



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA - UFBA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE - ICS
DEPARTAMENTO DE BIOFUNÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
PROCESSOS INTERATIVOS DOS ÓRGÃOS E SISTEMAS**

CINARA OLIVEIRA D'SOUSA COSTA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E
ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE *MYRACRODRUON*
URUNDEUVA ALLEMÃO E *SCHINUS TEREBINTHIFOLIUS* RADDI**

Salvador
2011

CINARA OLIVEIRA D'SOUSA COSTA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E
ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE *MYRACRODRUON*
URUNDEUVA ALLEMÃO E *SCHINUS TEREBINTHIFOLIUS* RADDI**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas, do Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia, como requisito para obtenção do título de Mestre em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas.

Orientadora: Profa. Dra. Luzimar Gonzaga Fernandez.

Salvador

2011

C871c Costa, Cinara Oliveira D'Sousa.

Avaliação da atividade antioxidante e antimicrobiana de extratos de Myracrodruon urundeuva Allemão e Schinus terebinthifolius Raddi /Cinara Oliveira D'Sousa Costa. 2011.
64 f.: il.

Orientadora: Profa. Dra. Luzimar Gonzaga Fernandez.
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal da Bahia, Instituto de Ciência da Saúde, 2011.

1. Plantas medicinais. 2. Aroeira preta. 3. Aroeira vermelha. 4. Microorganismos. 5. DPPH 6. Compostos bioativos.

I. Universidade Federal da Bahia, Instituto de Ciência da Saúde. II. Fernandez, Luzimar Gonzaga. III. Título.

CDD: 581.634

CINARA OLIVEIRA D'SOUSA COSTA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIMICROBIANA
DE EXTRATOS DE *MYRACRODRUON URUNDEUVA* ALLEMAO E
SCHINUS TEREBINTHIFOLIUS RADDI**

Dissertação submetida como parte do requisito para obtenção do grau de Mestre em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas, Instituto de Ciência da Saúde da Universidade Federal da Bahia.

Banca Examinadora

Profa. Dra. Luzimar Gonzaga Fernandez – Orientadora _____

Doutora em Bioquímica- Biologia Molecular Estrutural – Espanha

Universidade Federal da Bahia - UFBA

Profa. Dra. Clarice Sampaio Alho _____

Doutora em Fisiopatologia e Patologia Molecular – Espanha

Pontífca Universidade Católica do Rio Grande do Sul

Profº. Drº. Marcondes Vianna da Silva _____

Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos – Minas Gerais

Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia-UESB

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Dr^a Prof^a Luzimar Gonzaga Fernandez que me orientou com todo amor e carinho, sendo uma verdadeira mestra, hoje, é mais do que uma orientadora. Para mim a senhora foi o verdadeiro instrumento de Luz que o Pai todo Poderoso enviou de presente, uma pessoa com atitude, com autoridade na voz, mas, com muito amor para as minhas lágrimas e a minha falta de confiança.

A amiga Dr^a Prof^a. Marta Bruno Loureiro. Um café transformou as nossas vidas, deixei de ser a estudante e passei a ter a irmã que sempre sonhei.

Ao Coordenador Dr^o Prof^o Roberto Paulo Araújo e toda equipe que compõe o Programa de Pós-graduação Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas.

Meu querido amigo Paulo Roberto, muito sucesso é pouco, desejo que você seja muito feliz. Tudo que aprendi de química, nesse mestrado, foi com você. A Mara, tantos conhecimentos que aprendemos e trocamos, obrigada por essa caminhada que fizemos juntas e pela bela parceria.

Ao Prof. Renato Delmondez de Castro, pós-doutorandos, colegas e amigos do Laboratório de Bioquímica Biotecnologia e Bioprodutos– LBBB/ICS/UFBA, pelos ensinamentos com carinho e paciência muitas vezes disponibilizados. Aos queridos amigos que com um abraço, uma palavra de acolhimento e até um lanchinho (Alexandre, Cristiane, Erica, Felipe, Leilane, Clarissa, Paulo Teixeira, Marla, Cimile, Ivana, Moana, Valdir, Guilherme, Joana, Danielle e Rosana) compartilharam comigo esses momentos. Que grupo maravilhoso, admiro as suas competências, habilidades, inteligência, determinação e atitude. Todos vocês, de forma muito particular, tocaram meu coração. Amo vocês. Muito obrigada.

Ao Professor Marcos Vanier e a equipe do Laboratório de Microscopia Eletrônica da Fiocruz–Ba por ter me recebido e compartilhado dos seus conhecimentos com entusiasmo e alegria.

Meu agradecimento especial ao Prof. Frederico Garé e a equipe do Laboratório de Biotecnologia e Química de Microorganismos (LBQM) e do Grupo de Estudos de Substâncias Naturais e Orgânicas (GESNAT) da UFBA pela forma como me receberam e auxiliaram no desenvolvimento deste trabalho.

Agradeço a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (RENORBIO - CNPq) pelo suporte financeiro durante a realização deste trabalho.

O meu imenso agradecimento aos meus pais, amigos e familiares que com tanto amor me deram o suporte e o conforto para eu completar esse objetivo da minha vida. Alexsander, meu filho, você é a única razão de me fazer começar do zero.

E todos aqueles que não foram citados individualmente mais que estão impregnados em cada linha dessa dissertação, muito OBRIGADA.

Obrigada meu Deus por ter me dado essas pessoas de presente e ter projetado toda a sua luz e misericórdia para eu vencer.

Não é o muito saber que sacia e satisfaz a alma, mas o sentir e saborear internamente todas as coisas.

Pe. Loyola

RESUMO

Nas últimas décadas, a Organização Mundial de Saúde tem incentivado o uso de plantas medicinais nos sistemas de saúde visando integrar às técnicas da medicina ocidental moderna e da medicina tradicional. Dentre as plantas utilizadas na medicina popular, as conhecidas como aroeira englobam duas espécies: *Myracrodruon urundeuva* e *Schinus terebinthifolius*, família Anacardiaceae, utilizadas como adstringentes, anti-diarréicas, anti-inflamatórias, e afecções uterinas, sendo aproveitadas suas cascas, folhas e frutos/sementes na forma de infusão ou xaropes. Estudos fitoquímicos destas espécies têm demonstrado a presença de flavonóides e taninos nos extratos analisados, sendo estas substâncias responsáveis pela atividade antioxidante e conseqüentemente sua ação benéfica. Neste contexto este trabalho teve como objetivo realizar estudo comparativo entre extratos etanólicos de sementes/frutos, cascas, caule e folhas de *Myracrodruon urundeuva* (aroeira preta) e de *Schinus terebinthifolius* (aroeira vermelha), através da determinação de fenóis totais, avaliação da atividade antioxidante e antimicrobiana em *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans* e *tropicalis sensíveis e resistentes a fluconazol*. Para avaliação da atividade antioxidante e de compostos fenólicos foram utilizadas a atividade seqüestradora do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH) e o método de Folin-Ciocalteu, respectivamente, e para a determinação da atividade antimicrobiana foi realizado a microdiluição em placa de 96 poços. A atividade antioxidante e a concentração de fenóis totais de extratos etanólicos de sementes/frutos, cascas, caule e folhas de *M. urundeuva* e de *S. terebinthifolius* variaram de acordo com o tipo de método de extração utilizada e a parte botânica usada. Todos os extratos avaliados apresentaram altos teores de compostos fenólicos, sendo a menor concentração de fenólicos totais encontrada no extrato de casca da *M. urundeuva* e a maior no extrato de folhas da *S. terebinthifolius*. Os extratos da casca da *M. urundeuva* foram o que apresentaram melhor atividade contra os fungos estudados, tendo maior inibição em *C. albicans* fluconazol sensível dose dependente. Os extratos etanólicos de sementes de ambas as espécies não apresentaram efeito contra as cepas avaliadas. Os extratos etanólicos de *S. terebinthifolius* e *M. urundeuva* apresentam atividade antimicrobiana sobre *E. faecalis* e os extratos das folhas inibiram significativamente o crescimento de *Candida albicans* ATCC18804. Com isso, conclui-se que estas espécies apresentam propriedades medicinais e têm alto potencial biotecnológico para estudos visando à produção de fitofármacos.

Palavras-Chave: *Aroeira preta, Aroeira vermelha, plantas medicinais, microorganismos, DPPH, Compostos Bioativos.*

ABSTRACT

In recent decades the World Health Organization has encouraged the use of medicinal plants in healthcare systems in addition to the regular treatments applied by western medicine in order to integrate it with the traditional medicine. Infusion and syrup prepared from the bark, leaves and seeds of *Myracrodruon urundeuva* and *Schinus terebinthifolius* are used in the traditional medicine due to their astringent, antidiarrheal, anti-inflammatory and blood depurative properties. They are also used in the treatment of hemoptysis and uterine disorders. Phytochemical studies have reported the presence of flavonoids and tannins in the extracts of both species and it is suggested that these substances are responsible for the antioxidant activity and therefore its beneficial properties. In this context, this work is aimed at performing a comparative study of the antioxidant and antimicrobial activities of *Myracrodruon urundeuva* and *Schinus terebinthifolius* extracts obtained from different parts of the plant. Methodology: The antioxidant properties of the extracts were assessed by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging assay as described by Rufino et al (2007). Total phenolic content was assessed as described by Souza et al. (2007) with minor modifications. The determination of minimum inhibitory concentration (MIC) of extracts was performed by using the successive microdilution test in 96 wells plate according to the methodology described by Ribeiro et al (2011). Results: Antioxidant activity and total phenolic content of the extracts were strongly influenced by the extraction method and the part of the plant used. All the tested extracts showed relatively high levels of phenolic compounds. The lowest concentration of phenolic compounds was found in *M. urundeuva* bark extracts and the highest in *S. terebinthifolius* leaves extracts. The highest antioxidant activity was found in *M. urundeuva* leaves extracts followed by *S. terebinthifolius* bark and stem extracts. A strong positive correlation was found between total phenols and antioxidant activity of *Schinus terebinthifolius* leaves extract. *M. urundeuva* bark extracts showed the highest antifungal activity, where higher inhibition of *C. albicans* fluconazole-sensitive dose dependent strain was observed. Extracts obtained from the leaves significantly inhibited the growth of *Candida albicans* (ATCC18804). Extracts obtained from seeds of both species showed no effect against the strains tested. *S. terebinthifolius* and *M. teribinthifolius* extracts showed antibacterial activity against *E. faecalis*. Conclusion: These results suggest that these species have medicinal properties and high potential for biotechnological studies aiming at the identification of phytomedicines.

Keywords: *Myracrodruon urundeuva*, *Schinus terebinthifolius*, medicinal plants, herbal products, microorganisms.

LISTA DE FIGURAS

- Locais de amostragem: (A) Amostras de *M. urundeuva* (Aroeira preta) utilizadas neste estudo foram cedidas pelo Banco Germoplasma da Embrapa Semiárido (CPTSA)- Petrolina, Pernambuco e (B) *S. Terebinthifolius* Raddi (Aroeira vermelha) na costa dos Coqueiros, (Guarajuba, Barra do Jacuípe e Praia do Forte). Fonte [www. Google.com.br/mapas](http://www.Google.com.br/mapas)
- Figura 1** 40
- Estruturas botânicas de *S. terebinthifolius* utilizadas para análise. (A) Folhas e caule, (B) Tronco mostrando como são retiradas as cascas, (C) sementes/frutos
- Figura 2** 41
- Sementes/frutos de *M. urundeuva* (A) e de *S. teribinthifolius* (B), LBBB 2011- Salvador-Ba
- Figura 3** 42
- Extração por Soxhlet (A) e Rotoevaporação (B) das amostras de sementes/frutos, folhas, caule e cascas de *S. teribinthifolius* e *M. urundeuva*, LBBB 2011- Salvador-Ba
- Figura 4** 43
- Demonstração do procedimento de avaliação da atividade antimicrobiana. Pipetagem e distribuição de RPMI (A) e Placa de 96 poços após realização das diluições seriadas (B) das amostras de sementes/frutos, folhas, caule e cascas de *S. teribinthifolius* e *M. urundeuva*, Química 2011- Salvador –Ba
- Figura 5** 46
- Efeito fungicida dos extratos etanólicos de casca, caule e folha de *M. urundeuva* (aroeira preta) em *C. albicans* ATCC 18804.
- Figura 6** 54

Efeito fungicida do extrato etanólico do caule de *M.*

Figura 7 *urundeuva* (aroeira preta) em *C. albicans* ATCC 18804. **55**

Efeito fungicida do extrato etanólico da folha de *M.*

Figura 8 *urundeuva* (aroeira preta) em *C. albicans* ATCC 18804. **55**

LISTA DE TABELAS

TABELA 01	Teor de água (%) de sementes/frutos, cascas, folhas e caule de <i>M. urundeuva</i> (aroeira preta) e <i>S. terebinthifolius</i> (aroeira vermelha)	48
TABELA 02	Percentual (%) do rendimento de extratos de semestres/fruto, cascas, caule e folhas de <i>M. urundeuva</i> (aroeira preta) e <i>S. terebinthifolius</i> (aroeira vermelha) através de extração etanólica utilizando soxhlet e maceração	48
TABELA 03	Percentual da Atividade Antioxidante (%AAT) em diferentes concentrações do ácido gálico utilizado como padrão	49
TABELA 04	Percentual da Atividade Antioxidante – AAT (%) em 10 µg/mL dos extratos etanólico de cascas, caules, sementes e folhas de <i>M. urundeuva</i> (aroeira preta) e <i>S. terebinthifolius</i> (aroeira vermelha) obtidos por extração com soxhlet e por maceração	50
TABELA 05	Quantificação dos Compostos Fenólicos em EAG/mL nos extratos etanólicos das cascas, caule, folhas e sementes/frutos da <i>M. urundeuva</i> (aroeira preta) e <i>S. terebinthifolius</i> (aroeira vermelha) obtidos com a utilização de soxhlet e por maceração	52
TABELA 06	Avaliação da atividade antifúngica dos extratos etanólicos de casca, caule, folha e sementes de <i>M. urundeuva</i> e <i>S. terebinthifolius</i> sobre <i>Candida albicans</i> ATCC18804, <i>Candida albicans</i> fluconazol sensível dose dependente, <i>Candida tropicalis</i> fluconazol sensível e <i>Candida tropicalis</i> fluconazol resistente	53

LISTA DE ABREVIATURAS, NOTAÇÕES E SIGLAS

CPTSA	Banco de Germoplasma da Embrapa Semiárido
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
CVV	Candidíase Vulvovaginal
CVVR	Candidíase Vulvovaginal Recorrente
DPPH	2,2- difenil-1-picril-hidrazila
DST	Doença Sexualmente Transmissível
FIOCRUZ	Fundação Osvaldo Cruz
GESNAT	Grupo de Estudos de Substâncias Naturais e Orgânicas
ICS	Instituto de Ciências da Saúde
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente
LBBB	Laboratório de Biotecnologia, Bioquímica e Bioprodutos
LBQM	Laboratório de Biotecnologia em Química
LPMI	Laboratório de Parasitologia e Microscopia Eletrônica
RENISUS	Relação de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS
OMS	Organização Mundial da Saúde
ONU	Organização das Nações Unidas
PAF	Fator de Ativação Plaquetária
SUS	Sistema Único de Saúde
UEFS	Universidade Estadual de Feira de Santana
UFBA	Universidade Federal da Bahia
UFC	Universidade Federal do Ceará

SUMÁRIO

1.0 INTRODUÇÃO	15
2.0 REVISÕES DA LITERATURA	18
2.1 Plantas Medicinais	18
2.2 Terapêuticas com Plantas Medicinais Brasileiras	20
2.3 <i>Myracrodum urundeuva</i> Allemao (Aroeira Preta)	26
2.4 <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi (Aroeira vermelha)	28
2.5 Atividades Antioxidantes	31
2.6 Compostos Fenólicos	32
2.7 Atividades Antimicrobianas	34
2.7.1 Estudo antimicrobiano nos vegetais	34
2.7.2 <i>Candida albicans</i>	35
2.7.3 <i>Candida tropicalis</i>	36
2.7.4 <i>Enterococcus Faecalis</i>	36
3.0 OBJETIVOS	38
3.1 Objetivo Geral	38
3.2 Objetivos Específicos	38
4.0 METODOLOGIA	39
4.1 Material Biológico	39
4.1.1 Caracterização dos locais de amostragem	40
4.1.2 Amostragem das espécies vegetais	40

SUMÁRIO

4.1.3 Microrganismos	42
4.2 Determinação da umidade.....	42
4.3 Obtenção dos Extratos.....	43
4.3.1 Extração com a utilização do Extrator Soxhlet	43
4.3.2 Extração por Maceração.....	43
4.4 Atividade Antioxidante (AAT)	43
4.5 Determinação de Compostos Fenólicos Totais	44
4.6 Atividade Antimicrobiana	44
5.0 DELINEAMENTO ESTATÍSTICO	47
6.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
6.1 Determinação de Umidade	47
6.2 Rendimento dos Extratos	48
6.3 Atividade Antioxidante	49
6.4 Quantificação dos compostos Fenólicos	51
6.5 Atividade Antimicrobiana em <i>Candida</i>	53
6.6 Atividade Antimicrobiana em <i>E. faecalis</i>	56
7.0 CONCLUSÃO.....	57
8.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	59

1.0 INTRODUÇÃO

Segundo estudos da diversidade florística, o Brasil é considerado o país que apresenta maior diversidade genética vegetal, representando de 20 a 22% do total mundial (PINTO et al., 2002), englobando espécies úteis ou potencialmente úteis ao homem, que vem contribuindo para o avanço da agricultura e para a indústria de medicamentos, cosméticos, têxtil, alimentícia, dentre outras (BRITO, 2003). Em uma análise deste cenário, nas últimas décadas pode-se verificar um crescente interesse dos grupos de pesquisas de diversas instituições públicas e privadas, buscando comprovar e validar cientificamente o potencial terapêutico das espécies nativas. Das espécies de plantas medicinais utilizadas na região nordeste, 64% do total já foram selecionados e tiveram seus usos analisados cientificamente, alguns já com comprovação da sua eficácia terapêutica. No entanto, o número de trabalhos produzidos que enfocam os aspectos biotecnológicos, agrônômicos, etnobotânicos e fitoquímicos destas espécies são ainda muito reduzidos, quando comparados ao valioso conhecimento empírico dos erveiros e ao grande acervo genético vegetal encontrado nos biomas brasileiros.

