



Título: LIGNINAS DE *Dinizia excelsa*: RELAÇÃO ESTRUTURA–FUNÇÃO E PERSPECTIVAS PARA O DESENVOLVIMENTO DE AGENTES ANTIMICROBIANOS NATURAIS

Santos, CAA^{1,2}; Miranda, JFOM¹; Silva, WMS¹; Silva, AFF¹; Lima, LS^{1,3}; Pereira, AVLA^{1,4}; Santos, KCC^{1,3}; Marques, DSC^{1,4}; Cruz Filho, IJ^{1,4};

¹ Laboratório de Química e Inovação Terapêutica (LQIT), Departamento de Antibióticos, UFPE, Recife - PE.

² Graduação no curso de Farmácia da UFPE, Recife - PE.

³ Programa de Pós-graduação em Inovação Terapêutica da UFPE, Recife – PE.

⁴ Programa de Pós-graduação em Morfotecnologia da UFPE, Recife – PE.

Eixos temáticos: Microbiologia (infecções bacterianas, virais e fúngicas)

RESUMO

A lignina é uma macromolécula de origem vegetal abundante, geralmente utilizada como subproduto da indústria de papel e bioetanol, mas que apresenta potencial para aplicação farmacológica devido às suas propriedades biológicas. Neste estudo, avaliou-se a atividade antibacteriana da lignina extraída da madeira de *Dinizia excelsa*, espécie amazônica de grande relevância econômica. Foram testadas dez cepas bacterianas de interesse clínico, incluindo *Acinetobacter baumannii*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*. Os ensaios de microdiluição em caldo permitiram determinar as concentrações inibitória mínima (CIM) e bactericida mínima (CBM), comparadas com antibióticos de referência. A lignina apresentou atividade antibacteriana promissora, com valores de CIM variando entre 512 µg/mL e > 1024 µg/mL. As cepas *P. aeruginosa* UFPEDA-261, *P. aeruginosa* UFPEDA-416 e *S. aureus* UFPEDA-709 destacaram-se com CIM de 512 µg/mL, sendo este último resultado equivalente ao obtido para a oxacilina frente à cepa resistente. Contudo, não foram observados valores de CBM ≤ 1024 µg/mL, indicando ausência de efeito bactericida significativo. Apesar da menor eficácia em comparação com antimicrobianos convencionais, a inibição observada em cepas resistentes evidencia o potencial da lignina como adjuvante terapêutico. Esses achados reforçam a importância de estudos futuros para elucidar seus mecanismos de ação e investigar possíveis sinergismos com antibióticos.

Palavras-chave: lignina; *Dinizia excelsa*; atividade antibacteriana; resistência bacteriana; produtos naturais.

Agências Financiadoras: Universidade Federal de Pernambuco, Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE)

INTRODUÇÃO

As ligninas são macromoléculas fenólicas amplamente distribuídas na natureza, presentes na parede celular secundária das plantas, onde se associam à celulose e

hemicelulose, conferindo resistência estrutural e proteção contra agentes bióticos e abióticos. Biossintetizadas por meio de reações de polimerização desidrogenativa, essas moléculas são formadas a partir das unidades fenilpropanóides guaiacil (G), siringil (S) e p-hidroxifenil (H), unidas por ligações éter e carbono-carbono. Sua estrutura complexa, rica em grupos funcionais fenólicos, é a base para suas múltiplas propriedades biológicas, incluindo atividades antioxidante, imunomoduladora, antitumoral e antimicrobiana (Izaguirre *et al.*, 2024).

Apesar de serem subprodutos abundantes da indústria de celulose e bioetanol, as ligninas ainda são subutilizadas, sendo frequentemente incineradas para geração de energia. A heterogeneidade química dessa biomacromolécula, que varia de acordo com a origem vegetal e os métodos de extração aplicados, dificulta sua padronização industrial, mas ao mesmo tempo oferece um leque promissor de aplicações em diferentes áreas, especialmente na farmacologia. A busca por novas fontes de ligninas, com propriedades bioativas otimizadas, torna-se uma alternativa estratégica para o desenvolvimento de produtos com valor agregado, em especial agentes antimicrobianos (Jadhav *et al.*, 2024).

Estudos recentes demonstram que diferentes tipos de ligninas apresentam significativa atividade antimicrobiana, incluindo ação contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Essa propriedade pode estar associada à presença de grupos fenólicos, que interferem na integridade da parede celular bacteriana, provocando lise celular ou inibição do crescimento microbiano. Além disso, a capacidade antioxidante das ligninas pode potencializar seus efeitos bactericidas ao induzir estresse oxidativo nos microrganismos. No entanto, é importante destacar que o perfil de atividade pode variar significativamente conforme a fonte da lignina e suas características estruturais (Nakason *et al.* 2024).

