

IVANA MARIA PÓVOA VIOLANTE

**Avaliação do potencial antimicrobiano e
citotóxico de espécies vegetais do Cerrado
da Região Centro-Oeste**

CAMPO GRANDE

2008

IVANA MARIA PÓVOA VIOLANTE

Avaliação do potencial antimicrobiano e citotóxico de espécies vegetais do Cerrado da Região Centro-Oeste

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS, para obtenção do título de Mestre.

**Orientadora: Profa. Dra. Fernanda Rodrigues Garcez
Co-orientadora: Profa. Dra. Marilene Rodrigues Chang**

CAMPO GRANDE

2008

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL

Reitor

Dr. MANOEL PERÓ

Pró-Reitora de Pesquisa e Pós-Graduação

Profa. Dra. Célia Maria da Silva Oliveira

FICHA CATALOGRÁFICA

Dados Internacionais para Catalogação na Publicação (CIP)

VIOLANTE, Ivana Maria Póvoa.

Avaliação do potencial antimicrobiano e citotóxico de espécies vegetais do Cerrado da Região Centro-Oeste/ Ivana Maria Póvoa Violante. Campo Grande: UFMS, 2008.

89f.

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, para obtenção do título de Mestre em Saúde e Desenvolvimento da Região Centro Oeste.

Orientadora: Profa. Dra. Fernanda Rodrigues Garcez

1. Cerrado. 2. Plantas Medicinais. 3. Atividade antimicrobiana *in vitro*. 4. Atividade citotóxica

I. Avaliação do potencial antimicrobiano e citotóxico de extratos e frações de espécies vegetais do Cerrado da Região Centro-Oeste II. Violante, Ivana Maria Póvoa. III. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

UFMS – UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL

IVANA MARIA PÓVOA VIOLANTE

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO E CITOTÓXICO DE
ESPÉCIES VEGETAIS DO CERRADO DA REGIÃO CENTRO-OESTE**

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Fernanda Rodrigues Garcez
Orientadora

Profa. Dra. Rosane Christine Hahn
Titular/ UFMT

Profa. Dra. Lidilhone Hamerski
Titular/ UFMS

Profa. Dra. Neli Kika Honda
Suplente / UFMS

Campo Grande, ____ de _____ de 2008

NOTA FINAL: _____.

*“Mestre não é sempre aquele que ensina,
de repente é aquele que aprende”.*

Guimarães Rosa

DEDICATÓRIA

Ao meu grande Amor, Carlos Alberto, amigo, cúmplice e esposo pela paciência e compreensão por tanta ausência, com todo o meu amor e carinho.

Aos meus pais, Riva e Irma, exemplos de luta e de vida, pelo apoio e por terem permanecido ao meu lado.

A minha avó, Anna Maria, que com seus 84 anos de vida, continua demonstrando que a força de vontade deve fazer parte da vida daqueles que querem continuar o caminho.

AGRADECIMENTOS

A minha orientadora, Profa. Dra. Fernanda Rodrigues Garcez, que sempre se mostrou disposta a repassar seu conhecimento com profissionalismo e competência e, por acreditar na minha possibilidade de vencer.

A Universidade Federal de Mato Grosso do Sul pela oportunidade de participar do Curso de Pós Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro Oeste.

A Profa. Dra. Marilene Rodrigues Chang pela contribuição prestada.

A Profa. e amiga Ilza Martha de Souza, pelo apoio e incentivo. Com admiração e eterno agradecimento.

A minha amiga e colega de trabalho Profa Albina de Fátima Silva Ramalho, pelo apoio e pela compreensão sempre que se fez necessário o meu afastamento. Meu agradecimento em especial.

A minha amiga Ana Lúcia Batista, pela disposição em colaborar, pela troca de experiências e agradável convivência.

Ao Prof. Dr. Márcio Ferrari pela colaboração na correção do projeto e pelas palavras de otimismo e incentivo.

Ao Prof. Dr. Antonio Carlos Pizzolitto, por seus ensinamentos e exemplo de profissionalismo e humanismo.

A Profa. Dra. Lidilhone Hamerski pelo apoio e estímulo.

Ao Prof. Dr. Walmir Silva Garcez pelas sugestões prestadas.

Ao técnico Libério Amorin, do Instituto de Biociências da Universidade Federal de Mato Grosso pela colaboração na coleta das plantas.

As técnicas, Débora, Rita, D.Lúcia e Marisa, da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, pela disposição em colaborar.

Ao técnico Geraldo Neto, da Universidade de Cuiabá, pelo auxílio constante.

A Banca Examinadora, Profa. Dra. Rosane Christine Hahn, Profa. Dra. Lidilhone Hamerski e Profa. Dra. Neli Kika Honda, pela disponibilidade e análise deste trabalho.

A Faculdade de Farmácia e Bioquímica da Universidade de Cuiabá, pelo apoio institucional.

Aos meus sogros, Fernando e Hilda pelo carinho e acolhimento.

Um agradecimento especial aos meus cunhados Fábio e Marilene, pela amizade, pelo companheirismo e por estarem presentes em momentos difíceis.

Ao meu cunhado Sérgio pelas atitudes prestativas.

Ao meu irmão Netinho, pelo incentivo e amizade.

A toda minha família, pelo carinho e estímulo que sempre me ofereceram.

A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para minha realização.

A Deus, que dá sentido a tudo.

