



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE RORAIMA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE  
E BIOTECNOLOGIA DA REDE BIONORTE**

**BIOATIVIDADE E POTENCIAL ANTIOXIDANTE DA ESPÉCIE *Capsicum  
chinense* NA AMAZÔNIA SETENTRIONAL**

**KARLA SANTANA MORAIS**

Boa Vista- RR

Fevereiro/2019

KARLA SANTANA MORAIS

**BIOATIVIDADE E POTENCIAL ANTIOXIDANTE DA ESPÉCIE *Capsicum chinense* NA AMAZÔNIA SETENTRIONAL**

Tese de doutorado apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede BIONORTE, na (Universidade Federal de Roraima- UFRR), como requisito para a obtenção do Título de Doutora em Biotecnologia.

Orientador(a): Prof. Dr<sup>a</sup>. Pollyana Cardoso Chagas

Coorientadora: Prof. Dr<sup>a</sup>. Lucianne B. O. Vilarinho

Coorientador: Prof. Dr. Antonio Alves de M. Filho

Boa Vista – RR

Fevereiro/2019

Dados Internacionais de Catalogação na publicação (CIP)  
Biblioteca Central da Universidade Federal de Roraima

M825c Morais, Karla Santana.  
Bioatividade e potencial antioxidante da espécie *Capsicum chinense* na  
Amazônia setentrional / Karla Santana Morais – Boa Vista, 2019.  
83 f.: il.

Orientadora: Profa. Dra. Pollyana Cardoso Chagas.  
Coorientadora: Profa. Dra. Lucianne B. O. Vilarinho.  
Coorientador: Prof. Dr. Antonio Alves de M. Filho.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Roraima, Programa de  
Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Amazônia Legal.

1 – Bioensaio. 2 – Pimentas. 3 – Bioprospecção. I – Título. II – Chagas,  
Pollyana Cardoso (orientadora). III – Vilarinho, Lucianne B. O. IV – M.  
Filho, Antonio Alves.

CDU – 615: 633.841 (811)

KARLA SANTANA MORAIS

**BIOATIVIDADE E POTENCIAL ANTIOXIDANTE DA ESPÉCIE *Capsicum chinense*  
NA AMAZÔNIA SETENTRIONAL**

Tese de doutorado apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede BIONORTE, na Universidade Federal de Roraima- UFRR, como requisito para a obtenção do Título de Doutora em Biotecnologia.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Pollyana Cardoso Chagas

Coorientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Lucianne Braga Oliveira Vilarinho

Coorientador: Prof. Dr. Antonio Alves de Melo Filho

**Banca examinadora**



Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Lucianne B. O. Vilarinho  
Coorientadora- Presidente da banca



Prof. Dr. Wellington Farias Araújo  
UFRR



Pesquisador Dr. Edvan Alves Chagas  
EMBRAPA-RR



Prof. Dr. Habel Nasser Rocha da Costa  
UFRR



Prof. Dr. Ricardo Carvalho dos Santos  
UFRR

Boa Vista- RR  
Fevereiro/2019

Aos meus pais e irmãos pelo incentivo e força que direcionaram a mim, para que eu hoje pudesse estar concluindo mais uma etapa da minha vida profissional.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por sempre me abençoar com muita saúde, paciência, discernimento, serenidade e amor.

Aos meus pais Mariano Alves Morais e Eliene Santana Morais que sempre incentivaram o estudo em minha vida e me ensinaram a lutar pelos meus objetivos.

Aos meus irmãos Iane Santana Morais, Bruna Santana Morais e Hendel Santana Morais pelo incentivo e apoio moral nas horas em que estive frágil para continuar os meus estudos.

Ao meu Co-orientador Professor Dr. Antonio Alves de Melo Filho por toda sua dedicação, atenção, puxões de orelha quando em pensei em desistir e que fizeram com que esse trabalho fosse concluído.

A minha Co-orientadora Professora Dra. Lucianne Braga Oliveira Vilarinho pelo apoio, incentivo e motivação para realização desse trabalho;

A minha Orientador Prof. Dr<sup>a</sup>. Pollyana Cardoso Chagas pelo apoio acadêmico e por acreditar no meu trabalho.

Ao Instituto Federal de Roraima por me apoiar e concederme o afastamento que foi necessário durante algumas etapas da pesquisa.

À Universidade Federal de Roraima e ao Programa de Pós-graduação Química pela disponibilização das instalações e equipamentos necessários.

Agradecimento especial a Ana Cristina Reis Melo que prontamente me auxiliou na execução desse trabalho.

Agradeço a todos os colegas de doutorado, alguns desde o mestrado, que vivenciaram momentos de estudo, de escrita de artigo e de tensão, como a qualificação, no decorrer desta jornada.

Agradecimento a UFMG na pessoa da Dr<sup>a</sup>. Jacqueline A. Takahashi, por ter disponibilizado as instalações laboratoriais para que eu realizasse meus experimentos.

Agradecimento especial a CAPES e CNPQ, pois sua política de fomento na área da ciência possibilitou minha inserção no programa de doutorado bem como a conclusão do mesmo.

Eu tentei 99 vezes e falhei, mas na centésima tentativa eu consegui, nunca desista de seus objetivos, mesmo que eles pareçam impossíveis. A próxima tentativa pode ser a vitoriosa.

(Albert Einstein)

## RESUMO

Desde os povos antigos até os dias atuais as pimentas do gênero *Capsicum* são usadas mundialmente, consideradas uma das mais importantes especiarias, tornaram-se indispensáveis na culinária de algumas culturas. Além de realçar sabor e proporcionar picância a diversos pratos, também apresentam utilidades na medicina tradicional humana, confirmando sua importância para a saúde, uma vez que é uma de boa fonte de bioativos. Sendo assim, a proposta deste trabalho foi avaliar as propriedades farmacológicas a partir de testes microbiológicos e químicos em extratos hexânicos e metanólicos na espécie *Capsicum chinense*. As pimentas (frutos) foram selecionadas e adquiridas na feira do produtor rural de Roraima e suas sementes semeadas em casa de vegetação do Centro de Ciências Agrárias/UFRR. A confirmação botânica da espécie foi realizada por pesquisadores do Laboratório de Botânica da UFRR. Os extratos hexânicos foram preparados a partir do fruto seco através de extração contínua em aparelho Soxhlet, no Laboratório de Química Ambiental da UFRR, e frutos maduros com solvente metanol. As amostras dos extratos foram testadas em bioensaios com bactérias e fungos patogênicos. Posteriormente foi realizado teste para fenóis totais e antioxidante e teste de inibição da acetilcolinesterase. O presente estudo demonstrou sua eficácia contra patógenos que afetam a saúde do ser humano e certamente apresenta ativos químicos que auxiliam na prevenção de doenças. A pesquisa demonstrou a eficácia de *Capsicum chinense* como um antioxidante natural e a presença de ativos, cuja bioprospecção, pode resultar em moléculas capazes de interferir positivamente em doenças que comprometem o sistema nervoso humano. No entanto, mais estudos ainda são necessários para consolidar seu uso e aplicação no campo farmacêutico.

Palavras chaves: Bioensaio. Pimentas. Bioprospecção. Doenças Neurodegenerativas.



## ABSTRACT

From the ancient peoples to the present day Capsicum peppers are used worldwide, considered one of the most important spices, have become indispensable in the cooking of some cultures. In addition to enhancing flavor and providing spice to various dishes, they also present utilities in traditional human medicine, confirming its importance for health, since it is a good source of bioactive. Thus, the proposal of this work was to evaluate the pharmacological properties from microbiological and chemical tests in hexanic and methanolic extracts in the species *Capsicum chinense*. The peppers (fruits) were selected and purchased at the fair of the rural producer of Roraima and their seeds sown in a greenhouse of the Center of Agrarian Sciences / UFRR. The botanical confirmation of the species was carried out by researchers from the UFRR Botany Laboratory. The hexane extracts were prepared from the dried fruit by continuous extraction in Soxhlet apparatus at the Laboratory of Environmental Chemistry of UFRR and mature fruits with methanol solvent. The extract samples were tested in bioassays with pathogenic bacteria and fungi. Subsequently, a test was performed for total phenols and antioxidant and acetylcholinesterase inhibition test. The present study demonstrated its effectiveness against pathogens that affect the health of the human being and certainly presents chemical assets that help in the prevention of diseases. The research demonstrated the effectiveness of *Capsicum chinense* as a natural antioxidant and the presence of active substances whose bioprospecting may result in molecules capable of interfering positively with diseases that compromise the human nervous system. However, further studies are still needed to consolidate its use and application in the pharmaceutical field.

Keywords: Bioassay. Peppers. Bioprospecting. Neurodegenerative Diseases.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Pimentão ( <i>C. annuum</i> var. <i>annuum</i> ) .....	20
Figura 2 - Pimenta dedo de moça ( <i>C. baccatum</i> ) .....	20
Figura 3 - Pimenta canaimé ( <i>C. chinense</i> ).....	21
Figura 4 - Pimenta malagueta ( <i>C. frutescens</i> ) .....	22
Figura 5 - Estrutura química de alguns flavonóides presentes em pimentas.....	24
Figura 6 - Estrutura química da capsaicina, principal capsaicinóide encontrado em pimentas (Capsaicina).....	25
Figura 7 - Cadeias de ácidos graxos saturados e insaturados .....	26
Figura 8 - <i>Capsicum chinense</i> : pimentas adquiridas na feira do produtor rural conhecida como pimenta “canaimé” .....	38
Figura 9 - <i>Capsicum chinense</i> : casa de vegetação no Centro de Ciências Agrárias/CCA-UFRR	39
Figura 10 - <i>Capsicum chinense</i> : planta na idade adulta com flores, folha e fruto maduro .....	39
Figura 11 - Aparelho de Soxhlet: Laboratório de Química Ambiental da Universidade Federal de Roraima-UFRR.....	40
Figura 12 - Rotoevaporador: laboratório de Química Ambiental da Universidade Federal de Roraima-UFRR.....	41
Figura 13 - Extratos hexânicos concentrados e separados em triplicata .....	42

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Inibição de bactérias gram (+) pelo o extrato hexânico de Capsicum chinense.....	47
Tabela 2 - Inibição de bactérias gram (-) pelo o extrato hexânico de Capsicum chinense .....	47
Tabela 3 - Atividade antifúngica do extrato hexânico de Capsicum chinense (continua) .....	49
Tabela 4 - Percentual de inibição da enzima acetilcolinesterase.....	52

## LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

g	Gramma
mg	Miligramma
ml	Mililitro
p.	Página
C	Carbono
H	Hidrogênio
O	Oxigênio
M	Molar
AG	Ácidos graxos
MUFAs	Monounsaturated fatty acids
PUFAs	<i>Polyunsaturated fatty acids</i>
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa e Agropecuária
%	Porcentagem
Mol/l	Molar
°C	Grados Celsius
µL	Microlitros
mL	Mililitro
s	Segundo
min	Minutos
mm	Milímetro
mm <sup>2</sup>	Milímetro cuadrado
cm	Centímetro
m	Metro
WHO / OMS	Organização Mundial da Saúde
VISA	Vacomicina
MRSA/ORSA	Meticlina/ oxacilina
SNC	Sistema Nervoso Central
ACh	Acetilcolina
AChE	Acetilcolinesterase

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>15</b>
<b>2</b>	<b>REFERÊNCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>17</b>
2.1	Plantas medicinais.....	17
2.2	Gênero <i>Capsicum</i> .....	18
<b>2.2.1</b>	<b>Origem, aspectos botânicos e distribuição geográfica.....</b>	<b>18</b>
<b>2.2.2</b>	<b>Diversidade genética .....</b>	<b>22</b>
2.3	Metabólitos secundários em <i>Capsicum</i> .....	23
<b>2.3.1</b>	<b>Compostos fenólicos.....</b>	<b>23</b>
<b>2.3.2</b>	<b>Flavonóides .....</b>	<b>23</b>
<b>2.3.3</b>	<b>Capsaicinoides .....</b>	<b>24</b>
<b>2.3.4</b>	<b>Ácidos graxos.....</b>	<b>25</b>
<b>2.3.5</b>	<b>Atividade antioxidante em pimentas do gênero <i>Capsicum</i>.....</b>	<b>26</b>
2.4	Atividade Antimicrobiana na flora .....	27
<b>2.4.1</b>	<b>Microrganismos Patogênicos .....</b>	<b>28</b>
2.4.1.1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	28
2.4.1.2	<i>Salmonella typhimurium</i> .....	29
2.4.1.3	<i>Citrobacter freundii</i> .....	30
2.4.1.4	<i>Staphylococcus aureus</i> .....	30
2.4.1.5	<i>Listeria monocytogenes</i> .....	31
2.4.1.6	<i>Bacillus Cereus</i> .....	32
2.4.1.7	<i>Candida albicans</i> .....	32
2.5	Doenças neurodegenerativas-Alzheimer .....	33

<b>3</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>35</b>
3.1	Objetivo geral .....	35
3.2	Objetivos específicos .....	35
<b>4</b>	<b>JUSTIFICATIVA .....</b>	<b>36</b>
<b>5</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>38</b>
5.1	Coleta das amostras dos frutos de <i>Capsicum chinense</i> e processamento do material vegetal	38
5.2	Preparação e secagem do material vegetal.....	40
5.3	Preparação dos extratos brutos .....	40
<b>5.3.1</b>	<b>Extração com solvente hexano.....</b>	<b>40</b>
<b>5.3.2</b>	<b>Rotaevaporação dos extratos .....</b>	<b>41</b>
<b>5.3.3</b>	<b>Acondicionamento dos extratos concentrados .....</b>	<b>41</b>
5.4	Avaliação da atividade antimicrobiana.....	42
<b>5.4.1</b>	<b>Microrganismos .....</b>	<b>42</b>
<b>5.4.2</b>	<b>Ensaio farmacológico <i>in vitro</i> (bioensaio) .....</b>	<b>42</b>
5.4.2.1	Atividade Antibacteriana.....	42
5.4.2.2	Atividade Antifúngica .....	44
5.5	Determinação dos compostos fenólicos totais .....	44
5.6	Determinação da atividade antioxidante.....	45
5.7	Inibição da acetilcolinesterase (AChE).....	45
<b>6</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>47</b>
6.1	Bactérias.....	47
6.2	Fungo .....	49

6.3	Determinação de compostos fenólicos totais.....	50
6.4	Determinação da atividade antioxidante pelo DPPH.....	51
6.5	Atividade inibitória da enzima acetilcolinesterase .....	52
<b>7</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>53</b>
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>54</b>
	<b>ANEXOS .....</b>	<b>70</b>
	<b>ANEXO A – BIOLOGICAL ACTIVITY OF HEXANE EXTRACTS OF THE NORTHERN AMAZON SPECIES CAPSICUM SPP .....</b>	<b>71</b>
	<b>ANEXO B – BIOACTIVE EXTRACTS OF <i>CAPSICUM CHINENSE</i> IN THE NORTHERN AMAZON.....</b>	<b>77</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Produtos naturais, especialmente à base de plantas, são utilizados pela humanidade há milhares de anos e adquirem importância cada vez maior na terapêutica mundial (CRAGG; NEWMAN, 2013). Desde épocas remotas, as sociedades humanas acumulam informações e experiências sobre o ambiente que as cerca, para com ele interagir e prover suas necessidades de sobrevivência. Dentre tantas práticas difundidas pela cultura popular, as plantas sempre tiveram fundamental importância, por inúmeras razões, sendo salientadas as suas potencialidades terapêuticas aplicadas ao longo das gerações (RANGEL; BRAGANÇA, 2009).

Neste contexto, o conhecimento etnobotânico farmacológico acumulado ao longo de gerações tem servido como parâmetro para o desenvolvimento de fármacos de grande importância, entre os quais: digoxina, quinina, morfina, hiosciamina, ácido salicílico e artemisina (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

A relevância econômica do metabolismo secundário está assentada em três grandes áreas: a fitomedicina, a nutracêutica e as aplicações industriais diversas. A facilidade que se tem hoje em isolar genes que codificam enzimas-chaves do metabolismo secundário leva a crer que as três áreas mencionadas serão bastante potencializadas no futuro próximo através da biotecnologia. Embora as plantas venham sendo utilizadas como medicamentos há tempos imemoráveis, têm-se assistido nos dias atuais a uma retomada da chamada fitomedicina (VICTÓRIO; LAGE, 2008). Os remédios caseiros baseados em extratos vegetais complexos, contendo diversos metabólitos, podem ter uma certa vantagem sobre as drogas convencionais, as quais costumam ser baseadas em um único princípio ativo. Desse modo, a presença de vários compostos em um só remédio pode ter um efeito sinérgico benéfico.

Dessa forma, produtos secundários envolvidos na defesa através de atividade citotóxica contra patógenos podem ser úteis como agentes antimicrobianos na medicina. Além disso, aqueles envolvidos na defesa contra herbivoria através de atividade neurotóxica podem ter efeitos benéficos no homem atuando como antidepressivos, sedativos, relaxantes musculares ou anestésicos (BRISKIN, 2000). Algumas plantas evoluíram produzindo produtos secundários que interagem com alvos moleculares de organismos competidores como microrganismos, outras plantas e animais. Nesse sentido, alguns produtos secundários exercem suas funções pela semelhança com metabólitos endógenos, receptores, hormônios, moléculas da transdução de sinais ou neurotransmissores, e por isso possuem efeito benéfico nos homens graças a sua similaridade com moléculas do sistema nervoso central e sistema endócrino (BRISKIN, 2000).



Algumas plantas condimentares, tais como as pimentas e pimentões do gênero *Capsicum*, sempre foram usadas pelos índios e civilizações antigas para tornar os alimentos mais agradáveis ao paladar. Além de serem utilizadas como conservantes em alimentos são também fontes de antioxidantes naturais como a vitamina E, vitamina C e carotenóides (REIFSCHNEIDER, 2000).

Devido à abundância dos vários tipos de pimentas no estado de Roraima e às poucas pesquisas direcionadas para análises das mesmas, o objetivo desse trabalho foi realizar um ensaio biológico *in vitro* em uma espécie de pimentas do gênero *Capsicum chinense*. Sendo assim, a proposta deste trabalho é avaliar as propriedades farmacológicas a partir de testes microbiológicos e químicos em extratos hexânicos do gênero *Capsicum chinense*.

## 2 REFERÊNCIAL TEÓRICO

### 2.1 PLANTAS MEDICINAIS

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS, 1979), plantas medicinais são todas as plantas que contêm em um ou mais de seus órgãos substâncias que podem ser utilizadas com propósitos terapêuticos ou que seja precursora de semi síntese químico farmacêutica. A fitoterapia por sua vez é definida por Cañigüeral (2006), como a ciência que estuda a utilização dos produtos de origem vegetal com finalidade terapêutica, ou seja, para prevenir, atenuar ou curar um estado patológico, sendo seu recurso terapêutico as plantas medicinais

Ao longo do século XX os avanços e pesquisas químicas e farmacêuticas, possibilitaram o alívio de vários males que afetaram a humanidade por séculos, e os fitoterápicos foram colocados em segundo plano, sendo vistos como algo aliado à crença popular e sem bases científicas (BADKE *et al.*, 2011).

No Brasil, mesmo com o incentivo da indústria farmacêutica para a utilização de medicamentos industrializados, grande parte da população ainda utiliza de práticas complementares para cuidar da saúde, sendo a principal o uso de plantas medicinais (BADKE *et al.*, 2011).

Estima-se que no Brasil, cerca de 82% da população brasileira utiliza produtos à base de plantas medicinais nos seus cuidados com a saúde, seja pelo conhecimento tradicional da medicina indígena, quilombola, ou entre outros povos e comunidades tradicionais (RODRIGUES; DE SIMONI, 2010). Isto possibilitou que a fitoterapia fosse novamente destaque e os estudos científicos com plantas medicinais possibilitando um aumento do acesso a um arsenal terapêutico fitoterápico com inúmeras referências para diversas situações clínicas (AGRA; FREITAS; BARBOSA-FILHO, 2007; BIAVATTI *et al.*, 2007; CARLINI *et al.*, 2006; VENDRUSCOLO; RATES; MENTZ, 2005).

Apesar de todos os benefícios, os constituintes das plantas medicinais ainda estão sob “suspeita” por parte da comunidade médica, provavelmente, ainda, devido ao pouco conhecimento dos produtos e de potenciais riscos para a saúde (DASGUPTA; HAMMET-STABLER, 2011), uma vez que, o uso incorreto pode gerar o aparecimento de novas doenças ou agravar as já existentes (MACEDO; OSHIWA; GUARIDO, 2009). Estudos etnobotânicos revelam um número acentuado de espécies que são empregadas na terapêutica, isentas do

contexto da segurança farmacológica (SCARDELATO; LEGRAMANDZ; SACRAMENTO, 2013). A falta de informações adequadas sobre as propriedades das plantas medicinais, seu consumo concomitante com os medicamentos tradicionais (alopáticos) sem aviso ao médico e, finalmente, a perda do conhecimento sobre os efeitos medicinais e tóxicos das plantas, assim como a capacidade de identificá-las pela migração da população rural para as cidades são fatores preocupantes da automedicação (ALBUQUERQUE; HANAZAKI, 2006; VEIGA JUNIOR, 2008).

Nesse sentido o Governo Federal brasileiro, através do decreto nº. 5813 de 22 de junho de 2006 aprovou a política Nacional de plantas medicinais e fitoterápicos, buscando garantir a população brasileira o acesso seguro e o uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos, promovendo o uso sustentável, o desenvolvimento da cadeia produtiva e da indústria Nacional, sendo necessária a capacitação de profissionais envolvidos neste processo, como agrônomos, farmacêuticos e médicos (BRASIL, 2006).

Muitos foram os avanços nas últimas décadas com a formulação e implementação de políticas públicas, programas e legislação com vistas à valoração e valorização das plantas medicinais e derivados nos cuidados primários com a saúde e sua inserção na rede pública, assim como ao desenvolvimento da cadeia produtiva de plantas medicinais e fitoterápicos (RODRIGUES; SANTOS; DE SIMONI, 2011).