Dentro deste contexto, a espécie amazônica *Dinizia excelsa* (Fabaceae) surge como uma fonte promissora de lignina com potencial bioativo. Muito utilizada na indústria madeireira, essa árvore gera grande volume de resíduos durante o processamento da madeira, os quais são frequentemente descartados, representando perdas econômicas e ambientais. Estudos anteriores já demonstraram o potencial bioativo de extratos obtidos de resíduos vegetais, incluindo propriedades antimicrobianas. No entanto, o potencial antibacteriano das ligninas extraídas de *D. excelsa* permanece inexplorado, o que justifica a realização deste estudo (Lima *et al.*, 2024).

Assim, este trabalho teve como objetivo principal avaliar a atividade antibacteriana das ligninas extraídas da madeira de *Dinizia excelsa*, por meio de ensaios *in vitro* contra cepas bacterianas de interesse clínico. Além disso, foram realizadas análises físico-químicas das ligninas, de modo a correlacionar suas características estruturais com a atividade observada. Espera-se, com isso, contribuir para o aproveitamento sustentável dos resíduos florestais da Amazônia e fomentar o desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos à base de lignina.

MATERIAIS E MÉTODOS/METODOLOGIA

Para a avaliação da atividade antibacteriana da lignina extraída da madeira de *Dinizia excelsa*, foram utilizadas 10 cepas bacterianas de importância clínica: *Acinetobacter baumannii* (UFPEDA-1024 e UFPEDA-1025), *Enterococcus faecalis* (UFPEDA-69 e UFPEDA-138), *Escherichia coli* (UFPEDA-224), *Klebsiella pneumoniae* (UFPEDA-396), *Pseudomonas aeruginosa* (UFPEDA-261 e UFPEDA-416), *Staphylococcus aureus* (UFPEDA-709 e UFPEDA-02). Todas as cepas foram gentilmente fornecidas pela coleção de culturas do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

As cepas bacterianas foram mantidas a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ em leite em pó esterilizado com glicerol (10% v/v). Para os ensaios, as bactérias foram ressuscitadas em Ágar Mueller-Hinton e incubadas a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24 horas. As colônias foram então suspensas em solução salina estéril (NaCl 0,85%) e padronizadas para uma densidade óptica de 0,08 a 0,10 a 600 nm, correspondendo a aproximadamente $1,5 \times 10^5$ UFC/mL.

A determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e da Concentração Bactericida Mínima (CBM) foi realizada pelo método de microdiluição em caldo, conforme as diretrizes do CLSI (M100, 2015). As ligninas foram dissolvidas em uma solução de



DMSO: água destilada (1% v/v) e aplicadas em concentrações variando de 1024 a 2 µg/mL em placas de 96 poços, contendo caldo Mueller-Hinton como meio de cultivo. Os antibióticos padrões utilizados como controle positivo foram ampicilina + sulbactam, amicacina, gentamicina e oxacilina (20 a 0,4 µg/mL). O DMSO a 1% foi utilizado como controle negativo.

Após adição dos inóculos bacterianos e tratamentos, as placas foram incubadas a 37 °C por 24 horas. A CIM foi definida como a menor concentração da lignina que inibiu completamente o crescimento bacteriano visível. Para determinação da CBM, os conteúdos dos poços sem crescimento foram subcultivados em placas com Ágar BHI (Brain Heart Infusion) e incubados por mais 24 horas a 37 °C. Os ensaios foram realizados em triplicata e os dados foram expressos em valores médios.

RESULTADOS E DISCUSSÕES/RELATO DO CASO/RELATO DA EXPERIÊNCIA/ESTUDO DE CASO

A lignina de *Dinizia excelsa* apresentou atividade antibacteriana limitada frente às dez cepas avaliadas, com valores de CIM variando entre 512 µg/mL e > 1024 µg/mL. As linhagens *Pseudomonas aeruginosa* UFPEDA-261 (resistência intermediária à amicacina), *P. aeruginosa* UFPEDA-416 (sensível à amicacina) e *Staphylococcus aureus* UFPEDA-709 (resistente à oxacilina) destacaram-se, apresentando CIM de 512 µg/mL. Esse resultado é particularmente relevante para *S. aureus* UFPEDA-709, pois a lignina apresentou o mesmo valor de CIM da oxacilina, antimicrobiano de referência para essa cepa resistente. No entanto, não foram observados valores de CBM ≤ 1024 µg/mL em nenhuma das cepas testadas, confirmando a ausência de efeito bactericida expressivo.