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

1 INTRODUÇÃO.....	14
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	16
2.1 DOENÇAS INFECCIOSAS.....	17
2.1.1 Microrganismos	17
2.1.1.1 Bactérias	17
2.1.1.1.1 Bactérias Gram-positivas.....	18
2.1.1.1.1 Bactérias Gram-negativas.....	19
2.1.1.2 Fungos	20
2.2 TERAPÊUTICA ANTIMICROBIANA	21
2.3 RESISTÊNCIA MICROBIANA	22
2.4 PLANTAS MEDICINAIS	24
2.5 FAMÍLIA BURSERACEAE- GÊNERO PROTIUM.....	28
2.6 FAMÍLIA ERYTHROXYLACEAE - GÊNERO ERYTHROXYLLUM	30
2.7 FAMÍLIA LAMIACEAE - GÊNERO HYPTIS	32
2.8 FAMÍLIA PROTEACEAE - GÊNERO ROUPALA	34
2.9 FAMÍLIA SIMAROUBACEAE - GÊNERO SIMAROUBA	35
2.10 FAMÍLIA STERCULIACEAE - GÊNERO GUAZUMA	36
2.11 TESTES PARA DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA	38
2.12 TESTES PARA DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA	38

3 OBJETIVOS.....	40
3.1 OBJETIVO GERAL.....	41
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	41
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	42
4.1 COLETA E IDENTIFICAÇÃO DAS ESPÉCIES VEGETAIS.....	43
4.2 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS BRUTOS ETANÓLICOS	43
4.3 OBTENÇÃO DAS FRAÇÕES	45
4.4 BIOENSAIOS DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA <i>IN VITRO</i>	46
4.4.1 Microrganismos utilizados	46
4.4.2 Meios de cultura	47
4.4.3 Padronização do inóculo	47
4.4.3.1 Preparo do inóculo bacteriano	47
4.4.3.2 Preparo do inóculo dos fungos leveduriformes	48
4.4.4 Método da microdiluição – determinação da concentração inibitória mínima	49
4.4.5 Ensaio da atividade citotóxica	52
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	53
5.1 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA	52
5.2 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA	55
5.3 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA.....	58
6 CONCLUSÕES.....	62
7 REFERÊNCIAS.....	64

RESUMO

O Cerrado brasileiro possui uma vegetação heterogênea cuja biodiversidade taxonômica é ainda maior do que a floresta Amazônica, com mais de 7000 espécies nativas de plantas vasculares. Devido a essa notável diversificação florística, tem-se observado um crescente interesse na investigação de plantas medicinais do Cerrado, como fonte de compostos bioativos. No presente trabalho, seis extratos etanólicos e vinte e quatro frações resultantes da partição inicial de extratos etanólicos brutos de plantas selecionadas do Cerrado da região Centro Oeste do Brasil pertencentes a seis famílias diferentes *Erythroxylum suberosum* (Erythroxylaceae), *Guazuma ulmifolia* (Sterculiaceae), *Hyptis cana* (Lamiaceae), *Protium heptaphyllum* (Burseraceae), *Roupala brasiliensis* (Proteaceae) e *Simarouba versicolor* (Simaroubaceae), utilizadas na medicina tradicional no tratamento de doenças infecciosas e outras condições médicas, foram investigados para determinação de suas atividades antibacteriana, antifúngica e citotóxica, *in vitro*. A avaliação das atividades antifúngica e antibacteriana foi realizada utilizando-se o método da microdiluição em caldo, frente a seis cepas fúngicas padrão (*Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* e *Cryptococcus neoformans*) e três cepas padrão de bactérias Gram-positivas e duas cepas Gram-negativas (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, e *Staphylococcus aureus*). A avaliação da atividade citotóxica foi realizada utilizando-se o teste de letalidade sobre larvas de *Artemia salina*. Todas as plantas investigadas apresentaram significativa atividade antimicrobiana e/ou citotóxica, permitindo a possibilidade de se encontrar novos e eficazes compostos antimicrobianos e/ou antitumorais.

Palavras-chave: cerrado; produtos naturais; atividade antimicrobiana *in vitro*, atividade citotóxica.

ABSTRACT

The Brazilian Cerrado vegetation has a heterogeneous assortment of vegetation types whose biodiversity is even greater than that of the Amazon rainforest, with more than 7000 native species of vascular plants. Due to this notable floristic diversification, there has been a growing interest in the research on medicinal plants of the Cerrado as a source of bioactive compounds. In the present work, ethanol extracts from six selected species from the Cerrado of the Central-Western region of Brazil belonging to six different families *Erythroxylum suberosum* (Erythroxylaceae), *Guazuma ulmifolia* (Sterculiaceae), *Hyptis cana* (Lamiaceae), *Protium heptaphyllum* (Burseraceae), *Roupala brasiliensis* (Proteaceae) and *Simarouba versicolor* (Simaroubaceae), used in traditional medicine for the treatment of infectious diseases and other medical conditions, as well as the hexane, dichloromethane, ethyl acetate and methanol-water 1:1 soluble fractions resulting from partition of these crude ethanol extracts were investigated for their antibacterial, antifungal and cytotoxic activities *in vitro*. The antifungal and antibacterial activities were determined by the broth microdilution assay, against six standard fungal strains (*Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* and *Cryptococcus neoformans*), three standard Gram-positive and – negative two bacterial strains (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis* and *Staphylococcus aureus*) and the evaluation of cytotoxic activity was performed using the brine shrimp (*Artemia salina*) lethality bioassay. All plants investigated showed significant antimicrobial and / or cytotoxic activities, allowing the possibility of finding and effective antimicrobial and / or antitumour compounds.