Os benefícios das plantas medicinais e de medicamentos fitoterápicos são reconhecidos em todo o mundo como elementos importantes na prevenção, promoção e recuperação da saúde. Para ampliar o acesso a esses medicamentos, o Ministério da Saúde disponibiliza a utilização de fitoterápicos na rede pública (BRASIL, 2012). Atualmente são 71 espécies que compõem o Rénisus em que são priorizadas a inclusão de plantas nativas, que possam ser cultivadas em pelo menos uma das regiões do país e que possam atender às doenças mais comuns nos brasileiros. Entre eles, estão a *Aloe vera* (Babosa) para o tratamento de psoríase e queimaduras, o *Salix Alba* (Salgueiro) contra dores lombares e a *Rhamnus purshiana* (Cáscara-sagrada) para prisão de ventre (BRASIL, 2012).

## 2.2 GÊNERO CAPSICUM

### 2.2.1 Origem, aspectos botânicos e distribuição geográfica

A palavra *Capsicum* tem origem na palavra grega “*kapto*”, que significa “*picar*”, e pimenta, no latim “*pigmentum*”, que significa “*corante*”. As pimentas e os pimentões *Capsicum*

pertencem a família das Solanaceae e são denominadas hortícolas para diferenciá-las de outras pimentas que, diferente das *Capsicum*, chegam a formar árvores de médio porte, como a pimenta-do-reino ou pimenta-preta (*Piper nigrum* L., da família Piperaceae). Embora todas sejam pimentas, nem todas têm parentesco e cada qual apresenta propriedades químicas distintas. Entre as *Capsicum*, os pimentões diferem das pimentas apenas por sua picância ou pungência reduzida que muitas vezes nem chega a ser notada (CARVALHO; WIEST; CRUZ, 2010; VILELA *et al.*, 2010).

De acordo com Bosland e Votava (2012) a mais recente descrição taxonômica das pimentas é que pertencem ao Reino Plantae, a Divisão Magnoliophyta, Classe Magnoliopsida, subclasse Asteridae, Ordem Solanales e Família Solanaceae e Gênero *Capsicum*.

São arbustos de baixo e médio porte originários das Américas. O número total de espécies de *Capsicum* spp. conhecidas até o momento são 35, distribuídas segundo o grau de domesticação: 5 domesticadas, 10 semi-domesticadas e 20 silvestres (PORTO; SILVA, 2013). Para Barbosa (2006), as espécies semi-domesticadas e as silvestres ainda são muito pouco estudadas apesar de sua importância genética no desenvolvimento de novos cultivares.

Em Roraima são encontradas as 4 espécies de *Capsicum* domesticadas, além de muitas variedades de pimentas consideradas silvestres que não possuem um estudo mais aprofundado de suas potencialidades (BARBOSA, 2006). As espécies domesticadas são: *C. annuum* var. *annuum*, *C. chinense*, *C. baccatum* var. *pendulum*, *C. frutescens* (LINS *et al.*, 2005).

*Capsicum annuum* var. *annuum* é uma espécie nativa do México, cuja variedade mais comum desta espécie é o pimentão (Figura 1). Ela inclui a maioria das pimentas mexicanas, pimentas quentes da África e Ásia, e muitas das cultivares de pimenta doce crescidas em países temperados. Pertencente à família das solanáceas está entre as cinco hortaliças com maior área cultivada no Brasil e no mundo (BARBOSA, 2006).

Figura 1 - Pimentão (*C. annuum var. annuum*)



Fonte: Costa, 2007.

*Capsicum baccatum* é uma espécie de pimenta, também chamada pimenta aji, originária do Peru da qual existem diversas variedades, em especial a pimenta dedo de moça (Figura 2). Esta espécie foi encontrada em Roraima e sua ocorrência abrange o noroeste da América do Sul, incluindo Colômbia, Equador, Peru e Bolívia, e sudoeste do Brasil (REIIFSCHNEIDER, 2000; NASCIMENTO FILHO; BARBOSA; LUZ, 2007).

Figura 2 - Pimenta dedo de moça (*C. baccatum*)



Fonte: a autora.

A *Capsicum chinense* destaca-se dentre as demais por ser a espécie domesticada mais importante na região Amazônica, (Figura 3). Elas destacam-se por apresentarem um alto teor

de substâncias bioativas, variando os níveis desses compostos de acordo com o genótipo estudado. Estas substâncias são poderosos antioxidantes, pois protegem o corpo humano dos efeitos deletérios dos radicais livres (BARBOSA, 2006; MACIEL; CARVALHO; POLTRONIERI, 2012).

Figura 3 - Pimenta canaimé (*C. chinense*)



Fonte: a autora.

A região Amazônica é reconhecida como importante centro secundário de espécies domesticadas do gênero *Capsicum* sendo *C. chinense*, provavelmente, a mais importante espécie cultivada a Leste dos Andes. A área de maior diversidade é a bacia Amazônica, sendo os indígenas desta região, os responsáveis pela domesticação da espécie (REIFSCHNEIDER, 2000). Por sua vez, Barbosa (2002) também aponta a Amazônia como provável centro de diversidade da espécie de pimenta *C. chinense* e Roraima como rico potencial de variedades de pimentas ainda pouco estudadas.

Uma representante da espécie *C. chinense* é a variedade *Trinidad Moruga Scorpion*, que apresenta pungência muito alta, cujo teor na Escala de Scoville chega a 5.000.000 de Scoville, tamanho seu grau de ardência (CEAGESP, 2015).

A *Capsicum frutescens* da família das Solanaceae é um pequeno arbusto nativo das regiões tropicais da América, sendo uma das pimentas mais conhecidas e utilizadas no Brasil, (Figura 4). Cultivada principalmente na Zona da Mata Mineira e no interior de São Paulo e Rio Grande do Sul (REIFSCHNEIDER, 2000). Dessa espécie a mais estudada é a malagueta e são estimadas por condimentar comidas e estimular o apetite. Devido à presença da *capsaicina*

(princípio ativo da pimenta) são acres e com alto grau de pungência, provocando localmente estímulo rápido e energético (BARBOSA, 2006).

Figura 4 - Pimenta malagueta (*C. frutescens*)



Fonte: a autora.

### 2.2.2 Diversidade genética

A diversidade de formas, tamanhos e cores dos frutos das espécies do gênero *Capsicum* está relacionada à variabilidade genética dessas plantas, o que permite a busca de novos tipos com variabilidade morfológica (NEITZKE *et al.*, 2014; RIBEIRO; REIFSCHNEIDER, 2008). Tal fato é relevante, uma vez que, o desenvolvimento de novos morfotipos de pimentas permite a expansão do cultivo em diferentes regiões, e ainda favorece o mercado da indústria alimentícia e farmacêutica para posterior desenvolvimento de novos produtos (POZZOBON *et al.*, 2015). Além disso, o melhoramento de plantas também visa o controle de pragas e doenças, as quais acometem partes das espécies (SOUZA, 2008).

Nos últimos anos, as pesquisas cresceram no intuito de obter novas coleções de acessos em banco de germoplasma para o referido gênero. Neste caso, o termo acesso pode ser definido como os diferentes morfotipos de uma determinada espécie a qual foi depositada em banco de germoplasma (NETTO, 2010). Este por sua vez, consiste em unidades conservadoras de material genético que utilizam os acessos com a finalidade de preservar, melhorar ou desenvolver novos morfotipos (BESPALHOK; GUERRA; OLIVEIRA, 2013).

A caracterização da composição química dos frutos de pimentas constitui uma importante etapa no trabalho de manutenção de uma coleção ou banco de germoplasma, pois permite indicar plantas com potencial de uso imediato pelos agricultores, bem como identificar

acessos ou genótipos que apresentam características interessantes para o melhoramento. Além de ser fundamental para o estabelecimento de formas de exploração econômica e racional (LACERDA *et al.*, 2001).

## 2.3 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS EM *CAPSICUM*

Diversas classes de metabólitos secundários são descritas na literatura para o gênero *Capsicum*, destacando-se os compostos fenólicos simples (MELLO *et al.*, 2011; MENICHINI *et al.*, 2009. MORESCO, 2013), os capsaicinoides (LOIZZO *et al.*, 2013; MORESCO, 2013), os flavonoides (MAHDAVIAM; GHORBANLI; KALANTARI, 2008) e os ácidos graxos (BORGES *et al.*, 2015) dentre outros.

### 2.3.1 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são definidos como uma classe de metabólitos secundários que apresentam pelo menos um grupo hidroxila ligado diretamente a um anel aromático (VERMERRIES; NICHOLSON, 2006). O padrão de substituição no anel aromático depende da origem biogenética, sendo proveniente de duas vias de formação: via do ácido chiquímico a partir de carboidratos ou via do acetato-polimalato, que se inicia com acetil coenzima A e malonil coenzima A (CARVALHO; GOSMANN; SCHENKEL, 2007). Somado a isso, os fenólicos podem ser classificados de acordo com o número de átomos de carbono na molécula (CARVALHO; GOSMANN; SCHENKEL, 2007).

Nos últimos anos, os compostos fenólicos estão sendo pesquisados em pimentas do gênero *Capsicum*, devido às propriedades farmacológicas dos frutos, principalmente pela atividade antioxidante e antimicrobiana (MATERSKA; PERUCKA, 2005; KAPPEL, 2007).

### 2.3.2 Flavonóides

Os flavonoides são um subgrupo de compostos fenólicos amplamente distribuídos no reino vegetal. Estes compostos apresentam uma variedade de funções destacando-se fatores relacionados ao estresse abióticos como a radiação UV-B (HARBORNE; WILLIAMS, 2000) e também na defesa contra herbívoros e agentes patogênicos. Ademais, os flavonoides estão

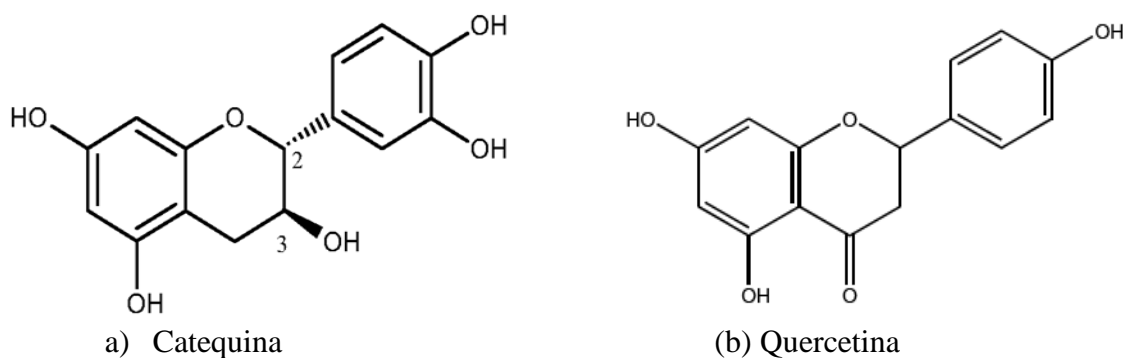


relacionados com a função de interação alelopáticas entre espécies vegetais (MONTANHA, 2007).

Os flavonoides são biossintetizados pela condensação do p-cumaroil-CoA com três moléculas de malonil-CoA, sendo reação catalisada pela enzima chalcona sintetase. A estrutura fundamental básica-b2-fenilcromano é posteriormente submetida a sucessivas reações, originando as diferentes classes de flavonoides (VERMERRIS, WILFRED.; NICHOLSON, RALPH, 2006).

Dentre as principais classes de flavonoides de interesse farmacêutico destacam-se: flavonas, flavonóis, isoflavonas, antocianinas (ANDERSEN; MARKHAM, 2006; ZUANAZZI; MONTANHA, 2007). Os principais flavonoides descritos em frutos do gênero *Capsicum* sp. são a quercetina, luteolina, apigenina, miricetina e catequina (Figura 5), ocorrendo variações de derivados glicosilados destas agliconas (BAE *et al.*, 2012)

Figura 5 - Estrutura química de alguns flavonóides presentes em pimentas



Fonte: Cerqueira; Medeiros; Augusto (2007).

### 2.3.3 Capsaicinoides

Os capsaicinoides correspondem a um grupo de moléculas da classe dos alcaloides exclusivamente presentes em frutos do gênero *Capsicum* (CHEN; KANG, 2013). Os capsaicinoides são considerados os compostos responsáveis pela característica de pungência dos frutos do gênero além de possuir importantes propriedades farmacológicas (THIELE; MUELLER-SEITZ; PETZ, 2008).

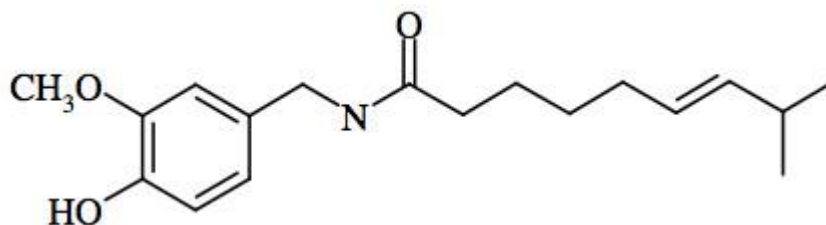
Dois compostos presentes nesse grupo, denominados capsaicina (trans-8-metil-N-vanilil-6-nonamida) (Figura 6) e a dihidrocapsaicina (8-metil-N-vanililnonamida), se destacam

uma vez que o teor estimado de sua composição nos frutos de pimentas do gênero *Capsicum* equivale a uma faixa que varia entre 77-98%. Além desses dois compostos majoritários, o grupo dos capsaicinoides dispõe de outros constituintes que estão presentes em menor proporção nas pimentas, como a nordihidrocapsaicina, homocapsaicina e homodihidrocapsaicina, entre outros (GIUFFRIDA *et al.*, 2013; HUANG *et al.*, 2013).

A biossíntese dos capsaicinoides provém da rota da síntese dos aminoácidos fenilalanina e valina por meio da via dos fenilpropanoides com o auxílio de enzimas distintas. Dessa forma, a estrutura química básica da referida classe corresponde a uma amida presente na estrutura básica da vanililamina combinada com ácido graxo saturado ou insaturado (AZA-GONZALEZ *et al.*, 2011).

Os diferentes capsaicinoides diferem entre si no comprimento da cadeia carbônica lateral alifática ligada à estrutura química principal, a presença ou ausência de uma ligação dupla, o ponto de ramificação da cadeia alifática e por fim a pungência relativa (AZA-GONZALEZ *et al.*, 2011).

Figura 6 - Estrutura química da capsaicina, principal capsaicinóide encontrado em pimentas (Capsaicina)



Fonte: Costa, 2007.

#### 2.3.4 Ácidos graxos

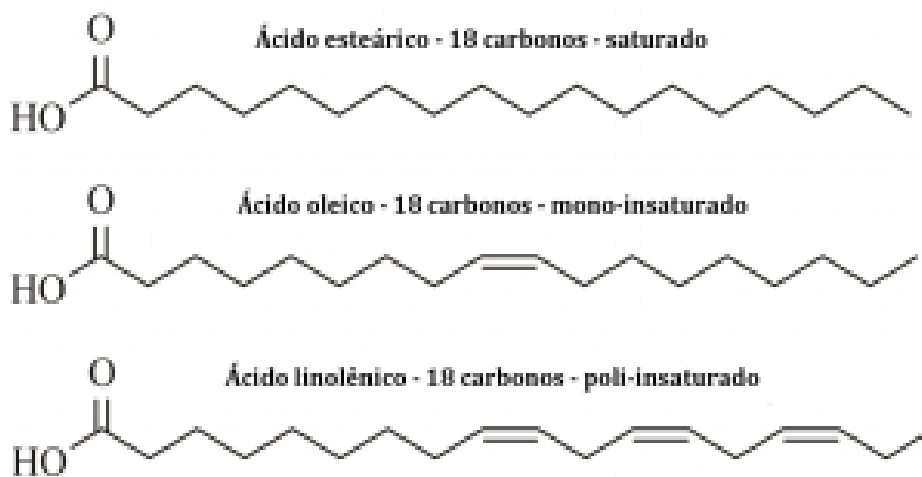
Os ácidos Graxos (AG) são comumente, nomeados na forma abreviada de acordo com suas estruturas químicas. São ácidos monocarboxílicos com cadeias hidrocarbonadas de 4 a 36 átomos de carbono, sendo uma das unidades fundamentais dos lipídios. Quanto à extensão da cadeia, os AG classificam-se em AG de cadeia curta com 4 a 8 átomos de carbono (gorduras de laticínios); cadeia média, de 8 a 12 carbonos (óleo de coco e de palmeira) e os de cadeia longa, mais de 12 átomos de carbono (muitos tipos de gorduras de origem animal). A presença ou não de duplas ligações na cadeia determina o grau de saturação do ácido graxo (OLIVEIRA; SANTOS; WILSON, 1982).

Os AG saturados não possuem nenhuma dupla ligação entre os átomos de carbono, os insaturados são classificados quando possuem uma ou mais duplas ligações dentro da cadeia, os monoinsaturados (MUFAs) são aqueles onde se encontra apenas uma dupla ligação e os poliinsaturados (PUFAs) contém duas ou mais duplas ligações (OLIVEIRA; SANTOS; WILSON, 1982). A Figura 7 apresenta estruturas químicas de ácidos graxos saturados e insaturados.

Os ácidos graxos se classificam em saturados e insaturados (FERREIRA *et al.*, 2012), representando compostos de importância farmacológica, pois participam de reações inflamatórias que podem estar relacionadas à resistência imunológica, distúrbios metabólicos e doenças neoplásicas (COSTA *et al.*, 2013).

Em Roraima, um dos primeiros estudos com a composição química dos frutos desse gênero foi realizado por Borges *et al.* (2015), no qual conduziram uma pesquisa com 06 variedades deste grupo, sendo identificada algumas propriedades morfoanatômicas e físico-químicas dos frutos e entre elas os ácidos graxos.

Figura 7 - Cadeias de ácidos graxos saturados e insaturados



Fonte: Farias (2013).

### 2.3.5 Atividade antioxidante em pimentas do gênero *Capsicum*

Estudos epidemiológicos apontam uma associação entre o consumo diário de compostos fenólicos com a diminuição da propensão do desenvolvimento de doenças cardíacas e câncer (MARIN *et al.*, 2004).

Além da relação da composição química dos compostos fenólicos com as propriedades antioxidantes, outros estudos abordam que esses metabólitos interagem com proteínas específicas da cascata de sinalização intracelular potencializando os mecanismos antioxidantes (BOGUSZ JR *et al.*, 2018).

Marteska e Perucka (2005) avaliaram a atividade antioxidante dos capsaicinoides em frutos verdes e vermelhos de diferentes cultivares do gênero *Capsicum*. Os resultados encontrados demonstraram um elevado potencial antioxidante para as pimentas, sendo que para todos os cultivares, o potencial antioxidante dos frutos maduros foi superior quando comparado aos frutos imaturos.

Somado a isso, já foi relatado na literatura que a referida atividade farmacológica da capsaicina é superior a dihidrocapsaicina. Assim a presença de uma dupla ligação na porção lipídica da estrutura dos capsaicinoides também parece relacionada com o aumento da função antioxidante dessa classe de compostos (OVANDO-MARTÍNEZ *et al.*, 2018).

Os compostos fenólicos não podem ser sintetizados naturalmente pelo corpo humano e dessa forma, devem ser ingeridos por meio da dieta. Assim, o conhecimento a respeito do papel nutricional e terapêutico dos antioxidantes fenólicos presentes em espécies vegetais é fundamental para o desenvolvimento de alimentos funcionais e de uma dieta que traga benefícios para a saúde humana (OVANDO-MARTÍNEZ *et al.*, 2018).

## 2.4 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA NA FLORA

À flora brasileira é dada atenção especial por pesquisadores e especialistas por ter material vegetal composto por substâncias com potencial químico o que contribui para os avanços científicos e tecnológicos (DEWICK, 2002). Essas substâncias são divididas em dois grupos: os metabólitos primários que consistem nas substâncias responsáveis pelo desenvolvimento do vegetal e sua reprodução, como as proteínas, os carboidratos, os lipídios e os ácidos nucleicos; e os metabólicos secundários que desempenham papel na defesa contra predadores (DEWICK, 2002). A produção dos metabólicos pelas plantas é sazonal, dependendo do período em que são coletados, influenciando na sua bioatividade (FIGUEIREDO, 2010; MATIAS *et al.*, 2016).

O Brasil detém mais de 20% de toda biodiversidade do planeta, com cerca de 200 mil espécies de animais, plantas e microrganismos registrados, podendo atingir 1,8 milhões de espécies a serem catalogadas (CALIXTO, 2005). Somente o bioma da Amazônia abriga grande parte da diversidade botânica, o que o torna importante como fonte de recursos naturais e matéria prima para produtos a serem utilizados desde a culinária, artesanato, para fins terapêuticos na medicina popular e farmacológica.

As aplicações dos metabólitos vão além de sua função nos vegetais, são utilizados pelo ser humano como agentes antimicrobianos (antifúngicos e antibacterianos), redutores do colesterol, imunossuppressores, antiparasitários, herbicidas, entre outros (VAISHNAV; DEMAIN, 2010).

De acordo com a Organização Mundial de Saúde, a causa dos 25% de mortes no mundo e 45% nos países menos desenvolvidos é devido as infecções (WHO, 2001). As doenças infecciosas causadas por bactérias são consideradas importantes por serem responsáveis pela morbidade e mortalidade, principalmente nos países que estão em desenvolvimento (BETONI *et al.*, 2006).

