e farmacológica ainda incipiente, o que evidencia a necessidade de novas pesquisas. Nesse sentido, propõe-se como perspectiva futura a continuidade dos estudos voltados à elucidação de seus mecanismos de ação, avaliação da segurança de uso e exploração de suas aplicações tanto na saúde quanto na agricultura.

Diante desse contexto, o presente estudo explorou pela primeira vez o potencial biológico do óleo essencial das sementes de *Cynophalla flexuosa*, abrangendo suas atividades antibacteriana e alelopática.

5.3 PERSPECTIVAS DE INVESTIGAÇÕES FUTURAS

- Testes microbiológicos do óleo essencial frente a enterobactérias padrão e resistentes*;*
- Avaliar a ação moduladora do óleo essencial em conjuntos de outras classes de antibióticos;
- Determinar o perfil antioxidante do óleo essencial pelos métodos ABTS+• e DPPH•; quelante de íon Fe^{+2} e poder redutor de íon Fe^{+3} e proteção da 2-Deoxyribose (2-DR);
- Testar atividade ansiolítica frente ao *zebrafish*;
- Testar a atividade do óleo essencial com linhagens de células cancerígenas.

6 REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

ALBA, T. M.; TESSARO, E.; SOBOTTKA, A. M. Seasonal effect on phenolic content and antioxidant activity of young, mature and senescent leaves from *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis (Basellaceae). *Brazilian Journal of Biology*, v. 84, e254174, 2022. DOI: 10.1590/1519-6984.254174.

ALMEIDA NETO, J. X.; ANDRADE, A. P.; LACERDA, A. V.; FÉLIX, L. P.; SILVA, D. S. Crescimento e bromatologia do feijão-bravo (*Capparis flexuosa* L.) em área de Caatinga no Curimataú Paraibano, Brasil. *Revista Ciência Agronômica*, v. 42, p. 488–494, 2011.

ANDRÉS, C. M. C.; PÉREZ DE LA LASTRA, J. M.; MUNGUIRA, E. B.; JUAN, C. A.; PÉREZ-LEBEÑA, E. The multifaceted health benefits of broccoli: A review of glucosinolates, phenolics and antimicrobial peptides. *Molecules*, v. 30, n. 11, p. 2262, 2025. DOI: 10.3390/molecules30112262.

BARAL, S. K.; DANGOL, G.; MANANDHAR, K. D.; POUDEL, P. Characterization of virulence factors in multidrug-resistant *Escherichia coli* isolated from clinical samples. *Journal of Manmohan Memorial Institute of Health Sciences*, v. 9, n. 2, p. 13–18, 2024. DOI: 10.3126/jmmihs.v9i2.71802.

BURČUL, F.; GENERALIĆ MEKINIĆ, I.; RADAN, M.; ROLLIN, P.; BLAŽEVIĆ, I. Isothiocyanates: Cholinesterase inhibitory, antioxidant and anti-inflammatory activity. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, v. 33, n. 1, p. 577–582, 2018. DOI: 10.1080/14756366.2018.1442832.

CARVALHO, N. K. G.; CAMILO, C. J.; NONATO, C. F. A. et al. Óleo essencial de *Cynophalla flexuosa* e seu efeito citotóxico, antioxidante e antiacetilcolinesterásico. *Chemistry of Natural Compounds*, v. 57, p. 566–568, 2021. DOI: 10.1007/s10600-021-03418-7.

CONNOLLY, E. L. et al. Glucosinolates from cruciferous vegetables and their potential role in chronic disease. *Frontiers in Pharmacology*, v. 12, p. 767975, 2021. Disponível em: https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2021.767975/full.

DINKOVA-KOSTOVA, A. T. et al. Direct evidence that sulfhydryl groups of Keap1 are sensors regulating phase 2 enzyme induction. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 99, p. 11908–11913, 2002.