Key-words: cerrado; natural products; antimicrobial activity *in vitro*; cytotoxic activity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fotos da espécie vegetal <i>Protium heptaphyllum</i>	30
Figura 2 - Foto da espécie vegetal <i>Erythroxylum suberosum</i>	31
Figura 3 - Foto da espécie vegetal <i>Hyptis cana</i>	34
Figura 4 - Foto da espécie vegetal <i>Roupala brasiliensis</i>	35
Figura 5 - Fotos da espécie vegetal <i>Simarouba versicolor</i>	36
Figura 6 - Fotos da espécie vegetal <i>Guazuma ulmifolia</i>	37
Figura 7 - Esquema geral para a obtenção dos extratos e das fases obtidas por partição das plantas pesquisadas	45
Figura 8 - Esquema das diluições dos extratos e das frações das plantas pesquisadas.....	49
Figura 9 - Esquema da técnica da microdiluição para determinação da CIM	50
Figura 10 - Fotos das microplacas utilizadas para determinação das CIMs dos extratos e das frações.....	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Identificação das famílias e espécies vegetais, nomes populares e utilização na medicina tradicional.....	29
Tabela 2 - Espécies coletadas, dados botânicos, locais de coleta, parte coletada e números de registro no Herbário Central da UFMT.....	44
Tabela 3 - Espécies vegetais, massa das plantas coletadas, massa dos extratos etanólicos e das fases hexânica, diclorometânica, acetato de etila e hidrometanólica.....	46
Tabela 4 - Atividade antifúngica de extratos brutos e frações de plantas do Cerrado Brasileiro.....	56
Tabela 5 - Atividade antibacteriana de extratos brutos e frações de plantas do Cerrado Brasileiro	58
Tabela 6 - Atividade citotóxica para <i>Artemia salina</i> dos extratos brutos e frações de plantas do Cerrado Brasileiro	61

1 INTRODUÇÃO

Desde tempos remotos o homem busca, através das plantas medicinais, a cura ou o alívio para suas doenças.

Atualmente, a pesquisa sobre plantas medicinais, sob diferentes abordagens, priorizando inclusive a interdisciplinaridade, e respeitando o conhecimento transmitido através das gerações, tem merecido especial atenção por parte de estudiosos preocupados com o potencial da rica biodiversidade vegetal (GUARIM NETO, 2006).

Muitas classes de compostos orgânicos têm demonstrado promissores efeitos biológicos e diversos fitoconstituintes apresentam potência similar ou superior à de um fármaco sintético (CECHINEL FILHO et al, 2003).

As propriedades antimicrobianas de substâncias presentes em extratos obtidos de plantas a partir do seu metabolismo secundário são reconhecidas empiricamente há séculos e hoje se busca comprovar essas atividades cientificamente (MARTÍNEZ et al., 1996; NAVARRO et al., 1996; MAHASNEH; ADEL; EL-OQLAH, 1999; AHMAD; AND BEG, 2001; DUARTE et al., 2005).

Ainda que as indústrias farmacêuticas venham produzindo um número de novos antimicrobianos nas últimas décadas, tem-se observado um aumento da resistência de diversos microrganismos frente as diversas drogas (BERTINI, et al., 2005).

O Brasil detém a maior biodiversidade do planeta e o bioma cerrado contém diversas plantas vasculares, diversas delas com alto valor alimentício e medicinal (SOUZA; FELFINI, 2006).

No presente trabalho, seis extratos etanólicos e vinte e quatro frações resultantes da partição inicial dos extratos etanólicos brutos de plantas selecionadas do Cerrado da região Centro Oeste do Brasil pertencentes a seis famílias diferentes, *Erythroxylum suberosum* (Erythroxylaceae), *Guazuma ulmifolia* (Sterculiaceae), *Hyptis cana* (Lamiaceae), *Protium heptaphyllum* (Burseraceae), *Roupala brasiliensis* (Proteaceae) e *Simarouba versicolor* (Simaroubaceae) e utilizadas na medicina tradicional no tratamento de doenças infecciosas e outras condições médicas foram investigados para determinação de suas atividades antibacteriana, antifúngica e citotóxica, *in vitro*.

Os resultados apresentaram uma expressiva contribuição para a caracterização da atividade antimicrobiana e citotóxica dos extratos e das frações de plantas da região centro-oeste, utilizadas na medicina tradicional.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 DOENÇAS INFECCIOSAS

Uma definição ampla de infecção inclui necessariamente a presença e a multiplicação de microrganismos, tais como bactérias, fungos, protozoários e vírus, em um hospedeiro vivo, com estimulação de uma resposta, podendo ser localizada e/ou generalizada (KONEMAN et al., 2001).

A infecção, de forma geral, é uma das mais importantes desordens de saúde que acometem a humanidade. É uma das patologias mais freqüentes nas consultas dos centros de saúde e uma das maiores preocupações nos hospitais, resultando no aumento da morbidade, mortalidade e custos para o sistema de saúde (COHEN, 1992; NASSARALLA, 1997).

2.1.1 Microrganismos

2.1.1.1 Bactérias

As bactérias são seres procarióticos que se reproduzem por divisão assexuada. São formadas por várias estruturas, porém há uma estrutura essencial, a membrana citoplasmática. A maioria das bactérias possui externamente à membrana uma espessa e rígida camada, a parede celular, que é extremamente resistente. Envolvendo a parede, pode ocorrer uma terceira camada, a cápsula. No interior da célula, se encontram o citoplasma, núcleo e diversos grânulos. Partindo da superfície, pode haver flagelos e fímbrias (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1997; MURRAY et al., 2002). Conforme as características da parede celular, as bactérias podem ser classificadas em Gram-positivas ou Gram-negativas. As diferenças estão baseadas nas suas propriedades de permeabilidade e nos componentes de superfície (SCHAECHTER et al., 2002).

O principal componente estrutural da parede celular é o peptideoglicano, um polímero misto de açúcares e aminoácidos. Nas bactérias Gram-positivas o peptideoglicano forma uma

camada espessa (20-80nm), constituindo uma estrutura extremamente forte em tensão, sendo menos espessa (5-10nm) nas Gram-negativas e consequentemente, mais frágil. Contudo, a parede na célula Gram-negativa é constituída por estruturas complexas, que a envolvem externamente, como as lipoproteínas, membrana externa e os lipopolissacarídeos (TRABULSI et al., 1999).