O surgimento de bactérias patogênicas resistentes aos diversos fármacos e o aumento de pacientes imunocomprometidos gerou grande preocupação e a busca por alternativas viáveis, de baixo custo e que fosse encontrada com facilidade na natureza. Como o homem já detinha um amplo conhecimento sobre plantas medicinais e outras utilizadas com finalidades terapêuticas, aproveitou-se dessa ferramenta e engrenou-se pela pesquisa tecnológica por princípios ativos que tivessem efeitos antibióticos na vasta diversidade botânica (OLIVEIRA; ARAÚJO, 2007).

Uma bactéria pode apresentar resistência natural a um antibiótico quando é dotada genes que codificam enzimas que inativam a ação do fármaco ou pode ter resistência adquirida por meio de processos genéticos como a mutação nos seus genes de defesa, tornando a bactéria resistente (TAVARES, 2016).

## **2.4.1 Microrganismos Patogênicos**

### **2.4.1.1 *Pseudomonas aeruginosa***

É um bacilo aeróbio Gram-negativo não fermentador de açúcar pertencente à família Pseudomonaceae. Trata-se de um patógeno oportunista presente em infecções hospitalares,

urinárias e sepse, estando mais suscetíveis pacientes com queimaduras, possui alta mortalidade podendo chegar a 33% em pacientes imunodeprimidos (MARRA *et al.*, 2006).

A infecção aguda por *P. aeruginosa* é causada pela produção de toxinas e infecção crônica pela ação da camada espessa que consiste no agregado chamado biofilme ou ainda em uma patologia resultante do somatório destes fatores de virulência. A espécie cresce facilmente em ambientes úmidos, em solos, água, plantas e animais, o que justifica a epidemiologia (BRITO *et al.*, 2000; ANDRADE *et al.*, 2002).

Essa bactéria pode apresentar resistência natural ou adquirida a grande número de antibióticos utilizados prescritos: resistência natural; à penicilina, ampicilina, cefalosporina de 1<sup>a</sup> e 2<sup>a</sup> gerações, sulfametoxazol-trimetropina, e adquirida a fluoroquinolonas, aminoglicosídeos, ticarcilina e piperacilina, cefalosporina de 3<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> gerações e carbapenêmicos, através mecanismos como: baixa permeabilidade da membrana externa, sistema de efluxo, produção de enzimas inativadoras de aminoglicosídeos, alteração do alvo das fluoroquinolonas e produção de  $\beta$ -lactamases (LI *et al.*, 1994; LEHMAN e THOMAS, 2007).

Os fármacos carbapenêmicos são utilizados no tratamento de infecções de isolados multirresistentes de *P. aeruginosa* e como último recurso nos casos de infecções hospitalares causadas por bactérias Gram-negativas resistentes aos demais betalactâmicos ou a outros antibacterianos (POIREL *et al.*, 2000).

#### 2.4.1.2 *Salmonella typhimurium*

*S. typhimurium* pertence ao grupo de bactérias que da família Enterobacteriaceae. São transmitidas por meio da ingestão de alimentos contaminados e pode provocar de intoxicação à febre tifoide. Seu nome tem como origem o cientista americano Salmon, o primeiro a descrever complicações causadas pelo micro-organismo.

A febre tifoide é uma doença infecciosa potencialmente grave causada pela bactéria *Salmonella enterica* sorovar Typhi (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2002; KONEMAN *et al.*, 2001). Caracteriza-se pela febre prolongada, cefaleia, mialgia, artralgia, anorexia, mal-estar geral, alterações do trânsito intestinal (diarreia ou constipação) e hepato e/ou esplenomegalia. Se não tratada, a doença pode resultar em complicações como perfuração intestinal, hemorragia

e confusão mental progressiva, podendo levar ao óbito (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2002; CHANH *et al.*, 2004).

A transmissão ocorre principalmente pela ingestão de água e alimentos contaminados com fezes ou urina de doentes ou portadores. Sua distribuição ocorre mundialmente com incidência mais frequente em países em desenvolvimento, onde as condições de saneamento básico e de educação sanitária e ambiental são precárias ou inexistentes (Ministério da Saúde, 2002; FICA *et al.*, 2001). A febre tifoide é tratada principalmente com cloranfenicol, mas outros antimicrobianos também são utilizados como a ampicilina, sulfametoxazol + trimetropina, amoxicilina, ácido nalidixico, ciprofloxacina, ofloxacina, ceftriaxona. Entretanto, diversas publicações têm informado acerca da resistência de amostras de *Salmonella Typhi* a altas concentrações de cloranfenicol em diversos países da Ásia e África, em proporções elevadas na Índia e na Nigéria com percentuais de 20% e 25%, respectivamente.

Também foram descritos isolados esporádicos de *Salmonella Typhi* e *Salmonella Paratyphi* resistentes à ceftriaxona e ao ácido nalidíxico, e com baixa suscetibilidade às fluoroquinolonas (ciprofloxacina) em outras partes do mundo como México, Índia, Vietnã, Tailândia, Coreia e Peru (RAMOS *et al.*, 1998).

#### 2.4.1.3 *Citrobacter freundii*

Ao gênero *Citrobacter*, pertencem 11 espécies e todas podem ser encontradas em locais diversos, na água, solo, alimentos, bem como no trato intestinal do homem e de outros animais. As espécies patogênicas oportunistas produzem infecções urinárias, do trato respiratório e em feridas principalmente nos adultos acima de 65 anos (PETRELLA *et al.*, 2006).

Bactérias pertencentes ao grupo das *Citrobacter* normalmente apresentam resistência à ampicilina e cefalosporinas de primeira geração. (PETRELLA *et al.*, 2006). Assim como as demais espécies conhecidas como superbactérias, *C. freundii* vem sendo motivo de estudos pela resistência apresentada aos antibióticos o que coloca em risco a saúde do ser humano e de animais.

#### 2.4.1.4 *Staphylococcus aureus*

Atualmente, o gênero *Staphylococcus* pertence à família Micrococcaceae, possui 33 espécies, sendo que 17 delas podem ser isoladas de amostras biológicas humanas.

*S. aureus* é considerada a principal espécie do gênero, tem forma esférica (são cocos), cerca de 1µm de diâmetro, e formam grupos com aspecto de cachos de uvas. Importante patógeno envolvido na etiologia das infecções humanas, sendo encontrado como parte da microbiota normal, nas fossas nasais, virilha e axilas. Dentre as infecções as quais a espécie é responsável, estão aquelas que assumem grande importância pela gravidade, as que causam pneumonia, endocardites e sepsis (MENEGOTTO; PICOLI, 2007).

A sensibilidade de *S. aureus* varia quanto aos antimicrobianos de amplo espectro de ação como a vancomicina (VISA) e a meticilina/oxacilina (MRSA/ORSA). Essa espécie é resistente a MRSA/ORSA e à maioria dos antimicrobianos com atividade antiestafilocócica disponíveis, como aminoglicosídeos, cloranfenicol, lincosamídeos, macrolídeos, quinolonas e tetraciclina (OLIVEIRA *et al.*, 2000). Geralmente também apresentam resistência a fluoquinolonas, lincosamidas e macrolídeos (HIRAMATSU, 1997).

A resistência à vancomicina está associada a uma ativação da síntese da parede celular, com a produção elevada de resíduos de mucopeptídeo, reduzindo a quantidade de antibiótico que chega a membrana plasmática (BOYLE-VAVRA *et al.* 2001).

#### 2.4.1.5 *Listeria monocytogenes*

A principal via de transmissão dessa bactéria patogênica para humanos é através do consumo de alimentos contaminados, causando a listeriose (ALLERBERGER; WAGNER, 2010). A listeriose apresenta uma baixa incidência, mas pode ser letal em surtos, atingindo 25% de taxa e ultrapassa os 95% em hospitalização (PAINTER *et al.*, 2013; DE NOORDHOUT *et al.*, 2014).

Este microrganismo acomete principalmente mulheres grávidas, recém-nascidos, idosos gestantes, neonatos e indivíduos imunocomprometidos. Em casos mais graves, pode causar septicemia, meningite e abortos listéricos já que tem a capacidade de atingir diversos órgãos como o sistema nervoso central e a placenta. Apesar de raro, trata-se de um patógeno emergente de relevante importância para a saúde pública por levar o paciente a morte (MANTILLA *et al.*, 2007; EMBRAPA, 2009).



*L. monocytogenes* pode se multiplicar em uma ampla faixa de pH (4,1–9,6), baixa atividade de água, alta concentração salina (10%) e sob temperaturas de refrigeração (PAUL *et al.*, 2014).

#### 2.4.1.6 *Bacillus Cereus*

*Bacillus cereus* é um gram-positivo, facultativamente aeróbico, um formador de esporos, produtor de dois tipos de toxina-diarreica (termo-lábil) e emética (termo-estável). É conhecida por causar intoxicações alimentares em todo mundo, provocando diarreia e vômito. Dores abdominais e/ou diarreia podem estar associadas. Pode ser encontrada frequentemente no solo e no meio ambiente, e com baixos níveis em alimentos crus, secos ou processados. Casos ou surtos devem ter notificação imediata às autoridades de vigilância epidemiológica municipal, regional ou central para investigação das fontes comuns e o controle da transmissão através de medidas preventivas (SILVA *et al.*, 2018)

#### 2.4.1.7 *Candida albicans*

Espécies do gênero *Candida* são microrganismos comensais, que fazem parte da microbiota de pessoas híginas. Frequentes no hospedeiro humano, se apresenta em cerca de 20 a 80% do trato gastrointestinal da população adulta saudável. A colonização da mucosa bucal ocorre entre 20 a 40% das pessoas e entre as mulheres em 20 a 30% na região vaginal (BARBEDO; SGARBI, 2010).

As infecções causadas por *Candida* são denominadas candidíase ou candidose, sendo consideradas doenças oportunistas que variam desde superficiais até invasivas e podem ocorrer com evolução aguda ou crônica (BARBEDO; SGARBI, 2010). As manifestações clínicas na pele e mucosas tendem a ser mais brandas e frequentes enquanto que as manifestações da candidíase vulvovaginal aparecem em aproximadamente 75% das mulheres em idade reprodutiva (HOFS *et al.* 2016). A forma mais grave da doença é denominada candidemia, sendo caracterizada devido a capacidade de disseminação do fungo através da corrente sanguínea para diferentes sítios anatômicos caracterizando uma infecção sistêmica ((HOFS *et al.* 2016; MCCARTY, PAPPAS 2016).

As leveduras do gênero *Candida* estão entre os principais agentes etiológicos de infecções fúngicas invasivas, as quais são responsáveis por elevados índices de mortalidade e morbidade em todo o mundo (SARIGUZEL *et al.* 2015; MCCARTY, PAPPAS 2016).

*Candida albicans* é a espécie predominantemente relacionada aos quadros clínicos de candidíase tanto superficiais quanto invasivos. A frequência de isolamento dessa espécie nos casos de infecções hematogênicas é de aproximadamente 40% em países da América Latina e de até 70% em alguns países da Europa. Embora *C. albicans* seja a mais comum, espécies não-albicans como: *C. tropicalis*, *C. glabrata* e *C. parapsilosis* têm emergido como patógenos clinicamente importantes (SARIGUZEL *et al.*, 2015)

Espécies de *Candida* podem desenvolver diferentes mecanismos de resistência aos principais antifúngicos disponíveis para uso clínico, essa resistência pode ser classificada em intrínseca (natural) ou adquirida (secundária) (SANGLARD; COSTE, 2016).

O tratamento de Candidíase pode apresentar efeitos adversos como toxicidade e interações medicamentosas ocasionadas pelos fármacos, além de algumas espécies apresentarem resistência intrínseca aos principais antifúngicos (BAILLY *et al.*, 2016). Desta forma, vê-se a necessidade de estudos de bioprospecção de compostos ou substâncias que possam substituir ou atuar em combinação com os antifúngicos já existentes como meios de atenuar os efeitos colaterais e que sejam mais efetivos no tratamento de doenças causadas por agentes fúngicos (BAILLY *et al.*, 2016).

## 2.5 DOENÇAS NEURODEGENETARIVAS-ALZHEIMER

A doença neurodegenerativa é um termo genérico aplicado a uma variedade de condições decorrentes de um colapso crônico e deterioração do sistema nervoso central (SNC) neurônios. Entre as numerosas variantes da degeneração demência, a doença de Alzheimer é de longe a mais prevalente, afetando mais de 20 milhões de pessoas no mundo (BONESI *et al.*, 2010).

A doença de Alzheimer é a patologia neurodegenerativa mais frequente associada à idade, cujas manifestações cognitivas e neuropsiquiátricas resultam em deficiência progressiva e incapacitação. A doença afeta aproximadamente 10% dos indivíduos com idade superior a 60 anos e 40% acima de 80 anos. Estima-se que, em 2050, mais de 25% da população mundial

será idosa, aumentando, assim, a prevalência da doença. O sintoma inicial da doença é caracterizado pela perda progressiva da memória recente. Com a evolução da patologia, outras alterações ocorrem na memória e na cognição, entre elas as deficiências de linguagem e nas funções visuo-espaciais. Esses sintomas são frequentemente acompanhados por distúrbios comportamentais, incluindo agressividade, depressão e alucinações (SERENIKI; VITAL, 2008).

A doença de Alzheimer caracteriza-se, histopatologicamente, pela maciça perda sináptica e pela morte neuronal observada nas regiões cerebrais responsáveis pelas funções cognitivas, incluindo o córtex cerebral, o hipocampo, o córtex entorrinal e o estriado ventral (SELKOE, 2001). Apesar da natureza multifatorial da doença de Alzheimer, apenas uma abordagem terapêutica é atualmente seguida. Esta estratégia baseia-se na chamada hipótese colinérgica do conhecimento da disfunção motora (HODGES, 2006)

Esta hipótese postula que pelo menos parte do declínio cognitivo experimentado por pacientes de com doença de Alzheimer resulta de uma deficiência no acetil neurotransmissor colina (ACh) e, portanto, na neurotransmissão colinérgica em regiões corticais ou hipocampais do cérebro, o que parece, desempenhar um papel fundamental na memória (BONESI *et al.*, 2010). Além disso, na fase tardia da doença de Alzheimer, os níveis de acetilcolinesterase (AChE) diminuiu em até 85% e a butirilcolinesterase (BChE) representa a colinesterase predominante no cérebro, principalmente associada a células gliais (LOIZZO *et al.*, 2008)

Estudos têm como alvo a BChE como uma nova abordagem para interceder na progressão da doença de Alzheimer e assim, restaurar o nível de ACh através da inibição de as duas principais formas de colinesterase, AChE e BChE, continua sendo uma abordagem terapêutica útil para tratar não apenas doença de Alzheimer, mas também outras formas de demência (BONESI *et al.*, 2010).

O uso potencial de produtos naturais tem sido demonstrado com sucesso no campo da doença de Alzheimer, entre fontes naturais, os óleos essenciais estão atraindo atenção. De fato, os resultados de diferentes estudos recentes indicam que vários óleos essenciais de culturas alimentares e plantas medicinais tem demonstrado significantivamente atividade inibitória anti-colinesterase (HOUGHTON *et al.*, 2006).

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar as propriedades farmacológicas a partir de testes microbiológicos e químicos em extratos da espécie *Capsicum chinense*.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o potencial antimicrobiano do extrato hexânico de *C. chinense* sobre bactérias gram negativas e gram positivas, como também sobre o fungo do tipo levedura *Candida albicans*.
- Quantificar os compostos fenólicos em extrato metanólico de *C. chinense*.
- Quantificar potencial antioxidante em extrato metanólico de *C. chinense*.
- Verificar a atividade inibitória sobre a enzima acetilcolinesterase do extrato hexânico de *C. chinense*.

#### 4 JUSTIFICATIVA

Este estudo buscou dar continuidade ao trabalho de investigação da ocorrência do gênero *Capsicum* no Estado de Roraima realizado por BARBOSA *et al.* (2006) e as análises laboratoriais físico-químicas de BORGES *et al.* (2015).

Segundo Luz (2007) e Barbosa *et al.* (2002) existe em Roraima muitas variedades de pimentas, em especial a espécie *Capsicum chinense*. A domesticação e a inserção de novas espécies da planta pela população migrante fizeram com que houvesse a presença de vários morfotipos de pimentas no estado. A variedade de cores, formato, níveis de pungência e arquitetura de plantas observadas com os diferentes morfotipos de *C. chinense* encontrados em Roraima, já por si só, demonstram haver uma variabilidade genética alta.

Estudos etnobotânicos sobre uso popular das pimentas com fins medicinais são muitos. Na Amazônia brasileira, dentro da tradição de uso de plantas para a cura de diversas doenças, enfatizada por Moraes (1931), o conhecimento sobre a aplicação terapêutica das espécies de *Capsicum* tem sido, de igual modo, documentado. No estudo de Furtado (1978), entre pescadores do litoral paraense, encontra-se citado o emprego da planta para o amadurecimento de tumores.

Em Roraima, registra-se seu uso no tratamento de ‘pano-branco’, conforme notas de Berg e Silva (1988). Quilombolas do Amapá conhecem modos de aproveitar as pimentas para aliviar cólicas menstruais e de crianças e para os casos de dores reumáticas e problemas intestinais, conforme Pereira (2007). Entre índios Yanomami, os estudos de Milliken e Albert (1997) e de Milliken *et al.*, (1999) registram o emprego dessas solanáceas para tratar infecções respiratórias, oftalmias e malária. Documenta-se, ainda, seu aproveitamento na composição de banhos pós-parto por mulheres caboclas do baixo Amazonas (AMOROZO *et al.*, 1988) e por índias do alto rio Negro (RIBEIRO, 1990).

De acordo com um levantamento de campo realizado com alunos da UFRR e feirantes locais, a pimenta além de ser empregada no preparo de comidas é também usada como planta medicinal pela população do estado. Entre os relatos, está o uso da pimenta malagueta em banhos para tratar de enxaqueca, febre e gripe. E ainda a utilização da folha da pimenta malagueta para tratar de tumores na região das axilas (MORAIS, 2015).

Uma variedade de pimenta popularmente conhecida como *Canaimé* e comercializadas nas feiras livres do estado é usada com fins anti-inflamatórios pela comunidade em geral. Para

isso, macera-se a folha da pimenta e usa-a no tratamento de espinhas. O fruto macerado com alho e gengibre serve para tratar de reumatismos. Segundo os alunos da UFRR, as pimentas locais são utilizadas para tratar de dores de dente ou ainda para escova-los auxiliando na prevenção de doenças dentárias (MORAIS, 2015).

Dessa maneira, a pesquisa propôs analisar por meio de bioensaios e testes químicos a bioprospecção de uma espécie de pimenta amplamente consumida pela população roraimense e discutir as suas aplicações na área farmacológicas. Relacionando as substâncias provenientes do metabolismo secundário das pimentas e os efeitos biológicos dos extratos hexânicos e metanólicos no controle de microorganismos causadores doenças, quantificação de fenóis totais, potencial antioxidante e como inibidora da enzima acetilcolinesterase.

## 5 MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1 COLETA DAS AMOSTRAS DOS FRUTOS DE *CAPSICUM CHINENSE* E PROCESSAMENTO DO MATERIAL VEGETAL

Amostras de pimentas do gênero *C. chinense* (Figura 8) foram adquiridas na feira do produtor Rural, bairro: São Vicente, localizada em Boa Vista, estado Roraima- Brasil.

Figura 8 - *Capsicum chinense*: pimentas adquiridas na feira do produtor rural conhecida como pimenta “canaimé”



Fonte: a autora.

No laboratório de química ambiental da UFRR separou-se todo material de acordo com o seu estado de conservação e maturação para os ensaios laboratoriais. Em seguida nas amostras selecionadas procedeu-se a extração das sementes para semeadura em adubo orgânico em casa de vegetação do Centro de Ciências Agrárias-UFRR (Figura 9). Realizou-se o acompanhamento do crescimento da planta até idade adulta, para fins de catalogação botânica (Figura 10).

Figura 9 - *Capsicum chinense*: casa de vegetação no Centro de Ciências Agrárias/CCA-UFRR



Fonte: a autora.

Ao final do experimento houve o preparo de *exsicatas* a partir de amostras botânicas com estruturas reprodutivas que foram depositadas no herbário da UFRR. A confirmação botânica foi realizada e originou número de tombo UFRR/8989. Além disso a pesquisa foi cadastrada no SISGEN sob número A0A7235.

Figura 10 - *Capsicum chinense*: planta na idade adulta com flores, folha e fruto maduro



Fonte: a autora.



## 5.2 PREPARAÇÃO E SECAGEM DO MATERIAL VEGETAL

Para a secagem do material, os frutos foram previamente higienizados com um pano embebido com água morna de forma a limpar toda sua superfície externa. Em seguida procedeu-se a pesagem para obtenção da massa inicial e logo em seguida esse material foi levado a estufa de ventilação forçada a 65 °C por 72 h até biomassa constante para estabilização dos compostos e retirada da umidade conforme metodologia descrita por Silva e Queiroz (2002).

## 5.3 PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS BRUTOS

### 5.3.1 Extração com solvente hexano

Os extratos foram preparados a partir dos frutos da planta através de extração contínua em aparelho Soxhlet (Figura 11), no Laboratório de química ambiental da Universidade Federal de Roraima-UFRR, por extração contínua de 6 horas cada, utilizando 500 mL do solvente hexano. A extração foi feita em triplicata e após o término das extrações, as amostras foram reservadas em balões volumétricos de vidro devidamente etiquetados e identificados.

Figura 11 - Aparelho de Soxhlet: Laboratório de Química Ambiental da Universidade Federal de Roraima-UFRR



Fonte: a autora.

### 5.3.2 Rotaevaporação dos extratos

Após a produção dos extratos, os mesmos foram submetidos a um processo de rotaevaporação, com o objetivo de concentrá-los (SIMÕES, 2001). Para este procedimento foi utilizado um aparelho rotaevaporador que funciona através da produção de vácuo e banho de aquecimento (Figura 12). A partir do vácuo produzido por movimentos rotatórios, ocorreu a separação do extrato dos frutos da planta e do solvente, o qual foi recuperado a partir deste mesmo processo e foi reutilizado pelo laboratório após processo de destilação.