Atualmente, verifica-se que vêm ocorrendo crescente emprego de drogas oriundas de plantas medicinais no tratamento das mais diversas afecções, recomendadas pela Organização Mundial de Saúde (OMS), para o descobrimento de novos fármacos, não se limitando apenas ao desenvolvimento de produtos sintéticos, mas, também na tentativa de isolar os princípios ativos de plantas e animais (SOUZA et al., 2000). Como exemplo pode-se destacar o Projeto Farmácias Vivas, da Universidade Federal do Ceará (UFC). Neste projeto como fitomedicamentos utilizados e já comprovados cientificamente, estão os cremes vaginais de aroeira (*Myracrodruon* e *Schinus*), usados com sucesso no tratamento de cervicites e cervicovaginite; assim como o seu elixir, de ação semelhante às preparações de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia*), empregado para tratar gastrite e úlcera gástrica (BARATA, 2003).

Estas espécies utilizadas pelo grupo de Ginecologia da UFC, conhecidas como aroeiras englobam dois gêneros: *Myracrodruon* e *Schinus* ambos representantes arbóreos da família Anacardiaceae e, utilizados na forma de infusões e xaropes como adstringentes, anti-diarréicas, anti-inflamatórias, depurativas, contra hemoptises e afecções uterinas, em geral, sendo empregadas para tal todas as partes botânicas da planta (cascas, caule, folhas, frutos/sementes).

A espécie *Myracrodruon urundeuva* Allemão, conhecida popularmente como aroeira preta, aroeira-do-sertão ou urundeúva tem distribuição natural nas regiões Nordeste, Sudeste e Centro-Oeste do Brasil, até a região Charquenha da Bolívia, Paraguai e Argentina ocorrendo frequentemente nas Florestas Estacionais Deciduais do norte de Minas Gerais, nas matas secas calcárias e na caatinga arbórea (SANTOS et al., 2007).

A aroeira preta (*Myracrodruon urundeuva*) apresenta grande uso farmacológico. Sua entrecasca possui propriedades antiinflamatórias, adstringentes, antialérgicas e cicatrizantes. As raízes são usadas no tratamento de reumatismo e as folhas são indicadas para o tratamento de úlceras. Além disso, sua madeira, em função da grande durabilidade, é muito usada na construção civil como postes ou dormentes para cercas e na confecção de móveis de luxo e adornos torneados. No entanto, devido aos seus princípios alergênicos, a árvore não deve ser cultivada em locais de fácil acesso ao público. Em decorrência desses múltiplos usos, esta espécie vem sofrendo um processo de exploração intensa e predatória, o que tem causado a diminuição de suas populações naturais, colocando-a na lista oficial das espécies ameaçadas de extinção, elaborada pelo IBAMA (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente) na categoria vulnerável (Portaria N° 37-N, 3 de abril de 1992) (MENDONÇA, 2000).

A *Schinus terebenthifolius* Raddi, popularmente conhecida como aroeira vermelha ou aroeira mansa, é uma árvore de folhas perenes, originária da América do Sul, especialmente do Brasil, Paraguai e Argentina. Fornece madeira bastante resistente, forragem para abelhas e cabras, madeira para cercas vivas, pode ser utilizada na arborização de pastos, além de ser uma das espécies mais procuradas pela avifauna. Pode ser empregada, ainda, como planta ornamental na arborização urbana, tanto pela beleza das folhas, como pelo colorido dos seus frutos vermelhos reunidos em cachos (PIRES, 2007).

As cascas e folhas secas desta espécie são utilizadas popularmente para o tratamento de febres, problemas do trato urinário, cistites, uretrites, diarreias, blenorragia, tosse e bronquite, problemas menstruais, com o excesso de sangramento, gripes e inflamações em geral. Por ser uma planta altamente oleaginosa, a sua resina é indicada para o tratamento de reumatismo e ínguas, além de servir como purgativo e combater doenças respiratórias. O óleo extraído é utilizado para uso externo como cicatrizante de tecidos e para dor-de-dente. A resina de coloração amarela clara proveniente das lesões das cascas é usada como medicamento de larga aplicação entre os sertanejos, principalmente na fabricação de tônicos (PIRES, 2007).

A aroeira vermelha vem sendo comercializada na forma de loções, géis e sabonetes, que apresentam uso externo e são indicados para tratamentos de limpeza de pele, coceiras, espinhas (acne), manchas, desinfecção de ferimentos, também se emprega o decocto de suas cascas em banhos para combater úlceras malignas. Em muitos estudos conduzidos *in vitro*, os extratos de folhas apresentaram ação antiviral, sendo citotóxicos para nove tipos de câncer (PIRES, 2007).

Além do uso terapêutico, a sua pequena semente encontra-se entre as muitas especiarias existentes que são utilizadas essencialmente para acrescentar sabor e refinamento aos pratos da culinária universal. Com sabor apimentado e com a sua bonita aparência, ela é empregada para decorar pratos, podendo ser utilizados na forma de grãos inteiros ou moídos. É especialmente apropriada para a confecção de molhos que acompanham as carnes brancas, de aves e peixes, por não esconder o seu gosto suave. Introduzida na cozinha européia, com o nome de aroeira poivre rose (pimenta rosa), a aroeira vermelha acrescentou “um gostinho tropical” a “nouvelle cuisine“. Outro uso para a espécie é nos curtumes, pois apresenta um alto teor de tanino em suas cascas, enquanto que, suas folhas maduras podem servir de forragem (SOUSA et al., 2007).

Estudos desenvolvidos da atividade antioxidante em plantas têm sido desenvolvidos com várias espécies nativas do país, os antioxidantes são definidos como substâncias capazes de retardar ou inibir a oxidação de substratos oxidáveis e inibirem a formação de radicais livres, também chamados de substâncias reativas. Os antioxidantes podem ser enzimáticos ou não enzimáticos, tais como: α -tocoferol (vitamina E), β -caroteno, ascorbato (vitamina C) e os compostos fenólicos (flavonóides). O consumo de antioxidantes naturais, como os compostos fenólicos presentes na maioria das plantas, tem sido associado a uma menor incidência de doenças relacionadas com o estresse oxidativo, patologias crônicas, tais como doenças cardiovasculares, câncer e doenças neurodegenerativas (SOUSA et al., 2007) .

As quantidades mensuradas de compostos fenólicos, provenientes de respostas fisiológicas dos vegetais quando submetidas a condições ambientais adversas, também podem ser usados como marcadores correlacionados a situações de estresse oxidativo sendo uma das justificativas para a verificação de características terapêuticas de algumas plantas medicinais (COSTA, 2003).

Outro grande interesse da comunidade científica relaciona-se a investigação de encontrar agentes antimicrobianos naturais, para o emprego dos mesmos, em produtos alimentícios ou para uso farmacológicos (RAUHA, 2003). Este interesse torna-se crescente devido à alta incidência de

microorganismos patogênicos resistentes a múltiplas drogas, principalmente pelo uso indiscriminado de antimicrobianos, comumente comercializados.

Considerando que o uso de plantas é prática prevalente em ampla faixa populacional brasileira, incluindo as populações de áreas rurais, uma série de outras plantas poderá vir a ser incluídas no RENISUS (Relação de Plantas Medicinais de interesse ao SUS) a partir do relato do uso frequente na medicina popular. Assim, é evidente a necessidade de pesquisas que avaliem as potencialidades farmacológicas, da sua atividade antioxidante e antimicrobiana ampliando as opções terapêuticas dessas espécies para que possam ser indicadas para uso na rede pública de saúde, permitindo assim a utilização sustentável da flora brasileira, principalmente na região do semiárido nordestino.

2.0 REVISÕES DA LITERATURA

2.1 Plantas Medicinais

A avaliação do potencial terapêutico de plantas medicinais e de alguns de seus constituintes, tais como flavonóides, alcalóides, triterpenos, sesquiterpenos, taninos, lignanas, e outros, tem sido objeto de incessantes estudos, com comprovadas ações farmacológicas através de testes pré-clínicos com animais. Sob este aspecto é importante ressaltar que o sucesso das investigações na área de princípios ativos naturais depende principalmente, do grau de interação entre a Botânica, a Química e a Farmacologia (DEGASPARI, 2005).

Somente os esteróides de origem vegetal respondem por cerca de 20% de um total de 150 bilhões de dólares do mercado farmacêutico mundial. Considerando-se que a comercialização anual do taxol foi de um bilhão de dólares a partir de 1999 e a venda da vimblastina e vincristina, agentes antineoplásicos isolados do *Catharanthus roseus*, atingem valores anuais de venda de US\$ 160 milhões, fica claro que os produtos naturais continuam a desempenhar importante papel econômico e terapêutico na medicina moderna. Sendo que no mercado mundial de drogas de origem vegetal são responsáveis por cerca de US\$ 12,4 bilhões (SIMÕES et al., 2002).

Nos países em desenvolvimento existem diversas vantagens na utilização de plantas medicinais: o uso dessas plantas ajuda a reduzir a importação de medicamentos, contribuindo dessa maneira para a autossuficiência destes países (GARLET ; IRGANG, 2001). Parente e Rosa (2001) indicam a utilização da fitoterapia como forma alternativa, que pode ser de utilização no

tratamento de algumas enfermidades, estes autores destacam que a escassez de recursos governamentais destinados à saúde e o aumento exagerado dos preços dos medicamentos industrializados, podem ser alguns dos aspectos que reforçam o uso de tais medicamentos já que a maior parte dessa terapia tradicional envolve o uso de extratos de plantas ou seus princípios ativos (KAUR et al., 2005).

Nos Estados Unidos, por exemplo, entre as 20 principais drogas comercializadas, 14 derivam de produtos naturais (VARANDA, 2006). Em Cuba, a rica flora permite vasta tradição no uso de fitoterápicos (VIZOSO et al., 2000). Já na África do Sul o uso comum e medicinal de plantas é vasto, com grande produção e obtenção de extratos, o que movimentava diversos setores da economia (VERSCHAEVE et al., 2004). Na Alemanha apesar da fitoterapia ser caracterizada como “terapia alternativa”, uma lei de medicamentos de 1976 considera-a como uma modalidade de tratamento cientificamente testada e comprovada que originou a farmacoterapia moderna, existindo naquele país uma política governamental de incentivo ao uso de medicamentos fitoterápicos e no Brasil, estima-se que 25% da indústria farmacêutica nacional são originados de medicamentos derivados de plantas (VIGANÓ et al., 2007).

Metade dos extratos brutos comercializados em toda a Europa obtidos a partir de plantas medicinais é utilizada pela população para tratar resfriados (66%), gripe (38%), doenças do trato digestivo ou intestinal (25%), dores de cabeça (25%), insônia (25%), úlcera estomacal (36%), nervosismo (21%), bronquite (15%), doenças de pele (15%), fadiga e exaustão (12%) (SOUZA JUNIOR, 2005).

Para Martins et al. (2000) as formas mais empregadas para obtenção das plantas são os chás obtidos por infusão, decocção ou maceração, geralmente incorporados às outras formas denominadas compressa, cataplasma, xarope, loção, inalação, pós, emplastro, linimento, elixir, extratos, tinturas entre outros.

No entanto, a população em geral utiliza indiscriminadamente essas plantas consideradas medicinais, mesmo tendo um desconhecimento sobre a possível existência de toxicidade e de sua comprovada ação, sofrendo muitas vezes reações adversas (SILVA, 2005).

Devido à necessidade da descoberta de novas drogas, vários estudos envolvendo caracterização biológica e a pesquisa sobre os efeitos colaterais com princípios ativos isolados de

plantas têm sido intensificados. Compostos com atividades biológicas continuam sendo reconhecidos, entretanto, muitos deles ainda não podem ser utilizados na terapêutica devido às suas propriedades tóxicas, carcinogênicas e mutagênicas (ELBLING et al, 2005).

2.2 Terapêuticas com Plantas Medicinais Brasileiras

No Brasil, há cerca de 100.000 espécies vegetais catalogadas, mas somente 8% foram estudadas quanto a sua química, e estima-se que apenas 1.100 espécies tenham sido avaliadas quanto às suas propriedades terapêuticas. O país gasta cerca de dois a três bilhões de dólares por ano na importação de matérias primas utilizados no preparo de medicamentos. O panorama nessa área mostra que 84% dos fármacos consumidos no Brasil são importados e que 78 a 80% da produção são feita por empresas multinacionais, índice que justifica a busca de alternativas que visam superar a dependência externa por parte da indústria químico-farmacêutica brasileira. (GARCIA, 2002).

No Brasil o conhecimento sobre o uso de plantas medicinais foi derivado primeiramente das influências indígenas, primeiramente, mas também de negros e europeus, e diversos estudos têm sido feito no sentido de verificar quais as plantas utilizadas para fins medicinais pela população brasileira em várias comunidades.

O comércio de plantas medicinais é realizado principalmente por meio de vendedores ou cultivadas por pessoas em suas casas, e em alguns casos, este é o único recurso terapêutico que a população de baixa renda tenha acesso, e muito deste conhecimento é transferido de geração para geração, especialmente por populações rurais (PASSOS et al., 2005) .

As práticas complementares são cultuadas ao longo das décadas pelas mais distintas culturas, e apoiadas por instituições como a Organização Mundial da Saúde (OMS), que incentiva dezenas de países, a adotarem novas estratégias e políticas públicas de saúde, que incluam as práticas complementares no modelo nacional (oficial) de saúde, visando à assistência integral ao indivíduo.

A oferta destas práticas estão sendo ampliadas gradativamente nos serviços de saúde, devido ao modelo biomédico estar apresentando algumas limitações, como o custo elevado do tratamento, pouca resolutividade em diversos casos, efeitos colaterais e reações adversas das medicações, acrescidos da assistência compartimentalizada ao indivíduo.

Entre as terapias complementares estão às plantas medicinais, as quais são utilizadas pela população, de fácil acesso e economicamente viáveis. O Brasil é um dos países com a maior biodiversidade do mundo e os produtos naturais têm sido tradicionalmente uma fonte importante para a extração de princípios ativos utilizados na produção de muitos medicamentos alopáticos, diante disso, em 2006 o Ministério da saúde implantou a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde.

É cada vez mais freqüente o uso de espécies de vegetais utilizados nas medicinas tradicionais indú, chinesa, informações populares e os dados oriundos da cultura indígena, servem como fonte de pesquisa para novos medicamentos completamente desconhecidas dos povos ocidentais. Estas espécies são comercializadas como apoio de estratégias de marketing que prometem “benefícios seguros, já que se trata de fonte natural”. Muitas vezes, entretanto, as supostas propriedades farmacológicas anunciadas não foram validadas cientificamente, por não terem sido investigadas, ou por não terem tido suas ações farmacológicas comprovadas em testes científicos pré-clínicos ou clínicos (SOUZA JUNIOR, 2005).

Pesquisadores da etnobotânica concordam com o fato de que, pragmaticamente, estes estudos são uma espécie de “peneira” na pesquisa sobre plantas medicinais, separando, através das informações coletadas das comunidades locais, plantas com maiores potenciais em atividade terapêutica, uma vez que, já são testadas por elas há muito tempo (MORIS et al., 2000).

Embora concepções acerca de doenças e o entendimento delas pelas comunidades possam ser diferentes dos conceitos da “ciência moderna”, a seleção prévia de espécies, reduzindo-as a um grupo menor e mais específico, ajuda a manter um esforço concentrado, com menor custo e menor tempo gasto, sendo isto comprovado por diversos trabalhos (MILING, 2006). Nesse contexto cabe salientar que o processo desenfreado de ocupação territorial pelo homem (construção de rodovias, barragens, expansão agrícola, turismo, especulação imobiliária, e outros.) tem levado ao desmatamento da vegetação original e a alterações nos hábitos e costumes das populações nativas.

A etnobotânica pode contribuir para que esses conhecimentos, a população e as vegetações locais sejam mais bem compreendidos e conservados (MILING, 2006). Os índios do Amazônia são os únicos que conhecem as propriedades das espécies da floresta e como elas podem ser bem utilizadas.