O método da coloração de Gram permite a separação de populações bacterianas em Gram-positivas e Gram-negativas, bem como determinação da morfologia. Tanto bactérias Gram-positivas quanto Gram-negativas absorvem de maneira idêntica o corante primário cristal violeta e o fixador lugol, adquirindo uma coloração violeta devido à formação de um complexo cristal violeta-iodo insolúvel, porém quando submetidas ao tratamento com o solvente orgânico etanol-acetona (1:1), este dissolve a porção lipídica das membranas externas das bactérias Gram-negativas, descorando as células. Por outro lado, o solvente desidrata as espessas paredes celulares das bactérias Gram-positivas, provocando contração dos poros do peptidoglicano; o corante primário é retido e as células permanecem coradas. Posteriormente, quando tratadas com o corante secundário, a fucsina básica e, observadas ao microscópio, as células Gram-positivas aparecerão coradas em violeta escuro e as Gram-negativas em vermelho ou rosa escuro (MIMS et al., 1999).

Como fatores de ataque ou agressão, as células Gram-positivas e Gram-negativas se caracterizam por diferentes graus de virulência. As Gram-negativas são constituídas por uma endotoxina, que é o lipopolissacarídeo, maior fator de virulência, que lhes confere significativa patogenicidade, enquanto que nas Gram-positivas a exotoxina, composta pelo ácido lipoteicoico, que tem como característica principal se aderir às membranas celulares, particularmente de linfócitos e macrófagos (PECORA; GUERISOLI; ESTRELA, 1997).

2.1.1.1.1 Bactérias Gram-positivas

Staphylococcus aureus são cocos Gram-positivos que fazem parte da microbiota da pele e mucosas, sendo os agentes mais comuns de infecções piogênicas, como foliculites, furunculoses, impetigos e outras. Além das infecções piogênicas, podem causar intoxicações alimentares, provocadas pela ingestão de enterotoxinas previamente formadas no alimento contaminado e, na medicina veterinária é o prevalente agente causal de mastites no gado (PERESI et al., 2007; PETRONE; BALDASSI; BIDOIA, 2004; TRABULSI et al., 1999). Este microrganismo tem ocupado um lugar de destaque na etiologia das infecções hospitalares

e sua alta versatilidade em adquirir resistência aos antimicrobianos tornou-se uma preocupação universal. Segundo Almeida et al. (2007), sua prevalência nas infecções hospitalares varia entre 17% a 26%, sendo que aproximadamente 70% a 100% são causadas por amostras multirresistentes.

Enterococcus faecalis é uma bactéria Gram-positiva que habita o trato gastrointestinal de humanos e animais, sendo encontrada também no trato geniturinário e na cavidade oral de humanos, em vegetais, superfícies aquosas, solo e alimentos. Outras espécies do gênero *Enterococcus* também podem provocar infecções (MARQUES, 2004). Sua patogenicidade está relacionada aos altos níveis de resistência que tem apresentado aos antibióticos, principalmente em pacientes com infecções sistêmicas graves (CEREDA et al., 1997; CEREDA et al., 2001).

2.1.1.1.2 Bactérias Gram-negativas

Escherichia coli é um bacilo Gram-negativo anaeróbio facultativo, sendo a espécie mais comumente isolada nos laboratórios clínicos e associadas a diversas patologias infecciosas. É a espécie comensal mais comum da microbiota fecal respondendo por 80% a 85% de todos os episódios de cistite não-complicada e de pielonefrite em mulheres, sendo observado um aumento nos níveis de resistência de cepas deste patógeno, particularmente nessas infecções do trato urinário (KONEMAN et al., 2001; LOPES et al., 1998; PRADO et al., 2001; BARRETA; IÑIGUEZ; SANCHES, 2003).

Klebsiella pneumoniae é um bacilo Gram-negativo, podendo ser encontrado em trato respiratório alto, gastrointestinal e urinário. Constitui um importante fator de infecções comunitárias e hospitalares, frequentemente causando pneumonia, infecção urinária e septicemia, principalmente em unidades pediátricas neonatais e pacientes imunocomprometidos (CASSETTARI et al., 2006; MENEZES et al., 2007).

Pseudomonas aeruginosa é um bastonete Gram-negativo não fermentador, encontrado em ambientes úmidos, como água, solo, plantas e detritos. É um patógeno oportunista causador de bacteremias, principalmente em pacientes imunocomprometidos, vítimas de queimaduras, pneumonias e portadores de infecções urinárias associadas ao uso de catéteres, especialmente em unidades de terapia intensiva, permanecendo como um dos mais prevalentes agentes de infecções hospitalares em todo o mundo. (ÁLVAREZ et al., 2005; ARRUDA, 1998; TORRES et al., 2006).

1.1.1.2 Fungos

Os fungos são organismos eucarióticos que apresentam uma estrutura celular mais complexa do que as bactérias, porém com características semelhantes às células hospedeiras, o que torna difícil a elaboração de estratégias terapêuticas específicas dirigidas contra os parasitos que sejam atóxicas ao hospedeiro (SCHAECHTER et al., 2002). Possuem uma parede celular rígida que determina a forma e garante a integridade da célula fúngica protegendo-a de choques osmóticos, composta por várias camadas de quitina embebidas em uma matriz de polissacarídeos complexos, glicoproteínas, sais inorgânicos e pigmentos, que variam de acordo com a espécie (TRABULSI et al., 1999).

Os fungos patogênicos são, em sua maioria, exógenos, constituindo-se a água, o solo e os resíduos orgânicos seus *habitats* naturais. Os fungos patogênicos que causam infecções em humanos possuem características que permitem uma classificação em quatro grupos de acordo com os tecidos primários que colonizam: agentes fúngicos que causam infecções superficiais, infecções cutâneas, subcutâneas e sistêmicas (MURRAY et al, 2002).