Figura 12 - Rotoevaporador: laboratório de Química Ambiental da Universidade Federal de Roraima-UFRR



Fonte: a autora.

### 5.3.3 Acondicionamento dos extratos concentrados

Os extratos já concentrados por rotaevaporação foram transferidos para frascos de vidros etiquetados e com pesos previamente determinados em balança analítica e posteriormente foram armazenados aguardando o momento das análises (Figura 13).

Figura 13 - Extratos hexânicos concentrados e separados em triplicata



Fonte: a autora.

## 5.4 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

### 5.4.1 Microrganismos

Os microrganismos testados foram cepas padrão ATCC (*American Type Culture Collection*) adquiridas e realizadas no Laboratório de Biotecnologia e Bioensaios do Departamento de Química da Universidade Federal de Minas Gerais. Foram utilizadas as seguintes cepas de bactérias: *Listeria monocytogenes*, *Bacilo cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Citrobacter freundii* e um representante fúngico (levedura) *Candida albicans*. O antibiótico Ampicilina e o antifúngico nistatina foi utilizado como controle a uma concentração de  $12,5 \text{ mg.mL}^{-1}$ .

### 5.4.2 Ensaios farmacológicos *in vitro* (bioensaio)

#### 5.4.2.1 Atividade Antibacteriana

- Preparo do meio de cultivo BHI (Brain Heart Infusion):

Pesaram-se 3,4 g de BHI e dissolve-o em 200 mL de água destilada. Homogeneizou-se a solução e em seguida foi levada para a autoclave por 15 min a  $121 \text{ }^\circ\text{C}$ .

- Preparo do inóculo:

Um pré-inóculo foi preparado em tubos de ensaios adicionando 3,0 mL de solução BHI e 100  $\mu\text{L}$  de bactéria. Os tubos de ensaios contendo as bactérias foram incubados em estufa a 37°C por 24 horas. Em seguida com o auxílio de uma micropipeta foram adicionados 500  $\mu\text{L}$  de pré-inóculo bacteriano para um erlenmeyer contendo aproximadamente 40 mL de água destilada esterelizada. O inóculo foi padronizado em espectrofotômetro a 600 nm, no intervalo de transmitância de 74-75% indicado para bactérias.

- Preparo das amostras:

Aproximadamente 10 mg de extrato foram pesados e em seguida solubilizada em 200  $\mu\text{L}$  de DMSO, resultando em uma solução com concentração de 50  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ . Após a solução foi homogeneizada em misturador vortex. Em seguida um volume de 20  $\mu\text{L}$  da solução foi adicionado em eppendorf contendo 1980  $\mu\text{L}$  de solução BHI, obtendo assim a solução trabalho com concentração final de 250  $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$ .

- Teste de atividade antibacteriana:

Os ensaios foram realizados em placa ELISA de 96 microcavidades em duplicata. As diluições foram iniciadas adicionando 100  $\mu\text{L}$  de meio BHI e 100  $\mu\text{L}$  de solução-trabalho nos primeiros poços. A solução é então, homogeneizada e 100  $\mu\text{L}$  são transferidos para o próximo poço e assim sucessivamente. Os 100  $\mu\text{L}$  restantes são desprezados. Então ao final da microdiluição são adicionados 100  $\mu\text{L}$  de inóculo em cada um das 96 microcavidades. Ao final teremos oito concentrações: 250; 125; 62,5; 31,3; 15,6; 7,8; 3,9; 1,95  $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$ . As placas de controle foram realizadas da mesma maneira do ensaio:

- Controle de qualidade do ensaio → substitui a solução-trabalho pelo antibiótico:

- ✓ 100  $\mu\text{L}$  de solução Ampicilina (12,5  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ );
- ✓ 100  $\mu\text{L}$  de inóculo.

- Branco → não se adiciona o inóculo:
  - ✓ 100 µL de solução da solução-trabalho (250 µL.mL<sup>-1</sup>);
  - ✓ 100 µL de água destilada estéril.
  
- Controle do crescimento bacteriano → verifica-se a viabilidade celular:
  - ✓ 100 µL de meio BHI;
  - ✓ 100 µL de inóculo.
  
- Controle de esterilidade do meio de cultura:
  - ✓ 100 µL de meio BHI;
  - ✓ 100 µL de água destilada estéril.

As microplacas foram homogeneizadas por 5 min e incubadas em estufa a 37°C por 24 horas. A leitura foi realizada em espectrofotômetro de placa Elisa em 492nm. Os dados foram processados através do método de Outlier, teste de Grubbs com 95% de confiança. Os ensaios foram baseados na metodologia (ZACCHINO; GUPTA, 2007).

#### 5.4.2.2 Atividade Antifúngica

Utilizou-se dimetilsulfóxido como solvente para o preparo das amostras e o antifúngico nistatina foi utilizado como controle. A concentração das amostras no teste foi de 250 µg/mL. Como meio utilizado para o crescimento dos micro-organismos, caldo Sabouraud, cuja concentração da suspensão de esporos foi 5 x 10<sup>-5</sup> esporos/mL e tempo de incubação das amostras por 48 h. Os demais testes procederam-se como descrito no item 5.4.2.1.

### 5.5 DETERMINAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

Extratos metanólicos (4,0 g) preparados com pimentas previamente liofilizadas foram misturados com 35 mL de metanol a 80% (v/v) acidificado com 0,5% (v/v) de ácido clorídrico em tubos de falcão e, posteriormente, a mistura foi colocada em Banho de água a ferver durante 30 minutos. O sobrenadante foi separado e o material remanescente foi e tratado novamente

com as mesmas condições que acima. As frações de metanol foram então recolhidas e centrifugadas a 6000 rpm durante 30 minutos. O material resultante foi colocado em frascos de vidro âmbar e armazenado no refrigerador a 2 ° C até a análise. Segundo Singleton et al. (1999), para fazer as leituras, utilizou-se ácido gálico (GA) como padrão de referência, utilizando o espectrofotômetro Shimadzu UV-1800. O método envolve a redução do reagente de Folin Ciocalteu quando compostos fenólicos estão presentes na amostra com formação de um complexo com cor azul. Uma alicota dos extractos de metanol (0,1 mL) foi transferida para um tubo de ensaio de 10 mL e foram adicionados 3 mL de água destilada, seguidos por 0,25 mL de reagente de Folin Ciocalteu. A mistura foi deixada em repouso durante 3 minutos e finalmente foram adicionados 2 mL de uma solução de carbonato de sódio a 7,5% (p/v). Um teste em branco também foi utilizado nas mesmas condições, em que 0,1 mL de água destilada foi usada em vez das amostras. Eles foram incubados em banho-maria a 37 ° C por meia hora e as leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 765 nm. A quantificação dos fenóis totais nos extratos foi expressa em mg GA/100 g de amostra.

## 5.6 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A determinação da atividade antioxidante no extrato metanólico foi avaliada por um método de absorção que monitora a extinção do radical 1,1-difenil-2-picril-hidrazil (DDPH). O método DDPH foi desenvolvido usando espectrofotometria de absorção molecular ultravioleta visível medida a 515 nm (Miranda & Fraga, 2006) no espectrômetro modelo Shimadzu UV-1800. A técnica consiste em preparar uma incubação de 300 µL do extrato metanólico com 2,7 mL da solução de 0,06 mM de DPPH, deixando por 60 minutos em incubação e obscurecendo para posterior leitura em 515 nm. A curva de calibração foi feita preparando padrões diluídos a partir da concentração de estoque de 60 mM na faixa de 10-50 mM e, ao mesmo tempo, um branco foi feito com metanol.

## 5.7 INIBIÇÃO DA ACETILCOLINESTERASE (ACHE)

Alíquotas de uma solução de trabalho (25 µL) (amostra de DMSO 10 mg mL<sup>-1</sup>) foram adicionadas aos poços da microplaca e controles positivos e negativos também foram preparados. Aos cinco primeiros poços de uma coluna (controle positivo) foram adicionados 25 µL de uma solução de eserina e galantamina preparada a 10 mg mL<sup>-1</sup> (31 mM, 2,7 mM em

toda a mistura de reação 275  $\mu\text{L}$ ) em Tris / HCl em pH 8,0). Em seguida, 25  $\mu\text{l}$  de iodeto de acetilcolina 15 mM (ATChI, Sigma A5751); (DTNB, Sigma D8130) (3 mM) e 50  $\mu\text{l}$  de Tris/HCl (50 mM, pH 8) contendo albumina de soro bovino a 0,1% (m/v) foram adicionados a cada poço. A absorvância foi medida a 405 nm a cada 1 min por 8 vezes. Em seguida, 25  $\mu\text{l}$  ( $0,226 \text{ U mL}^{-1}$ ) de enguia AChE (tipo VI-S) fornecidos pela Sigma (C3389-500UN) em Tris / HCl foram adicionados a cada poço. A absorvância foi medida a 405 nm por 10 vezes (ELLMAN *et al.*, 1961; DOMINGUETE & TAKAHASHI, 2018).

## 6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 6.1 BACTÉRIAS

Tabela 1 - Inibição de bactérias gram (+) pelo o extrato hexânico de *Capsicum chinense*

(%) de inibição do extrato sobre as bactérias						
Concentração (µg mL <sup>-1</sup> )	<i>S. aureus</i>	Ampicillina (%)	<i>L. monocytogenes</i>	Ampicillina (%)	<i>B. cereus</i>	Ampicillina (%)
250	13,71	84,89	92,00	95,00	57,00	93,00
125	43,06	83,92	100,0	96,00	17,70	90,00
62,5	10,02	84,95	100,0	96,00	11,03	94,00
31,85	8,50	91,44	54,00	97,00	6,98	93,00
15,625	-	94,24	40,00	96,00	-	93,70
9,375	-	95,87	-	63,00	-	83,90
3,90625	-	82,00	-	-	-	97,00
1,95	-	-	-	-	-	-

Legenda:

-: Nenhuma inibição conhecida.

Tabela 2 - Inibição de bactérias gram (-) pelo o extrato hexânico de *Capsicum chinense*

(%) de inibição do extrato sobre as bactérias						
Concentração (µg mL <sup>-1</sup> )	<i>C. freundii</i>	Ampicillina (%)	<i>S. typhimurium</i>	Ampicillina (%)	<i>P. aureginosa</i>	Ampicillina (%)
250	83,00	94,00	97,80	100,0	100,0	95,00
125	49,00	95,00	90,03	97,00	90,00	96,00
62,5	42,00	96,00	91,18	95,00	100,0	97,00
31,85	60,00	95,00	53,45	79,00	47,00	97,00
15,625	-	80,00	55,30	30,00	43,00	95,00
9,375	-	-	29,70	20,00	39,87	58,00
3,90625	-	-	84,70	30,00	57,42	-
1,95	-	-	-	-	-	-

Legenda:

-: Nenhuma inibição conhecida.

Bactérias Gram (+) e gram (-) (Tabela 1 e 2) as cepas bacterianas foram inibidas no ensaio mostrando atividade para o extrato hexânico de *C. chinense*. Os valores das concentrações dos extratos variaram de 1,95 µg ml<sup>-1</sup> a 250 µg ml<sup>-1</sup>, e potencialmente alguns resultados foram muito satisfatórios nesse bioensaio. A ampicilina foi usada como controle, de uso clínico padrão de antibióticos, foi muito eficiente nas concentrações mostradas.

O teste de atividade contra *S. typhimurium*, *P. aureginosa*, *L. monocytogenes*, mostrou inibição notável em quase todas as concentrações dos extratos. Entretanto, *S. aureus*, *C. freundii* e *B. cereus* demonstraram pouca inibição ou nenhuma na maioria das concentrações testadas com os extratos. A atividade antibacteriana contra *S. typhimurium* foi maior. Utilizando 250 mg



L-1 de extrato, a extensão de inibição atingiu 97% e na menor concentração testada (3,90625 mg L<sup>-1</sup>) o nível de inibição foi bastante elevado (84%). A *S. typhimurium* é uma bactéria Gram (-) que pode causar diarreia, febre intensa e até mesmo a morte. Ela é transmitida principalmente por contaminação fecal-oral, muito comum em países sem saneamento básico, bem como o manuseio inadequado de alimentos (Moura et al., 2012; Butler, 2011). A atividade do extrato contra *S. aureus* não foi satisfatória, pois observou-se menos de 40% de inibição em quase todas as concentrações utilizadas. Da mesma forma, a inibição de *C. freundii* e *B. cereus* foi inferior a 50% na maioria das concentrações testadas. A baixa inibição do extrato de *C. chinense*, em relação a algumas cepas bacterianas e alta inibição contra outras é indicativa de um mecanismo de ação seletiva, que merece maior investigação. *S. aureus* e *C. freundii* são bactérias Gram (+) que também causam graves problemas de saúde para os seres humanos (Evans et al., 2014; Sung et al., 2008). A OMS (Organização Mundial da Saúde) (2014) apontou que existe uma preocupação global sobre o uso indiscriminado de antibióticos, porque isso faz com que bactérias desenvolvam resistência aos medicamentos atuais. Assim, é necessário procurar novos medicamentos que atendam a essa necessidade.

O efeito antimicrobiano de frutos de *Capsicum* tem sido verificado em outras pesquisas como demonstrado na revisão de Fontoura et al. (2017) ao descrever 74 espécies vegetais brasileiras. Nela, são apresentados resultados para *C. annum*, *C. baccatum* e *C. frutescens* ao se analisar os efeitos de extratos hidroalcoólicos por suspensão, cuja eficácia foi constatada para as bactérias: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus mutans*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa*.

A pimenta malagueta, *C. frutescens* apresenta o maior número de trabalhos na literatura quanto a ação microbiológica, provavelmente por ser uma das mais difundidas e apreciadas no mercado consumidor. Em extratos da espécie *C. frutescens* foi observado por Barbosa (2012) a inibição de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Salmonella typhimurium*.

Ensaio realizados com extratos de espécies do gênero *Capsicum*: *C. frutescens*, *C. annum* e *C. baccatum* e linhagens bacterianas de *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis*, mostram que *C. frutescens* apresentou melhor eficácia bacteriana (CARVALHO et al, 2010).

Ao se classificar extratos de diferentes espécies de acordo com seu efeito bacteriostático ou bactericida, verificou-se que a pimenta malagueta mostrou ação bactericida, assim como o alho nirá, alho porró, mangerona preta e sálvia, por inativar a bactéria *S. enteritidis*. As pimentas calabresa e dedo-de-moça, bem como o estragão não promoveram o efeito inibidor, mostrando ação bacteriostática. A *E. coli* também teve inibição por *C. frutescens*, bem como os extratos de alho nirá, alho porró e sálvia. *E. faecalis* e *S. aureus* não foram inibidas por *C. frutescens*. A inibição foi maior que a inativação dessas bactérias (CARVALHO *et al.*, 2005).

Três espécies da família Solanaceae foram citadas por Fontoura *et al.* (2017), testando-se extratos de folhas de *Solanum mauritanum* (fumo-brabo) e de *Solanum sisymbriifolium* (Mata-Cavalo) e extratos das raízes em *Solanum paniculatum* (Jurubeba), e mostraram que as duas primeiras espécies de *Solanum* não apresentaram efeito antibacteriano em cepas de *S. aureus*. Esta revisão mostrou que para a maioria das plantas, o extrato alcoólico apresentou melhor ação frente às bactérias.

Mota *et al.* (2011) e Passo *et al.* (2009) justificam que essa ocorrência é devida a perda de óleos essenciais voláteis na extração por decocção pelas altas temperaturas ao contrário da extração hidroalcoólica que acontece com baixa temperatura.

Segundo Tenório *et al.* (2016) diferenças na concentração inibitória mínima podem estar relacionadas ao solvente utilizado para a extração dos metabólitos e também ao tipo de linhagem selecionada para os ensaios antibacterianos. No entanto, é necessário purificar, isolar e identificar os componentes bioativos desta planta para testes adicionais, que atuam para inibir o crescimento bacteriano e a atividade bactericida.

## 6.2 FUNGO

Tabela 3 - Atividade antifúngica do extrato hexânico de *Capsicum chinense* (continua)

Concentração ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	<i>C. albicans</i>	Nistatina (%)
250	21,31	98,89
125	8,06	94,92
62,5	2,02	86,95
31,85	-	81,44
15,625	-	57,24

Tabela 3 - Atividade antifúngica do extrato hexânico de *C. chinense* (conclusão)

Concentração ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	<i>C. albicans</i>	Nistatina (%)
3,90625	-	-
1,95	-	-

Legenda:

-: Nenhuma inibição conhecida

Assim como a atividade anticateriana, a capacidade antifúngica tem sido verificada para espécies como dedo de moça e malagueta, cujos extratos aquosos dessas pimentas apresentaram taxas significativas de inibição dos fungos fitotatógenos *Cladosporium cladosporioides* e *Colletotrichum lindemuthianum* nas diversas concentrações testadas. O extrato aquoso da pimenta dedo-de-moça inibiu o *Cladosporium cladosporioides* em 49,44% do seu crescimento, sendo considerada como uma alternativa à substituição de pesticidas químicos (OLIVEIRA, 2011).

Santos (2010) em seu experimento com extratos de *Capsicum annum* identificou também atividade biológica baixa contra o fungo *Candida albicans*. Entretanto, a capacidade antifúngica tem sido verificada para espécies *C. chinense*, cujos extratos aquosos dessas pimentas a partir das sementes apresentaram taxas significativas de inibição dos fungos fitotatógenos como: *Colletotrichum lindemuthianum*, *Alternaria sp.*, *Fusarium sp.*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Phomopsis* nas diversas concentrações testadas. Controlando todos os fitopatógenos desafiantes, mostrando que esses extratos possuem compostos bioativos possíveis de controlar fungos fitopatogênicos. (Enciclopédia Biosfera, 2017).

Pereira (2015), ao investigar peptídeos antimicrobianos em extratos etanólicos de *C. annum L.* inibiram o crescimento dos fungos fitopatogênicos *C. lindemuthianum*, *C. gloeosporioides* que causam a antracnose e da bactéria *Xanthomonas euvesicatoria* que causa a mancha bactéria em plantas.

### 6.3 DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

O teor de fenol é usado extensivamente na determinação de vários extratos e avaliado pelo reagente de Folin-Ciocalteu. A partir da reação entre ácido gálico e reagente de Folin-Ciocalteu (Da Silva et al., 2013) a análise de regressão linear foi determinada com a equação de linha  $y = 0,00193x + 0,0459$  com coeficiente de correlação  $r$  igual a 0,9943. O intervalo de

concentração foi de 2 a 16 mg L<sup>-1</sup>. O teor total de fenol do extrato metanol foi expresso em mg equivalentes de ácido gálico por 100 g do extrato (mg EAG 100 g<sup>-1</sup>).

O teor total de fenol encontrado no extrato metanólico bruto foi de 241,89 mg EAG 100 g<sup>-1</sup>. Para a interpretação do resultado Rufino *et al.* (2006) relatam que valores até 100 mg EAG 100 g<sup>-1</sup> mostram baixa concentração de fenóis totais, enquanto valores entre 100-500 mg EAG 100 g<sup>-1</sup> indicam concentração média de fenóis. Valores superiores a 500 mg EAG 100 g<sup>-1</sup> indicam, portanto, uma alta concentração de fenóis totais.

Em uma pesquisa realizada com a espécie de *capsicum chinense*, Neitzke *et al.* (2015) evidenciou grande variação para a concentração de compostos fenólicos em frutos maduros de diferentes acessos provenientes de oito países das Américas.

Assim, *C. chinense* pode ser considerada como uma fonte média de compostos fenólicos totais, uma vez que o resultado foi maior que 100 mg EAG 100 g<sup>-1</sup>. Farhoudi *et al.* (2017) corrobora que compostos fenólicos têm atraído o interesse de pesquisadores por apresentarem atividade antioxidante e poderem proteger o corpo humano dos radicais livres, além de desempenharem um papel na prevenção de algumas doenças, incluindo câncer, doenças cardiovasculares e doenças neurodegenerativas.

#### 6.4 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO DPPH

Para avaliar a capacidade dos constituintes do metanol do extrato de *C. chinense* em capturar radicais livres, foi analisado o comportamento das soluções deste extrato na presença de solução de DPPH. Os resultados foram expressos como porcentagem da inibição da oxidação, ou seja, a porcentagem de atividade antioxidante correspondente à quantidade de DPPH consumida pelo antioxidante. Segundo Alves *et al.* (2007), o consumo de DPPH pela amostra é diretamente proporcional à sua atividade antioxidante. A partir do resultado obtido com o extrato metanólico de *C. chinense*, determinou-se a análise de regressão linear, com a equação da reta  $y = 0,0099x + 0,0077$  com o coeficiente de correlação  $r$  igual a 0,9966. A concentração pode variar de 0 a 60 mg L<sup>-1</sup>.

O resultado obtido na determinação da atividade antioxidante do extrato de *C. chinense* foi de 81,97% de atividade antioxidante. Segundo a curva de calibração do DPPH, a concentração correspondente é entre 10-20 mg L<sup>-1</sup>, ou seja, alta capacidade antioxidante.

Sricharoen *et al.* (2017) em seu experimento com diversas espécies de pimentas também comprovaram um alto potencial antioxidante entre os acessos estudados desta planta. A capacidade antioxidante apresentou grande amplitude entre os acessos avaliados de *capsicum chinense* por Neitzke *et al.* (2015)

Segundo Azevedo *et al.* (2014) compostos fenólicos como flavonóides e taninos podem ter alto potencial antioxidante, de acordo com os autores, esse potencial pode ter efeitos positivos sobre várias doenças derivadas do estresse oxidativo, como o câncer, por exemplo.

## 6.5 ATIVIDADE INIBITÓRIA DA ENZIMA ACETILCOLINESTERASE

O extrato hexânico de *C. chinense* inibiu a enzima AChE na concentração de 10 mg.mL<sup>-1</sup> em 71,00%, enquanto os inibidores padrão, como eserina e galantamina, inibiram 91,93% e 94,36%, respectivamente, na concentração do extrato.