DINH, T. N.; PARAT, M. O.; ONG, Y. S.; KHAW, K. Y. Anticancer activities of dietary benzyl isothiocyanate. *Pharmacological Research*, v. 169, 105666, 2021. DOI: 10.1016/j.phrs.2021.105666.

DUFOUR, V.; STAHL, M.; BAYSSE, C. The antibacterial properties of isothiocyanates. *Microbiology*, v. 161, p. 229–243, 2015.

INOCÊNCIO, C.; RIVERA, D.; ALCARAZ, F. et al. Flavonoid content in commercial capers (*Capparis* spp.). *European Food Research and Technology*, v. 212, p. 70–74, 2000. DOI: 10.1007/s002170000220.

JIANG, X.; LIU, Y.; MA, L. et al. Chemopreventive activity of sulforaphane. *Drug Design, Development and Therapy*, v. 12, p. 2905–2913, 2018. DOI: 10.2147/DDDT.S100534.

KENSLER, T. W. et al. Keap1-Nrf2 signaling: a target for cancer prevention by sulforaphane. *Topics in Current Chemistry*, v. 329, p. 163–177, 2013. DOI: 10.1007/128_2012_339.

MAIA, G. N. *Caatinga: árvores, arbustos e suas utilidades*. Fortaleza: UFC, 2012.

OLAYANJU, J. B.; BOZIC, D.; NAIDOO, U.; SADIK, O. A. A comparative review of key isothiocyanates and their health benefits. *Nutrients*, v. 16, p. 757, 2024. DOI: 10.3390/nu16060757.

REFLORA BRASIL. *Cynophalla flexuosa*. Disponível em: http://servicos.jbrj.gov.br/flora/search/Cynophalla_flexuosa.

ROMEO, L.; IORI, R.; ROLLIN, P.; BRAMANTI, P.; MAZZON, E. Isothiocyanates: an overview of their antimicrobial activity. *Molecules*, v. 23, n. 3, p. 624, 2018. DOI: 10.3390/molecules23030624.

SOUZA, E. M.; PEREIRA, E. B. S. S.; MIRANDA, I. S. Capparaceae (Feijão-bravo). In: SOUZA, E. M. (Org.). *Plantas da Caatinga: um olhar multidisciplinar*. Petrolina: IFSertãoPE, 2021. p. 94–98.

SOUZA, T. A. *Estudo fitoquímico de Neocalyptrocalyx longifolium Mart.* Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2020.

YADAV, K.; DHANKHAR, J.; KUNDU, P. Isothiocyanates: A review of their health benefits and food applications. *Current Research in Nutrition and Food Science*, v. 10, n. 2, p. 6, 2022. DOI: 10.12944/CRNFSJ.10.2.6.

7 ANEXOS

Anexo 1 – Número de herbário e Identificação botânica

Herbário Caririense Dárdano de Andrade – Lima
Universidade Regional do Cariri - URCA

Número de Herbário

Remetente: **Nº28.2025**

HERBÁRIO CARIRIENSE DÁRDANO DE ANDRADE-LIMA (HCDAL/URCA)
Contato: Dra. Maria Arlene Pessoa da Silva (herbario@urca.br)
Universidade Regional do Cariri - URCA
Departamento de Ciências Biológicas
Rua: Cel. Antônio Luiz, 1161
Campus Pimenta
Crato – Ceará - Brasil
CEP: 63.105-100

Destinatário: **Data:** 03/07/2025

Contato: Fázia Fernandes Galvão Rodrigues
Universidade Regional do Cariri – URCA
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde – CCBS
Departamento de Ciências Biológicas – DCBio
Laboratório de Pesquisas de Produtos Naturais - LPPN

Nº Amostras: 01 Tipo de Operação: **Número de Herbário**

	Nº HERBÁRIO	NOME POPULAR	FAMÍLIA	NOME CIENTÍFICO	RESPONSÁVEL
01	17.044	Feijão-bravo	Capparaceae	*Cynophalla flexuosa* (L.) J.Presl	Arlene Pessoa

Anexo 2- Produção Cientifica durante Mestrado:

Livro: *Óleos essenciais do Cariri Cearense: contribuição ao conhecimento científico*. **Capitulo de livro -** *Cynophalla flexuosa* (L.) J. Presl

Editora: Omnis Scientia, 2025. **Link**: 10.47094/978-65-284-0219-9

ISBN: 978-65-284-0219-9

Artigo: Propriedades químicas e biológicas de *Hymenaea courbaril* L.: uma revisão.