O Governo Federal Brasileiro aprovou a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, por meio do Decreto Presidencial Nº. 5.813, de 22 de junho de 2006, a qual se constitui em parte essencial das políticas públicas de saúde, meio ambiente, desenvolvimento econômico e social como um dos elementos fundamentais de transversalidade na implementação de ações capazes de promover melhorias na qualidade de vida da população brasileira (RIETJENS et al., 2005).

Através dessa Política o governo busca inserir plantas medicinais, fitoterápicos e serviços relacionados à fitoterapia no Sistema Único de Saúde (SUS), com segurança, eficácia e qualidade, em conformidade com as diretrizes da Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS. Desde 1976, que a Organização das Nações Unidas (ONU), tem realizado assembléias e formulado resoluções visando estimular a medicina tradicional em todos os países (RIETJENS et al., 2005).

Em 1978, na declaração de Chang - Mai, alarmados com as sequências da perda da diversidade vegetal no mundo, a ONU chamou a atenção de todos os países, agências internacionais, governos e entidades não governamentais para a contínua perda de culturas indígenas que geralmente detêm o segredo da descoberta de novas plantas medicinais que podem beneficiar a comunidade global. Devido à necessidade da descoberta de novas drogas, vários estudos de caracterização biológica e pesquisa sobre os efeitos colaterais têm sido intensificados com princípios ativos isolados de plantas (RIETJENS et al., 2005).

Compostos com atividades biológicas continuam sendo reconhecidos, entretanto, muitos deles ainda não podem ser utilizados na terapêutica devido às suas propriedades tóxicas, carcinogênicas e mutagênicas (RIETJENS et al., 2005).

Portanto, são muitas as plantas de uso popular que apresentam efeitos genotóxicos e o uso destas deveria ser realizado com mais critério. Por outro lado, avanços biotecnológicos vêm permitindo a síntese e modificações de estruturas ativas, objetivando a obtenção de produtos com maior atividade terapêutica e menor toxicidade. Dessa maneira, muitos princípios ativos de origem vegetal, alguns com propriedades tóxicas, serviram como precursores de importantes substâncias incorporadas à terapêutica, entre eles estão: catarantina e vindolina, ambas isoladas de *Catharanthus roseus*; camptotecina, extraída de *Camptotheca acuminata*; podofilotoxina, isolada

de rizomas de *Podophyllum peltatum* e *P. hexandru*; escopolamina, de *Datura* ssp; estigmasterol, obtida de *Glycine max*; diosgenina extraída de *Dioscores* ssp (SIMÕES et al., 2002).

Existem medicamentos que são lançados no mercado e que, por serem designados “naturais”, são usados pela população sem que se tenha realizado um estudo mais detalhado sobre a sua composição química e toxicidade. Isso resulta no escasso conhecimento sobre seus efeitos colaterais, especialmente sobre o material genético. Dessa forma, a maioria dos fitoderivados, sobretudo aqueles produzidos a partir de plantas nativas, não foi analisada cientificamente quanto à eficácia e à segurança de sua utilização. Portanto, é imprescindível que os estudos com plantas medicinais sejam estimulados, não só pelo esclarecimento à população que as utiliza, mas também porque se tem no Brasil uma riqueza de espécies ainda não estudadas, a qual constitui uma promissora fonte de novas drogas (ALVES; NASCIMENTO, 2009).

O uso de plantas medicinais é uma das práticas mais comuns nas mais diversas regiões do Brasil, principalmente as que se encontram mais distantes dos grandes e médios centros urbanizados, e que tem sido transmitida de geração em geração sendo o acesso à matéria realizada por meio do extrativismo. As técnicas de utilização a esta prática tem sua origem na cultura dos diversos grupos indígenas que habitavam as regiões mais remotas, sendo ainda associada, com as tradições de uso dos europeus e africanos que chegaram posteriormente e constitui a atual farmacopéia despertando grandes interesses transregionais pelo potencial terapêutico e econômico.

Com base nestes conhecimentos acumulados pela medicina popular, foram desenvolvidos alguns dos diversos medicamentos utilizados na medicina tradicional, como os digitálicos, a quinina, a morfina, a atropina, dentre outros.

O uso de plantas medicinais no Brasil tem origem na cultura das diversas etnias da formação do povo brasileiro. Dos nativos (indígenas) são exemplos: a pecacuanha (*Cephaelis ipecacuanha* (Brot.)A. Rich.), o guaraná (*Paullinia cupana* H.B.K.), a erva-de-bugre (*Casearia silvestris* Swartz.). Outras foram trazidas pelos europeus: como a camomila (*Matricaria chamomilla* L.), a melissa (*Melissa officinalis* L.), a malva (*Malva sylvestris* L.), o funcho (*Foeniculum vulgare* Mill.); e também pelos africanos: como a erva-guiné (*Petiveria alliacea* L.), e o melão-de-são-caetano (*Momordica charantia* L.);sendo outras ainda provenientes de outros países sul-americanos, como o boldo (*Peumus boldus* Mol.) e a quilaia (*Quillaja saponaria* Mol.) (ALVES ; NASCIMENTO, 2010) .

Os componentes que as diferenciam de outras são as características medicinais, os valores terapêuticos, ou seja, seus princípios ativos. Entre estes é importante citar: alcalóides; glicosídeos; óleos essenciais taninos; princípios amargos; mucilagens. A grande maioria da população conhece e usa as plantas medicinais, as indicadas de uso e forma de preparo são geralmente transmitidas dentro de uma família, especialmente entre as mulheres (ALVES; NASCIMENTO, 2009).

Segundo Varanda (2006) estudos realizados com o látex da planta conhecida popularmente como “coroa de cristo” (*Euphorbia milii* var. *hislopii*, syn. *Euphorbia splendens* var. *hislopii*), que segundo Schall et al. (1992), pode ser útil como molusquicida no controle da esquistossomose, pois é ativa em concentrações muito baixas, é biodegradável e é facilmente cultivada em áreas endêmicas de esquistossomose, produzindo grandes quantidades de látex em todos os períodos do ano. Complementando estes relatos, o estudo toxicológico do látex de *E. milii* demonstraram que soluções aquosas não são irritantes para a pele (em concentrações abaixo de 0,5%) e olhos de ratos (quando abaixo de 0,35%).

No entanto, muitos produtos derivados de plantas tidas como medicinais podem apresentar efeitos nocivos como é o caso da espécie *Ocotea duckei* Vattimo, popularmente conhecida como “louro-de-cheiro”. É uma planta encontrada no nordeste brasileiro e de suas folhas foi extraída uma lignana, denominada yangambina, que tem mostrado muitas propriedades farmacológicas: é um antagonista seletivo dos receptores do fator de ativação plaquetária (PAF), é um agente farmacológico efetivo contra colapso cardiovascular e mortalidade no choque por endotoxinas, apresenta efeito antialérgico, entre outras (PARRA et al., 2000).

Outro exemplo são os derivados antraquinônicos de *Aloe vera* L. que foram avaliados e observada atividade mutagênica em algumas cepas estudadas. É uma planta bastante usada em preparados farmacêuticos e cosméticos (PARRA et al., 2000). *Ocimum basilicum* L. é uma planta usada (sob a forma de infuso) na medicina tradicional como antiespasmódica, carminativa, contra catarros e desinteria.

Segundo estudos realizados por Ferreira e Vargas (1999) com plantas utilizadas na medicina popular no Brasil, indicaram que no ensaio com *S. typhimurium* os extratos de *Myrciaria tenella* Berg. (Myrtaceae), *Smilax campestris* Griseb. (Smilacaceae), *Tripodanthus acutifolius* Tiegh (Loranthaceae) e *Cassia corymbosa* Benth. (Leguminosae) apresentaram atividade

mutagênica, provavelmente devido à presença de flavonóides, taninos e antraquinonas nos extratos.

Estudos epidemiológicos em humanos e experimentos em animais mostraram evidências substanciais de que as isoflavonas presentes na soja têm efeito benéfico sobre neoplasias relacionadas a hormônios, por exemplo, câncer de mama e próstata (ADLERCREUTZ, 2002). Por outro lado, isoflavonas da soja (AVILÁ, 2010) e alguns de seus metabólitos (LEHMANN et al., 2005), têm sido relatados como portadores de propriedades genotóxicas.

Segundo estudos realizados por Viganó (2007), a maioria da população cultiva as plantas no quintal de casa (44%), 31% obtêm as plantas dos familiares ou amigos, 11% da pastoral, 4% de farmácias, 3% da mata e 7% adquirem as mesmas de outras fontes, estes resultados demonstram que a população tem facilidade na obtenção das plantas.

No que se refere às intoxicações ou reações adversas provocadas pelo uso inadequado das plantas, estas foram citadas em um percentual de 4%, conseqüentemente 96% tiveram ação no tratamento. Também foram verificados que 88% dos entrevistados obtiveram resultados satisfatórios após o uso de plantas medicinais e 9,5% afirmaram ter resultados regulares; apenas 2,5% não tiveram nenhum resultado (MORAIS, 2005).

Segundo um levantamento das plantas medicinais utilizadas pelos índios Tapebas do Ceará, realizado por Moraes (2005), as espécies mais utilizadas pelos índios fazem parte da grande riqueza florestal do nosso país, as quais outras comunidades também fazem uso para fins terapêuticos como: *Amburana cearensis* (Allemão) A. C. Sm. (Cumarú), *Myracrodium urundeuva* (Allemão) (Aroeira-do-sertão), *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf (Capim-santo), *Hybanthus ipecacuanha* (L.) Baill. (Ipecacuanha), *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. (Bamburral) *Kalanchoe brasiliensis* Cambess. (Courama), *Ocimum gratissimum* L. (Alfavaca), *Spondias mombim* Jacq. (Cajazeira), *Tabebuia serratifolia* (Vahl) G. Nicholson (Pau-d'arcobranco), *Acanthospermum hispidum* DC. (Delegado), *Aloe vera* L. (Babosa), *Cajanus cajan* (L.) Millsp. (Feijão-cuandu), *Chenopodium ambrosioides* var. *anthelminticum* (L.) A. Gray (Mastruço ou mastruz), *Phyllanthus amarus* Schum. et Thonn. (Quebra-pedra), *Bauhinia unguolata* L. - (Mororó ou pata de vaca), *Bixa orellana* L. (Urucum), *Boerhavia hirsuta* Willd. (Pega-pinto), *Cecropia pachystachia* Trec. (Torém), *Hibiscus esculentus* L. (Quiabo), *Justicia pectoralis* Jacq. (Anador), *Plumbago scandens* L. (Louco), *Sansevieria cylindrica* Bojer (Rabo-de-tatu), *Ximenia americana* L. (Ameixa).

O índio Tapebas, assim como a população em geral faz uso de plantas medicinais no tratamento de suas doenças. No entanto, para muitas das espécies utilizadas não existem trabalhos científicos que garantam seu uso seguro, por meio de investigações químicas, farmacológicas e da toxicidade destas plantas. Outro fato observado foi o da não concordância do conhecimento científico atual com o uso popular, como é o caso do boa-noite-branca, utilizada pelos índios Tapebas contra dor, enquanto que as pesquisas indicam a ação de alguns de seus alcalóides contra determinados tipos de câncer. Algumas das plantas referidas neste levantamento etnobotânico, após estudos, já foram incluídas no projeto “Farmácias Vivas”, pelo Dr. Francisco José de Abreu, que é desenvolvido na Universidade Federal do Ceará (UFC) e pela Universidade Federal da Bahia no projeto Fármacia da Terra coordenado pela Dr^a Mara Zélia de Almeida, dentre elas a *Myracrodium urundeuva* (aroeira preta) e *Schinus terebinthifolius* (aroeira vermelha).

2.3 *Myracrodium urundeuva* Allemao (Aroeira Preta)

A *Myracrodium urundeuva* Allemao é uma espécie decídua, heliófita e seletiva xerófila (LORENZI, 1992). Tem distribuição natural nas regiões Nordeste, Sudeste e Centro-Oeste do Brasil até a região Charquenha da Bolívia, Paraguai e Argentina (GURGEL-GARRIDO et al., 1997). Ocorrendo freqüentemente nas Florestas Estacionais Deciduais do norte de Minas Gerais, nas matas secas calcárias e na caatinga arbórea (SANTOS et al., 2007). É conhecido popularmente como aroeira preta, aroeira-do-sertão ou urundeúva, seu porte varia conforme a região de sua ocorrência podendo atingir até 30 m de altura (ANDRADE et al., 2000).

Geralmente, esta espécie floresce entre julho e setembro, e a maturação dos frutos ocorre de setembro a outubro (ANDRADE et al., 2000). A polinização de *M. urundeuva* é realizada por abelhas, e a dispersão dos diásporos é anemocórica. Seus frutos são do tipo drupa globosa ou ovóide, com cálice persistente, considerado um fruto-semente. A semente é única (0,2 a 0,4 cm de diâmetro), globosa, desprovida de endosperma, com epicarpo castanho escuro, mesocarpo castanho, carnoso, resinífero, com odor característico e tegumento membranáceo ((FIGUEIRÔA et al., 2004)

A semente da aroeira é bitegmentada com tegumento delgado que apresenta duas regiões de coloração distintas, uma clara-tegmentar e outra escura. A região tegumentar é caracterizada como endotégmica devido à especialização da epiderme interna do tegumento interno em células traqueoidais com paredes espessadas e pontuadas. A região escura é caracterizada por restos do

funículo (arilo vestigial), rafe e hipóstase taníferas constituindo a paquicalaza. A presença de sementes, com envoltório membranáceo e liso, no qual se podem distinguir duas regiões de coloração diferentes, uma amarelo-clara (região tegumentar) e outra marrom-escura (região paquicalazal), é uma característica muito comum nas sementes de Anacardiaceae.

Estudos realizados com o óleo essencial das folhas de *M. urundeuva* tem demonstrado que este contém dois terpenos fenólicos, timol e carvacrol, sendo o timol e carvacrol, como principais constituintes, bactericidas e fungicidas ativos. Flavonóides, naftoquinonas, esteróis livres e glicosilados, e ácidos orgânicos têm sido encontrados em extratos orgânicos de todas as partes botânicas da planta (ALMEIDA et al., 2010).

A aroeira preta apresenta grande uso farmacológico. Sua entrecasca possui propriedades antiinflamatórias, adstringentes, antialérgicas e cicatrizantes. As raízes são usadas no tratamento de reumatismo e as folhas são indicadas para o tratamento de úlceras. No entanto, devido aos seus princípios alergênicos, a árvore não deve ser cultivada em locais de fácil acesso ao público. (ALMEIDA et al, 2010).

Estudos realizados pelo Instituto de Pesquisas Tecnológicas (IPT) indicam que um pedaço de aroeira preta do tamanho de uma caixa de fósforos suporta seis toneladas de carga, sem se deformar. A característica de durabilidade é encontrada em apenas 1 a 5% das madeiras e apenas menos de 1% delas são muito duráveis. De acordo com testes realizados pelo IPT, a aroeira preta foi classificada como muito durável e está incluída no grupo das madeiras chamadas imputrescíveis.

Além das propriedades mecânicas que formam uma barreira física de proteção, existe também uma barreira química, formada por substâncias produzidas pela própria árvore, denominadas de extrativos, que possuem efeitos fungicida e inseticida. Essas substâncias se formam principalmente no processo de transformação do alburno em cerne (MENDONÇA; LINS, 2000).

Em virtude do potencial econômico a sua madeira, em função da grande durabilidade, é muito usada na construção civil como postes ou dormentes para cercas e na confecção de móveis de luxo e adornos torneados. Em decorrência desses múltiplos usos, esta espécie vem sofrendo um processo de exploração intensa e predatória, o que tem causado a diminuição de suas populações

naturais, colocando-a na lista oficial das espécies ameaçadas de extinção, na categoria vulnerável, elaborada pelo IBAMA (Portaria N° 37-N, 3 de abril de 1992) (MENDONÇA ; LINS, 2000).

O desaparecimento de espécies vegetais de relevante importância socioeconômica causada pela ação devastadora do homem exige, com urgência, o estabelecimento de eficazes tecnologias voltadas à conservação de valiosos genes para as futuras gerações. Para que os estudos sejam bem sucedidos, informações científicas dessa espécie devem ser conhecidas.

2.4 *Schinus terebinthifolius* Raddi (Aroeira vermelha)

Schinus terebinthifolius Raddi, popularmente conhecida como aroeira vermelha ou aroeira mansa, é uma árvore de folhas perenes, originária da América do Sul, especialmente do Brasil, Paraguai e Argentina. A aroeira-vermelha apresenta-se na forma de arbustos com 2-3 m de altura, às vezes arborescentes, chegando até 8 m de altura, com folhas compostas imparipenadas, folíolos obovados, membranosos e glabros. As flores são dispostas em panículas de 5-10 cm de comprimento, com coloração amarelo-clara. Floresce de novembro a março, frutificando logo em seguida. Os frutos, em forma globosa e coloração vermelha vivos, apresentam-se agrupados em grandes cachos. O tronco atinge, geralmente, 10-25 cm de diâmetro e as ramificações formam copa bem desenvolvida, com folhagem verde clara pouco densa (FLEIG, 1989).