*Tabela 4 - Percentual de inibição da enzima acetilcolinesterase*

<b>Percentual de inibição</b>	<b>Resultado</b>
>50%	Potente
30%-50%	Moderado
<30%	Fraco

Fonte: Vinutha *et al.* (2007).

Portanto, de acordo com a classificação de Vinutha *et al.*, (2007), o extrato hexânico de *C. chinense* pode ser considerado um potente inibidor da AChE. Além disso, segundo Trevisan e Macedo (2003), extratos com inibição maior ou igual a 50% podem ser candidatos ao fracionamento e isolamento dos metabólitos bioativos. Alguns autores, como Santos (2016) e Trevisan e Macedo (2003) realizaram bioprospecção de plantas da Amazônia e partes do Brasil, respectivamente.

A acetilcolinesterase (AChE) é de grande importância no corpo humano, é uma enzima responsável pela transmissão de impulsos nas sinapses colinérgicas e assim hidrolisa o neurotransmissor acetilcolina acetato e colina (ČOLOVIĆ *et al.*, 2013). Segundo a Organização Mundial da Saúde (WHO, 2012), a doença de Alzheimer se desenvolverá em mais de 115 milhões de pessoas até 2050.

## 7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os extratos hexânico dos frutos de *Capsicum chinense* em algumas concentrações, contra a atividade bacteriana foi bastante alta quando comparada com o antibiótico. O nível de inibição foi melhor nas bactérias Gram (-) em comparação com as bactérias Gram (+). Inibição de bactérias Gram-positivas, *S. aureus* foi insatisfatório. A excelente bioatividade do extrato contra *S. typhimurium* pode estar relacionada à seletividade.

O extrato hexânico desta espécie apresentou baixa inibição para o fungo *C. albicans* (21,31%), na concentração de 250 µg mL<sup>-1</sup>. O estudo da inibição da AChE foi considerado potente (71,00%), o que corrobora para uma maior investigação fitoquímica na planta.

Para os compostos fenólicos o extrato metanólico bruto de *C. chinense* apresentou 241,89 mg EAG 100, cujo resultado representa um potencial médio de teor de fenol total. Na atividade antioxidante de *C. chinense* o resultado obtido foi de 81,97% e demonstra correlação positiva com a atividade antioxidante. Esse potencial pode ter efeitos positivos sobre várias doenças derivadas do estresse oxidativo, como o câncer, por exemplo.

O presente estudo demonstrou sua eficácia contra patógenos que afetam a saúde do ser humano e certamente apresenta ativos químicos que auxiliam na prevenção de doenças. A pesquisa demonstrou a eficácia de *Capsicum chinense* como um antioxidante natural e a presença de ativos, cuja bioprospecção, pode resultar em moléculas capazes de interferir positivamente em doenças que comprometem o sistema nervoso humano. No entanto, mais estudos ainda são necessários para consolidar seu uso e aplicação no campo farmacêutico.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRA, M. D. F.; FREITAS, P. F. D.; BARBOSA-FILHO, J. M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 114-140, 2007.
- ALBERT, B. *et al.* A forest people. **Kew/Londres, Royal Botanic Gardens**. 161 p, 1999.
- ALBUQUERQUE, U. P.; HANAZAKI, N. As pesquisas etnodirigidas na descoberta de novos fármacos de interesse médico e farmacêutico: fragilidades e perspectivas. **Rev Bras Farmacogn**, v. 16, 2006.
- ALLERBERGER, F.; WAGNER, M. Listeriosis: a resurgent foodborne infection. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 16, n. 1, p. 16-23, 2010.
- ALMEIDA, U. *et al.* **Extratos de pimenta do gênero Capsicum na inibição de crescimento micelial de Rhizoctonia solani Kuhn, fungo causador da doença mela no feijoeiro**. In: Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 44, 2011, Bento Gonçalves. Tropical Plant Pathology, Brasília, DF, vol. 36, 2011. CD-ROM. Suplemento.
- ALMEIDA, M. Z. *et al.* Plantas medicinais de uma comunidade quilombola na Amazônia Oriental: aspectos utilitários de espécies das famílias Piperaceae e Solanaceae. **Revista Brasileira de Agroecologia**. vol. 2, n. 2, p. 1385-1388, 2007.
- ALTERTHUM, F.; TRABULSI, L.R. **Microbiologia**. São Paulo. Atheneu. 720 p., 2003.
- ALVES, C. Q. *et al.* Evaluation of the antioxidant activity of flavonoids. **Diário Ciênc**. n. 5, p. 7-8, 2007.
- ALVES, E. F. *et al.* Seasonal variation, chemical composition and biological activity of the essential oil of *cordia verbenácea* dc (boraginaceae) and the sabinene. **Industrial crops and products**, vol. 87, p. 45-53, 2016.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Control of Communicable Diseases Manual**. Abram S. Benenson, 16 ed. p. 188-189, 1995.
- AMITA, A. *et al.* Screening of selected Indian medicinal plants for acetylcholinesterase inhibitory activity. **Jounal Ethnopharmacoly**. 109, 359-363, 2007.

AMOROZO, M. C. M.; GÉLY, A. **Uso de plantas medicinais por caboclos do Baixo Amazonas, Barcarena, PA, Brasil.** Boletim Museu Paraense Emílio Goeldi, série Botânica, Belém, v. 4, n.1, p. 47-131, 1988.

ANDERSEN, O. M. & MARKHAM, K. R., **FLAVONOIDS - Chemistry, Biochemistry and Applications.** New York: CRC Press Taylor & Francis Group, cap. 10, p. 1199, 2006.

ANDRADE, E.; NAVARRO, P.; RODRIGUÉZ, J.; RODRIGUEZ, P.; VILLARROEL, E. **Evaluación bacteriológica de infecciones por *Pseudomonas aeruginosa*.** *Antibiot. infecc.*, v. 10, n. 1, p. 29-32, 2002.

ANDRES, J. V. *et al.* Bio-chem. **Pharmacol.** 88 p., 1961.

ANGULO, F. J. *et al.* Attribution of foodborne illnesses, hospitalizations, and deaths to food commodities by using outbreak data, United States, 1998–2008. **Emerging infectious diseases.** n. 19 (3), 407 p., 2013.

ANGULO, F. J. *et al.* The global burden of listeriosis: a systematic review and meta-analysis. **The Lancet Infectious Diseases.** n. 14, p. 1073-1082, 2014.

ARAGÃO, F. B. A. *et al.* Atividade antimicrobiana de extratos de plantas nativas do Brasil: artigo de revisão. **Braz. J. Surg. Clin. Res.** n. 18, p. 118-127, 2017.

ARANDA, M. S. Analysis of volatile compounds in *Capsicum* spp. by headspace solid-phase microextraction and GC × GC-TOFMS. **Analytical Methods.** p. 521-529, 2015.

AZA-GONZÁLEZ, C; NÚÑEZ-PALENIUS, H. G; OCHOA-ALEJO, N. Molecular biology of chili pepper anthocyanin biosynthesis. **Journal of the Mexican Chemical Society.** vol. 56, n. 1, p. 93-98, 2012.

AZEVEDO, L. F. P. *et al.* Triagem fitoquímica e atividade antioxidante de *Costus spicatus* (Jacq.) S.w. **Rev. Bras. Pl. Med.** vol. 16, p. 209-215, 2014.

BADKE, M. R. *et al.* Plantas medicinais: o saber sustentado na prática do cotidiano popular. **Esc Anna Nery**, v. 15, n. 1, p. 132-39, 2011.

BAE, H., JAYAPRAKASHA, G. K., JIFON, J. & PATIL, B. S. Extraction efficiency and validation of an HPLC method for flavonoid analysis in peppers. **Food Chemistry**, n. 130(3), p. 751-758. 2012.



BAILLY, S. *et al.* Impact of antifungal prescription on relative distribution and susceptibility of *Candida* spp.–Trends over 10 years. **Journal of Infection**. n. 72(1), p. 103-111, 2016.

BAMBIRRA, F. H. S. *et al.* Propriedade antimicrobiana de extrato de pimenta (*Capsicum frutescens* L.) contra *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*. **Rev. Biol. Ciênc. Terra**. n. 12, p. 91-93, 2012.

BARBEDO, L. S.; SGARBI, D. B. G. Candidíase. **Jornal Brasileiro Doenças Sexualmente Transmissíveis**. vol. 22, n.1, p. 22-38, 2010.

BARBIERI, R. L. *et al.* Caracterização morfológica e estimativa da distância genética de acessos de pimenta do banco ativo de germoplasma de *Capsicum* da Embrapa Clima Temperado. **Embrapa Clima Temperado-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E)**, 2014.

BARBOSA, R. I.; LUZ, F. J. F.; FILHO, N. H. R.; MADURO, C. B. Pimentas do gênero *Capsicum* cultivadas em Roraima, Amazônia brasileira. I. Espécies Domesticadas. **Acta Amazonica**, n. 32(2), p. 177-192, 2002.

BARBOSA, R. I. *et al.* **Pimentas de Roraima (Catálogo de Referência)**. Manaus, INPA/EDUA. 93 p., 2006.

BAR, K. *et al.* Systemic inflammatory response syndrome in adult patients with nosocomial blood of infection due to *Pseudomonas aeruginosa*. **Journal of infection**. vol. 53, p. 30-35, 2006.

BERG, E. M. V. D.; SILVA, M. H. L. Contribuição ao conhecimento da flora medicinal de Roraima. **Acta Amazonica**. n. 18, p. 23-35, 1988.

BERK, E. *et al.* Investigation of the relationship between virulence factors and genotype of *Candida* spp. isolated from blood cultures. **The Journal of Infection in Developing Countries**. n. 9 (08), p. 857-864, 2015.

BESPALHOK F. J. C.; GUERRA, E. P.; OLIVEIRA, R. **Uso e conservação de germoplasma**. Melhoramento de plantas, Setor de Ciências Agrárias - Universidade Federal do Paraná, 2013. Disponível em: <[www.bespa.agrarias.ufpr.br](http://www.bespa.agrarias.ufpr.br)>. Acesso em: 08 nov. 2018.

BETONI, J. E. C.; MANTOVANI, R. P.; BARBOSA, L. N.; DI STASI, L. C.; FERNANDES, A.; **Synergisms beetwen plant extract and microbial drogs used on *Staphylococcus aureus* diseases**. Mem inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, vol. 101, n. 4, p. 387-390, 2006.

BIAVATTI M. W. *et al.* Ethnopharmacognostic survey on botanical compendia for potential cosmeceutic species from Atlantic Forest. **Rev bras de farmacog**, v. 17, n. 4, p. 640-653, 2007.

BIGNARDI, C. *et al.* Characterization of 12 Capsicum varieties by evaluation of their carotenoid profile and pungency determination. **Food Chemistry**. vol. 140, p. 794–802, 2013.

BOCHI, V. C. *et al.* Brazilian Capsicum peppers: capsaicinoid content and antioxidant activity. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. n. 98, p. 217-224, 2018.

BOGUSZ, Jr. S. Brazilian *Capsicum* peppers: capsaicinoid content and antioxidant activity. **Journal of the science of food and agriculture**, 98 (1), p. 217-224, 2018.

BONESI, M. *et al.* Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitory activity of Pinus species essential oils and their constituents. **Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry**. vol. 25, n. 5, p. 622-628, 2010.

BONESI, M. *et al.* The influence of fruit ripening on the phytochemical content and biological activity of Capsicum chinense Jacq. cv Habanero. **Food Chemistry**. n. 114(2), p. 553-560, 2009.

BONESI, M. *et al.* Influence of drying and cooking process on the phytochemical content, antioxidant and hypoglycaemic properties of two bell Capsicum annum L. cultivars. **Food and chemical toxicology**. n. 53, p. 392-401, 2013.

BONNAS, D. S. & CHANG, R. *et al.* Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de pimentas Capsicum chinense (bode), Capsicum baccatum variedade praetermissum (cumari) e Capsicum frutescens (malagueta). **Enciclopédia Biosfera**, n. 7(12), p. 1-6, 2011.

BONTEMPO, M. **Pimenta e seus benefícios à saúde**. São Paulo, SP: Alaúde, 2007.

BORGES, K. M. Caracterização morfoagronômica e físico-química de pimentas em Roraima. **Agro@mbiente On-Line**. n. 9, p. 292-299, 2015.

BORGES, K. M. *et al.* Caracterização morfoagronômica e físico-química de pimentas em Roraima. **Agro@mbiente On-Line**. n. 9, p. 292-299, 2015.

BORGES, K. M. Morpho-agronomic and physicochemical characterisation of the pepper for the State of Roraima. **Agro@mbiente On-Line**. n. 9, p. 292-299, 2015.

BOYLE-VAVRA, S. *et al.* A spectrum of changes occurs in peptidoglycn composition of glycopeptide-intermediate clinical *Staphylococcus aureus* isolates. **Antimicrob Agents Chemother**, vol. 45, p. 280-287, 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Guia de Vigilância Epidemiológica**. 5. ed. Brasília. p. 333-45, 2002.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de assistência Farmacêutica. **A Fitoterapia no SUS e o programa de pesquisa de plantas medicinais da central de medicamentos**. Brasília: Ministério da Saúde, 2006, 148p.

BRISKIN, D. P. Medicinal plants and phytomedicines. Linking plant biochemistry and physiology to human health. **Plant physiology**, v. 124, n. 2, p. 507-514, 2000.

BRITO, A.; LANDAETA, J.; ROLDÁN, Y. Resistencia da *Pseudomonas aeruginosa* a la gentamicina, tobramicina amikacina em Venezuela. **Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiologia**, vol. 20, n. 1, p. 42-45, 2000.

BUTLER, T. Treatment of typhoid fever in the 21st century: promises and shortcomings. **Clin. Microbiol. Infect.** n. 17, p. 959-963, 2011.

BUSO, G. S. C. *et al.* **Caracterização molecular e análise da diversidade genética de acessos de *Capsicum* utilizando marcadores moleculares**. In: Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas, Goiânia: SBMP, p. 1-3, 2005.

CALÁBRIA, W. B. The frequency of *Escherichia coli* and its sensitivity to antimicrobials in children aged under five years admitted to hospital for treatment of acute diarrhea. **Rev. Bras. Saúde Mater. Infant.** n. 12, p. 173-182, 2012.

CALIXTO, J. B. Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin América: A personal view. **Journal of Ethnopharmacology**. vol. 100, p.131-4, 2005.

CAÑIGUERAL, S. Las monografías de calidad seguridad y eficacia en el uso racional de los preparados a base de plantas medicinales. **Revista de fitoterapia**, v. 6, n. S1, p. S1, 2006.

- CARLINI E. A. *et al.* Treatment of drug dependence with Brazilian herbal medicines. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, p. 690-695, 2006.
- CARVALHO, H. H. C.; WIEST, J. M., CRUZ, F. T. D. Atividade antibacteriana in vitro de pimentas e pimentões (*Capsicum* sp.) sobre quatro bactérias toxinfecivas alimentares. **Rev. Bras. Plantas Med.** p. 8-12, 2010.
- CARVALHO, J. C. T.; GOSMANN, G.; SCHENKEL, E. P. **Compostos fenólicos simples e heterosídicos**. Farmacognosia da Planta ao medicamento. Porto Alegre: UFRGS. p. 519, 2007.
- CHAGAS, P. C. *et al.* Biological Activity of Hexane Extracts of the Northern Amazon Species *Capsicum* spp. **Chemical Engineering Transactions**. vol. 64, p. 277-282, 2018.
- CHUAH, A. M. *et al.* Effect of cooking on the antioxidant properties of coloured peppers. **Food Chem.** n. 111, p. 20-28, 2008.
- CHEN, L. *et al.* Systematic study of genes influencing cellular chain length in *Streptococcus sanguinis*. **Microbiology**. n. 160, p. 307-315, 2014.
- CHANH, N. Q. *et al.* A clinical microbiological and pathological study of intestinal perforation associated with typhoid fever. **Clin Infect Dis.** n. 39, p. 61-7, 2004.
- CHEN, L.; KANG, Y. Anti-inflammatory and antioxidant activities of red pepper (*Capsicum annum* L.) stalk extracts: Comparison of pericarp and placenta extracts. **Journal of Functional Foods**, vol. 5, p. 1724-1731, 2013.
- CISNEROS-PINEDA, O. Capsaicinoids quantification in chili peppers cultivated in the state of Yucatan, Mexico. **Food Chem.** n. 104, p. 1755-1760, 2007.
- CLERMONT, V. *et al.* Characterization of the chromosomal class A beta-lactamase CKO from *Citrobacter koseri*. **FEMS Microbiol.** n. 254, p. 285-292, 2006.
- COELHO, M. C. D. O. C. Atividade antibacteriana in vitro do extrato de *Abarema cochliacarpus* (Gomes) Barneby & JW Grimes contra bactérias isoladas de feridas cutâneas de cães. **Ci. Anim. Bras.** 17, p. 252-259, 2016.
- ČOLOVIĆ, M. B. *et al.* **Acetylcholinesterase Inhibitors: pharmacology and Toxicology**, Curr. Neuropharmacol. 11 ed. 2013, 315-335 p.

Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo. CQP&D - Centro de Qualidade, Pesquisa e Desenvolvimento. **Pimentas**. São Paulo: CEAGESP. vol. 1, n. 1, 24 p., 2015.

COSTA, C. K. *et al.* Identificação de  $\delta$  tocotrienol e de ácidos graxos no óleo fixo de urucum (*Bixa orellana* Linné). **Rev. Bras. Pl. Med.** vol. 15, n. 4, p. 508-512, 2013.

COSTA, G. M. *et al.* Phenolic content and antioxidant and antimicrobial properties of fruits of *Capsicum baccatum* L. var. *pendulum* at different maturity stages. **Journal of medicinal food**. n. 11(2), p. 267-274.

COSTA, L. M da. **Avaliação da atividade antioxidante e antimicrobiana do gênero *Capsicum***. 2007. 78 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Comunitária Regional de Chapeco, Chapeco, 2007.

CRAGG, G. M.; NEWMAN, D. J. Natural products: A continuing source of novel drug leads. **Biochimica Et Biophysica Acta-General Subjects**. n. 1830, p. 3670-95, 2013.

DASGUPTA, A.; HAMMETT-STABLER, C. A. **Herbal Supplements: efficacy, toxicity, interactions with western drugs, and effects on clinical laboratory tests**. John Wiley & Sons, 2011.

DA SILVA, E. C. C. Phenolic constituents and antioxidant activity of geopropolis from two species of stingless Amazonian bees. **Quím. Nova**. vol. 36, p. 628-633, 2013.

DE SOUZA, P. T.; ROSSI, A. V. Determinação espectrofotométrica indireta de capsaicinoides em pimentas *Capsicum* a partir da reação com o complexo de  $Co(II)$  com 4-(2-piridilazo) resorcinol. **Quím. Nova**, vol. 37, n. 4, p. 631-637, 2014.

DEWICK, P. M. *Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach*. ed. 2. **Chichester: Wiley**, 2002.

DOMINGUETE, L. C. B.; TAKAHASHI, J. A., **Filamentous Fungi as Source of Biotechnologically Useful Metabolites and Natural Supplements for Neurodegenerative Diseases Treatment**. **Chemical Engineering Transactions**, v. 64, p. 295-300, 2018.

Embrapa Agroindústria Tropical. ***Listeria monocytogenes* em leite e produtos lácteos**. Fortaleza: EMBRAPA. p. 9-18, 2009.

FARIAS, E. S. **Propriedades físico-químicas e perfil dos ácidos graxos do óleo da semente de andiroba**. 2013. 94 p. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Roraima, Programa de Pós-Graduação em Química, Roraima, 2013.

FARHOUDI, R.; MEHRNIA, M. A. & LEE, D. J. Antioxidant activities and bioactive compounds of five Jalopeno peppers (*Capsicum annuum*) cultivars. **Natural Product Research**, p. 1-4, 2017.

FERNANDEZ, A. R. *et al.* Câmbios epidemiológicos de las salmonelosis en Chile: desde *Salmonella typhi* a *Salmonella enteritidis*. **Rev Chil Inf.** n. 18, p. 85-93, 2001.

FERREIRA, A. M. *et al.* Utilização dos ácidos graxos no tratamento de feridas: uma revisão integrativa da literatura nacional. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, vol. 46, n. 3, p. 752-760, 2012.

FERRERES, F. *et al.* Characterization and quantitation of antioxidant constituents of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.). **Journal of agricultural and food chemistry**. n. 52(12), p. 3861-3869, 2004.

FIGUEIREDO, A. S. G. **Efeito da sazonalidade no perfil químico e na atividade antioxidante de *Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae) e ação modulatória desta planta sobre o metabolismo oxidativo de neutrófilos**. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2010.

FILHO, B. R. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. **Quím. Nova**. n. 33, p. 229-239, 2010.

FILHO, N. H. R.; BARBOSA, R. I.; LUZ, F. J. F. Pimentas do gênero *Capsicum* cultivadas em Roraima, Amazônia brasileira: II. Hábitos e formas de uso. **Acta Amaz.** n. 37, p. 561-568, 2007.

FRANCO, R. M. *et al.* Importância da *Listeria monocytogenes* em alimentos de origem animal. **Revista da FZVA**. vol. 14, n. 1, p. 180-192, 2007.

FRANK, B.; GUPTA, S. A review of antioxidants and Alzheimer's disease. **Ann. Clin. Psychiatry**, n. 17, p. 269–286, 2005.

FURTADO, L. G.; SOUZA, R. C.; BERG, M. E. **Notas sobre usoterapêutico de plantas pela população cabocla de Marapanim**, Pará. Boletim Museu Paraense Emílio Goeldi, Nova Série Antropologia, Belém, vol. 70, n. 1, p. 1-31, 1978.