DOI: https://doi.org/10.1002/cbdv.202503154

Revista: Chemistry & Biodiversity, 2025

CAPÍTULO 7

Cynophalla flexuosa (L.) J. Presl

Fázia Fernandes Galvão Rodrigues; Ana Maria Fernandes Duarte; Ingrid Raiane Ferreira dos Santos; Jonas Felipe de Lima Pereira; José Jonas Ferreira Viturino; Maria Alice Macêdo Ribeiro; Nara Kelly Albuquerque Santos; Natália Kelly Gomes de Carvalho; José Galberto Martins da Costa.

Figura 1: Folhas e frutos de *Cynophalla flexuosa*.



Fonte: Rodrigues (2025).

Identificação e Classificação Botânica

Nome Científico: *Cynophalla flexuosa* (L.) J. Presl

Nome Popular: Feijão-bravo, feijão-de-boi.

Sinônimos: *Morisonia flexuosa* (L.) Müll.Arg., *Capparis flexuosa* (L.) Müll.Arg.

Família Botânica: Capparaceae.

Características Botânicas e Usos Populares

Cynophalla flexuosa (L.) J. Presl, também conhecida pelo sinônimo *Capparis flexuosa* (L.) Müll.Arg. É espécie presente no bioma Caatinga, principalmente encontrada na região semiárida. Possui porte arbóreo ou arbustivo e folhas perenes. Essa espécie pode atingir até 4 m de altura e possui folhas glabras com comprimento variando entre 3 e 5 cm (SOUZA *et al*., 2021).

Apresenta elevada resistência à seca e tolerância á salinidade, sendo muito utilizada na regeneração e restauração de solos salinizados. Além disso, fornece madeira utilizada para estacas, e destaca-se como excelente forrageira para alimentação animal, devido a sua palatabilidade e capacidade de se manter verde durante períodos de seca. Na medicina popular, diferentes partes da planta, incluindo folhas, frutos e casca são utilizadas por suas propriedades farmacológicas, como analgésico, vermífugo, expectorante, antipirético (MAIA *et al*., 2012; SOUSA *et al*., 2021).

Estudos fitoquímicos indicam que essa planta se destaca pelo seu potencial medicinal, devido presença dos glucosinolatos em sua composição, que por meio da hidrólise enzimática, originam isotiocianatos, classe química de interesse farmacológico, reforçando seu valor como fonte alternativa de compostos bioativos (SILVA *et al*., 2004). Esses compostos bioativos são encontrados em abundância na família Brassicaceae e têm sido amplamente estudados por suas propriedades quimioprotetoras, apresentando atividade antioxidante, anti-inflamatória e anticancerígena (SOUNDARARAJAN, KIM.,2018).

Composição Química

A análise por cromatografia acoplada a espectrometria de massas (CG/EM) e detector de ionização em chamas (CG/FID) do óleo essencial das vagens de *C. flexuosa* revelou como compostos majoritários o isotiocianato de butila (42,60%) e isotiocianato de isobutila (42,28%) (Figura 2), grupo de compostos raros em óleos essenciais (RODRIGUES *et al*, 2025), como mostrado na tabela 1.

Tabela 1. Compostos identificados (CG/FID e CG-ES) no óleo essencial das vagens de *C. flexuosa*.