Tabela 1 — Resultados de concentração inibitória mínima (CIM), bactericida (CBM) da lignina de *D. excelsa* frente a diferentes cepas de bactérias

| Microorganismos | Lignina | | Controle - antimicrobiano | |
|--|----------|-------------|---------------------------|-------------|
| | Bactéria | CIM (µg/mL) | CBM (µg/mL) | CIM (µg/mL) |
| <i>Acinetobacter baumannii</i> UFPEDA-1024 | > 1024 | > 1024 | Ampi.+Sulbactam | 16,0 (I) |
| <i>Acinetobacter baumannii</i> UFPEDA-1025 | > 1024 | > 1024 | Ampi.+Sulbactam | 4,0 (S) |
| <i>Enterococcus faecalis</i> UFPEDA-69 | > 1024 | > 1024 | Amicacina | 8,0 (S) |
| <i>Enterococcus faecalis</i> UFPEDA-138 | > 1024 | > 1024 | Amicacina | 8,0 (S) |
| <i>Escherichia coli</i> UFPEDA-224 | 1024 | > 1024 | Gentamicina | 0,5 (S) |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> UFPEDA-396 | 1024 | > 1024 | Gentamicina | 0,5 (S) |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> UFPEDA-261 | 512 | > 1024 | Amicacina | 32,0 (I) |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> UFPEDA-416 | 512 | > 1024 | Amicacina | 8,0 (S) |
| <i>Staphylococcus aureus</i> UFPEDA-709 | 512 | > 1024 | Oxacilina | 512,0 ® |
| <i>Staphylococcus aureus</i> UFPEDA-02 | 1024 | > 1024 | Gentamicina | 0,25(S) |

R – Resistente; S – Sensível; I – Resistência intermediária; Ampi. +Sulbactam – Ampicilina + Sulbactam

A literatura aponta resultados semelhantes em ensaios com ligninas de diferentes matrizes vegetais. Araújo et al. (2022) e Cruz Filho et al. (2023) verificaram CIM de 512 µg/mL contra *S. aureus* e *P. aeruginosa*, enquanto Nakason et al. (2024) observaram atividade seletiva contra *S. aureus*, sem efeito frente a bactérias Gram-negativas. A baixa eficácia bactericida pode estar relacionada à estrutura macromolecular da lignina, que dificulta sua penetração na célula bacteriana, diferentemente dos antibióticos convencionais que interagem diretamente com alvos intracelulares. Ainda assim, a inibição de cepas resistentes sugere que a lignina possa exercer mecanismos extracelulares, possivelmente via geração de espécies reativas de oxigênio (EROs) ou desestabilização de membranas por alteração de pH (Li et al., 2023).

Embora a lignina apresente atividade inferior aos antimicrobianos padrões, sua ação frente a cepas resistentes indica potencial de aplicação como adjuvante terapêutico. Dessa forma, futuros estudos de sinergismo entre ligninas e antibióticos convencionais são promissores, podendo revelar estratégias eficazes no combate a bactérias multirresistentes.

CONCLUSÃO

A lignina extraída da madeira de *Dinizia excelsa* demonstrou atividade antibacteriana limitada, com ação predominantemente inibitória frente a cepas de relevância clínica. Embora não tenha apresentado efeito bactericida expressivo, sua capacidade de inibir o crescimento de microrganismos resistentes a antibióticos de referência, como *Staphylococcus aureus* resistente à oxacilina, evidencia seu potencial como fonte de moléculas bioativas. Esses resultados sugerem que a lignina, ainda que não possa ser considerada um antimicrobiano isolado eficaz, pode atuar como adjuvante em terapias combinadas. Dessa forma, o aproveitamento sustentável desse recurso natural amazônico representa uma estratégia promissora para a inovação no desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, Denise Maria Figueiredo et al. **Biological activities and physicochemical characterization of alkaline lignins obtained from branches and leaves of Buchenavia viridiflora with potential pharmaceutical and biomedical applications.** International Journal of Biological Macromolecules, v. 219, p. 224-245, 2022.

DA CRUZ FILHO, Iranildo José et al. **In vitro evaluation of alkaline lignins as antiparasitic agents and their use as an excipient in the release of benznidazole.** International Journal of Biological Macromolecules, v. 231, p. 123339, 2023.

IZAGUIRRE, Nagore; ERDOCIA, Xabier; LABIDI, Jalel. **Exploring chemical reactions to enhance thermal and dispersion stability of kraft and organosolv lignin.** International Journal of Biological Macromolecules, p. 130518, 2024.

JADHAV, Pramod et al. **Advancement of lignin into bioactive compounds through selective organic synthesis methods.** International Journal of Biological Macromolecules, p. 134061, 2024.

LI, K., Zhong, W., Li, P., Ren, J., Jiang, K., & Wu, W. (2023). **Antibacterial mechanism of lignin and lignin-based antimicrobial materials in different fields.** International Journal of Biological Macromolecules, 126281.

LIMA, Lisandra da Silva et al. **Biological potential of alkaline lignins: A brief review.** 2024.

LIMA, Lisandra da Silva et al. **Lignin From Dinizia excelsa: Isolation, Characterization, and Evaluation of Antioxidant, Cytotoxic, Antitumor, Antimicrobial, and Immunomodulatory Activities.** Chemistry & Biodiversity, p. e01385, 2025.

NAKASON, Kamonwat et al. **Antimicrobial and antioxidant activities of lignin by-product from sugarcane leaf conversion to levulinic acid and hydrochar.** Sustainable Materials and Technologies, v. 40, p. e00973, 2024.