Fornecer madeira bastante resistente, forragem para abelhas e cabras, madeira para cercas vivas, pode ser utilizada na arborização de pastos, além de ser uma das espécies mais procuradas pela avifauna. As suas características de espécie pioneira e a sua agressividade permitem a ocorrência em vários habitats, ocupando áreas degradadas e muitas vezes até invadindo áreas não desejáveis (CORRÊA, 1926).

Pode ser empregada, ainda, como planta ornamental na arborização urbana, tanto pela beleza das folhas, como pelo colorido dos seus frutos reunidos em cachos. Os frutos são do tipo drupa e têm coloração verde, quando imaturos, tornando-se vermelhos quando maduros, quando os frutos secam, seu pericarpo transforma-se em uma espécie de concha de papel, que envolve a semente. A semente é única, de coloração marrom escura medindo cerca de 0,3 milímetros de diâmetro, única por fruto, é reniforme e possui envoltório membranoso, liso, de coloração amarelo-clara com uma mancha marrom-escura. Essa protuberância sugere a presença de um obturador funicular parcialmente tegumentar. Na região da calaza, observam-se células de formato

variado, pequenas, de arranjo compacto, com compostos fenólicos formando a hipóstase. (BORNHAUSEN, 2009).

As cascas e folhas secas destas espécies são utilizadas popularmente contra febres, problemas do trato urinário, contra cistites, uretrites, diarreias, blenorragia, tosse e bronquite, problemas menstruais, como excesso de sangramento, gripes e inflamações em geral. Por ser uma planta altamente oleaginosa, a sua resina é indicada para o tratamento de reumatismo e ínguas, além de servir como purgativo e combater doenças respiratórias, o óleo extraído é utilizado externamente como cicatrizante de tecidos e para dor-de-dente.

As resinas provenientes das lesões das cascas amarelam-clara (a qual endurece em contato com o ar tornando-se azulada e depois pardacenta) é medicamento de larga aplicação entre os sertanejos, sendo utilizado na fabricação de tônicos. No período da colonização, a aroeira vermelha foi muito utilizada pelos jesuítas que, com sua resina, preparavam o “Bálsamo das Missões”, famoso no Brasil e na Europa.

Portanto, pode-se verificar que a planta inteira é utilizada. O óleo essencial é o principal produto, sendo responsável por várias atividades desta planta, especialmente à ação antisséptica e antimicrobiana contra vários tipos de bactérias e fungos, bem como atividade repelente contra a mosca doméstica. Este óleo rico em monoterpenos é eficaz no tratamento de micoses, por causa da sua ação regeneradora de tecidos, candidíases (uso local) e alguns tipos de câncer (carcinoma, sarcoma, entre outras) (CARLINI ; DUARTE-ALMEIDA et al ., 2010).

A aroeira vermelha já vem sendo comercializada na forma de loções, géis e sabonetes, que apresentam uso externo e são indicados para tratamentos de limpeza de pele, coceiras, espinhas (acne), manchas, desinfecção de ferimentos. Também se utiliza o decocto de suas cascas em banhos para combater úlceras malignas. Em muitos estudos conduzidos *in vitro*, os extratos de folhas apresentaram ação antiviral, sendo citotóxicos para 9 tipos de câncer das células (VIANNA, 2008).

Além de todo o seu uso terapêutico, a sua pequena semente encontra-se entre as muitas especiarias existentes que são utilizadas essencialmente para acrescentar sabor e refinamento aos pratos da culinária universal. De sabor apimentado e com a sua bonita aparência, ela é empregada para decorar pratos, podendo ser utilizados na forma de grãos inteiros ou moídos. No entanto, a

aroeira vermelha é especialmente apropriada para a confecção de molhos que acompanham as carnes brancas, de aves e peixes, por não esconder o seu gosto suave. Introduzida na cozinha européia, com o nome de aroeira poivre rose (pimenta rosa), a aroeira vermelha acrescentou um gostinho tropical à nouvelle cuisine. Outro uso para a espécie é nos curtumes, pois apresenta um alto teor de tanino em suas cascas, já, suas folhas maduras podem servir de forragem. No Peru, a aroeira é utilizada após fermentação para a fabricação de vinagres e bebidas alcoólicas. Na Flórida seus frutos são utilizados para decoração de Natal, o que lhe conferiu a denominação de Christmas-berry.

Segundo estudos realizados por Degaspari e colaboradores (2005), com relação à análise fitoquímica, verificou-se que a amostra obtida a partir do extrato alcoólico apresentou uma quantidade significativa da flavona apigenina, estrutura química representada na Figura 1. Já na amostra obtida a partir do extrato aquoso, também foi encontrada uma pequena quantidade da flavanona naringina.

Em 1999, foi lançado no Brasil o produto farmacêutico contendo o gel de aroeira vermelha, o decocto da casca do caule tem sido tradicionalmente utilizado para tratar cervicites e corrimento genital. Múltiplos mecanismos de ação têm sido descritos, demonstrando-se atividade antiinflamatória não esteróide pela inibição competitiva específica da fosfolipase A2 por dois de seus componentes, o schinol e o ácido masticadienóico. Por outro lado, os biflavonóides, que são dímeros precursores dos taninos, componentes do *Schinus*, também apresentam ação antiinflamatória, diversas substâncias presentes no extrato apresentam atividade antimicrobiana, como a terebinthona, o ácido hidroximasticadienóico, o ácido terebinthifólico e o ácido ursólico (DEGASPARI et al., 2005).

O Programa Nacional de Plantas Medicinal e Fitoterápico publicou, em janeiro de 2009, a Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS). Nessa lista, constam as plantas medicinais que apresentam potencial para gerar produtos de interesse ao SUS. Dentre algumas espécies, consta o alecrim-pimenta, barbatimão, aroeira preta, aroeira vermelha entre outras.

2.5 Atividades Antioxidantes

As plantas produzem uma vasta gama de produtos químicos, incluindo metabólitos secundários, que podem exercer efeitos benéficos para a saúde quando consumido pelo homem. Muitos dos metabólitos secundários de plantas atuam como antioxidantes em animais. Estes metabólitos de origem vegetal podem ser utilizados para evitar a deterioração dos alimentos através da inibição da oxidação lipídica. Ação antioxidante é uma combinação de vários eventos químicos distintos como a quelação de metal; eliminar os radicais livres pela doação de hidrogênio a partir de compostos fenólicos; oxidação a não propagação radical, potencial redox, inibição da enzima (YILDIRIM et al., 2001).

Os antioxidantes endógenos podem ser definidos como substâncias capazes de retardar ou inibir a oxidação de substratos oxidáveis e a atividade de espécies reativas de oxigênio (EROS), principalmente reduzindo moléculas. Podem ser enzimáticos ou não enzimáticos, tais como: α -tocoferol (vitamina E), β -caroteno, ascorbato (vitamina C) e os compostos fenólicos (flavonóides) (MELO; GUERRA, 2002).

Os níveis metabólicos normais de espécies reativas de oxigênio (EROS) são mantidos pela atividade antioxidante de diversas enzimas ou componentes celulares (LEAL et al., 2005), porém o desequilíbrio entre a formação e a remoção dos radicais livres no organismo, decorrente da diminuição dos antioxidantes endógenos ou do aumento de espécies oxidantes, gera um estado pro-oxidante que favorece a ocorrência de lesões oxidativas em macromoléculas e estruturas celulares (AQUINO, 2005). O estresse oxidativo ocorre como um desequilíbrio entre o balanço pró-oxidante/antioxidante, em favor da situação pró-oxidante, promovendo um dano potencial. O dano oxidativo que as biomoléculas sofrem está relacionado com as patologias de um grande número de doenças crônicas, incluindo doenças cardiovasculares, câncer e doenças neurodegenerativas (MENDEL; YODIM, 2004).

Várias fontes de antioxidantes naturais são conhecidas e algumas são amplamente encontradas no reino vegetal. Por conseguinte, busca de alimentos e bebidas com elevado teor de antioxidantes e aprimoramento de suas propriedades antioxidantes para fins nutricionais são atualmente de grande interesse. Alimentos comuns, como legumes e frutas que são consumidas em todo o mundo, bem como plantas selvagens, a exemplo de *M. urundeuva* (aroeira preta) e *S. terebenthifolius* (aroeira vermelha) que são consumidas popularmente com fins terapêuticos ou

nutricionais atuando também por suas capacidades antioxidantes são requeridos (SOUSA et al., 2007).

O consumo de antioxidantes naturais, como os compostos fenólicos presentes na maioria das plantas que inibem a formação de radicais livres, tem sido associado a uma menor incidência de doenças relacionadas com o estresse oxidativo (SOUSA et al., 2007). A atividade antioxidante dos flavonóides depende da estrutura química e de fatores biológicos. Estes são moléculas naturais que podem atuar na prevenção da formação incontrollável de radicais livres, da atividade de espécies reativas de oxigênio, ou inibindo reações de estruturas biológicas.

2.6 Compostos Fenólicos

Os compostos fenólicos são estruturas químicas que apresentam hidroxilas e anéis aromáticos, nas formas simples ou de polímeros, que conferem o poder antioxidante. Esses compostos podem ser naturais ou sintéticos. Quando presentes em vegetais podem estar em formas livres ou complexadas a açúcares e proteínas. Dentre eles, destacam-se os flavonóides, os ácidos fenólicos, os taninos e os tocoferóis como os antioxidantes fenólicos mais comuns de fonte natural (ANGÊLO, 2007).

O termo tanino foi o nome dado à infusão de cascas de árvores como o carvalho e a castanheira, usadas para uso na pele de animais que eram tratadas para obtenção de couros maleáveis e de grande durabilidade. Os taninos foram inicialmente identificados pelo seu sabor adstringente e a sua capacidade de precipitar proteínas solúveis. São encontrados em muitas plantas usadas pelo homem na forma de ervas medicinais, na alimentação e na fabricação de bebidas. Nas plantas, os taninos podem ser encontrados em raízes, flores, frutos, folhas, cascas e na madeira.

Eles contribuem para o sabor adstringente em comidas e bebidas, como aquele sentido ao se consumir vinhos tintos, chás e frutas verdes. Alguns investigadores provaram que os taninos servem para proteger as plantas contra os herbívoros e as doenças patogênicas (ANGÊLO, 2007).

As principais fontes de compostos fenólicos são frutas cítricas, como limão, laranja e tangerina, além de outras frutas a exemplo da cereja, uva, ameixa, pêra, maçã e mamão, sendo encontrados em maiores quantidades na polpa que no suco da fruta. Pimenta verde, brócolis, repolho roxo, cebola, alho e tomate também são excelentes fontes destes compostos.

Diversos extratos de ervas como alecrim, coentro, sálvia, tomilho, aroeira e manjeriço têm sido estudados devido o poder antioxidante, que pode ser atribuído ao seu conteúdo de compostos fenólicos (PIMENTEL, 2005).

Os compostos fenólicos são originados do metabolismo secundário das plantas, sendo essenciais para o seu crescimento e reprodução, além disso, se formam em condições de estresse como, infecções, ferimentos, radiações UV, dentre outros. Os antioxidantes fenólicos interagem, preferencialmente, com o radical peroxil por ser este mais prevalente na etapa da autoxidação e por possuir menor energia do que outros radicais, fato que favorece a abstração do seu hidrogênio. O radical fenoxil resultante, embora relativamente estável, pode interferir na reação de propagação ao reagir com um radical peroxil, via interação entre radicais (ANGELO, 2007).

O composto formado, por ação da luz ultravioleta e temperaturas elevadas, poderá originar novos radicais, comprometendo a eficiência do antioxidante, que é determinada pelos grupos funcional presentes e pela posição que ocupam no anel aromático, bem como, pelo tamanho da cadeia desses grupos. Este mecanismo de ação dos antioxidantes, presentes em extratos de plantas, possui um papel importante na redução da oxidação lipídica em tecidos, vegetal e animal, pois quando incorporado na alimentação humana não conserva apenas a qualidade do alimento, mas também reduz o risco de desenvolvimento de patologias, como arteriosclerose e câncer (ANGELO, 2007).

A atividade anticarcinogênica dos fenólicos tem sido relacionada à inibição dos cânceres de cólon, esôfago, pulmão, fígado, mama e pele. Os compostos fenólicos que possuem este potencial são resveratrol, quercetina, ácido caféico e flavonóis (PIMENTEL, 2005).

Considerando a importância dos compostos fenólicos demonstrado nas atividades antimutagênica e antiviral e o intuito de avaliar produtos naturais com alto teor de atividade antioxidante, tais como: α -tocoferol (vitamina E), β -caroteno, ascorbato (vitamina C) e os compostos fenólicos (flavonóides), as pesquisas tem se voltado cada vez mais aos estudos com fitoterápicos, que podem ser utilizados isoladamente ou em associação com produtos sintéticos (SOUSA et al., 2007).

Uma definição mais precisa e muita empregada atualmente para taninos foi dada por Haslam (1989), segundo qual o termo designa os metabólitos secundários de natureza polifenólica

extraídos de plantas, taninos vegetais, que foram classificados em dois grupos: as proantocianidinas, que são os taninos condensados, responsáveis pelas características normalmente atribuídas a estas substâncias, como adstringência, precipitação de proteínas etc., e os taninos hidrolisáveis, que são ésteres do ácido gálico e seus dímeros (ácido digálico ou hexaidroxidifênico e elágico) com monossacarídeos, principalmente a glucose.

Normalmente, os taninos hidrolisáveis são divididos em galotaninos, que produzem ácido gálico após hidrólise, e em elagitaninos, que produzem ácido elágico após hidrólise (SOUSA et al., 2007).

Estes taninos não são muito comuns em madeiras, quando comparados aos taninos condensados. Os taninos condensados perfazem, aproximadamente, a metade da matéria seca da casca de muitas árvores. Eles constituem a segunda fonte de polifenóis do reino vegetal, perdendo apenas para a lignina.

A estrutura dos taninos condensados é formada pela ligação de uma série de monômeros de unidades flavan-3-ol, ou por um derivado desta. Esta ligação ocorre normalmente entre os carbonos 4 de uma estrutura e 8 da outra. Variações podem ocorrer por diferentes números de monômeros ligados, pela posição de ocorrência das ligações, pelo padrão de oxigenação nos anéis A e B da unidade flavan-3-ol e pela estereoquímica dos substituintes do anel C.

A análise dos taninos de madeira envolve sua extração, seguida de ensaios para determinação de seus constituintes. A extração se dá, basicamente, pela solubilização desses constituintes em diferentes solventes, em que se destacam as misturas: acetona mais água e metanol mais água (FOLIN, 1927). Apesar da importância da madeira de aroeira-preta, não foram encontrados, na literatura, estudos químicos a respeito de sua lignina, extrativos polifenólicos (taninos) e da possível ligação da resistência natural à degradação com sua constituição química.

2.7 Atividades Antimicrobianas

2.7.1 Estudo antimicrobiano nos vegetais

A origem do conhecimento do homem sobre as propriedades medicinais das plantas confunde-se com sua própria história. Há milênios os vegetais têm sido utilizados pelos seres humanos no tratamento de doenças. Porém, apenas recentemente as plantas tornaram-se objeto de

estudo científico no que concerne às suas variadas propriedades medicinais, inclusive quanto à atividade antibacteriana (NOVAIS, 2003).

Nos últimos anos, a resistência de microorganismos patogênicos a múltiplas drogas tem aumentado devido ao uso indiscriminado de antimicrobianos, comumente comercializados e usados no tratamento de doenças infecciosas. Essa situação tem forçado os cientistas à busca de novas drogas (NOVAIS, 2003).

Na natureza, existem diversos tipos de substâncias antimicrobianas (fitoalexinas) que desempenham um importante papel na defesa de seres vivos. Este estudo está baseado nas fitoalexinas fenólicas, isto é, os flavonóides, que são metabólitos secundários de plantas.

2.7.2 *Candida albicans*

A *Candida albicans* é uma espécie de fungo diplóide que causa, oportunamente, alguns tipos de infecção oral e vaginal nos seres humanos. As infecções causadas por fungos emergiram como uma das principais causas de morte em pacientes com algum tipo de imunodeficiência (como é o caso dos portadores da AIDS e das pessoas que estão passando por algum tipo de quimioterapia). Além disso, esse fungo pode ser perigoso para pacientes cuja saúde já esteja enfraquecida, como por exemplo, os pacientes de uma unidade de tratamento intensivo. Devido a estes fatores, a *Candida albicans* tem despertado grande interesse das pesquisas na área de saúde e da medicina (CAMARGO, 2007).

A *Candida albicans* está entre os muitos organismos que vivem na boca e no sistema digestivo humano. Sob circunstâncias normais, a *Candida albicans* pode ser encontrada em 80% da população humana sem que isso implique em quaisquer efeitos prejudiciais a sua saúde, embora o excesso resulte em candidíase. As vaginites infecciosas são causadas principalmente por bactérias, fungos leveduriformes e *Trichomonas vaginalis*. A candidíase vulvovaginal (CVV) é uma doença causada pelo crescimento anormal de fungos do tipo leveduras na mucosa do trato genital feminino, classificada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como uma Doença Sexualmente Transmissível (DST) de frequente transmissão sexual (GEVA et al., 2006).

Por acometer milhões de mulheres anualmente, determinando grande desconforto, interferindo nas relações sexuais e afetivas e prejudicando o desempenho laboral, a CVV têm sido considerada um importante problema de saúde pública mundial (CAMARGO et al, 2007).