Nas últimas décadas, a ocorrência de micoses causadas tanto por fungos oportunistas como por fungos naturalmente patogênicos tem aumentado significativamente, elevando a taxa de morbidade e mortalidade, principalmente em pacientes imunossuprimidos, ou quando há outros fatores predisponentes, patológicos, fisiológicos, mecânicos ou iatrogênicos, que alteram as condições entre o hospedeiro e a microbiota autóctone (BONIFÁCIO E SOUZA et al., 1990; MIRANDA et al., 2003).

A espécie mais prevalente nas infecções fúngicas ainda é *Candida albicans*, podendo ser fatal em indivíduos imunocomprometidos (MENEZES et al., 2002; CROCCO, et al., 2004; WECKESSER et al., 2007). As candidíases estão frequentemente relacionadas como causa de uma grande variedade de infecções micóticas agudas, subagudas ou crônicas, podendo se localizar na pele, cavidade oral, unhas, mucosas, órgãos internos e eventualmente causar septicemia, endocardite, meningite pielonefrite (CALDERONI; FONZI, 2001; LACAZ et al., 1991).

Além de *C. albicans* outras espécies têm emergido como agentes etiológicos relevantes, destacando-se *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. krusei* e *C. lusitaniae*, em percentuais que variam geograficamente (ALVES; OLIVEIRA; SANTURIO, 2000), bem como, espécies dos gêneros *Cryptococcus* e *Histoplasma*, causadores de criptococose e histoplasmoze. (PHONGPAICHIT; SUBHADHIRASAKUL; WATTANAPIROMSAKUL,

2005). A criptococose é considerada uma infecção fúngica sistêmica oportunista, que vem assumindo papel relevante, por ser comum em pacientes com síndrome da imunodeficiência humana adquirida (SIDA), sendo a espécie *Cryptococcus neoformans* a de maior predominância nesta população (FERNANDES et al., 2000).

1.2 TERAPÊUTICA ANTIMICROBIANA

O princípio básico da terapia antinfecçiosa é a determinação do agente causal da infecção e de sua susceptibilidade aos antimicrobianos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1998).

A partir do desenvolvimento das sulfonamidas, na década de 1930, da penicilina, estreptomicina e do cloranfenicol em 1940, novas classes de agentes antibacterianos foram desenvolvidas, como as tetraciclina, quinolonas e os aminoglicosídeos (NORRBY; NORD, 2005).

Existem propriedades que devem ser comuns às diversas drogas antimicrobianas: a) apresentar toxicidade seletiva, ou seja, deve agir apenas no microrganismo, sem causar danos ao hospedeiro; b) ter amplo espectro de ação, ou seja, apresentar atividade sobre várias espécies; c) ter mecanismo de ação específico, atuando de maneira diferente nas células-alvo, quer seja, inibindo a síntese da parede celular (penicilina, cefalosporina), destruindo a membrana citoplasmática (polimixina), inibindo a síntese de proteínas (tetraciclina, estreptomicina, cloranfenicol), ou agindo como antimetabólitos (sulfatrimetropin); d) ter poucos efeitos colaterais (MURRAY, 2002).

Com relação à terapia antifúngica há poucos agentes antifúngicos específicos, sendo a utilização de muitos deles ainda restrita, em função da relativa toxicidade que apresentam. As três principais classes são: a) macrolídeos polienos (anfotericina B, nistatina); b) azóis antifúngicos (cetoconazol, fluconazol, itraconazol, variconazol, posaconazol); c) alilaminas (terbinafina, naftina). Outros agentes antifúngicos, como a griseofulvina, flucitosina e amorolfina apresentam utilização clínica mais limitada (PAGE et al., 1999).

Não há dúvidas de que este aparato terapêutico reduziu acentuadamente a taxa de mortalidade humana causada pelas infecções, como também evitou a ocorrência de várias outras patologias, tendo contribuído para a saúde e o bem estar da população durante a última metade do século XX (RIPOLL-LOZANO, 2002). Contudo, associado a este desenvolvimento, ocorreu nas últimas décadas um aumento drástico de microrganismos com

resistência aos fármacos antimicrobianos, inclusive aqueles causadores de infecções na comunidade (COHEN, 1992; ROSSI et al, 2001).

1.3 RESISTÊNCIA MICROBIANA

Apesar das indústrias farmacêuticas terem produzido uma série de novos antibióticos nas últimas três décadas, a resistência microbiana a estas drogas aumentou consideravelmente, emergindo em nível mundial como um dos temas de elevado interesse em saúde pública (NASCIMENTO et al., 2000; PERESI et al., 2007).

Em geral, os microrganismos apresentam habilidade genética de adquirir e de transmitir resistência às drogas utilizadas como agentes terapêuticos, através de mutações e mecanismos de transdução, transformação e conjugação, envolvendo genes situados em plasmídeos e transposons (COHEN, 1992; TAVARES 2000).

A importância das substâncias antimicrobianas no aumento do fenômeno da resistência reside no seu papel selecionador, através da pressão seletiva sobre os microrganismos, resultante de sua utilização excessiva e indiscriminada na clínica, em humanos e animais, na agricultura e indústria, para conservação de alimentos e na engorda de animais (AARESTRUP, 1999; BARTON, 2000; BELL, 2001; CRUZ MARQUES; ZUCCHI, 2006; NODARSE HERNANDEZ, 2004; SMITH et al, 2002, VIKSVEEN, 2003).

Outro fator a ser considerado é a automedicação, uma vez que gera aumento da resistência bacteriana (VILARINO et al., 1998).

Tavares (2000) ressalta que dentre os microrganismos que sofreram grandes modificações na susceptibilidade aos antimicrobianos com o passar dos anos, destacam-se os estafilococos, as enterobactérias, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* e, mais recentemente, os hemófilos, gonococos, enterococos e pneumococos, alertando para o aumento da resistência, observado entre as bactérias gram-positivas.

Em trabalho realizado por Sader et al. (2001), em doze hospitais brasileiros, localizados em quatro estados distintos, foi observado que os agentes patogênicos mais frequentemente isolados foram *Staphylococcus aureus* (22,8%), seguidos por *Escherichia coli* (13,8%) e *Pseudomonas aeruginosa* (13,3%).