GOBBO-NETO, L; LOPES, N. P. Plantas Medicinais: Fatores de Influência no Conteúdo de Metabólitos Secundários. **Química Nova**, n. 30, p. 374-381, 2007.

GÁMEZ-MEZA, N. *et al.* Simulated Gastrointestinal Digestion, Bioaccessibility and Antioxidant Capacity of Polyphenols from Red Chiltepin (*Capsicum annuum* L. Var. *glabriusculum*) Grown in Northwest Mexico. **Plant Foods for Human Nutrition**, p. 1-6, 2018.

HARBORNE, J. B.; WILLIAMS, C. A. **Advances in flavonoid research since 1992**. Phytochemistry, vol. 55, n. 6, p. 481-504, 2000.

HIRAMATSU, K. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. **J. Antimicrob. Chemother.** vol. 40, p. 135-6, 1997.

HODGES, JR. Alzheimer's centennial legacy: origins, landmarks and the current status of knowledge concerning cognitive aspects. **Brain**. n. 129, p. 2811-22, 2006.

HÖFS, S., MOGAVERO, S., HUBE, B. Interaction of *Candida albicans* with host cells: virulence factors, host defense, escape strategies, and the microbiota. **Journal of Microbiology**. n. 54, p. 149-169, 2016.

HOUGHTON, P. J., REN, Y., HOWES, M. J. Acetylcholinesterase inhibitors from plants and fungi. **Nat Prod Rep**. n. 23, p. 181-99, 2006.

JANDA, W.M. *et al.* **Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido**. 5. ed. Rio de Janeiro: Medsi; 2001. p. 177-250.

JUN, Lv. *et al.* Consumption of spicy foods and total and cause specific mortality: population based cohort study. **BMJ (Clinical research)**. vol. 351, p. 3942-3942, 2015.

LACERDA, D. R. *et al.* Genetic diversity and structure of natural populations of *Plathymentia reticulata* (Mimosoideae), a tropical tree from the Brazilian Cerrado. **Molecular Ecology**. vol. 10, n. 5, p. 1143-1152, 2001.

LAMAIPHAN, N. *et al.* Phytochemicals in Capsicum oleoresin from different varieties of hot chilli peppers with their antidiabetic and antioxidant activities due to some phenolic compounds. **Ultrasonics sonochemistry**. vol. 38, p. 629-639, 2017.

LEHMAN, D. C. & THOMAS, J. G. **Biofilms: Architects of disease**. *Textbook on diagnostic microbiology*. 3 ed. St Louis: Saunders Elsevier. p. 884-95, 2007.

LI, X. Z.; LIVERMORE, D. M.; NIKAIDO, H. Role of efflux pump(s) in intrinsic resistance of *Pseudomonas aeruginosa*: resistance to tetracycline, chloramphenicol, and norfloxacin. **Antimicrob. Agents Chemother.** vol. 38, p. 1732-1741, 1994.

LOIZZO, M. R. *et al.* Occurring natural products and their derivatives as cholinesterase inhibitors in the treatment of neurodegenerative disorders: an update. **Curr Med Chem**. n. 15, p.1209–28. 2008.

LUZ, F. J. F. **Caracterização morfológica e molecular de acessos de pimenta (Capsicum chinense Jaqc.)**. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2007.

MACEDO, A. F.; OSHIWA, M.; GUARIDO, C. F. Ocorrência do uso de plantas medicinais por moradores de um bairro do município de Marília-SP. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 28, n. 1, p. 123-128, 2009.

MAHDAVIAN, K.; GHORBANLI, M.; KALANTARI, Kh. M. The effects of ultraviolet radiation on the contents of chlorophyll, flavonoid, anthocyanin and proline in *Capsicum annuum* L. **Turkish Journal of Botany**. vol. 32, n. 1, p. 25-33, 2008.

MARANGON, C.; RIZZATTI, I. M.; COSTA, H. N. R. **Determinação de macro e micronutrientes em quatro espécies de pimentas *Capsicum* ssp. cultivadas em Roraima**. In: I Encontro De Química Do Norte, SBQ Norte, 2014. <[http://files.sbnorte.webnode.com/2000000215ab995bb38/SBQNORTE\\_AMB02.pdf](http://files.sbnorte.webnode.com/2000000215ab995bb38/SBQNORTE_AMB02.pdf)>. Acesso em: 08 ago. 2017.

MARANGON C.; RIZZATTI, I. M.; COSTA, H. N. R. **Determinação de macro e micronutrientes em quatro espécies de pimentas *Capsicum* ssp. cultivadas em Roraima**. In: I Encontro De Química Do Norte, SBQNorte, 2014. Disponível em: <[http://files.sbnorte.webnode.com/2000000215ab995bb38/SBQNORTE\\_AMB02.pdf](http://files.sbnorte.webnode.com/2000000215ab995bb38/SBQNORTE_AMB02.pdf)>. Acesso em: 08 out. 2018.



MATERSKA, M.; PERUCKA, I. Antioxidant Activity of the Main Phenolic Compounds Isolated from Hot Pepper Fruit (*Capsicum annuum* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. vol. 53, n. 5, p. 1750-1756, 2005.

MCCARTY, T. P.; PAPPAS, P. G. Invasive candidiasis. **Infectious Disease Clinics**. vol. 30, n. 1, p. 103-124, 2016.

MENEGOTTO, F. R. & PICOLI, S. U. *Staphylococcus aureus* oxacilina resistente (MRSA): incidência de cepas adquiridas na comunidade (CA-MRSA) e importância da pesquisa e descolonização em hospital. **Ver. bras. anal clin.** vol. 39, n. 2, p. 147-50, 2007.

MILLIKEN, W.; ALBERT, B. The use of medicinal plants by the Yanomami Indians of Brazil, Part II. **Economic Botany**. n. 51(3), p. 264-278, 1997.

MIRANDA, A. L. P.; FRAGA, C. A. M. **Free radical scavenger activity: determination of the antioxidant profile of bioactive substances**. In: Monge A., Ganellin C.R. (Ed.), Practical Studies for Medicinal Chemistry, Genebra: IUPAC, 2006.

MORAES, R. **País das pedras verdes**. Rio de Janeiro: Civilização Brasileira. 314 p, 1931.

MORAIS, K. S. **Caracterização físico-química em pimentas de ocorrência na Amazônia Setentrional e sua relação com a saúde humana**. Dissertação. (Mestrado em Ciência da Saúde). Boa Vista, 56 p., 2015.

MORESCO, K. S. **Potencial antioxidante, efeito do processo de secagem e extração de compostos bioativos de pimentas capsicum**. Dissertação. (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Porto Alegre, 2013.

MOTA, F. M.; CARVALHO, H. H. C.; WIEST, J. M. Atividade antibacteriana *in vitro* de inflorescências de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC.-Asteraceae sobre agentes bacterianos de interesse em alimentos. **Rev. Bras. Plantas. Med.** n. 13, p. 298-304, 2011.

NEITZKE, R. *et al.* **Variabilidade genética para compostos antioxidantes em variedades crioulas de pimentas (*Capsicum baccatum*)**. Embrapa Clima Temperado, 2015.

NETTO, D. A. M. Coleção de base e coleção ativa: O banco de germoplasma de sorgo. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. p. 7-26, 2010.

OLIVEIRA, C. J.; ARAÚJO, T. L. Plantas medicinais: usos e crenças de idosos portadores de hipertensão arterial. **Revista Eletrônica de Enfermagem**. vol. 9, n. 1, p. 93- 105, 2007.

OLIVEIRA G. A.; LEVY, C. E.; MAMIZUKA, E. M. Estudo do perfil de resistência de 626 cepas de *Staphylococcus aureus* isoladas de 25 hospitais brasileiros entre setembro de 1995 e junho de 1997. **J. Bras. Pat.** vol. 36, p. 147-56, 2000.

OLIVEIRA, J. E. D.; SANTOS, A. C.; WILSON, E. V. **Nutrição Básica**. Ed 1. São Paulo: Savier, 1982.

Organização Mundial da Saúde. **Cuidados Primários em Saúde**: Relatório da Conferência Internacional sobre Cuidados Primários da Saúde. Alma Ata, URSS, 6 a 12 de setembro de 1978. Brasília: OMS, 1979. 64 p.

PASSOS, M. G.; CARVALHO, H.; WIEST, J. M. Inibição e inativação *in vitro* de diferentes métodos de extração de *Ocimum gratissimum* L. (“alfavacão”, “alfavaca”, “alfavaca-cravo”) Labiatae (Lamiaceae), frente a bactérias de interesse em alimentos. **Rev. Bras. Plantas Med.** n. 11, p. 71-78, 2009.

PAUL, E. A. Soil microbiology, ecology and biochemistry. **Academic press**, 2014.

PEREIRA, L. S. **Peptídeos antimicrobianos de folhas e raízes de *Capsicum annuum* L.: caracterização atividade inibitória sobre microrganismos fitopatogênicos**. Tese (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas). Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes. 96 p., 2015.

POIREL, L.; COLLET, L.; NORDMANN, P. Carbapenem-hydrolyzing metallo-β-lactamase from a nosocomial isolate of *Pseudomonas aeruginosa* in France. **Emerg. Infect. Dis.** vol. 6, n. 1, p. 84-5, 2000.

PORTO, F. R. C.; SILVA, J. C. Etnobotânica e uso medicinal da pimenta malagueta (*Capsicum frutescens* L.) Pelos Horticultores E Consumidores Da Horta Comunitária Da Vila Poty, Teresina, Piauí, Brasil/Ethnobotany and Medicinal Use Pepper Chilli (*Capsicum frutescens* L.) by horticulturi. **Rev. FSA**. n. 9, p. 139-152, 2013.

POZZOBON, T. M. *et al.* Comportamento meiótico em acessos de *Capsicum chinense* Jacq. do Banco de Germoplasma da Embrapa, Brasil. **Brazilian Journal of Biosciences**, vol. 13, n. 2, p. 96-100, 2015.

RANGEL, M.; BRAGANÇA, F. C. R. Representações de gestantes sobre o uso de plantas medicinais. **Rev. Bras. Plantas Med.** n. 11, p. 100-9, 2009.

RANGEL M, BRAGANÇA, F. C. R. Representações de gestantes sobre o uso de plantas medicinais. **Rev Bras Pl Med.** n. 11 (1), p. 100-9, 2009.

RAMOS, F. L. P.; OLIVEIRA, J. R. S.; SILVA, J. C. L. Epidemia de febre tifóide na localidade Cipoal, município de Óbidos, Estado do Pará – Análise preliminar. **Rev Soc Bras Med Trop.** n. 31, 77 p., 1998.

REDDY, K. K.; RAVINDER, T.; PRASAD, R. B. & KANJILAL, S. Evaluation of the antioxidant activity of capsiate analogues in polar, nonpolar, and micellar media. **Journal of Agricultural and Food Chemistry.** p. 564-569, 2010.

REIFSCHNEIDER, F. J. B. **Capsicum: pimentas e pimentões no Brasil.** Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia/Embrapa Hortaliças. Embrapa: Brasília, 113 p., 2000.

REIFSCHNEIDER, F. J. B. **Capsicum: pimentas e pimentões no Brasil.** Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia/Embrapa Hortaliças, 2000.

RIBEIRO, B. G. **Classificação dos Solos e Horticultura Desâna.** In: POSEY, D. A.; OVERAL, W. L. (Orgs.). **Ethnobiology: implications and applications.** Belém: Museu Paraense Emílio Goeldi. vol. 2, p. 27-49, 1990.

RIBEIRO, C. S. C.; REIFSCHNEIDER, F. J. B. **Genética e melhoramento.** Pimentas *Capsicum*. Brasília: Embrapa Hortaliças. EMBRAPA. p. 55-69, 2008.

RODRIGUES, A. G.; DE SIMONI, C. Plantas medicinais no contexto de políticas públicas. **Informe Agropecuário.** Belo Horizonte, v. 31, n. 255, p. 7-12, 2010.

SADASIVAM, S.; MANIKKAM, A. **Capsaicin.** In: **Biochemical methods for agricultural sciences.** New Delhi: WileyEasternLimited. p. 193-194, 1992.

SANGLARD, D., COSTE, A. T. Activity of isavuconazole and other azoles against *Candida* clinical isolates and yeast model systems with known azole resistance mechanisms. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, n. 60 (1), p. 229-238, 2016.

SANTOS, M. M. P. **Atividade antimicrobiana *in vitro* de extratos vegetais das espécies *Mangifera indica*, *Eugenia jambolana*, *Schinus terebinthifolius*, *Capsicum annuum*, e de análogos da capsaicina, frente aos microorganismos da cavidade oral.** Campo dos Goytacazes: Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campo dos Goytacazes, 2010.

SANTOS, M. M. P. **Atividade antimicrobiana *in vitro* de extratos vegetais das espécies *Mangifera indica*, *Eugenia jambolana*, *Schinus terebinthifolius*, *Capsicum annuum*, e de análogos sintéticos da capsaicina, frente aos microrganismos da cavidade oral.** Tese (PhD em Genética e Melhoramento de Plantas). Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 86 p., 2010.

SANTOS, R. C. **Bioprospecting of Fatty Acids,  $\alpha$ -Tocopherol and Anti-Acetylcholinesterase Activity in Oils and Fats of Amazonian Fruits.** 2016. 124 p. (PhD thesis) -Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede Bionorte, Universidade Federal de Roraima, Boa Vista, 2016.

SCARDELATO, J. A.; LEGRAMANDI, V. H. P.; DO SACRAMENTO, L. V. S. Ocorrência de cristais em plantas medicinais utilizadas no tratamento da nefrolitíase: paradoxo?. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. vol. 34, n. 2, p. 161-168, 2013.

SELKOE D. Alzheimer's disease: genes, proteins, and therapy. **Physiol Rev**. n. 81 (2), p. 741-66, 2001.

SERENIKI, A.; VITAL, M. A. B. F. A doença de Alzheimer: aspectos fisiopatológicos e farmacológicos. **Rev Psiquiatr Rio Gd Sul**, vol. 30, n. 1, 2008.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. Análise de alimentos. **Métodos Químicos e Biológicos**. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 3 ed. 235 p., 2002.

SILVA, J. F. M., BATISTA, R. D., PEREIRA, C. F. & DE OLIVEIRA, A. I. T. Contaminação por *Bacillus cereus* e os riscos de intoxicação alimentar. **Desafios**. n. 5 (2), p. 30-40, 2018.

SIMÕES, C. M. O. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. UFRGS; Florianópolis: UFSC, 1102 p., 2001.

SIMÕES, L. D. S. **Extração e caracterização de oleorresina de *Capsicum* obtida a partir de pimentas malagueta (*Capsicum frutescens*) e dedo-de-moça (*Capsicum baccatum* var. *Pendulum*)**. Tese (Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 79 p., 2014.

SINGLETON V. L.; ORTHOFER R.; LAMUELA-RAVENTÓS R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods Enzymol.** n. 299, p. 152-178, 1999.

SOUZA, M. A. L. **Caracterização citogenética, química e molecular de *Capsicum chinense* Jacq.** Dissertação (Mestrado em Genética Vegetal). Campo dos Goytacazes, 67 p., 2008.

SOUZA, P. T. D.; ROSSI, A. V. Determinação espectrofotométrica indireta de capsaicinoides em pimentas *Capsicum* a partir da reação com o complexo de Co (II) com 4-(2-piridilazo) resorcinol. **Quím. Nova.** n. 37, p. 631-637, 2014.

SUNG, J. M.; LLOYD, D. H.; LINDSAY, J. A. *Staphylococcus aureus* host specificity: comparative genomics of human versus animal isolates by multi-strain microarray. **Microbiology**, 154, p. 1949-1959, 2008.

TAVARES, W. **Antibióticos e quimioterápicos para o clínico**. São Paulo. Atheneu. 615 p., 2006.

THIELE, R.; MUELLER-SEITZ, E.; PETZ, M. Chili pepper fruits:presumed precursors of fatty acids characteristic for capsaicinoids. **J. Agric. Food Chem.** vol. 56, p. 4219-4224, 2008.

TREVISAN, M. T. S.; MACEDO, F. V. V. Screening for acetylcholinesterase inhibitors from plants to treat Alzheimer's disease. **Química Nova.** vol. 26, p. 301-304, 2003.

VAISHNAV, P.; DEMAIN, A. L. Unexpected applications of secondary metabolites. **Biotechnology Advances** , vol. 29, p. 223 – 229, 2010.

VEIGA, JR. V. F. Estudo do consumo de plantas medicinais na Região Centro-Norte do Estado do Rio de Janeiro: aceitação pelos profissionais de saúde e modo de uso pela população. **Rev bras farmacogn.** v. 18, n. 2, p. 308-13, 2008.

VENDRUSCOLO, G. S.; RATES, S. M. K.; MENTZ, L. A. Dados químicos e farmacológicos sobre as plantas utilizadas como medicinais pela comunidade do bairro Ponta Grossa, Porto Alegre, Rio Grande do Sul. **Rev Bras Farmacogn**, v. 15, n. 4, p. 361-72, 2005.

VERMERRIS, W.; NICHOLSON, R. **Phenolic compound biochemistry**. Netherlands Springer, p. 267, 2006.

VICTÓRIO, C. P; Lage, C. L. **Uso de Plantas Medicinai**s. Saúde, Sociedade, Gestão e Meio Ambiente, n. 5, p. 33-41,2008.

WHO. **Global strategy for containment of antimicrobial resistance. Anti-infective drug resistance surveillance and containment**. 2001.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Dementia**: a public health priority. Geneva: WHO, 2012.

World Health Organization. **Antimicrobial resistance**. Media Center, Fact Sheet. n.194, 2014. <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/en/>>. Acesso em: 06 set. 2017.

ZACCHINO, A. S.; GUPTA, M. P. **Manual de técnicas in vitro para la detección de compuestos antifúngicos**. vol. 85. Corpus Editorial y Distribuidora: Rosario, 2007.

**ANEXOS**

## ANEXO A – BIOLOGICAL ACTIVITY OF HEXANE EXTRACTS OF THE NORTHERN AMAZON SPECIES *CAPSICUM* SPP

277



CHEMICAL ENGINEERING TRANSACTIONS

VOL. 64, 2018



The Italian Association

Guest Editors: Enrico Bardone, Antonio Marzocchella, Tajalli Keshavarz  
Copyright © 2018, AIDIC Servizi S.r.l.

### Biological Activity of Hexane Extracts of the Northern Amazon Species *Capsicum* spp.

Karla S. Morais\*<sup>a</sup>, Antonio A. de Melo Filho<sup>b</sup>, Lucianne B. O. Vilarinho<sup>c</sup>, Bruna S. Morais<sup>a</sup>, Pollyana C. Chagas<sup>b</sup>, Ricardo C. dos Santos<sup>d</sup>, Ana C. G. Reis Melo<sup>d</sup>,

Jacqueline A. Takahashi<sup>e</sup>

<sup>a</sup>Department of Health, Federal Institute of Roraima, IFRR, Boa Vista Campus, CEP 69.303-340, Boa Vista-RR-Brazil.

<sup>b</sup>Post-Graduate in Biotechnology and Biodiversity Program, Department of Chemistry and Post-Graduate Program in Chemistry, PPGQ, Center for Research and Graduate Studies in Science and Technology, NPPGCT, Federal University of Roraima, UFRR, Paricarana Campus, CEP 69304-000, Boa Vista-RR-Brazil.

<sup>c</sup>Post Graduate in Agronomy, POSAGRO, UFRR, Campus Paricarana, CEP 69304-000, Boa Vista-RR-Brazil

<sup>d</sup>National Postdoctoral Program of CAPES, PNPD/CAPES, associated to the Postgraduate Program in Agronomy of UFRR (POSAGRO/UFRR), Cauamé Campus, BR 174, s/n, Km 12, District Monte Cristo, CEP 69.301-970, Boa Vista-RR-Brazil.

<sup>e</sup>Department of Chemistry, Institute of Exact Sciences, Federal University of Minas Gerais, UFMG, CEP 31270-901, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil.

karlasantana.m@gmail.com

The objective of this study was to evaluate the presence of inhibitory substances from the fruits of *Capsicum* spp. var. Canaimé against micro-organisms indicators. Mature fruits (1.0 kg) were purchased at an agricultural fair, dried in an oven, and then was continuously extracted on a Soxhlet apparatus for 6 h, using 500 mL of hexane. Gram-positive *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Listeria monocytogenes* (ATCC 15313) and *Bacillus cereus* (ATCC 49456) were used to perform the antibacterial activity, as well as three Gram-negative strains: *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028), *Citrobacter freundii* (ATCC 8090) and *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 25922). The antibacterial activity of hexane extract of *Capsicum* spp. fruits in some concentrations, was quite high when compared with the antibiotic. The level of inhibition was better towards Gram (-) bacteria compared to Gram (+) bacteria. The excellent bioactivity of the extract against *S. typhimurium* may be related to its selectivity. The present study demonstrated the efficacy of *Capsicum* spp. extract against pathogens that affect the health of human beings and presence of chemical assets that aid in the prevention of diseases. However, more in-depth studies are still needed to consolidate its use and application in pharmaceutical area.

### 1 Introduction

Since ancient times, human societies have accumulated information and experiences about the environment around them, to interact with it and to provide for their survival needs. Among the many practices disseminated by popular culture, plants have always had fundamental importance for many reasons, and their therapeutic potential is stressed throughout the generations (Rangel and Bragança, 2009).