É a primeira causa de vulvovaginite na Europa e a segunda nos Estados Unidos e no Brasil, onde é precedida pela vaginose bacteriana. Representa de 20 a 25% dos corrimentos vaginais de natureza infecciosa. Estima-se que aproximadamente 75% das mulheres adultas apresentem pelo menos um episódio de CVV em sua vida, sendo que destas, 40 a 50% vivenciarão novos surtos e 5% atingirão o caráter recorrente (CVVR), definido como a ocorrência de quatro ou mais episódios sintomáticos no período de doze meses (CAMARGO et al, 2007).

Leveduras do gênero *Candida* têm sido descritas como os principais patógenos fúngicos em humanos (MAVOR, 2005). CVV é causada predominantemente pelo gênero *Candida*, sendo o principal agente *Candida albicans*. Para alguns autores, a prevalência desta levedura pode chegar de 85 a 95% (CAMARGO et al, 2007).

Embora *Candida albicans* seja a espécie mais amplamente diagnosticada em isolados clínicos, diversos estudos relatam um aumento significativo na frequência de isolados de outras espécies do gênero. Estudos têm indicado o aumento percentual das espécies *Candida* não-*albicans* (*C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. pseudotropicalis* e *C. lusitaniae*), de modo que *C. albicans*, em algumas populações, têm sido responsabilizada por aproximadamente 50% dos casos. *C. glabrata* é a segunda espécie em frequência nas CVV e leveduras de outros gêneros também podem causar esta infecção, como *Saccharomyces cerevisiae*, *Rhodotorula* sp. e *Trichosporon* sp. (PFALLER, 2007)

2.7.3 *Candida tropicalis*

Candida tropicalis é uma agente freqüente de candidemia em hospitais brasileiros, sendo a segunda espécie mais comumente isolada. A infecção por esse agente pode ocorrer em pacientes de todas as idades, mas acomete pacientes adultos e idosos com maior freqüência (NUCCI, 2007).

Casísticas do Brasil confirmam que as três espécies mais prevalentes isoladas de urina em pacientes hospitalizados são: *Candida albicans*, *Candida tropicalis* e *Candida glabrata*. Estes estudos demonstram prevalências de 35,5 a 70% para *Candida albicans*; 4,6 a 52,5% para *Candida tropicalis* e 7 a 8,8% para *Candida glabrata* (PASSOS, 2005).

O aumento da resistência a antifúngicos alerta para a necessidade do desenvolvimento de estratégias que evitem a sua disseminação entre os fungos, como já ocorreu com as bactérias, que se encontra disseminada e fora de controle (MENEZES, 2009).

C. tropicalis possui particular importância devido ao aumento em seus índices de isolamento. Segundo Pfaller e colaboradores (2007), os índices de isolamento desta espécie em todo o mundo aumentaram 2,9% no período de 1997 a 2003 (FRANÇA, 2008).

No Brasil, estudos realizados em diferentes períodos demonstraram que cerca de 20% dos episódios de candidemia foram causados por *C. tropicalis*, (NUCCI, 2007) sendo uma das principais espécies responsáveis por este tipo de infecção em hospitais públicos do país (FRANÇA, 2008). *C. tropicalis* também tem sido amplamente relacionada a episódios de candidúria, sendo a terceira espécie mais frequentemente isolada de culturas de urina, além de infecções do trato respiratório e de onicomicoses (FLORES, 2009).

2.7.4 *Enterococcus Faecalis*

O gênero *Enterococcus* inclui diversas espécies residentes do trato gastrointestinal, da vagina e da cavidade bucal como comensais. Por outro lado, algumas espécies, como *Enterococcus faecalis* e *Enterococcus faecium*, podem originar doenças, incluindo infecções urinárias e endocardite. Mais de 90% das infecções humanas enterocócicas são causadas por *E. faecalis*, sendo as demais por *E. faecium*. Doenças relacionadas a outras espécies desse gênero são raras (PARADELLA, 2007).

Estes cocos, antes classificados como estreptococos do Grupo D, ocorrem em cocos individuais, aos pares e em cadeias curtas. São anaeróbios facultativos, que podem crescer em condições extremas e numa grande variedade de meios, incluindo solo, alimentos, água e em muitos animais. O seu principal habitat natural parece ser o tubo digestivo dos animais, incluindo o do homem, onde representam uma porção significativa da flora normal. Podem também encontrar-se, em menor número, nas secreções orofaríngeas e vaginais (ZANELLA, 2006).

Por viver mais tempo na água do mar do que os coliformes, o enterococos é considerado pela Agência de Proteção ao Meio Ambiente dos Estados Unidos os indicadores mais precisos de doenças transmitidas pelo contato com a água. Infecções por enterococos ocorrem em doentes internados, frequentemente após cirurgia ou instrumentação (GAETTI- JARDIM, 2011).

A superinfecção pode ocorrer quando os antibióticos alteram o equilíbrio bacteriano no organismo, permitindo o crescimento dos agentes oportunistas, como o enterococos. A superinfecção pode ser muito difícil de tratar, porque é necessário optar por antibióticos eficazes

contra todos os agentes que podem causá-la. As infecções por enterococos incluem: infecções urinárias, infecções de queimaduras e feridas cirúrgicas, bacteremia, endocardite, infecções intra-abdominais e pélvicas (estas infecções são habitualmente mistas, causadas por enterococos e outros agentes patogênicos), infecções de feridas e dos tecidos moles, sépsis neonatal e meningite (XAVIER, 2010).

3.0 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Realizar estudo comparativo entre extratos etanólicos de sementes/frutos, cascas, caule e folhas de *Myracrodruon urundeuva* (aroeira preta) e de *Schinus terebinthifolius* (aroeira vermelha), através da determinação de fenóis totais, avaliação da atividade antioxidante e antimicrobiana em *Candida albicans* e *Candida tropicalis* sensíveis e resistentes a fluconazol e *Enterococcus faecalis*.

3.2 Objetivos Específicos

1. Realizar extração etanólica por maceração e com a utilização do extrator Soxhlet de amostras de sementes/frutos, cascas, caule e folhas de *M. urundeuva* e *S. teribinthifolius* visando comparar os dois métodos;
2. Determinar a atividade antioxidante *in vitro* pelo método do 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH) em extratos etanólicos de amostras de sementes/frutos, cascas, caule e folhas de *M. urundeuva* e *S. teribinthifolius*;
3. Quantificar compostos fenólicos em extratos etanólicos de sementes/frutos, cascas, caule e folhas *M. urundeuva* e *S. teribinthifolius*;
4. Correlacionar os teores de compostos fenólicos totais com a atividade antioxidante *in vitro* dos extratos etanólicos de sementes/frutos, cascas, caule e folhas de *M. urundeuva* e *S. teribinthifolius*;
5. Avaliar a atividade antimicrobiana dos extratos etanólicos de sementes/frutos, cascas, caule e folhas de *M. urundeuva* e *S. teribinthifolius* sobre os microorganismos patogênicos (*Enterococcus faecalis*, *Candida albicans* e *tropicalis* sensíveis e resistentes a fluconazol).

4.0 METODOLOGIA

Os estudos foram conduzidos no Laboratório de Bioquímica, Biotecnologia e Bioprodutos do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia (LBBB/ICS/UFBA), no Laboratório de Parasitologia e Microscopia Eletrônica (LPMI) do Centro de Pesquisas Gonçalo Muniz (FIOCRUZ-BA) e no Laboratório de Biotecnologia e Química de Microorganismos do Instituto de Química da Universidade Federal da Bahia (LBQM/GESNAT/ UFBA).

4.1 Material Biológico

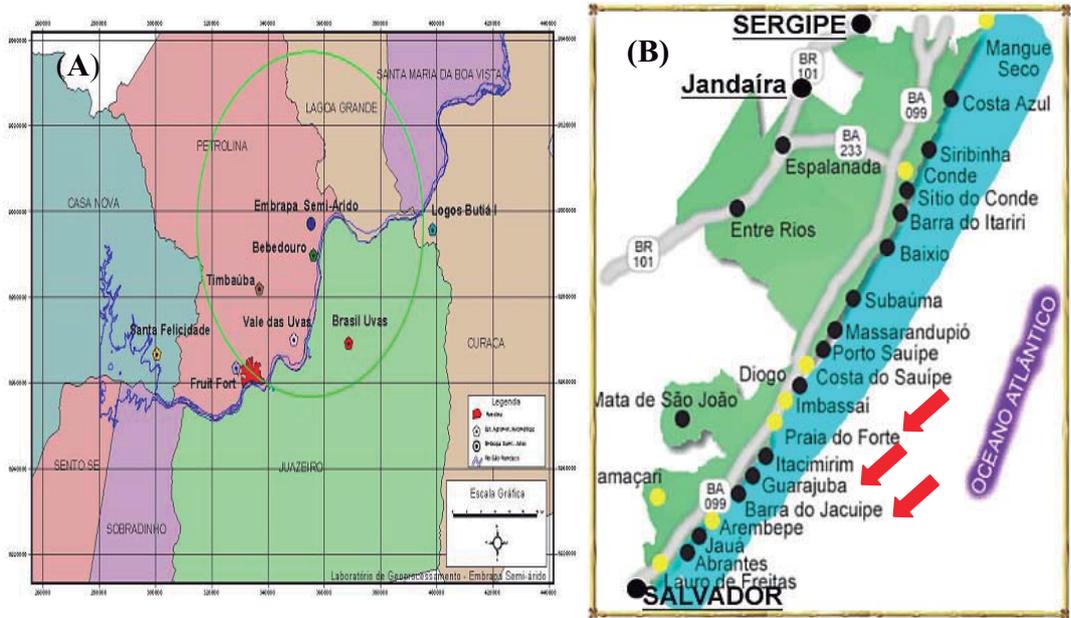
4.1.1 Caracterização dos locais de amostragem

As amostras de *M. urundeuva*, utilizadas neste estudo, foram cedidas pelo Banco Germoplasma da Embrapa Semiárido (CPTSA)-Petrolina, Pernambuco (Figura 1A), e de *S. teribinthifolius* foram coletadas na Estrada do Coco, cidade metropolitana de Salvador, em Guarajuba, Barra de Jacuipe-Camaçari e Praia do Forte- em Mata do São João, Bahia.

As amostras de *M. urundeuva* enviadas pelo Banco Germoplasma da Embrapa Semiárido (CPTSA) foram coletadas em Petrolina um município do estado de Pernambuco, banhado pelo rio São Francisco, em conjunto com o vizinho município de Juazeiro, na Bahia, formando o maior aglomerado urbano do semiárido. Segundo a classificação climática de Köppen-Geiger, o clima nesta área apresenta-se como tropical semiárido, seco e quente na parte norte e semiárido quente estépico na parte sul, caracterizado pela escassez e irregularidade das precipitações com chuvas no verão e forte evaporação em consequência das altas temperaturas.

As amostras de *S. teribinthifolius* que foram coletadas manualmente na BA-099 uma rodovia estadual da Bahia, que liga Lauro de Freitas (na Região Metropolitana de Salvador) às praias do litoral norte do estado, terminando na divisa da Bahia com Sergipe. A rodovia está dividida em Estrada do Coco, trecho inicial que vai do Aeroporto Internacional Luis Eduardo Magalhães até a Praia do Forte, e Linha Verde, trecho que corresponde a Praia do Forte, no município de Mata de São João, até Mangue Seco, em Jandaíra, no limite com o Estado de Sergipe (Figura 1B).

Figura 1. Locais de amostragem: (A) Amostras de *M. urundeuva* (Aroeira preta) utilizadas neste estudo foram cedidas pelo Banco Germoplasma da Embrapa Semiárido (CPTSA)-Petrolina, Pernambuco e (B) *S. Terebinthifolius* Raddi (Aroeira vermelha) na costa dos Coqueiros, (Guarajuba, Barra do Jacuípe e Praia do Forte).



Fonte: [www. Google.com.br/mapas](http://www.Google.com.br/mapas)

Fonte: [www. Google.com.br/mapas](http://www.Google.com.br/mapas)

Possui um clima tropical quente úmido de temperaturas médias anuais equivalentes a 24°C. Os períodos chuvosos são no mês de abril e de junho com precipitação média anual de 1800 mm. Seu relevo é composto por tabuleiros, planaltos costeiros, baixos tabuleiros e colinas do Recôncavo. O solo é do tipo latossolo vermelho amarelo distrófico, podzólico vermelho amarelo, com predominância de areias quartzozas marinhas distróficas. A vegetação compreende a cobertura vegetal da orla marítima com coqueirais em solo arenoso e dunas recobertas por plantas rasteiras, arbustos e semi - arbustos.

4.1.2 Amostragem das espécies vegetais

As amostras de casca, folhas e sementes/frutos de *S. teribinthifolius* foram coletadas no Sul Baionos nos limites de Lauro de Freitas, Simões Filho, Dias DÁvila, Mata de São João: Guarajuba Barra do Jacuípe e Praia do Forte que estão localizadas no Litoral Norte do Estado da Bahia , a 80 quilometros de Salvador, com as coordenadas geográficas latitude 12,57°S e longitude 38,00° W ,nos dias 08 e 16 de fevereiro de 2010. Para as análises realizadas foram

utilizadas sementes de *M. urundeuva* provenientes de plantas matrizes existentes em uma área do Campo Experimental da Caatinga, na Embrapa semiárido (CPTSA) localizada no município de Jutai, em Petrolina no estado de Pernambuco, Brasil, com as seguintes coordenadas 9°4'17"S 40°19'6"W.

Foram coletadas no dia 08 de fevereiro 40,81 g do material botânico de sementes dando aproximadamente 2.600 sementes e no dia 16 de fevereiro uma média de 26,29 gramas com aproximadamente 1.709 sementes, tendo a matriz 1 (um), brotos foliares, boa produção, final de frutificação. A matriz dois (2) apresentava brotos foliares, início de floração, a matriz três (3) brotos foliares e florificação e matriz quatro (4) brotos foliares e frutificação. Em Barra do Jacuípe foram coletadas amostras da matriz cinco (5), na qual continha brotos foliares, florificação e sementes verdes. Na Praia do Forte, em Mata do São João foram coletadas as matrizes de seis (6) á quatorze (14) todas com a presença de brotos foliares e pouca florificação.

As amostras de *M. urundeuva* e *S. terebinthifolius*, recebidas e coletadas foram separadas por partes botânicas (sementes/frutos, cascas, caule e folhas) e acondicionadas em sacos de papel devidamente identificadas e armazenadas em geladeira, mantidas assim até o início das análises biológicas e bioquímicas (figura 2).

Figura 2. Estruturas botânicas de *S. terebinthifolius* utilizadas para análise. (A) Folhas e caule, (B) Tronco mostrando como são retiradas as cascas, (C) sementes/frutos.



4.1.3 Microrganismos

As cepas de *Candida albicans* ATCC18804, *Candida albicans* fluconazol sensível dose dependente *Candida tropicalis* fluconazol sensível e *Candida tropicalis* fluconazol resistente foram cedidas pelo banco de microorganismos do Laboratório de Parasitologia e Microscopia Eletrônica (LPMI) do Centro de Pesquisas Gonçalo Muniz (FIOCRUZ-BA).

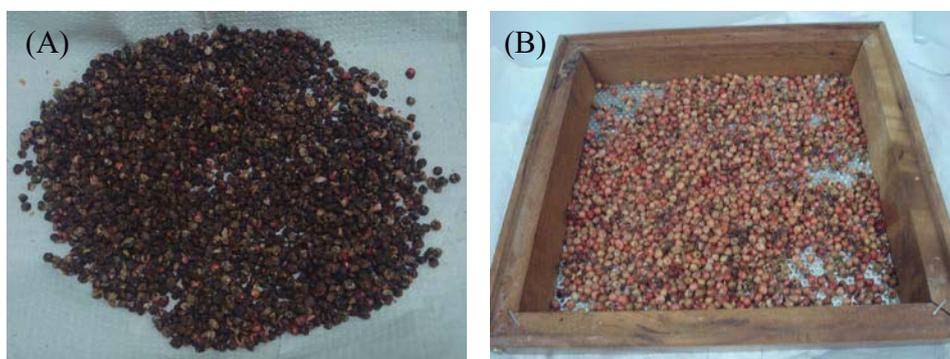
As cepas de *E. faecalis* (ATCC 29212) foram cedidas pelo Laboratório de Biotecnologia e Química de Microorganismos (LBQM) e do Grupo de Estudos de Substâncias Naturais e Orgânicas (GESNAT) da UFBA. A avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos etanólicos das duas espécies vegetais estudadas foi realizada nestas duas instituições.

4.2 Determinação da umidade

Os teores de água das folhas, caule, cascas e sementes/frutos (Figura 1) das duas espécies estudadas foram determinados utilizando-se secagem em estufa entre $80 \pm 3^\circ\text{C}$ durante 24 horas para as sementes e folhas e até peso constante para o caule e as cascas. As análises foram realizadas em quadruplicatas para se determinar o teor de água e a média de cada parte botânica conforme a metodologia proposta nas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 2009).

A porcentagem de umidade de cada parte botânica (folhas, caule, cascas e sementes/frutos (Figura 3)) foi obtida através da diferença do peso da parte fresca e da parte seca depois da desidratação.