No que diz respeito à resistência fúngica, a elevada utilização das drogas antifúngicas proporcionou, juntamente com o tratamento de pacientes imunodeprimidos, a resistência de linhagens de fungos patogênicos (HAMDAN; HAHN, 2006).

A redução da eficácia dos medicamentos antimicrobianos disponíveis devido aos fatores supracitados tem exigido o uso de fármacos cada vez mais onerosos que são praticamente inacessíveis para muitos programas de atenção primária em saúde e gerando um grave problema de saúde pública (AUSTIN; KRISTINSSON; ANDERSON; 1999; GONZALEZ-SALVATIERRA; GUZMAN-BLANCO, 1999; GERST, 2001; HORTAL et al., 2001; PRABHAKAR et al., 2001; WHO, 2007).

Uma das alternativas utilizadas para evitar uma progressão desta situação consiste em aplicar programas efetivos e medidas preventivas, que limitem o uso massivo e inadequado dos agentes antimicrobianos e, desta forma, diminuir a exposição, evitando assim a seleção de cepas resistentes (KUNIN, 1993; LLOP et al., 2001; GONZALEZ, 2002; SMITH; COAST, 2002; SPIRANDELO; RIBEIRO; ALVARES, 2005).

Outras estratégias reconhecidas para o controle da disseminação destes microrganismos resistentes são desenvolvidas por pesquisadores que buscam novos agentes antimicrobianos utilizando produtos naturais de origem animal ou vegetal com propriedades terapêuticas, que possam ser eficientes no tratamento das doenças e menos tóxicos aos pacientes (DANTAS et al., 2000; NEWMAN; CRAGG; SNADER, 2003; VALENZUELA; MALDONADO; PAREDES, 2003; NEWMAN; CRAGG, 2007) ou modificando drogas existentes a partir de alterações nas suas estruturas moleculares (GALES, et al., 1997; SILVEIRA et al., 2006).

1.4 PLANTAS MEDICINAIS

O conhecimento que o homem tem sobre as propriedades medicinais das plantas resulta de uma triagem realizada ao longo de muitos anos. A utilização de plantas medicinais como um recurso terapêutico, tem se mostrado cada vez mais elevada, devido ao seu baixo custo, à busca por tratamentos menos agressivos e por sua compatibilidade cultural, em determinadas regiões do País (NOGUEIRA et al, 1996; RIBEIRO; LEITE, DANTAS-BARROS, 2005). Esta alternativa terapêutica é de grande valia nos países em que uma grande

porcentagem da população não tem acesso aos centros de atendimento hospitalar e à obtenção de exames e medicamentos (LEMONICA; ALVARENGA, 1994; VEIGA JÚNIOR, PINTO; MACIEL, 2005).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) 80% da população dos países em desenvolvimento dependem da medicina tradicional para atender suas necessidades de atenção primária à saúde, sendo que grande parte desta prática envolve a utilização de plantas medicinais (FARNSWORT et al, 1985; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2007). A Associação Brasileira das Empresas do Setor Fitoterápico, Suplementos e de Promoção da Saúde (ABIFISA), estima que provavelmente 82% da população brasileira utiliza produtos à base de plantas medicinais (ABIFISA, 2007).

Para Yunes e Cechinel Filho (2001), faltam evidências laboratoriais e clínicas sobre a eficácia de diversas plantas medicinais, tanto em animais quanto em humanos. Muitas são comercializadas apoiadas em propagandas, entretanto, não tiveram suas ações farmacológicas comprovadas em testes pré-clínicos ou clínicos (VEIGA JÚNIOR; PINTO; MACIEL, 2005).

Contudo, desde 1977, a Organização Mundial de Saúde tem incentivado o estudo de plantas tradicionalmente conhecidas como medicinais, com o objetivo de avaliar cientificamente seus benefícios e os riscos de seu uso indevido (LOGUERCIO et al, 2005). Recomendando, formalmente, na Conferência de Alma-Ata, em 1978, que os recursos da medicina tradicional e a utilização de plantas medicinais com finalidades profilática, curativa, paliativa ou para fins de diagnóstico, fossem utilizados pelos sistemas nacionais de saúde e que seus praticantes fossem recrutados como aliados na organização e implementação de medidas para melhorar a saúde da comunidade (WHO, 2001).

A investigação farmacológica de plantas medicinais tem prestado importantes avanços na abordagem terapêutica de várias patologias, explicações para isso estão relacionadas com a persistência de antigas doenças, com o surgimento de novas patologias, mas, principalmente com a ameaça de destruição da biodiversidade (BOYD, 1996).

A OMS define planta medicinal como sendo "todo e qualquer vegetal que possui, em um ou mais órgãos, substâncias que podem ser utilizadas com fins terapêuticos ou que sejam precursores de fármacos semi-sintéticos" (WHO, 1998).

A partir do século XIX, tornou-se crescente o emprego de substâncias ativas isoladas de plantas, os chamados "princípios ativos", tomando impulso a química orgânica, a partir da síntese dessas substâncias ativas presentes nas plantas medicinais (SCHENKEL, GOSMANN e PETROVICK, 2000).

O mercado farmacêutico disponibiliza alguns medicamentos de sucesso terapêutico, que apresentam em sua composição como princípio ativo, substâncias purificadas a partir de extratos vegetais denominados fitofármacos, dos quais vários foram descobertos a partir do conhecimento da medicina tradicional (GILANI; ATTA-UR-RAHMAN, 2005).

Neste contexto, é inegável a contribuição de sociedades indígenas, que mesmo na atualidade continuam a ser fonte abundante para o estudo etnobotânico e etnofarmacológico, oferecendo informações para a descoberta de importantes fontes de medicamentos a partir da flora nativa tropical (DE LA CRUZ-MOTA; GUARIN NETO, 1996).