Brazilian flora receives special attention of researchers and specialists for having vegetal material composed of substances with chemical potential which contributes to the scientific and technological advances (Braz Filho, 2010). Condiment plants, such as chilies and chilies of the genus *Capsicum*, have always been used by Indians and ancient civilizations to make food more palatable and to treat diseases (Reifschneider, 2000). The species of peppers of *Capsicum*



genus originated in the Americas and were first reported in the 15th century by Chanca, a physicist who accompanied Columbus on his second expedition to the West Indies (De Souza and Rossi, 2014). Peppers of *Capsicum* genus belong to the Solanaceae family and present fruits with great genetic diversity in terms of color, size, shape, chemical composition and degree of pungency or spiciness (Cisneros-Pineda et al., 2007; Chuah et al., 2008). The total number of species of *Capsicum* spp. known to date is 35, distributed according to the degree of domestication: 5 domesticated, 10 semi-domesticated and

Please cite this article as: Morais K.S., Melo Filho A.A., Vilarinho L.B.O., Morais B.S., Cardoso Chagas P., Carvalho Dos Santos R., Goncalves Reis De Melo A.C., Takahashi J.A., 2018, Biological activity of hexane extracts of the northern amazon species capsicum spp., Chemical Engineering Transactions, 64, 277-282 DOI: 10.3303/CET1864047

278

20 wild (Porto and Silva, 2013). The diversity of varieties of these Solanaceae species is explained by their reproductive system that provides interspecific and intraspecific interbreeding (Simões, 2014). Evidently this diversification reflects on their phytochemicals production. Domesticated species of the genus *Capsicum* are *C. annuum*, *C. baccatum*, *C. chinense*, *C. frutescens* and *C. pubescens*. *C. chinense* is probably the most important species cultivated in the Amazon region. It is believed that it was domesticated by the natives who first inhabited this region (Reifschneider, 2000). The first report of presence of this species in the region date back to the period of the exploratory expeditions from the 16th century, in search of drugs from the north Brazilian countryside (Nascimento Filho et al., 2007).

Nascimento Filho et al. (2007), in a study on the use of peppers in Roraima, reported that some old quotations pointed to the great importance of peppers in feeding the Amazon populations. According to them, in the present day, the cultivation of peppers occurs practically in all the regions of the state of Roraima. They are marketed in different forms by the population, as in the form of in natural fruits, pulp, jiquitaia, sauces, preserves and ornamental (Nascimento Filho et al., 2007).

In Roraima, one of the first studies with the chemical composition of fruits of this genus was conducted by Marangon et al. (2014), where they made the characterization of minerals in the fruits of two species. In the following year, Borges et al. (2015) conducted another research with six varieties of this genus, being identified some morpho-anatomical and physico-chemical properties of the fruits and among them, the fatty acids contents.

Due to the abundance of the various types of peppers in the state of Roraima and to a few research studies directed to their analysis, the objective of this work was to perform an *in vitro* biological assay on a variety of *Capsicum* spp. genus. In this context, the antibacterial activity of hexane extracts of *Capsicum* spp. was tested against the standard strains (bacterial) of the American Type Culture Collection (ATCC) in a variety of pepper widely produced and consumed in the state of Roraima (Brazil).

## 2 Material and Methods

The experiment was carried out at the Federal University of Roraima, in a pepper species of the genus *Capsicum* spp. which is widely consumed by residents in the state, and often marketed in the free trade fairs of the state of Roraima. This variety was selected and the fruits were bought at the fair of the rural producer of Boa Vista city.



Figure 1: Variety CA: Pepper purchased at the fair of the rural producer.

In order to prepare the hexane extracts, the collected material was previously sanitized and weighed to obtain the initial mass, after which it was taken to a forced ventilation oven at 65 °C for 72 h until constant biomass to stabilize the

compounds and remove the moisture of the material according to the methodology described by Silva and Queiroz (2002). The extracts were then prepared from the dried fruits, in which 33 g were obtained in a dry mass of the fruits, after greenhouse. Then they were submitted to a continuous extraction in Soxhlet apparatus at the Laboratory of Environmental Chemistry of the Federal University of Roraima-UFRR. In this stage 500 mL of hexane solvent was used for a continuous extraction of 6 hours. Each extraction was carried out in triplicate of 11 g each and after the conclusion of the extractions, were submitted to rotary evaporation (Silva and Queiroz, 2002). The extracts already concentrated by rotaevaporation were transferred to a glass bottle and weighed in an analytical balance whose final extract weight of the triplicates was 5.83 g.

279

## 2.1 Microorganisms

The microorganisms tested were standard strains ATCC (*American Type Culture Collection*) and the assays were carried out at the Biotechnology and Bioassay Laboratory of the Department of Chemistry of Federal University of Minas Gerais. The following bacterial strains were used: *Listeria monocytogenes* (ATCC 15313), *Bacillus cereus* (ATCC 11778), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Salmonella typhimurium* (ATCC 13311) and *Citrobacter freundii* (ATCC 8090).

## 2.2 Antibacterial activity (*in vitro* bioassay)

The antimicrobial activity evaluation analyzes were performed at the Biotechnology Laboratory of the Federal University of Minas Gerais, following the Minimal Inhibitory Concentration (MIC) method described below. The tested concentrations of extracts of the pepper variety studied were 250, 125, 62.5, 31.25, 15.625, 7.8125 and 3.90625  $\mu\text{g mL}^{-1}$  respectively. The antibiotic Ampicillin was used as a control at a concentration of 12.5  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ . The procedures established (Zacchino and Gupta, 2007) were used to perform the bioassay. For the preparation of BHI (Brain Heart Infusion) culture medium 3.4 g of BHI was weighed and dissolved in 200 mL of distilled water. The solution was homogenized and then autoclaved for 15 min at 121 °C. As for inoculum preparation, one pre-inoculum was prepared in test tubes by adding 3.0 mL of BHI solution and 100  $\mu\text{L}$  of bacteria. The test tubes containing the bacteria were incubated in an oven at 37 °C for 24 hours. Then, with the aid of a micropipette, 500  $\mu\text{L}$  of bacterial pre-inoculum was added to an erlenmeyer containing approximately 40 mL of sterile distilled water. The inoculum was standardized in a spectrophotometer at 600 nm, in the transmittance range of 74-75% indicated for bacteria. For the preparation of the samples, 10 mg of extract was next weighed and then solubilized in 200  $\mu\text{L}$  of DMSO, resulting in a solution with a concentration of 50  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ . After, the solution was homogenized in a vortex mixer. Then a volume of 20  $\mu\text{L}$  of the solution was added in eppendorf containing 1980  $\mu\text{L}$  of BHI solution, thus obtaining the solution with a final concentration of 250  $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$ . Then we performed the antibacterial activity test, in which the assays were performed in a 96-well ELISA plate in duplicate. Dilutions were initiated by adding 100  $\mu\text{L}$  BHI medium and 100  $\mu\text{L}$  working solution into the first wells. The solution is then homogenized and 100  $\mu\text{L}$  are transferred to the next well and so on. The remaining 100  $\mu\text{L}$  were neglected. Then at the end of the microdilution, 100  $\mu\text{L}$  of inoculum was added to each of the 96 wells. To control the quality of the assay, we substitute the antibiotic- working solution, 100  $\mu\text{L}$  of Ampicillin solution (12.5  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) plus 100  $\mu\text{L}$  of inoculum. For the blank, the inoculum was not added, 100  $\mu\text{L}$  solution of the working solution (250  $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) plus 100  $\mu\text{L}$  of sterile distilled water. For control of bacterial growth (cell viability checked) was added 100  $\mu\text{L}$  of BHI medium plus 100  $\mu\text{L}$  of inoculum. As for the sterility control of the culture medium, 100  $\mu\text{L}$  of BHI medium plus 100  $\mu\text{L}$  of sterile distilled water was added. The microplates were homogenized for 5 min and incubated in an oven at 37 °C for 24 hours. The reading was performed in a Elisa plate spectrophotometer at 492 nm. The results were calculated as percent inhibition using the formula:

$$\% \text{ Inhibition} = 100 - \frac{AC1 - AC2}{AH - AM} \times 100$$

Where AC1 = absorbance of the sample; AC2 = absorbance of control sample; AH = absorbance in the control of the microorganism and AM = absorbance of the control of the culture medium.

## 3 Results and Discussion

Gram (+) and Gram (-) bacteria (Tables 1 and 2) bacterial strains were inhibited in the assay showing activity for the hexane extract of *Capsicum* spp. The extracts concentrations ranged from 3.90625  $\mu\text{g mL}^{-1}$  to 250  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , and potentially some very satisfactory results in this bioassay. Ampicillin was used as a control, of standard clinical use of antibiotics, was very efficient in the concentrations shown.

The activity test against *S. typhimurium*, *P. aureginosa*, *L. monocytogenes* showed remarkable inhibition at almost all extracts concentrations. However, *S. aureus*, *C. freundii* and *B. cereus* showed little inhibited or none at most of the concentrations tested with the extracts. The antibacterial activity against *S. typhimurium* was higher. Using 250 mg L<sup>-1</sup> extract, the extent of inhibition reached 97% and at the lowest concentration tested (3.90625 mg L<sup>-1</sup>) the inhibition level was quite high (84%). *S. typhimurium* is a Gram (-) bacterium that can cause diarrhea, severe fever and even death. It is mainly transmitted by fecal-oral contamination, very common in countries without basic sanitation, as well as the inadequate handling of food (Moura et al., 2012; Butler, 2011). The activity of the extract against *S. aureus* was not satisfactory, since less than 40% of inhibition was observed in almost all the concentrations used. Likewise, inhibition of *C. freundii* and *B. cereus* was less than 50% at most of the concentrations tested. The low inhibition of *Capsicum* spp. in relation to some bacterial strains and high inhibition against others is indicative of a mechanism of selective action, which deserves further investigation. *S. aureus* and *C. freundii* are Gram (+) bacteria that also cause serious health

280

problems for humans (Evans et al., 2014; Sung et al., 2008). The World Health Organization (WHO, 2014) pointed out that there is a global concern about the indiscriminate use of antibiotics because this causes bacteria to develop resistance to current medications. Thus, it is necessary to look for new medicines that meet this need.

Table 1: Inhibition of Gram (+) bacteria by the hexane extract of *Capsicum* spp.

Concentration ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	<i>S. aureus</i> (%)	Ampicillin (%)	<i>L. monocytogenes</i> (%)	Ampicillin (%)	<i>B. cereus</i> (%)	Ampicillin (%)
250	13.71	84.89	92.00	95.00	57.00	93.00
125	43.06	83.92	100.0	96.00	17.70	90.00
62.5	10.02	84.95	100.0	96.00	11.03	94.00
31.25	8.50	91.44	54.00	97.00	6.98	93.00
15.625	-	94.24	40.00	96.00	-	93.70
7.8125	-	95.87	-	63.00	-	83.90
3.90625	-	82.00	-	-	-	97.00

-: No inhibition

Table 2: Inhibition of Gram (-) bacteria by the hexane extract of *Capsicum* spp.

Concentration ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	<i>C. freundii</i> (%)	Ampicillin (%)	<i>S. typhimurium</i> (%)	Ampicillin (%)	<i>P. aureginosa</i> (%)	Ampicillin (%)
250	83.00	94.00	97.80	100.0	100.0	95.00
125	49.00	95.00	90.03	97.00	90.00	96.00
62.5	42.00	96.00	91.18	95.00	100.0	97.00
31.85	60.00	95.00	53.45	79.00	47.00	97.00
15.625	-	80.00	55.30	30.00	43.00	95.00
7.8125	-	-	29.70	20.00	39.87	58.00
3.90625	-	-	84.70	30.00	57.42	-

-: No inhibition

The antimicrobial effect of *Capsicum* fruits has been verified in other studies as demonstrated in the review by Fontoura et al. (2017) when describing 74 Brazilian plant species. The results are presented for *C. annum*, *C. baccatum* and *C. frutescens* when analyzing the effects of hydroalcoholic extracts by suspension, whose efficacy was verified for the bacteria: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus mutans*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa*. The chilli pepper, *C. frutescens*, presents the largest number of studies in the literature regarding microbiological action, probably because it is one of the most widespread and appreciated in the consumer market. In extracts of *C. frutescens*, Barbosa (2012) observed the inhibition of *S. aureus*, *E. coli* and *S. typhimurium*. Tests with the genus *Capsicum* species extracts of *C. frutescens*, *C. annum* and *C. baccatum* and bacterial strains of *S. enteritidis*, *E. coli*, *S. aureus* and *Enterococcus faecalis* show that bacterial *C. frutescens* have better efficacy (Carvalho et al., 2010).

When classifying extracts of different species according to their bacteriostatic or bactericidal effect, it was found that cayenne showed bactericidal activity, as well as garlic *nirá*, leek, sage and “manjerona preta”, for inactivating the bacteria *S. enteritidis*. Calabrian and finger peppers as well as tarragon did not promote the inhibitory effect, showing bacteriostatic action. *E. coli* was also inhibited by *C. frutescens*, as well as extracts of garlic *nirá*, garlic, and sage. *E. faecalis* and *S. aureus* were not inhibited by *C. frutescens*. Inhibition was greater than the inactivation of these bacteria (Carvalho et al., 2005).

Three species of the Solanaceae family were cited by Fontoura et al. (*Solanum mauritanum*) and *S. sisymbriifolium* (Mata-Cavalo) and root extracts of *S. paniculatum* (Jurubeba), and showed that the first two

281

*Solanum* species showed no effect antibacterial activity in *S. aureus* strains. This review showed that for most plants, the alcoholic extract presented better action against the bacteria. Mota et al. (2011) and Passos et al. (2009) justify that this occurrence is due to the loss of volatile essential oils in the extraction by decoction by the high temperatures as opposed to the hydroalcoholic extraction that happens with low temperature.

Santos (2010) in his experiments observed that extracts of *C. annuum* L significantly inhibited the fungus *Candida albicans*, but did not cause inhibition in *E. coli*. Pereira (2015) when investigating antimicrobial peptides in ethanol extracts of *C. annuum* L. inhibited the growth of phytopathogenic fungi *C. lindemuthianum*, *C. gloeosporioides* that cause the anthracnose and the bacterium *Xanthomonas euvesicatoria* that causes bacterial spotting in plants.

According to Tenório et al. (2016) differences in minimum inhibitory concentration may be related to the solvent used for the extraction of the metabolites and also to the type of strain selected for the antibacterial assays. However, it is necessary to purify, isolate and identify the bioactive components of this plant for further testing, which act to inhibit bacterial growth and bactericidal activity.

## 4 Conclusions

The hexane extracts of fruits *Capsicum* spp. in some concentrations, the antibacterial activity was quite high when compared with the antibiotic. The level of inhibition was better in Gram (-) bacteria compared to Gram (+) bacteria. Inhibition of Gram-positive bacteria, *S. aureus* was unsatisfactory. The excellent bioactivity of the extract against *S. typhimurium* may be related to the selectivity. In this context and due to the excellent results the use as an antibiotic is suggested, but it needs new tests.

## Acknowledgments

To CAPES for a fellowship, to CCT (Sao Paulo) and CML (UFLA, MG) for donation of microorganisms, to FAPEMIG for a grant and to the Research Oleoquímicos Group UFRR.

## Reference

- Barbosa F.H.F., Bambirra F.H.S., Barbosa L.P.J.L., Faustino S.M.M., Nicoli J.R., 2012, Propriedade antimicrobiana de extrato de pimenta (*Capsicum frutescens* L.) contra *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*, Rev. Biol. Ciênc. Terra. 12, 91-93.
- Borges K.M., Vilarinho L.B.O., Melo Filho A.A., Morais B.S., Rodrigues R.N.S., 2015, Caracterização morfoagronômica e físico-química de pimentas em Roraima, Agro@mbiente On-Line. 9, 292-299.
- Braz Filho R., 2010, Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente, Quím. Nova, 33, 229-239.
- Butler T, 2011, Treatment of typhoid fever in the 21st century: promises and shortcomings, Clin. Microbiol. Infect. 17, 959-963.
- Carvalho H.H.C., Wiest J.M., Cruz F.T.D., 2010, Atividade antibacteriana in vitro de pimentas e pimentões (*Capsicum* sp.) sobre quatro bactérias toxigenas alimentares, Rev. Bras. Plantas Med. 12, 8-12.
- Cisneros-Pineda O., Torres-Tapia L.W., Gutiérrez-Pacheco L.C., Contreras-Martín F., González-Estrada T., Peraza-Sánchez S.R., 2007, Capsaicinoids quantification in chili peppers cultivated in the state of Yucatan, Mexico, Food Chem. 104, 1755-1760.
- Chuah A.M., Lee Y.C., Yamaguchi T., Takamura H., Yin L.J., Matoba T., 2008, Effect of cooking on the antioxidant properties of coloured peppers, Food Chem. 111, 20-28.
- Evans K., Stone V., Chen L., Ge X., Xu P., 2014, Systematic study of genes influencing cellular chain length in *Streptococcus sanguinis*, Microbiology 160, 307-315.
- Fontoura C.C., Santos G.R., Bastos dos A., Luísa Marillac R.L.de, Lopes N.C., Aragão F.B.A., 2017, Atividade antimicrobiana de extratos de plantas nativas do Brasil: artigo de revisão, Braz. J. Surg. Clin. Res. 18, 118-127.
- Marangon C., Rizzatti I.M., Costa H.N.R., 2014, Determinação de macro e micronutrientes em quatro espécies de pimentas *Capsicum* ssp. cultivadas em Roraima. In: I Encontro De Química Do Norte, SBQ Norte. <[http://files.sbnorte.webnode.com/2000000215ab995bb38/SBQNORTE\\_AMB02.pdf](http://files.sbnorte.webnode.com/2000000215ab995bb38/SBQNORTE_AMB02.pdf)> Accessed 08.08.2017.
- Mota F.M., Carvalho H.H.C., Wiest J.M., 2011, Atividade antibacteriana in vitro de inflorescências de *Achyrocline*

- satureioides* (Lam.) DC.-Asteraceae ("macela", "marcela") sobre agentes bacterianos de interesse em alimentos, Rev. Bras. Plantas. Med. 13, 298-304.
- Moura M.R.S.A.L., Mello M.J.G., Calábria W.B., Germano E.M., Maggi R.R.S., Correia J.B., 2012, The frequency of *Escherichia coli* and its sensitivity to antimicrobials in children aged under five years admitted to hospital for treatment of acute diarrhea, Rev. Bras. Saúde Mater. Infant. 12, 173-182.282
- Nascimento Filho H.R., Barbosa R.I., Luz F.J.F., 2007, Pimentas do gênero *Capsicum* cultivadas em Roraima, Amazônia brasileira: II. Hábitos e formas de uso, Acta Amaz. 37, 561-568.
- Passos M.G., Carvalho H., Wiest J.M., 2009, Inibição e inativação *in vitro* de diferentes métodos de extração de *Ocimum gratissimum* L. ("alfavacão", "alfavaca", "alfavaca-cravo") Labiatae (Lamiaceae), frente a bactérias de interesse em alimentos, Rev. Bras. Plantas Med. 11, 71-78.
- Pereira L.S., 2015, Peptídeos antimicrobianos de folhas e raízes de *Capsicum annuum* L.: caracterização atividade inibitória sobre microrganismos fitopatogênicos. [Master Thesis]. (Genética e Melhoramento de Plantas). Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, 96p.
- Porto F.R.C., Silva J.C., 2013, Etnobotânica e uso medicinal da pimenta malagueta (*Capsicum frutescens* L.) Pelos Horticultores E Consumidores Da Horta Comunitária Da Vila Poty, Teresina, Piauí, Brasil/Ethnobotany and Medicinal Use Pepper Chili (*Capsicum frutescens* L.) by horticulturi, Rev. FSA, 9, 139-152.
- Rangel M., Bragança F.C.R., 2009, Representações de gestantes sobre o uso de plantas medicinais, Rev. Bras. Plantas Med. 11, 100-9.
- Reifschneider F.J.B. (Org.), 2000, *Capsicum*: pimentas e pimentões no Brasil. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia/Embrapa Hortaliças. Embrapa: Brasília, 113p.
- Santos M.M.P., 2010, Atividade antimicrobiana *in vitro* de extratos vegetais das espécies *Mangifera indica*, *Eugenia jambolana*, *Schinus terebinthifolius*, *Capsicum annuum*, e de análogos sintéticos da capsaicina, frente aos microrganismos da cavidade oral. [PhD Thesis]. (Genética e Melhoramento de Plantas). Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, 86p.
- Silva D.J., Queiroz A.C., 2002, Análise de alimentos (Métodos Químicos e Biológicos). Ed. 3ª. Vicoso, MG: Universidade Federal de Viçosa, 235p.
- Simões L.D.S., 2014, Extração e caracterização de oleoresina de *Capsicum* obtida a partir de pimentas malagueta (*Capsicum frutescens*) e dedo-de-moça (*Capsicum baccatum* var. *Pendulum*). [Master Thesis]. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, Brazil, 79p.
- Souza P.T.D., Rossi A.V., 2014, Determinação espectrofotométrica indireta de capsaicinoides em pimentas *Capsicum* a partir da reação com o complexo de Co (II) com 4-(2-piridilazo) resorcinol. *Quím. Nova*. 37, 631-637.
- Sung J.M.-L., Lloyd D.H., Lindsay J.A., 2008, *Staphylococcus aureus* host specificity: comparative genomics of human versus animal isolates by multi-strain microarray. *Microbiology* 154, 1949-1959.
- Tenório R.F.L., do Nascimento M.S., Lima Filho J.V.M., de Sousa Maia M.B., Coelho M.C.D.O.C., 2016, Atividade antibacteriana *in vitro* do extrato de *Abarema cochliacarpus* (Gomes) Barneby & JW Grimes contra bactérias isoladas de feridas cutâneas de cães. *Ci. Anim. Bras.* 17, 252-259.
- Zacchino A.S., Gupta M.P., 2007, Manual de técnicas *in vitro* para la detección de compuestos antifúngicos, vol. 85, Corpus Editorial y Distribuidora: Rosario.
- WHO, World Health Organization, 2014, Antimicrobial resistance. Media Center, Fact Sheet, Number 194, April, 2014. <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/en/>> Accessed 06.09 2017.

## ANEXO B – BIOACTIVE EXTRACTS OF *CAPSICUM CHINENSE* IN THE NORTHERN AMAZON

277



CHEMICAL ENGINEERING TRANSACTIONS

VOL. 76, 2019

Guest Editors: Enrico Bardone, Antonio Marzocchella, Tajalli Keshavarz  
Copyright © 2018, AIDIC Servizi S.r.l.