Figura 3. Sementes/frutos de *M. urundeuva* (A) e de *S. teribinthifolius* (B), LBBB 2011-Salvador-Ba

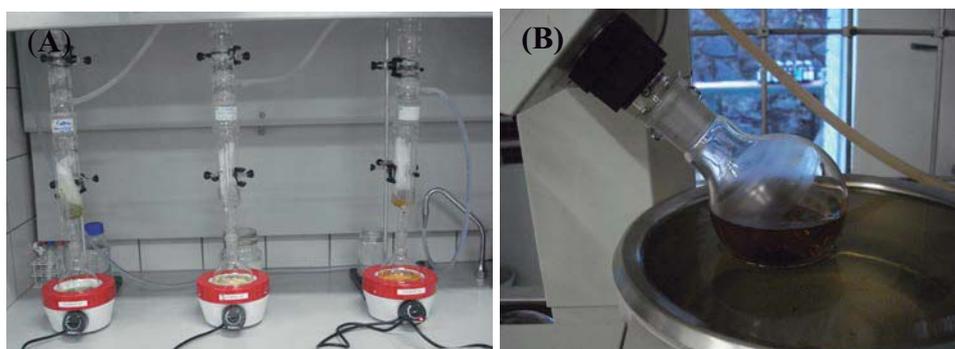


4.3 Obtenção dos Extratos

4.3.1 Extração com a utilização do Extrator Soxhlet

Foram produzidos extratos etanólicos das amostras de sementes/frutos, folhas, caule e cascas de *S. teribinthifolius* e *M. urundeuva* utilizando 14 gramas moídas de cada parte botânica em 300 mL de etanol PA, com auxílio do Extrator Soxhlet. Realizou-se em média 15 ciclos para cada extração (Figura 4A). Após a extração realizou-se a evaporação do solvente em Soxhlet e com uso de rotoevaporador Marca Laborota 4000 eco (Figura 4B) e colocado na capela para a evaporação de todo o solvente, adaptando-se a metodologia proposta por SOUSA et al., 2007.

Figura 4. Extração por Soxhlet (A) e Rotoevaporação (B) das amostras de sementes/frutos, folhas, caule e cascas de *S. teribinthifolius* e *M. urundeuva*, LBBB 2011- Salvador-Ba



4.3.2 Extração por Maceração

Para obtenção dos extratos produzidos por maceração foi colocado 300 mL de etanol e 14 gramas de cada parte botânica em um béquer durante 24 horas. Após extração foi realizada a filtração e feita evaporação do solvente com uso de rotoevaporador (Laborota 4000 eco) e colocado na capela para a evaporação de todo o solvente, adaptando-se a metodologia proposta por SOUSA et al., 2007.

4.4 Atividade Antioxidante (AAT)

Foi utilizada a atividade sequestradora do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH), de acordo com o método descrito por Rufino e colaboradores (2007) com realização de adaptações durante a padronização do protocolo, conforme descrito abaixo.

Preparou-se 5mL de uma solução metanólica, cuja concentração foi de 400 mg/mL e utilizou-se uma massa de 2,0 mg de cada um dos extratos preparados a partir das amostras botânicas. Para preparação do DPPH (120 mM) utilizou-se 4,8 mg em 100 mL de solução. Cada análise foi realizada em quadruplicata, nas concentrações de $\mu\text{g/mL}$, 20 $\mu\text{g/mL}$, 40 $\mu\text{g/mL}$, 80 $\mu\text{g/mL}$, 100 $\mu\text{g/mL}$ e 160 $\mu\text{g/mL}$. O mesmo solvente foi utilizado para preparo do branco e utilizou-se o ácido gálico como padrão cuja concentração foi de 400 $\mu\text{g/mL}$.

Para a avaliação da atividade antioxidante foi homogeneizado 1 mL da solução de DPPH com 1 mL de metanol e em tubos distintos pipetou-se 1 mL da solução estoque de cada extrato e do padrão, adicionando-se 1 mL da solução de DPPH (4,8 mg de DPPH em 100mL de metanol em recipiente escuro). Após a homogeneização e 30 minutos de reação realizou-se a medida das absorbâncias no comprimento de onda de 517nm em um espectrofotômetro UV-VIS (Analyser 850M).

4.5 Determinação de Compostos Fenólicos Totais

A determinação dos compostos fenólicos totais presentes nas amostras de extrato etanólico das espécies estudadas foi realizada por meio de espectroscopia na região do visível utilizando o método de Folin–Ciocalteu, com modificações (Morais, 2009). O extrato etanólico (5 mg) foi pesado e transferido para um tubo falcon contendo 5 mL de metanol. Uma alíquota de 100 μL desta solução foi misturada com 500 μL do reagente de Folin- Ciocalteu e 6 mL de água destilada por 1 min (FOLIN, 1927). Passado este tempo, 2 mL de Na_2CO_3 a 15% foram adicionados à mistura e agitada por 30 seg. Finalmente, a solução teve seu volume aferido para 10 mL com água destilada em um balão volumétrico e transferido para 1 tubo falcon de 15 mL. Após 2 horas, as absorbâncias das amostras foram medidas a 750 nm utilizando cubetas descartáveis, usando como “branco” o metanol e todos os reagentes, menos o extrato. O teor de compostos fenólicos foi determinado por interpolação da absorbância das amostras contra uma curva analítica linear construída com padrão de ácido gálico (0 a 600 $\mu\text{g/ mL}$, todas as análises foram realizadas em quadruplicata).

4.6 Atividade Antimicrobiana

A metodologia usada para avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos etanólicos oriundos de diferentes partes botânicas (sementes/frutos, folhas, caule e cascas) de *M. urundeuva* e *S. terebinthifolius* contra *E. faecalis* (ATCC 29212) foi a microdiluição em placas de 96 poços de

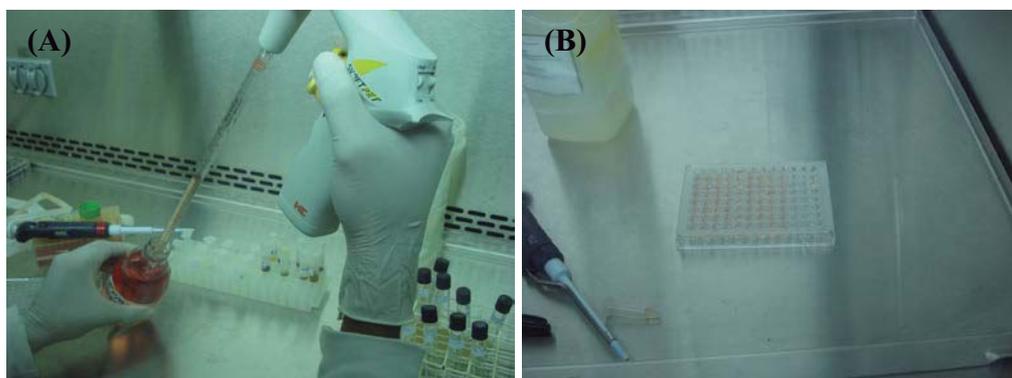
acordo às normas do “*Clinical and Laboratory Standards Institute*” (CLSI), sendo distribuídos 100 µL da solução nutriente (1,3 g de Nutrient Bolt em 100 mL de água destilada autoclavado por 15 minutos á 121 °C) em todos os poços da placa de Elisa, depois mais 100 µL da solução estoque de cada amostra de extrato em estudo em uma concentração de 2mg/mL, que foram transferidos para os poços da fileira A da placa. As análises foram realizadas em triplicata. As concentrações testadas foram de 500 µg/mL, 250 µg/mL, 125 µg/mL, 62,5 µg/mL, 31,25 µg/mL, 15,62 µg/mL, 7,8 µg/mL e 3,9 µg/mL. No poço A10 foram colocados 100 µL da solução estoque do etanol (controle negativo), o solvente diluente que fora a mesma concentração da solução estoque das amostras testadas. No poço A11 foram colocados 100 µL da solução de clorafenicol comercial (Pfizer) (controle positivo). Para cada placa utilizada o mesmo procedimento acima descrito foi realizado, tendo sido utilizadas um total de 15 placas para cada um dos microorganismos testados.

Para a avaliação da atividade antimicrobiana todos os materiais utilizados foram esterelizados antes do experimento. As vidrarias, ponteiras, placas de petri, tubos de ensaios e erlemeyeres, foram introduzidos em sacos plásticos e submetidos à esterilação em autoclave durante 30 minutos á 121 °C. As placas de poliestireno de 96 poços foram esterilizadas por radiação ultravioleta e empacotadas com papel craft.

Para avaliação antimicrobiana contra *E. faecallis* (ATCC 29212) foi feito uma suspensão, na qual se transferiu 10 mL de água destilada previamente esterilizada contida em um tubo de ensaio e uma alíquota da biomassa do microorganismo, recentemente preparado, com o auxílio de uma alça de platina. Assim, comparou-se turbidez desta suspensão em água com a turbidez da solução de sulfato de bário, correspondente á 0,5 da escala de Mcfarland. Após a realização do teste de turbidez se transferiu 100 µL desta suspensão para cada um dos poços da placa de Elisa.

Após a distribuição da suspensão de microorganismo em todos os poços (A) foram realizadas as diluições seriadas, na qual homogenizaram-se no mínimo de 3 vezes as soluções dos poços (A), com o auxílio de uma micropipeta multicanal, transferindo-se 100 µL da fileira (A) para a fileira (B) e assim sucessivamente até a fileira (H), onde se fez o descarte dos 100 µL finais (Figura 5A e B).

Figura 5. Demonstração do procedimento de avaliação da atividade antimicrobiana. Pipetagem e distribuição de RPMI (A) e Placa de 96 poços após realização das diluições seriadas (B) das amostras de sementes/frutos, folhas, caule e cascas de *S. teribinthifolius* e *M. urundeuva*, Química 2011- Salvador –Ba.



A susceptibilidade das cepas, após 24 horas de cultivo foi avaliada através da análise visual do crescimento das colônias em cada um dos poços, tomando-se como referência a concentração em que houve a sua completa inibição.

Para avaliação da atividade antimicrobiana contra *Candida albicans* ATCC18804, *Candida albicans* fluconazol sensível dose dependente *Candida tropicalis* fluconazol sensível e *Candida tropicalis* fluconazol resistente realizou-se o mesmo procedimento acima descrito, entretanto, o meio de crescimento utilizado foi uma mistura de sais enriquecido com aminoácidos, vitaminas e outros componentes essenciais para o crescimento celular e denominado Meio RPMI (1640 Medium Sigma Aldrich) tamponado com MOPS (Probac). Utilizaram-se apenas os extratos etanólicos de sementes/frutos, caule, cascas e folhas de *S. teribinthifolius* e *M. urundeuva* obtidos por Soxhlet. Foi utilizado como controle negativo a solução estoque de etanol e como controle positivo solução de fluconazol comercial (Pfizer). Após a microdiluição seriada das amostras (500 µg/mL, 250 µg/mL, 125 µg/mL, 62,5 µg/mL, 31,25 µg/mL, 15,62 µg/mL, 7,8 µg/mL e 3,9 µg/mL) cada placa foi incubada a 37 °C ± 2, por 24 horas e realizada a avaliação visual da inibição do crescimento das colônias. Neste caso, o resultado foi confirmado pela contagem das células utilizando câmara de Neubauer.

5.0 DELINEAMENTO ESTATÍSTICO

Todos os resultados das diferentes estruturas botânicas (semente/frutos, casca, caule e folhas) obtidos por extração a quente por soxhlet e extração a frio por maceração e as suas diferenças significativas ($p < 0,05$) foram observadas através do teste estatístico ANOVA (análise de variância) e, bem como, através de posteriores comparações múltiplas pelo teste de Tukey.

6.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas matrizes utilizadas para coleta das amostras de sementes, caule, folhas de *S. terebinthifolius* foram encontradas brotos foliares e frutificação, Assim, pode-se dizer que a produção de frutos pela *S. terebinthifolius* (aroeira vermelha) concentra-se no período frio e seco, enquanto a maturação desses frutos é dependente da elevação da temperatura. Estes resultados corrobora com estudos realizados por Nunes et al., (2008). Muitas espécies arbóreas nativas apresentam segundo Carneiro e Aguiar (1993), produção irregular de sementes, sendo escassa em determinado ano e abundantes em outros, o que foi evidenciado durante o período de coleta.

6.1 Determinação de Umidade

Ao analisar o teor de umidade das amostras em estudo, conforme tabela 1, verifica-se que a umidade (%) das sementes da aroeira preta (*M. urundeuva*) foi de 6,87 %, enquanto que das sementes da aroeira vermelha (*S. terebinthifolius*) foi de 15,72%, seguindo das amostras de cascas da aroeira preta (11,57 %) e da aroeira vermelha (17,58 %), caule da aroeira preta de 15,63 % e da aroeira vermelha de 17,59 % e as folhas da aroeira preta de 8,65% e da aroeira vermelha de 10,84 %. Os valores de umidade encontrados para sementes das duas espécies diferiram dos valores descritos por Duarte e colaboradores (2000) que ao comparar três lotes diferentes de sementes de *M. urundeuva* (aroeira preta) verificaram que a umidade variou entre 9,49 e 8,79 % (tabela 1).

Tabela 1. Teor de água (%) de sementes/frutos, cascas, folhas e caule de *M. urundeuva* (aroeira preta) e *S. terebinthifolius* (aroeira vermelha).

Espécie	Parte Botânica	Teor de Umidade (%)
		Desvio padrão
<i>M. urundeuva</i> (Aroeira Preta)	Sementes	6,87 ± 0,23
	Cascas	11,57 ± 0,27
	Caule	15,63 ± 1,11
	Folhas	8,65 ± 0,20
<i>S. terebinthifolius</i> (Aroeira vermelha)	Sementes	15,72 ± 0,39
	Cascas	17,58 ± 0,38
	Caule	17,59 ± 5,17
	Folhas	10,84 ± 0,32

6.2 Rendimento dos Extratos

Foram realizadas duas metodologias para obtenção dos extratos etanólicos de cada parte botânica das duas espécies, sendo que a extração por soxhlet quando comparada com o método de maceração resultou em menor rendimento para todos os extratos obtidos, conforme mostrado na tabela 2.

Tabela 2. Percentual (%) do rendimento de extratos de sementes/fruto, cascas, caule e folhas de *M. urundeuva* (aroeira preta) e *S. terebinthifolius* (aroeira vermelha) através de extração etanólica utilizando soxhlet e maceração.

Método	<i>M. urundeuva</i> (Aroeira Preta) (%)				<i>S. terebinthifolius</i> (Aroeira Vermelha) (%)			
	Sementes	Casca	Caule	Folhas	Sementes	Casca	Caule	Folhas
Soxhlet	8,64	7,52	4,60	35,63	20,17	5,91	4,16	18,23
Maceração	9,09	21,43	21,21	39,91	22,87	20,14	15,74	26,00

Os extratos das amostras de caule (4,60 e 21,21%) obtidos usando dois métodos, soxhlet e maceração, respectivamente, e de amostras de casca (7,41 e 21,43%) de *M. urundeuva* tiveram rendimentos superiores às obtidos com amostras de casca (4,16 e 15,74%) e caule (5,91 e 20,14%) de *S. terebinthifolius*, enquanto que a massa extraída (20,17 e 22,87%) das amostras de sementes

desta última espécie foi muito superior, diferindo significativamente ($P < 0,05$). Os valores de extratos obtidos de amostras de sementes/frutos (8,64% e 9,06%) e folhas (35,63 e 39,91%) de *M. urundeuva* diferem significativamente das massas extraídas de sementes (20,17% e 22,87%) e de folhas (18,23% e 23,00%) de *S. terebinthifolius* de forma inversa, pelos dois métodos de extração.

6.3 Atividade Antioxidante

Para a determinação da atividade antioxidante utilizou-se como padrão o ácido gálico em diferentes concentrações variando entre 0,2 a 2,4 ($\mu\text{g/mL}$) e obteve-se os valores descritos na tabela 3. Os resultados encontrados para os diferentes dos diferentes extratos etanólicos de cascas, caules, sementes/frutos e folhas de *M. urundeuva* (aroeira preta) e de *S. terebinthifolius* (aroeira vermelha) obtidos por extração com soxhlet e por maceração variaram em dependência da parte botânica utilizada e da diluição do extrato realizada.

Tabela 3 - Percentual da Atividade Antioxidante (%AAT) em diferentes concentrações do ácido gálico utilizado como padrão

Ácido gálico ($\mu\text{g/mL}$)	% AAT (Média \pm desvio padrão)
0,2	8,74 \pm 0,25
0,4	15,93 \pm 0,34
0,8	32,23 \pm 0,96
1,2	46,53 \pm 0,12
1,6	65,28 \pm 2,96
2,4	88,69 \pm 1,69

Na tabela 3 está descrito o percentual da Atividade Antioxidante (AAT), quando se utilizou 10 $\mu\text{g/mL}$ de extrato etanólico de cascas, caules, sementes/frutos e folhas de *M. urundeuva* (aroeira preta) e de *S. terebinthifolius* (aroeira vermelha) obtidos por extração com soxhlet e por maceração. Verifica-se que há uma relação inversa entre a massa extraída e a atividade antioxidante. Ou seja, os extratos obtidos ao utilizar como metodologia de extração o soxhlet apresentaram AAT (%) superiores a todos os extratos obtidos por maceração, portanto, é possível

afirmar que com este tipo de extração, apesar de se obter menor rendimento, favorece a extração de biocompostos que apresentam atividade antioxidante, enquanto que o mesmo não ocorre ao utilizar o método de maceração, exceto para extratos provenientes de amostras de folhas de *M. urundeuva* (aroeira preta), onde se pode verificar que não há diferença significativa ($p < 0,05$) quanto ao valor de AAT.