Assim, a partir de estudos de plantas medicinais utilizadas na medicina popular, busca-se compilar informações úteis, a fim de desenvolver cientificamente pesquisas farmacológicas e fitoquímicas. Tais estudos propiciam redução de tempo e viabilidade econômica, incorporando sua utilização, com eficácia e segurança, ao conjunto de terapias, no intuito de fornecer novas substâncias, enriquecendo o arsenal terapêutico. (FARNSWORT, 1994).

Deve-se ressaltar que apesar dos avanços da Química Medicinal e da Farmacologia, as substâncias de origem vegetal ainda desempenham papéis importantes na medicina moderna, constituindo-se na principal fonte de medicamentos ou de substâncias protótipos de estrutura molecular complexa, que dificilmente seriam obtidos por síntese ou pela química combinatória. Dentre os novos medicamentos aprovados pelo *Food and Drug Administration* no período de 1981 a 2006, aproximadamente 60% a 75% dos medicamentos, respectivamente, nas áreas de oncologia e doenças infecciosas são de origem natural (CORDELL, 2000; SIMÕES et al., 2000; YUNES; CALIXTO, 2001; NEWMAN; CRAGG; SNADER, 2003; NEWMAN; CRAGG, 2007).

A riqueza da flora brasileira representa 20% das espécies de plantas conhecidas no mundo e ainda há muito que investigar acerca do potencial terapêutico de novas substâncias de origem vegetal que poderiam ser usadas como matéria prima para preparações farmacêuticas (PETROVICK; MARQUES; DE PAULA, 1998; CALIXTO, 2003).

A importância da pesquisa e do estudo de plantas medicinais não só para a medicina como também para a manutenção da soberania nacional, é fundamental no sentido de diminuir a dependência da importação de drogas, visto que, o mercado mundial de fitomedicamentos é da ordem de U\$ 20 bilhões anuais, com cerca de R\$ 400 milhões no Brasil e taxas de crescimento da ordem de 15% contra 4% dos medicamentos sintéticos (RODRIGUES, 2007).

Em um estudo realizado por Rocha (2004), foi demonstrado que os fitomedicamentos constituem um nicho estratégico para a capacitação tecnológica, tanto do ponto de vista

econômico, quanto para o desenvolvimento de uma política de acesso a medicamentos, considerando as necessidades nacionais e aproveitando as potencialidades naturais do País.

Trata-se então, de um mercado com poder para gerar processos tecnológicos que possam levar à descoberta de novos componentes ativos e assegurar a competitividade de novos medicamentos patenteados (VILLAS BÔAS; GADELHA, 2007).

Um levantamento realizado na base de dados “*web of science*”, sobre pesquisas desenvolvidas por brasileiros relativas à avaliação das atividades antibacteriana, antifúngica e citotóxica de extratos de plantas que ocorrem no Brasil, revelou a existência de centenas de trabalhos, sendo alguns exemplos citados a seguir.

No que diz respeito à avaliação de atividade antimicrobiana de extratos brutos de plantas medicinais brasileiras, vários estudos têm sido realizados a partir de levantamentos etnofarmacológicos. Extratos etanólicos e óleos essenciais de 35 espécies vegetais foram testados por Duarte et al. (2005) quanto à atividade anti-*Candida*.

Lima et al. (2006), demonstraram a atividade antibacteriana de 25 plantas brasileiras frente aos microrganismos *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Loguercio et al. (2005) pesquisaram a ação antimicrobiana *in vitro* do extrato hidro-alcoólico de folhas de jambolão (*Syzygium cumini*) sendo que o mesmo inibiu o crescimento de 100% das bactérias testadas.

Recentemente, Braga et al. (2007) investigaram as atividades, antifúngica e leishmanicida *in vitro* de extratos brutos de 20 plantas utilizadas tradicionalmente no Brasil para o tratamento de várias doenças.

Outros ensaios têm comprovado que espécies da flora brasileira, pertencentes às Famílias *Rutaceae*, *Boraginaceae*, *Asteraceae*, *Leguminosae*, *Lamiaceae*, *Burseraceae*, *Tropaeolaceae*, *Crassulaceae*, *Podostemaceae*, *Ocraceae*, *Apocynaceae*, *Sapotaceae* e *Lythraceae* apresentam constituintes com atividade antimicrobiana tanto para bactérias Gram-negativas e Gram-positivas como para fungos em ensaios *in vitro* (ALMEIDA et al., 2002; CAMPELO et al., 2002; DEUSCHLE et al., 2002; FACCHINI et al., 2002; GODOY et al., 2002; KATO et al., 2002; MOCCELINI et al., 2002; ZANETTI et al., 2002; ALBUQUERQUE et al., 2004; FERNANDES et al., 2004; JÚNIOR et al., 2004, VIOLANTE et al., 2004).

Estudos semelhantes, com o objetivo de identificar a ação antimicrobiana de extratos de plantas brasileiras também têm sido desenvolvidos por vários outros pesquisadores (SANTOS et al., 1998; AVANCINI; WIEST; MUNDSTOCK, 2000; SOUZA; AVANCINI; WIEST, 2000; ANDRADE et al., 2005; ALVES et al., 2006; ANTUNES et al., 2006; LIMA et al., 2006; SENA FILHO et al., 2006;).