Componentes	(%)	TR (min)	IR
Isotiocianato de butila	42,60	36,33	1,029
Isotiocianato de isobutila	42,28	38,55	1,056
Isotiocianato de 2-metilbutila	1,02	50,81	1,160
Isotiocianato de pentila	1,90	54,88	1,189
5-butilnonano	0,44	73,88	1,290
2,6,10trimetiltetradecano	1,60	93,09	1,447
(-)-β-elemene	1,28	93,86	1,786
trans-cariofileno	1,53	10,362	1,553
Dotriacontano	1,52	13,865	1,456

(%): Porcentagem dos compostos encontrados, TR: Tempo de retenção, IR: Índice de retenção.

Figura 2: Representação estrutural dos compostos majoritários encontrados na composição química do óleo essencial das vagens de *C. flexuosa*.



No estudo de Carvalho *et al*. (2021), foram identificados através da análise do óleo essencial das vargens de feijão-bravo, isotiocianatos e nitrilas, representando 39,4% dos compostos. Esses grupos químicos são identificados em óleos essenciais de alguns alimentos que fazem parte da família Brassicaceae, como o brócolis, couve-flor, rúcula, repolho e agrião, que atuam em diversas atividades biológicas. Alguns alimentos que contém esses compostos também são utilizados como conservantes naturais devido às suas atividades antimicrobianas e antioxidantes, como é o caso da mostarda.

Revelou-se através do estudo de Pereira *et al*. (2024), que o óleo da casca de *C. hastata*, espécie do mesmo gênero, apresenta em sua composição 74,76% de isotiocianatos e nitrilas, compostos não comuns em óleos essenciais, mas citado na literatura, confirmando assim os achados da identificação química de outros estudos. O óleo essencial extraído das sementes da *C. flexuosa*, apresenta a classe dos isotiocianatos majoritariamente em sua composição química. Estudos indicam que o óleo essencial extraído das vargens do feijão-bravo, possui compostos bioativos capazes de exercer diversas atividades biológicas, e Carvalho *et al*. (2021), também identificaram que esse óleo apresentou atividade antioxidante significativa, com potencial para possíveis aplicações terapêuticas.

Propriedades Medicinais e Toxicidade

O óleo essencial de *C. flexuosa* apresenta atividade alelopática, demonstrada pela sua capacidade de inibir a germinação e o crescimento de *Calotropis procera* (algodão-de-seda). Os principais compostos, butil isotiocianato e isobutil isotiocianato, mostraram efeito negativo na velocidade de germinação e no crescimento das raízes e caules, indicando seu potencial como herbicidas naturais. Acredita-se que esses componentes atuam através de mecanismos bioquímicos e fisiológicos, como danos às membranas celulares, inibição de processos respiratórios e interferência na atividade enzimática. Dessa forma, o óleo possui potencial para ser utilizado como herbicida natural, contribuindo para o manejo de plantas daninhas de forma sustentável e menos agressiva ao meio ambiente (RODRIGUES *et al.*, 2025).

As propriedades antioxidantes do óleo essencial de *C. flexuosa* também foram avaliadas, através dos ensaios de captura do radical $ABTS^{+}$ e de proteção contra a degradação da deoxirribose, sendo evidenciada a neutralização de radicais livres. Ele foi capaz de capturar radicais do reagente $ABTS^{+}$ e proteger a molécula de 2-deoxirribose de danos oxidativos, indicando que tem potencial para combater o estresse causado pelos radicais livres demonstrando que este óleo essencial possui potencial para ajudar a proteger o corpo no combate ao envelhecimento e na prevenção de doenças relacionadas ao estresse oxidativo (CARVALHO *et al*, 2021). Contudo, o mesmo estudo de Carvalho e colaboradores (2021), mostra que o óleo essencial apresenta alta toxicidade, demonstrado em testes com *Artemia salina*, que mostraram alto índice de mortalidade a concentração de aproximadamente 97,5 µg/mL. Além disso, os compostos presentes, como nitrilas e isotiocianatos, podem causar efeitos adversos dependendo da quantidade e da maneira de uso. Portanto, é importante manusear esse óleo com cautela para evitar riscos à saúde.