Tabela 4 - Percentual da Atividade Antioxidante – AAT (%) em 10 µg/mL dos extratos etanólico de cascas, caules, sementes e folhas de *M. urundeuva* (aroeira preta) e *S. terebinthifolius* (aroeira vermelha) obtidos por extração com soxhlet e por maceração.

Método de Extração	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE – AAT (%)							
	<i>M. urundeuva</i> (aroeira preta)				<i>S. terebinthifolius</i> (aroeira vermelha)			
	(%) média				(%) média			
	Sementes	Casca	Caule	Folhas	Sementes	Casca	Caule	Folhas
Soxhlet	60,07 d	90,33 i,j	81,68 f	89,32 h,i,j	60,56 d	83,80 g,h	81,10 f	76,27e
Maceração	3,89 a	87,40 h,i	19,71 b	91,24 j	54,58 c	81,25 f	59,56 d	22,35b

Linhas seguidas das mesmas letras não apresentam diferença significativa a 5% de probabilidade

Na tabela 4 pode-se verificar que os extratos etanólicos da casca, caule e as folhas da *M. urundeuva* (aroeira preta) obtidos pelo processo de soxhlet tiveram AAT de 90,33%, 81,68% e 89,32 %, respectivamente, na diluição de ácido gálico utilizado como padrão de 2,4 µg/mL e os extratos das sementes/frutos com 60,07 % em 1,6 µg/mL da diluição do padrão. Enquanto que os extratos das sementes/frutos preparados através da metodologia de extração por maceração apresentaram o valor muito inferior (3,89 %) de AAT, estando numa escala de concentração de diluição do padrão de 0,2 µg/mL. Os extratos das folhas e casca apresentaram 91,24 % e 87,4 % respectivamente de AAT, na concentração da diluição de 2,4 µg/mL, e o extrato de caule de 19,71% de AAT na diluição de 0,4 µg/mL da mesma escala padrão.

A atividade antioxidante dos extratos preparados em soxhlet de *S. terebinthifolius* não variou muito entre as folhas (76,27 %), casca (83,88 %) e caule (81,10%) enquanto que para os extratos de sementes foi de 60,56 %. Resultado semelhante foi obtido com quando preparados por maceração, pois os extratos de caule e das sementes apresentaram % AAT de 59,56 % e 54,58 %, respectivamente com diluição de 1,2 µg/mL, as folhas de 22,35 % com diluição de 0,4 µg/mL igual ao caule da aroeira preta com a mesma metodologia e as cascas com 81,25 % de AAT na

diluição de 2,4 µg/mL se igualando as cascas da aroeira preta com a mesma metodologia de extração.

Através da análise dos resultados figura 4, verifica-se que não há diferença significativa ($p < 0,05$) entre a porcentagem de atividade antioxidante entre os extratos etanólicos de casca (90,33 % e 87,40%) e folhas (89,32% e 91,24%) de *M. urundeuva* (aroeira preta) obtidos por extração com soxhlet e por maceração, respectivamente, quando comparados. O mesmo ocorre para os extratos de casca (83,80% e 81,25%) de *S. terebinthifolius* (aroeira vermelha), entretanto, há uma diferença significativa entre os valores de AAT para os extratos de folhas, pois o extrato etanólico obtido com soxhlet (76,27%) apresentou valor de AAT muito superior ao extrato obtido por maceração (22,35%). Já o extrato de caule de *M. urundeuva* obtido por soxhlet também apresentou maior atividade antioxidante (81,68%) quando comparado com o extrato obtido por maceração (19,71%).

No entanto, os dois extratos obtidos por maceração diferem significativamente $p < 0,05$ pelo teste de Tukey, pois o extrato de caule (59,56 %) de *S. terebinthifolius* apresentou atividade antioxidante muito superior ao dos extratos de caule (19,71%) de *M. urundeuva*.

6.4 Quantificação dos compostos Fenólicos

Os extratos etanólicos obtidos a partir de cascas das duas espécies apresentaram concentrações de compostos fenólicos mais elevados quando comparados com extratos de semente/frutos, caule e folhas nas duas espécies (tabela 6). A concentração de fenóis totais do extrato da aroeira preta obtido por maceração foi de 543,03 de EAG/mL enquanto que por soxhlet foi de 413,28 EAG/mL, valores muito superiores ao da concentração de fenóis totais em extratos etanólicos de casca da aroeira vermelha (323,79 EAG/mL e 243,28 EAG/mL) obtidos utilizando soxhlet e por maceração, respectivamente.

Tabela 5 Quantificação dos Compostos Fenólicos em EAG/mL nos extratos etanólicos das cascas, caule, folhas e sementes/frutos da *M. urundeuva* (aroeira preta) e *S. terebinthifolius* (aroeira vermelha) obtidos com a utilização de soxhlet e por maceração.

Metodologia	Compostos Fenólicos (mg EAG/g de extrato)							
	<i>M. urundeuva</i> (aroeira preta)				<i>S. terebinthifolius</i> (aroeira vermelha)			
	Sementes	Casca	Caule	Folhas	Sementes	Casca	Caule	Folhas
Soxhlet	53,28 ^b	413,28 ^m	395,08 ^l	181,74 ^g	20,21 ^a	323,79 ^j	216,87 ^h	102,51 ^d
Maceração	184,56 ^g	543,03 ⁿ	163,03 ^f	322,0 ^j	123,80 ^e	243,28 ⁱ	124,05 ^e	88,66 ^c

Linhas seguidas das mesmas letras não apresentam diferença significativa a 5% de probabilidade

O teor de fenóis totais do extrato de caule da aroeira preta obtido por soxhlet foi de 395,08 EAG/mL enquanto que da aroeira vermelha foi de 216,87 EAG/mL já o extrato produzido por maceração foi de 124,05 EAG/mL e da aroeira preta de 163,03 EAG/mL. Os extratos das folhas da aroeira preta obtidos por maceração teve a maior concentração de fenóis totais (322,0 EAG/mL) enquanto que no extrato da aroeira vermelha foi 88,66 EAG/mL. Este foi o menor valor de concentração de compostos fenólicos encontrado nos extratos etanólicos preparados por maceração das diferentes partes botânicas da espécie. Os extratos de sementes/frutos de aroeira preta obtida utilizando soxhlet apresentaram teor de fenóis totais de 53,28 EAG/mL enquanto que por maceração foi superior (184,56 EAG/mL). Entretanto, a concentração destes compostos nos extratos de sementes/frutos da aroeira vermelha encontradas foi de 20,21 EAG/mL (utilizando por soxhlet) e 123,80 EAG/mL (por maceração).

Todos os extratos avaliados apresentaram altos teores de compostos fenólicos, quando comparados a dados de extratos de folha ($\mu\text{g/mL}$) de outras espécies: *T. brasiliensis* (667,90); *C. macrophyllum* (483,63); *T. fagifolia* (439,38); *Q. grandiflora* (394,90) e para casca de *T. brasiliensis* (763,63) descritos em SOUSA (2007).

O percentual da atividade antioxidante (%AAT) em extratos de aroeira preta e aroeira vermelha encontrado corroboram com os valores descritos por Sousa et al. (2007). Degaspari e

colaboradores (2004) analisaram diferentes partes botânicas e espécies, comprovando a relação do teor de fenólicos encontrados e a sua atividade antioxidante.

Segundo estudos realizados por Morais e colaboradores (2009) a atividade antioxidante dessas plantas pode ser explicada pela presença de substâncias capazes de inibir os radicais livres. Nos estudos realizados pelo grupo foram analisados alguns tipos de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. Os constituintes mais importantes das folhas do chá de *Camelia sinensis* foram os compostos fenólicos, em especial taninos (ácido gálico) e flavonóides (quercetina, miricetina, canferol e catequinas) (LIMA et al., 2004), (MATSUBARA ; RODRIGUEZ-AMAYA, 2006), (BETTELHEIM et al., 1995), (FERRARA et al., 2001). Outros estudos já comprovaram a existências deste mesmo fator nas ambas as espécies de aroeiras estudadas (MORAIS, 2009).

6.5 Atividade Antimicrobiana em Candida

Na tabela 7 está descrita a avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos etanólicos de casca, caule, folha e sementes/frutos de *M. urundeuva* e *S. terebinthifolius* sobre *Candida albicans* ATCC18804, *Candida albicans* fluconazol sensível dose dependente, *Candida tropicalis* fluconazol sensível e *Candida tropicalis* fluconazol resistente.

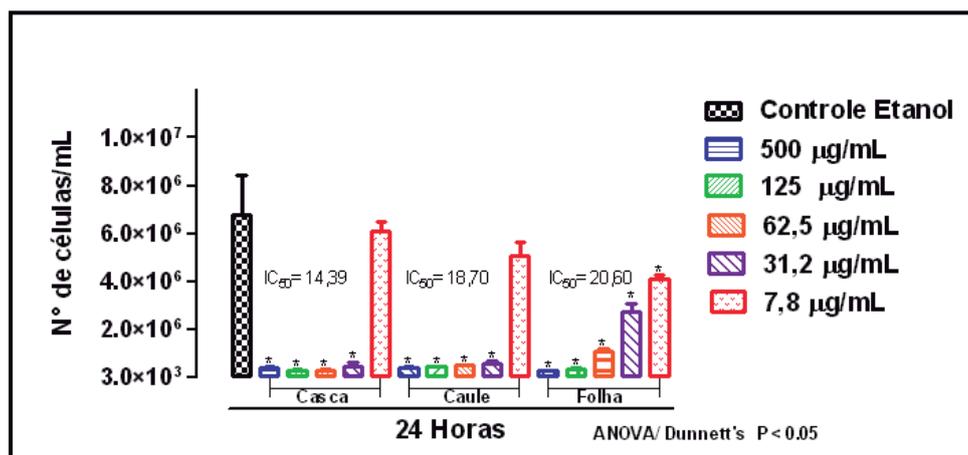
Tabela 6. Avaliação da atividade antifúngica dos extratos etanólicos de casca, caule, folha e sementes de *M. urundeuva* e *S. terebinthifolius* sobre *Candida albicans* ATCC18804, *Candida albicans* fluconazol sensível dose dependente, *Candida tropicalis* fluconazol sensível e *Candida tropicalis* fluconazol resistente.

Extrato		<i>Candida albican</i> (µg/mL)		<i>Candida tropicalis</i>	
		ATCC 18804	Sensível-dose-dependente	Fluconazol-sensível	Fluconazol-resistente
<i>M. urundeuva</i> (aroeira preta)	Casca	31,25*	15,63*	62,5*	250*
	Caule	15,63*	62,5*	250*	250*
	Folha	15,63*	s/a	s/a	s/a
	Semente	s/a	s/a	s/a	s/a
<i>S. terebinthifolius</i> (aroeira vermelha)	Casca	31,25*	62,5*	250*	250*
	Caule	15,63*	125*	s/a	s/a
	Folha	250*	s/a	s/a	s/a
	Semente	s/a	s/a	s/a	s/a

* Mínima concentração testada com atividade. s/a = sem atividade

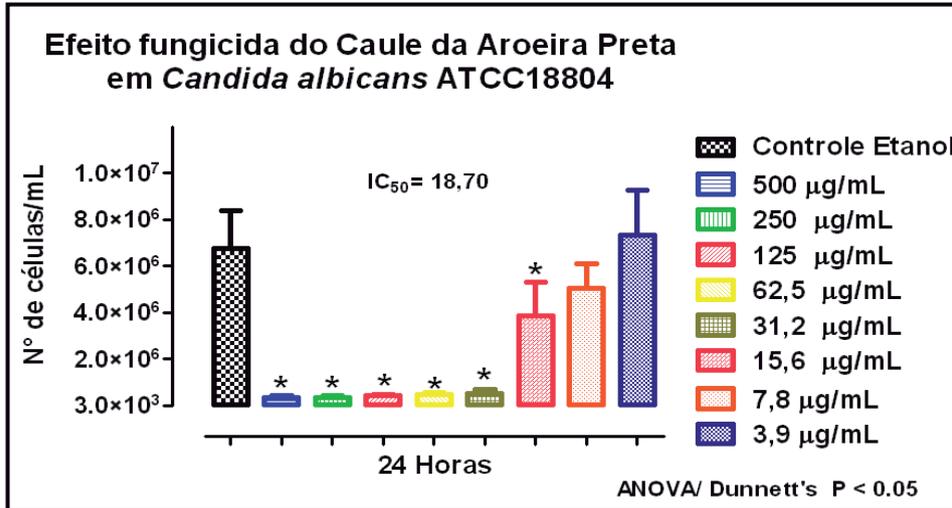
Os resultados descritos na tabela 07 indicam que os extratos etanólicos da casca da aroeira preta foram o que apresentaram melhor atividade contra os fungos estudados, tendo maior inibição em *C. albicans* fluconazol sensível dose dependentes, para a concentração de 15,63 µg/mL de extrato.

Figura 6. Efeito fungicida dos extratos etanólicos de casca, caule e folha de *M. urundeuva* (aroeira preta) em *C. albicans* ATCC 18804.



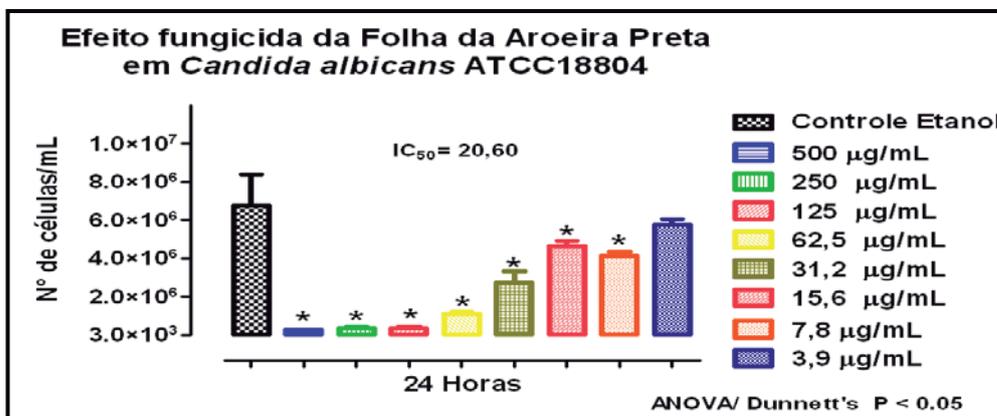
Os extratos de sementes/frutos de ambas as espécies não apresentaram efeito contra as cepas avaliadas. Os extratos das folhas inibiram significativamente o crescimento de *Candida albicans* ATCC18804. Análise semelhante foi realizada com extrato etanólico dos frutos da *S. terebenthifolius* que também apresentaram efeito inibitório às cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 e do *Bacillus cereus* ATCC 11778 (DEGÁSPARI, C. H. et al., 2005).

Figura 7. Efeito fungicida do extrato etanólico do caule de *M. urundeuva* (aroeira preta) em *C. albicans* ATCC 18804.



Segundo Martinez (1996) já se demonstrou, *in vitro*, atividade contra *Klebsiella pneumoniae*, *Alcaligenes faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Leuconostoc cremoris*, *Enterobacter aerogenes*, *Proteus vulgaris*, *Clostridiumsporogenes*, *Acinetobacter calcoacetica*, *Escherichia coli*, *Beneckea natriegens*, *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* e várias espécies de fungos (*Aspergillus*).

Figura 8. Efeito fungicida do extrato etanólico da folha de *M. urundeuva* (aroeira preta) em *C. albicans* ATCC 18804.



6.6 Atividade Antimicrobiana em *E. faecalis*

Ao analisar a atividade antimicrobiana (tabela 08) dos extratos etanólicos preparados em soxhlet da *S. terebinthifolius* sobre *E. faecalis* (ATCC 29212) verifica-se que foram ativos apenas os extratos das folhas com concentração de 15,62 µg/mL, enquanto que os extratos etanólicos de folha de *M. urundeuva*, preparados pelas duas metodologias de extração, inibiram o crescimento deste microorganismo na concentração de 62,5 µg/mL. Apenas o extrato etanólico de caule de *M. urundeuva* obtido por maceração apresentou atividade antimicrobiana mais efetiva, ou seja, namínima diluição testada (3,9 µg/mL), enquanto que os extratos das demais partes botânicas desta espécie não apresentaram esta atividade.

A inibição de crescimento da *E. faecalis* pelo extrato de caule de *S. terebinthifolius* foi em concentração superior (62,5 µg/mL). Os extratos etanólicos das sementes/frutos preparados pelos dois métodos de extração não apresentaram atividade em todas as diluições testadas.

TABELA 9. Avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos etanólicos preparados em soxhlet e por maceração de casca, caule, folha e sementes/frutos da *M. urundeuva* (*aroeira preta*) e *S. terebinthifolius* (*aroeira vermelha*) sobre *E. faecalis* (ATCC 29212).