The Italian Association

## BIOACTIVE EXTRACTS OF *Capsicum chinense* IN THE NORTHERN AMAZON

Karla Santana Morais<sup>a</sup>, Bruna Santana Morais<sup>a</sup>, Lucianne B. O. Vilarinho<sup>b</sup>, Poliana C. Chagas<sup>b</sup>, Ana C. G. Reis Melo<sup>c</sup>, Jacqueline A. Takahashi<sup>d</sup>, Antonio Alves de Melo Filho<sup>b,e</sup>

<sup>a</sup>Department of Health, IFRR, Boa Vista Campus, CEP 69.303-340, Boa Vista-RR-Brazil.

<sup>b</sup>Post-Graduate in Biotechnology and Biodiversity Program, Federal University of Roraima, Paricarana Campus, CEP 69304-000, Boa Vista, Roraima.

<sup>c</sup>Post graduate in Natural Resources Program, Federal University of Roraima, Boa Vista-RR-Brazil.

<sup>d</sup>Department of Chemistry, Institute of Exact Sciences, Federal University of Minas Gerais, CEP 31270-901, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil.

<sup>e</sup>Department of Chemistry, UFRR, Paricarana Campus, CEP 69304-000, Boa Vista-RR-Brazil.

karlasantana.m@gmail.com

The objective of this work was to analyze the bioactive potential of hexane and methanol extracts of fruits of *Capsicum* spp., a kind of pepper collected in Roraima, Brazil, against the yeast *Candida albicans*, as well as antioxidant activity and antiacetylcholinesterase inhibition. The antioxidant activity of the methanol extract of the fruits was 82%. The antiacetylcholinesterase activity was high in the hexane extract reaching 71%. Hexane extract of the fruits did not present inhibition for *Candida albicans*. The present study demonstrated the efficacy of *Capsicum* spp. as a natural antioxidant and the presence of active chemical constituents that can aid in the treatment of neurodegenerative diseases such as Alzheimer's. However, further studies are still needed to consolidate its use and application in the pharmaceutical field.

### 1. Introduction

Peppers of *Capsicum* genus are important ingredients used as food and for seasoning because of their typical color, pungency, distinct taste and aroma (Junior et al., 2015). Epidemiological studies demonstrate the benefits of spicy food in reducing mortality and improving quality of health (LV et al., 2015). There are many nutritional benefits associated with consumption of peppers, such as anti-inflammatory, analgesic, glycemic regulation and antioxidant activities. Functional properties are often attributed peppers mainly because they are sources of carotenoids, vitamin C, vitamin E, alkaloids, flavonoids and capsaicinoids, which are their predominant phenolic constituents (Bogusz Jr et al., 2018).

Pepper cultivars are generally found in tropical and subtropical regions. They require humid climate and can be grown in a variety of soils. Besides, peppers have the reputation of having medicinal properties. Today, although synthetic drugs are readily available in most countries and highly effective in curing various diseases, there is still people who opt for traditional folk medicines because they usually have fewer harmful side effects (Reddy et al., 2011). There is a great diversity of compounds, especially secondary metabolites found and isolated from plants. More recently, a number of biological properties and potential health benefits of consuming peppers have been reinforced, as for antioxidant property (Sricharoen et al., 2017). Some studies have shown beneficial therapeutic effects of compounds from peppers as anticancer and antibacterial agents.

In Roraima, one of the first studies on the chemical composition of fruits of *Capsicum* genus was conducted by Marangon et al. (2014), where they described the characterization of minerals in the fruits of two species of this genus. The following year, Borges et al. (2015) conducted another research with six varieties of this group, being identified some morpho-anatomical and physico-chemical properties of the fruits, as well as the fatty acids contents. Recently Morais et al. reported the antibacterial extract of a species of *Capsicum* spp. against bacteria pathogenic to humans (2018). Due to the abundance of various types of peppers in Roraima state that are part of the natives diet, the objective of this work was to carry out *in vitro* biological assay



with the species *Capsicum chinense*. This plant has been identified at the species level for the present work as it was previously referred as *Capsicum* sp. (Morais et al., 2018). In this context, the objective of this work was to analyze the antifungal and antioxidant activities and acetylcholinesterase inhibition of *C. chinense* hexanic extracts.

## 2. Material and methods

The experiment was conducted at the Federal University of Roraima - UFRR, which a pepper species of the genus *C. chinense* purchased at the rural producer's fair in the city of Boa Vista (RR, Brazil) and then planted in a greenhouse for botanical identification species. After full development, the species was identified and exsiccates were deposited at the UFRR herbarium under the number UFRR / 8989. Figure 1 shows the macroscopic aspect of *C. chinense* fruits utilized in the present work.

Figure 1. Macroscopic aspect of *Capsicum chinense* fruits



In order to prepare the hexane extracts, the peppers were previously sanitized and weighed to obtain the initial mass, after which the fruits were submitted to an oven with forced ventilation at 65 °C for 72 h until constant biomass for stabilization of the compounds and removal of moisture. This procedure was carried out according to the methodology described by Silva and Queiroz (2002). The extracts from the dried fruits were then prepared by continuous extraction in a Soxhlet apparatus at the Environmental Chemistry Laboratory of the Federal University of Roraima-UFRR. The material 33gr was subjected to continuous extraction for six hours, using 500 mL of hexane as the extractor solvent. The extraction was done in triplicate and after the extractions were finished, the diluted extracts were submitted to a rotaevaporation process (Silva and Queiroz, 2002) to remove the solvent. After concentration, the extracts were transferred to labeled glass vials and weighted in an analytical balance

### 2.1 Microorganism

The microorganism tested was the fungus *Candida albicans* (ATCC 10231) and the antifungal assay was carried out at the Laboratory of Biotechnology and Bioassays Laboratory of the Department of Chemistry of the Federal University of Minas Gerais (Brazil).

### 2.2 Bioassays of antimicrobial activity in yeasts

The analyzes for evaluation of the antifungal activity were carried out at the Biotechnology and Bioassays Laboratory of the Federal University of Minas Gerais - UFMG, following the Minimal Inhibitory Concentration (MIC) method described below. The concentrations tested were 250, 125, 62.5, 31.25, 15.6 and 3.9  $\mu\text{g mL}^{-1}$  (Zacchino and Gupta, 2007). Nistatin (standard antifungico) was used as a control in the concentration of 12.5  $\text{mg mL}^{-1}$ . Samples were weighed and dissolved in DMSO at 50  $\text{mg mL}^{-1}$ . A volume (40  $\mu\text{L}$ ) of this solution was added to a flask containing 960  $\mu\text{L}$  BHI (Brain Heart Infusion) Broth to prepare the working solution. A pre-inoculum was prepared in which *C. albicans*, stored under refrigeration, was transferred with a platinum loop to test tubes containing 3 mL of freshly prepared BHI broth. The tubes were incubated at 37 °C for 18 h. Then the pre-inoculum (500  $\mu\text{L}$ ) was transferred to tubes containing 4.5 mL of sterile distilled water. The tubes were homogenized and the concentration was adjusted to 0.5 to reach McFarland turbidity standard ( $10^8$  CFU  $\text{mL}^{-1}$ ), thereby obtaining the inoculum used in the bioassays. The assays were performed in duplicate 96-well plates. BHI broth (100  $\mu\text{L}$ ) was added to each well. In the first well, 100  $\mu\text{L}$  of working solution was also added. The resulting solution was homogenized and 100  $\mu\text{L}$  of the mixture was transferred to the next well and so on until the last well, from which 100  $\mu\text{L}$  of the material were discarded. Then, 100  $\mu\text{L}$  of microorganism inoculum was added to the wells. Six different concentrations of the sample were tested. A positive control lacking of the working solution allowed examining the positive growth of the microorganism. A negative control, lacking the inoculum, was performed to discount the color present in the extracts present in the working solution. A control plate containing 100  $\mu\text{L}$  of BHI culture medium and 100  $\mu\text{L}$  of sterile distilled water was added to the experiment to control BHI broth sterility. Growth of the microorganism was measured on an ELISA plate reader (492 nm) immediately after the start of the experiment (0 h). They were incubated at 37 °C and read again after 24 h of incubation, terminating the test.

### 2.3 Inhibition of acetylcholinesterase (AChE)

Aliquots of a working solution (25  $\mu\text{L}$ ) (DMSO sample 10  $\text{mg mL}^{-1}$ ) were added to the wells of the microplate and positive and negative controls were also prepared. To the first five wells of a column (positive control) were added 25  $\mu\text{L}$  of a solution of eserine and galantamine prepared at 10  $\text{mg mL}^{-1}$  (31 mM, 2.7 mM in the entire reaction mixture 275  $\mu\text{L}$ ) in Tris / HCl at pH 8.0). Then, 25  $\mu\text{L}$  of 15 mM acetylthiocholine iodide (ATChI, Sigma A5751); (DTNB, Sigma D8130) (3 mM) and 50  $\mu\text{L}$  of Tris / HCl (50 mM, pH 8) containing 0.1% (m / v) bovine serum albumin was added to each well. The absorbance was measured at 405 nm every 1 min for 8 times. Then, 25  $\mu\text{L}$  (0.226 U  $\text{mL}^{-1}$ ) of eel AChE (type VI-S) provided by Sigma (C3389-500UN) in Tris / HCl was added to each well. The absorbance was measured at 405 nm for 10-fold (Ellman et al., 1961; Dominguet & Takahashi, 2018).

#### 2.4 Determination of total phenolic compounds

Methanol extracts (4.0 g) prepared utilizing previously lyophilized peppers was mixed with 35 mL of methanol 80% (v / v) acidified with 0.5% (v / v) of hydrochloric acid in falcon tubes and, afterwards, this mixture was placed in a boiling water bath for 30 minutes. The supernatant was separated and remaining material was and treated again with the same conditions as above. The methanol fractions were then collected and centrifuged at 6000 rpm for 30 minutes. The resulting material was placed in amber glass vials and stored in the refrigerator at 2 °C until analysis. According to Singleton et al. (1999), to make the readings, gallic acid (GA) was used as the reference standard, using the Shimadzu UV-1800 spectrophotometer. The method involves the reduction of the Folin Ciocalteu reagent when phenolic compounds are present in the sample with formation of a complex with blue color. An aliquot of the methanol extracts (0.1 mL) was transferred to a 10 mL test tube and 3 mL of distilled water was added followed by 0.25 mL Folin Ciocalteu reagent. The mixture was allowed to stand for 3 minutes and finally 2 mL of a sodium carbonate 7.5% (w / v) solution was added. A blank test was also used under the same conditions, in which 0.1 mL of distilled water was used instead of the samples. They were incubated in a water bath at 37 °C for half an hour and the readings were made in a spectrophotometer at 765 nm. Quantification of total phenols in the extracts was expressed as mg GA /100 g sample.

#### 2.5 Determination of antioxidant activity

Determination of the antioxidant activity in the different extracts was evaluated by an absorption method that monitor the extinction of the 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl (DDPH) radical. The DDPH method was developed using visible ultraviolet molecular absorption spectrophotometry measured at 515 nm (Miranda and Fraga, 2006) on the Shimadzu model UV-1800 Spectrometer. The technique consists in preparing a 300  $\mu\text{L}$  incubation of the methanolic extract with 2.7 mL of the 0.06 mM DPPH solution, leaving for 60 minutes in incubation and obscuring to be read later at 515 nm. The calibration curve was made by preparing diluted standards from the 60 mM stock concentration in the range of 10-50 mM and, at the same time, a blank was made with methanol.

### 3. Results and Discussion

#### 3.1 Evaluation of anti-*Candida* potential

The biological activity of *C. chinense* hexane extract against the pathogenic microorganism *C. albicans* is presented below (Table 1).

<i>C. chinense</i> extract Concentration ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	<i>C. albicans</i> (%)	Nistatin (%)
250	21.31	98.89
125	8.06	94.92
62.5	2.02	86.95
31.85	0	81.44
15.625	0	57.24
3.90625	0	0

Santos (2010) in his experiments with extracts of *Capsicum annuum* also identified low biological activity against the fungus *Candida albicans*. However, the antifungal capacity of *C. chinense* species has been reported for aqueous extracts of these peppers with significant inhibition rates against phytopathogenic fungi, such as *Rhizoctonia solani* (Matos et al., 2011). The control of all these challenging phytopathogens growth shows that this extract has bioactive compounds that can control phytopathogenic filamentous fungi.

#### 3.2 Acetylcholinesterase inhibitory activity

*C. chinense* fruit extract hexane inhibited the enzyme AChE at the concentration of 10  $\text{mg mL}^{-1}$  in 71.00%, while the standard inhibitors, such as eserine and galantamine, inhibited 91.93% and 94.36%, respectively, in the concentration of the extract. Vinutha et al. (2007) classify AChE inhibition as potent when a sample present over 50% inhibition while AChE inhibitors are



considered moderate (30-50% inhibition) or weak (<30% inhibition) according to the degree of activity. Therefore, according to the classification of Vinutha et al., the hexane extract of *C. chinense* can be considered a potent inhibitor of AChE. In addition, according to Trevisan and Macedo (2003), extracts with inhibition greater than or equal to 50% may be candidates for fractionation and isolation of the bioactive metabolites.

### 3.3 Determination of antioxidant activity by DPPH

In order to evaluate the ability of *C. chinense* extract methanol constituents to capture free radicals, the behavior of solutions of this extract in the presence of DPPH solution was analyzed. The results were expressed as percentage of oxidation inhibition, that is, the percentage of antioxidant activity corresponding to the amount of DPPH consumed by the antioxidant. According to Alves et al. (2007), the consumption of DPPH by the sample is directly proportional to its antioxidant activity. From the result obtained with the methanol extract of *C. chinense*, the linear regression analysis was determined, with the equation of the line  $y = 0.0099x + 0.0077$  with the correlation coefficient  $r$  equal to 0.9966. The concentration may range from 0 to 60 mg L<sup>-1</sup>. The result obtained in the determination of the antioxidant activity of *C. chinense* extract was 81.97% of antioxidant activity. According to the DPPH calibration curve, the corresponding concentration is between 10-20 mg L<sup>-1</sup>, that is a high antioxidant capacity. Sricharoen et al. (2017) in their experiment with several species of peppers also proved a high level of antioxidant potential among the studied accessions of this plant.

### 3.4 Determination of total phenolic compounds

The phenol content is used extensively in the determination of various extracts and evaluated by the Folin-Ciocalteu reagent. From the reaction between gallic acid and Folin-Ciocalteu reagent (Da Silva et al., 2013) the linear regression analysis was determined with the line equation  $y = 0.00193x + 0.0459$  with correlation coefficient  $r$  equal to 0.9943. The concentration range was 2 to 16 mg L<sup>-1</sup>. The total phenol content of the extract methanol was expressed in mg equivalents of gallic acid per 100 g of the extract (mg EAG 100 g<sup>-1</sup>). The total phenol content found in the crude methanolic extract was 241.89 mg EAG 100 g<sup>-1</sup>. For the interpretation of the result Rufino et al. (2006) report that values up to 100 mg EAG 100 g<sup>-1</sup> show low concentration of total phenols, while values between 100-500 mg EAG 100 g<sup>-1</sup> indicate mean concentration of phenols. Values higher than 500 mg EAG 100 g<sup>-1</sup> indicate, therefore, a high concentration of total phenols. Thus, *C. chinense* can be considered as an average source of total phenol compounds, since the result was greater at 100 mg EAG 100 g<sup>-1</sup>. Farhoudi et al. (2017) corroborates that phenolic compounds have attracted the interest of researchers because they present antioxidant activity and can protect the human body from free radicals, and play a role in the prevention of some diseases, including cancer, cardiovascular diseases and neurodegenerative diseases disorders.

## 4. Conclusions

The hexane extract of this species showed low inhibition for *C. albicans* fungus (21.31%), at the concentration of 250 µg mL<sup>-1</sup>. On the other side, measurement of AChE inhibition for *C. chinense* species (71.00%) has shown that this plant possess substances that have potent capacity to inhibit this enzyme. The average potential of total phenol content shows a positive correlation with antioxidant activity and with AChE inhibition, showing an important role of this pepper in daily diet.

## 5. Acknowledgement

To IFRR, UFRR and UFMG for making their laboratory facilities available to carry out this research and FINEP for the NPPGCT infrastructure.

## 6. References

- Alves C.Q., Brandão H.N., David J.M., David J.P., Lima L.S., 2007, Evaluation of the antioxidant activity of flavonoids, *Diário Ciênc.* 5, 7-8.
- Bogusz Jr, S., Libardi, S. H., Dias, F. F., Coutinho, J. P., Bochi, V. C., Rodrigues, D. & Godoy, H. T., 2018, Brazilian *Capsicum* peppers: capsaicinoid content and antioxidant activity. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(1), 217-224.
- Borges K.M., Vilarinho L.B.O., Melo Filho A.A., Morais B.S., Rodrigues R.N.S., 2015, Morpho-agronomic and physicochemical characterisation of the pepper for the State of Roraima, *Agro@mbiente On-Line*. 9, 292-299.
- Da Silva E.C.C., Muniz M.P., Nunomura R.C.S., Nunomura S.M., Zilse G.A.C., 2013, Phenolic constituents and antioxidant activity of geopropolis from two species of stingless Amazonian bees, *Quim. Nova* 36, 628-633.
- Dominguete, L. C. B. ; Takahashi, J.A., 2018, Filamentous Fungi as Source of Biotechnologically Useful Metabolites and Natural Supplements for Neurodegenerative Diseases Treatment. *Chemical Engineering Transactions*, v. 64, p. 295-300.
- Farhoudi, R., Mehrnia, M. A., & Lee, D. J., 2017, Antioxidant activities and bioactive compounds of five Jalopeno peppers (*Capsicum annuum*) cultivars. *Natural Product Research*, 1-4.

- Junior, S. B., Março, P. H., Valderrama, P., Damasceno, F. C., Aranda, M. S., Zini, C. A., Godoy, H. T., 2015, Analysis of volatile compounds in *Capsicum* spp. by headspace solid-phase microextraction and GC×GC-TOFMS. *Analytical Methods*, 7(2), 521-529.
- Lv, J., Qi, L., Yu, C., Yang, L., Guo, Y., Chen, Y., Tang, Z., 2015, Consumption of spicy foods and total and cause specific mortality: population based cohort study. *BMJ (Clinical research ed.)* v. 351, p. h3942-h3942.
- Marangon C., Rizzatti I.M., Costa H.N.R., 2014, Determinação de macro e micronutrientes em quatro espécies de pimentas *Capsicum* ssp. cultivadas em Roraima. In: I Encontro De Química Do Norte, SBQNorte. <[http://files.sbnorte.webnode.com/2000000215ab995bb38/SBQNORTE\\_AMB02.pdf](http://files.sbnorte.webnode.com/2000000215ab995bb38/SBQNORTE_AMB02.pdf)> Accessed 08.11.2018.
- Matos, S., Vieira Junior, J. R., Fernandes, C. D. F., Almeida, U., Santana, L., Mimosso, C., Lima, R., 2017, (March). Extratos de pimenta do gênero *Capsicum* na inibição de crescimento micelial de *Rhizoctonia solani* Kuhn, fungo causador da doença mela no feijoeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 44., 2011, Bento Gonçalves. Anais... Tropical Plant Pathology, Brasília, DF, v. 36, 2011. 1 CD-ROM. Suplemento.
- Miranda A.L.P., Fraga C.A.M., 2006, Free radical scavenger activity: determination of the antioxidant profile of bioactive substances. In: Monge A., Ganellin C.R. (Ed.), *Practical Studies for Medicinal Chemistry*, Geneva: IUPAC.
- Morais, K. S., Melo Filho, A. A., Vilarinho, L. B. O., Morais, B. S., Chagas, P. C., Dos Santos, R. C. & Takahashi, J. A., 2018, Biological Activity of Hexane Extracts of the Northern Amazon Species *Capsicum* spp. *Chemical Engineering Transactions*, 64, 277-282.
- Reddy, K. K., Ravinder, T., Prasad, R. B., & Kanjilal, S., 2010, Evaluation of the antioxidant activity of capsiate analogues in polar, nonpolar, and micellar media. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(2), 564-569.
- Santos, M. M. P., 2010, Atividade antimicrobiana *in vitro* de extratos vegetais das espécies *Mangifera indica* *Eugenia jambolana*, *Schinus terebinthifolius*, *Capsicum annuum*, e de análogos da capsaicina, frente aos microorganismos da cavidade oral. Campo dos Goytacazes: Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro.
- Silva D.J., Queiroz A.C., 2002, *Análise de alimentos (Métodos Químicos e Biológicos)*. Ed. 3a. Vicoso, MG: Universidade Federal de Viçosa, 235p.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M., 1999, Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In *Methods in enzymology* (Vol. 299, pp. 152-178). Academic press.
- Sricharoen, P., Lamaiphan, N., Pathawaro, P., Limchoowong, N., Techawongstien, S., & Chanthai, S., 2017, Phytochemicals in *Capsicum* oleoresin from different varieties of hot chilli peppers with their antidiabetic and antioxidant activities due to some phenolic compounds. *Ultrasonics sonochemistry*, 38, 629-639.
- Trevisan M.T.S., Macedo F.V.V., 2003, Screening for acetylcholinesterase inhibitors from plants to treat Alzheimer's disease, *Química Nova*, 26, 301-304.
- Vinutha B., Prashanth D., Salma K., Sreeja S.L., Pratiti D., Padmaja R., Radhika S., Amita A., Venkateshwarlu K., Deepak M., 2007, Screening of selected Indian medicinal plants for acetylcholinesterase inhibitory activity, *Journal Ethnopharmacology*. 109, 359-363.
- Zacchino A.S., Gupta M.P., 2007, *Manual de técnicas in vitro para la detección de compuestos antifúngicos*, vol. 85, Corpus Editorial y Distribuidora: Rosario.