Tabela 2: Propriedades Terapêuticas dos Óleos Essenciais de *C. flexuosa* (Feijão-bravo).

Atividade Biológica	Compostos	Referências
Antioxidante	Isotiocianatos e Nitrilas	(CARVALHO *et al*., 2021)
Alelopático	Isotiocianatos	(RODRIGUES *et al*., 2025)
Inseticida	Isotiocianatos	(PEREIRA *et al*., 2024)

Considerações Finais

Dados químicos sobre o isolamento e composição química do feijão-bravo ainda são escassos, no entanto, apontam a presença de importantes metabólitos secundários, como os isotiocianatos que apresentam inúmeros benefícios para a saúde humana. Os óleos essenciais que contêm esses compostos representam uma promissora alternativa terapêutica natural, com ampla ação biológica. Alguns estudos científicos têm demonstrado que essa classe de compostos exerce efeitos significativos na prevenção e no combate a diferentes doenças, principalmente pelo seu potencial anticancerígeno, antimicrobiano, anti-inflamatório e antioxidante.

A capacidade dos isotiocianatos de modular vias metabólicas e celulares críticas, aliada à sua origem natural, torna as espécies com essa composição química alvos de interesse para a pesquisa científica e medicina integrativa. Entretanto, é importante salientar que o uso de óleos essenciais, especialmente os que possuem isotiocianatos em altas concentrações, requer precauções quanto à dosagem, forma de aplicação e possíveis efeitos adversos. Embora os resultados experimentais sejam bastante promissores, ainda são necessários estudos clínicos mais aprofundados para confirmar sua eficácia e segurança em humanos, bem como explorar estudos agronômicos e demais aplicações biológicas.

Referências

CARVALHO, N. K. G. *et al*. Essential oil of Cynophalla flexuosa and its cytotoxicity, antioxidant, and anti-acetylcholinesterase effect. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 3, p. 480–482, 2021.

PEREIRA, E. B. S. S. *et al*. Bioatividade do óleo essencial de feijão-bravo (Cynophalla hastata) frente à mosca-da-fruta (Ceratitis capitata) e sua toxicidade em artemia salina. **Revista Semiárido De Visu**, v. 12, n. 1, p. 47–64, 2024. DOI: https://doi.org/10.31416/rsdv.v12i1.661. Disponível em: https://semiaridodevisu.ifsertao-pe.edu.br/index.php/rsdv/article/view/661. Acesso em: 7 ago. 2025.

RODRIGUES, F. F. G. *et al*. Allelopathic effect of Cynophalla flexuosa essential oil on the germination and growth of Calotropis procera. **Chemistry & Biodiversity**, 7 abr. 2025. Disponível em: https://doi.org/10.1002/cbdv.202500152. Acesso em: 7 ago. 2025. Epub ahead of print. PMID: 40192421.

SILVA, J. G.; OLIVEIRA, N. R.; NASCIMENTO, L. A. Cynophalla flexuosa: usos múltiplos e importância socioeconômica em comunidades do sertão. **Biodiversidade Brasileira**, v. 10, n. 2, p. 115–123, 2020.

SOUZA, E. M.; PEREIRA, E. B. S. S.; MIRANDA, I. S. CAPPARACEAE (Feijão-bravo). In: SOUZA, E. M. (org.). Plantas da Caatinga: um olhar multidisciplinar. Petrolina: **IFSertãoPE**, 2021. p. 94–98.

SOUZA, T. A. Estudo fitoquímico de Neocalyptrocalyx longifolium Mart. Cornejo & Iltis (Capparaceae). 2020. 99 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2020.

SOUNDARARAJAN, P.; KIM, J. S. Anti-carcinogenic glucosinolates in cruciferous vegetables and their antagonistic effects on prevention of cancers. **Molecules**, v. 23, n. 11, p. 2983, 2018. DOI: https://doi.org/10.3390/molecules23112983. PMID: 30445746; PMCID: PMC6278308.