Metodologia	<i>Enterococcus faecalis</i> (µg/mL)							
	<i>M. urundeuva</i> (<i>aroeira preta</i>)				<i>S. terebinthifolius</i> (<i>aroeira vermelha</i>)			
	Sementes	Casca	Caule	Folhas	Sementes	Casca	Caule	Folhas
Soxhlet	s/a	s/a	s/a	62,5 *	s/a	500*	s/a	15,62*
Maceração	s/a	s/a	3,9*	62,5*	s/a	500*	62,5	s/a

* Mínima concentração testada com atividade. s/a = sem atividade

Em estudos realizados por Degaspari e colaboradores (2005), com relação à ação antimicrobiana da *S. terebinthifolius*, verificou-se que o extrato alcoólico apresentou efeito inibitório às cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 e do *Bacillus cereus* ATCC 11778, mas sem efeito inibitório para as outras cepas testadas. Enquanto que extrato aquoso não apresentou efeito inibitório aos microorganismos testados.

7.0 CONCLUSÃO

- Há diferenças quanto à massa extraída de amostras de sementes/frutos, cascas, caule e folhas de *M. urundeuva* (aroeira preta) e de *S. terebinthifolius* (aroeira vermelha) extraídos com etanol em soxhlet e por maceração;
- A atividade antioxidante e fenóis totais de extratos etanólicos de sementes/frutos, cascas, caule e folhas de *M. urundeuva* (aroeira preta) e de *S. terebinthifolius* (aroeira vermelha) variaram de acordo com o tipo de método de extração utilizado e a parte botânica de cada espécie;
- Os extratos etanólicos de sementes/frutos, cascas e caule de *M. urundeuva* (aroeira preta) e de sementes/frutos, cascas, caule e folhas de *S. terebinthifolius* (aroeira vermelha) ao utilizar soxhlet apresentaram maior porcentagem de atividade antioxidante quando comparados com os extratos preparados por maceração;
- A concentração de fenóis totais de extratos etanólicos de sementes/frutos, cascas e folhas de *M. urundeuva* e de sementes/frutos e cascas de *S. terebinthifolius* foram superiores quando preparados por maceração;
- Os extratos etanólicos de caule de *M. urundeuva* e de caule e folhas de *S. terebinthifolius* preparados em soxhlet apresentaram maior concentração de compostos fenólicos;
- Não há uma correlação direta entre os teores de compostos fenólicos totais com a atividade antioxidante *in vitro* dos extratos etanólicos de *S. teribinthifolius* e *M. urundeuva*;
- Os extratos etanólicos preparados em soxhlet e por maceração de sementes de *M. urundeuva* e *S. terebinthifolius* não inibiram o crescimento de *E. faecalis*, *Candida albicans* ATCC18804, *Candida albicans* fluconazol sensível dose dependente, *Candida tropicalis* fluconazol sensível e *Candida tropicalis* fluconazol resistente em nenhuma das concentrações avaliadas;
- A atividade antimicrobiana contra *Candida albicans* ATCC18804, *Candida albicans* fluconazol sensível dose dependente, *Candida tropicalis* fluconazol sensível e *Candida tropicalis* fluconazol resistente difere em relação à concentração de extrato e partes botânicas de *M. urundeuva* e *S. terebinthifolius* utilizadas;

- Os extratos etanólicos de *S. teribinthifolius* e *M. urundeuva* apresentam atividade antimicrobiana sobre os microorganismos patogênicos *E. faecalis*, *Candida albicans* e *tropicalis sensíveis e resistentes a fluconazol*;
- Uma investigação mais detalhada da à composta fenólica e a atividade antioxidante presentes nas distintas partes botânicas é necessárias para separação, identificando e caracterização das substâncias bioativas encontradas em maior concentração em extratos etanólicos de *S. teribinthifolius* e *M. urundeuva*.
- Os resultados obtidos neste trabalho poderão auxiliar na avaliação das propriedades medicinais de *S. teribinthifolius* e *M. urundeuva*.

8.0 REFERÊNCIAS

ALMEIDA, M.C. S. de. et al. Flavonoides e outras substâncias de *Lippia sidoides* e suas atividades antioxidantes. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 33, n. 9, p.1877-1881, 2010.

ALVES, E. O. et al. Levantamento etnobotânico e caracterização de plantas medicinais em fragmentos florestais de dourados – MS. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 32, n. 2, p. 651-658, 2009.

ANDRADE, M. W. de. et al. Micropropagação da aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All.). **Ciênc. e Agrotec.**, Lavras, v.24, n.1, p.174-180, 2000.

AQUINO, F. W. B. et al. Phenolic compounds in imburana (*Amburana cearensis*) powder extracts. **Eur Food Res Technol.**, Berlin, v. 221, n. 6, p. 739-745, 2005.

ÁVILA, M. A. ; ALBRECHT, L.P. Isoflavonas e a qualidade das sementes de soja. **Abrates**, Paraná, v.20, n. 1,2, p.015 - 029, 2010.

BARATA, G. Medicina popular obtém reconhecimento científico. **Cienc. Cult.**, São Paulo, v. 55, n. 1, p. 12-12, 2003.

BORNHAUSEN, R.L. **Ervas do sítio**. 12. ed. Bei Comunicação, 2009, p.176.

BRASIL. Ministério da Saúde. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. **Programa nacional de plantas medicinais e fitoterápicos**. Brasília, Ministério da Saúde, 2009, 135 p.

BRITO, M. A. A estratégia de conservação *in situ* (unidades de conservação) e a conservação de plantas medicinais. In: COELHO, M.F.B.; COSTA JUNIOR, P.; DOMBROSKI, J.L.D. **Diversos olhares em etnobiologia, etnoecologia e plantas medicinais**. Cuiabá: UNICEN, 2003, p.137-148.

CAMARGO, S. J.; EMANUEL,K.A.; SOBEL,A.H. Use of a genesis potential index to diagnose ENSO effects on tropical cyclone genesis. **Journal of Climate**, Boston, v.20, n.19, p.4819, 2007.

CARLINI, E. A. et al. Antiulcer effect of the pepper trees *Schinus terebinthifolius* Raddi (aroeira-da-praia) and *Myracrodruon urundeuva* Allemão, Anacardiaceae (aroeira-do-sertão). **Braz. J. Pharmacogn.**, v. 20, n. 2, p. 140-146, 2010.

CORRÊA, M.P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas.** Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, 1926, 6 v.

COSTA-LOTUFO, L. V. et al. Antiproliferative effects of several compounds isolated from *Amburana cearensis* A.C. Smith. **Z Naturforsch C.**, Tubingen, v. 58, n.9-10, p. 675-680, 2003.

DEGASPARI, C.H.; WASZCZYNSKYJ,N.; PRADO, M.R.M. Atividade antimicrobiana de *schinus terebenthifolius raddi*. **Ciênc. Agrotec.**, Lavras, v. 29, n. 3, p. 617-622, 2005.

DUARTE, E. F.; MORAIS, O.M.; NAKAGAWA, J. Avaliação da germinação de sementes de aroeira (*Myracrodruon urundeuva* (Engler) Fr. Allem.) Anacardiaceae, em diferentes substratos, com e sem exo e mesocarpo. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BOTÂNICA DE SÃO PAULO, XIII., 2000, São Paulo. **Resumos...** São Paulo: USP, 2000. Disponível em: <http://www.ib.usp.br/sbsp/congresso/fb.htm>.

ELBLING, L. et al. Green tea extract and (-)-epigallocatechin-3-gallate, the major tea catechin, exert oxidant but lack antioxidant activities. **FASEB J.**, Bethesda, v. 19, n.7, p.807-809, 2005.

ELO, E.A.; GUERRA, N.B. Ação antioxidante de compostos fenólicos naturalmente presentes em alimentos. **Boletim da SBCTA.** Campinas: v.36, n. 1, p. 1-11, 2002.

FERREIRA, I.C.S; VARGAS, V.M.F. Mutagenicity of medicinal plant extracts in Salmonella/ microsome assay. **Phytother Res.**, London, v.13, n.5, p.397-400, 1999.

FIGUEIRÔA, J. M.; BARBOSA, D. C. A.; SIMABUKURO, E. A. Crescimento de plantas jovens de *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae) sob diferentes regimes hídricos. **Acta Bot. Bras.**, São Paulo, v.18, n.3, p.573-580. 2004.

FLORES, J.M. et al. Superficial fungal infections: clinical and epidemiological study in adolescents from marginal districts of Lima and Callao, Peru. **J. Infect. Dev. Ctries.**, Sassari, v.3, n.4, p.313-317, 2009.

FOLIN, O.; CIOCALTEU, V. On Tyrosine and tryptophane determinations in proteins. **J. Biol. Chem.**, Baltimore, v.73, p. 627-650, 1927.

FRANÇA, J.C.B.; RIBEIRO, C.E.L.; QUEIROZ-TELLES, F. Candidemia em um hospital terciário brasileiro: incidência, frequência das diferentes espécies, fatores de risco e suscetibilidade aos antifúngicos. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Brasília, v.41, n.1, p.23-28. 2008.

GAETTI-JARDIM JÚNIOR, E. Occurrence of yeast, pseudomonads and enteric bacteria in the oral cavity of patients undergoing head and neck radiotherapy. **Braz. J. Microbiol.**, São Paulo, v.42, n.3, p.1047-1055. 2011.

GARLET, T.M.B.; IRGANG, B.E. Plantas medicinais utilizadas na medicina popular por mulheres trabalhadoras rurais de Cruz Alta, Rio Grande do Sul, Brasil. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v. 4, n. 1, p. 9-18, 2001.

GEVA, A. et al. The VI-SENSE-vaginal discharge self-test to facilitate management of vaginal symptoms. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, St. Louis, v. 195, n. 5, p. 1351-1356, 2006.

GUERRA, M. P.; NODARI, R. O. Biodiversidade: aspectos biológicos, geográficos legais e éticos. In: SIMÕES, C. M. O. (Org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3. ed. Porto Alegre: UFSC: UFRGS, [2001].

GURGEL - GARRIDO, L. M. A. et al. Efeitos do sombreamento no crescimento da aroeira - *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. **Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v.9, n.1, p.47-56, 1997.

KAUR, D. et al. Flotation-cum-sedimentation system for skin and seed separation from tomato pomace. **J. Food Eng.**, London, v.71, n.4, p.341-344, 2005.

LEAL, L. K. A. M. et al. Amburoside A, a glucoside from *Amburanacearensis*, protects mesencephalic cells against 6-hydroxydopamine-induced neurotoxicity. **Neurosci. Lett.**, Limerick, v. 388, n. 2, p. 86-90, 2005.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Plantarum, 1992, v.1, 382 p.

MARTINS, E.R. et al. **Plantas medicinais**. Viçosa: UFV, 2000, 220 p.

MAVOR, AL; THEWES, S; HUBE, B. Systemic fungal infections caused by *Candida* species: epidemiology, infection process and virulence attributes. **Curr Drug Targets**, Hilversum, v.6, n. 6, p.863-874, 2005.

MENDEL, S.; YODIM, MB. Catechin polyphenols: neurodegeneration and neuroprotection in neurodegenerative diseases. **Free Radic Biol Med.**, New York, v.37, n.3, p. 304-317, 2004.

MENDONÇA, M. P.; LINS, L. V. **Lista vermelha das espécies ameaçadas de extinção da flora de Minas Gerais**. Belo Horizonte: Fundação Biodiversitas, 2000. 157p.

MENEZES, E. A.; MENDES, L. G.; CUNHA, F. A. Resistência a antifúngicos de *Candida tropicalis* isoladas no Estado do Ceará. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Brasília, v.42, n.3, p. 354-355, 2009.

MORAES, S.M. et al. Plantas medicinais usadas pelos índios Tapebas do Ceará. **Rev. Bras. Farmacogn.**, São Paulo, v. 15, n.2, p. 169-177, 2005.

MORAIS, S. M. et al. Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. **Rev. Bras. Farmacogn.**, São Paulo, v.19, n.1b, p.315-320, 2009.

NOVAIS, T.S. et al. Atividade antibacteriana em alguns extratos de vegetais do semiárido brasileiro. **Rev. Bras. Farmacogn.**, São Paulo, v.13, supl. 2, p. 05-08, 2003.

NUCCI, M.; COLOMBO AL. Candidemia due to *Candida tropicalis*: clinical, epidemiologic, and microbiologic characteristics of 188 episodes occurring in tertiary care hospitals. **Diagn Microbiol Infect Dis.**, New York, v. 58, n.1, p. 77-82, 2007.

PARADELLA, T. C.; KOGA-ITO, C.Y.; JORGE, A. O. C. *Enterococcus faecalis*: considerações clínicas e microbiológicas. **Rev. Odontol. UNESP.**, Marília, v. 36, n.2, p.163-168 2007.

PARENTE, C.E.T.; ROSA, M.M.T. Plantas comercializadas como medicinais no município de Barra do Piraí, RJ. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 52, n. 80, p. 47-59, 2001.

PARRA, A.V. et al. Derivados antraquinônicos del *Aloe vera* L. tamizaje genotóxico. **Rev. Cubana Plant. Med.**, La Habana, v.5, n.2, p.46-50, 2000.

PASSOS, X.S. et al. *Candida* colonization in intensive care unit patients' urine. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.100, n.8, p.925-928, 2005.

PFALLER, M.A.; DIEKEMA, D.J. Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. **Clin. Microbiol. Rev.**, Washington, v.20, n.1, p.133-163, 2007.

PIMENTEL, C. V. M. B.; FRANCKI, V. M.; GALLUCKE, A. P. B. **Alimentos funcionais**: introdução as principais substancias bioativas em alimentos. São Paulo: Varela, 2005, 100 p.

PINTO, S. I. C.; SOUZA, A. M.; CARVALHO, D. Variabilidade genética por isoenzimas em populações de *Copaifera langsdorffii* Desf. em dois fragmentos de mata ciliar. **Scientia Forestalis**, n. 65, p.40-48, 2004.

RAUHA, J. P. et al. Antimicrobial effects of finish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds. **Int. J. Food Microbiol.**, Amsterdam, v. 56, n. 1, p. 3-12, 2000.

RIETJENS, I.M.C.M. et al. Flavonoids and akenylbenzenes: mechanisms of mutagenic action and carcinogenic risk. **Mutat. Res.**, Amsterdam, v.574, p.124-38, 2005.

RUFINO, M.S.M. et al. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas no sistema ²-caroteno/ácido linoléico. **Comunicado Técnico EMBRAPA**, Fortaleza, n.126, 2006.

RUFINO, M. S.M. et al. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. **Comunicado Técnico EMBRAPA**, Fortaleza, n. 127, 2007.

SANTOS, R. M. Riqueza e similaridade florística de oito remanescentes florestais no norte de Minas Gerais, Brasil. **Rev. Árvore**, Viçosa, v.31, n.1, p.135-144, 2007.

SILVA, M.A. et al. Evaluation for *Strychnos pseudoquina* St. Hil. leaves extract on gastrointestinal activity in mice. **Chem .Pharm. Bull.**, Tokyo, v.53, n.8, p. 881-885, 2005.

SIMÕES, C.M.O. (Org.). **Farmacognosia**: da planta ao medicamento. 4.ed. Porto Alegre: Ed. da UFRGS, São Paulo: Ed. da UFSC, 2002, 833 p.

SOUSA, T.J.T. et al. Composição química e atividade antioxidante do óleo volátil de *eupatorium polystachyum* dc. **Rev. Bras. Farmacogn.**, São Paulo, v.17, n.3, p. 368-372, 2007.

SOUSA, M.J.M. et al. Medicinal plants used by Itamaraty community nearby Anápolis, Goiás State, Brazil. **Acta Sci., Health Sci.**, Maringá, v. 32, n. 2, p. 177-184, 2010.

SOUZA JR., O.G.; DAMOUS, S.H.B.; LAMARÃO, L.G. Revisão crítica do uso médico do óleo de copaíba. **Rev. Para. Med.**, Belém, v.14, n.1, p.71-76, 2000.

VARANDA, E. A. Atividade mutagênica de plantas medicinais. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, Araraquara, v. 27, n.1, p.1-7, 2006.

VERSCHAEVE, L. et al. Investigation of the antimutagenic effects of selected South African medicinal plant extracts. **Toxicol In Vitro.**, Oxford, v.18, n.1, p. 29-35, 2004.

VIGANÓ, J.A.; CRUZ-SILVA, C. T.A. Utilização de plantas medicinais pela população da região urbana de Três Barras do Paraná. **Acta Sci. Health Sci.** Maringá, v. 29, n. 1, p. 51-58 2007.

VIANNA, R. A. **Plantas que curam.** Editora Três. 2008.

VIZOSO, A.P. et al. LÓPEZ AG, RUIZ AR, PILOTO J. Estúdio toxicogenético de un extracto fluido de Ocimum basilicum L. (Albanaca blanca). **Rev Cubana Plant Med.**, v.5, n.3, p.78-83, 2000.

YILDIRIM, A.; MAVI, A.; KARA, A.A. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of Rumex crispus L. extracts. **J. Agric Food Chemistry.** Chicago: v.49, p. 4083-4089, 2001.