Os produtos naturais são também considerados importantes fontes alternativas de novas drogas antineoplásicas (SUFFREDINI, 2002; SUFFREDINI; VARELLA; YOUNES, 2006). Com relação a ensaios realizados com extratos de plantas brasileiras visando avaliar sua potencial atividade anticâncer, a literatura também registra vários trabalhos (ALVES et al., 2000; PIMENTA et al., 2003; QUIGNARD et al., 2004; Ceschini; CAMPOS, 2006; PAGNO et al., 2006; SUFFREDINI et al., 2006; ROSAS et al., 2007; SANNOMIYA et al., 2007; SANTOS et al., 2007; SUFFREDINI et al., 2007; SUFFREDINI et al., 2007)

A riqueza florística da Região Centro-Oeste provém de grandes formações biogeográficas, como o Cerrado e o Pantanal, que contribuem com espécies vegetais distintas e que por sua vez se inter-relacionam, caracterizando fisionomicamente os Estados. Se realizada uma análise desta flora do ponto de vista econômico, com certeza encontrar-se-á um rol muito extenso das diferentes utilizações dos vegetais, seja como elementos fornecedores de madeira, de frutos comestíveis (GUARIM NETO, 1985) e mesmo com finalidades medicinais para o tratamento de diversas doenças, em função dos seus efeitos analgésico, antimicrobiano, anti-úlceras, antiinflamatório e antitumoral, relatados na medicina popular (GUARIM NETO, 1984, 1987).

O Domínio Cerrado, o segundo maior dos principais biomas do Brasil, depois da Amazônia, abrange aproximadamente 2 milhões de Km², o que representa cerca de 23% da área do país (FELFINI et al., 2002). O Cerrado possui uma vegetação heterogênea cuja biodiversidade taxonômica é ainda maior do que a floresta Amazônica, com mais de 7000 espécies nativas de plantas vasculares (HIRUMA-LIMA et al., 2006; NAPOLITANO et al., 2005). Devido a essa notável diversificação florística, tem-se observado um crescente interesse na investigação de plantas medicinais do Cerrado, como fonte de compostos bioativos (GUARIM NETO; MORAIS, 2003).

Com base em dados etnobotânicos e etnofarmacológicos, bem como levantamentos bibliográficos adicionais, decidiu-se avaliar o potencial antibacteriano, antifúngico e citotóxico de seis espécies de plantas que ocorrem no Cerrado Matogrossense, pertencentes às famílias *Burseraceae*, *Erythroxylaceae*, *Lamiaceae*, *Proteaceae*, *Simaroubaceae* e *Sterculiaceae*. Seus nomes científicos, populares e uso na medicina popular estão relacionados na Tabela 1. (GUARIM NETO, 1987; DE LA CRUZ, 1997; SOMAVILLA, 1998).

1.5 FAMÍLIA BURSERACEAE – GÊNERO PROTIUM

A família Burseraceae possui 16 gêneros e mais de 800 espécies tropicais e subtropicais. Uma característica de alguns gêneros desta família é a produção de uma seiva oleosa rica em óleo essencial e triterpenos (BANDEIRA et al, 2002; DE LA CRUZ-CANIZARES et al., 2005, WEEKS; DALY; SIMPSON, 2005).

Algumas espécies do gênero *Protium* são descritas na literatura por apresentarem atividade antibacteriana, antifúngica, antiinflamatória e citotóxica (WIEDHOPF; COLE, 1977; RAHALISON et al., 1993; DUWIEJUA et al., 1993; CAMPORESE et al., 2003; JOLAD; YASUNAKA et al., 2005; CARRETERO et al., 2007).

Tabela 1 – Identificação das espécies vegetais, nomes populares e utilização na medicina tradicional.

Família/Espécies	Nomes populares	Uso na medicina tradicional
Burseraceae <i>Protium heptaphyllum</i> (Aubl.) March.	Amescla Breu	Doenças respiratórias ^{a,b}
Erythroxylaceae <i>Erythroxylum suberosum</i> St. Hil.	Cabelo de negro	Processos inflamatórios ^c Abortiva ^c
Lamiaceae/ Labiateae <i>Hyptis cana</i> Pohl. ex Benth.	Hortelã-do-campo	Doenças respiratórias ^{a,b} Parasitoses ^a Dores abdominais ^a
Proteaceae <i>Roupala brasiliensis</i> Klotz.	Carne-de-vaca Bosta-de-urubu	Alterações sangue não específicas ^c Parasitoses intestinais ^c
Simaroubaceae <i>Simarouba versicolor</i> St. Hil.	Mata-cachorro Pé-de-perdiz	Alterações sangue não específicas ^{a,b} Inflamações útero e ovários ^{a,b} Feridas generalizadas ^{a,b}
Sterculiaceae <i>Guazuma ulmifolia</i> Lam.	Mutamba Chico-magro	Doenças pele ^a Úlceras gástricas ^a

^a(De La Cruz , 1997); ^b(Guarim Neto, 1987); ^c(Somavilla, 1998);

Siani et al. (1999), analisaram os efeitos farmacológicos de óleos essenciais obtidos de espécies de *Protium*, resultando em atividades antiinflamatória, antinoceptiva e antineoplásica.

A espécie *Protium heptaphyllum* March (Figura 1), conhecida como breu branco, almecegueira, produz essa resina oleosa, com alto percentual de constituintes voláteis. É encontrada em todo o Brasil, onde é utilizada na medicina popular como antiinflamatório, analgésico, expectorante e cicatrizante, bem como na indústria de verniz, na calafetagem de embarcações, como repelente de insetos e em rituais religiosos, na forma de incenso (MAIA et al., 2000; SUSUNAGA et al., 2001; ALMEIDA; CONSERVA; LEMOS, 2002; VIEIRA JÚNIOR; SOUZA; CHAVES, 2005; CITÓ, et al., 2006).

Em trabalho publicado recentemente por Rüdiger, Siani e Veiga Júnior (2007), foi apresentada uma revisão da química e da farmacologia de espécies do gênero *Protium*, caracterizadas pela presença de terpenóides, lignóides, cumarinas e flavonóides.

Foi demonstrada a atividade antimicrobiana *in vitro* da resina de *Protium heptaphyllum* (Figura 1) (LIMA et al., 1992; GODOY et al., 2002).



Figura 1 – Fotos da espécie vegetal *Protium heptaphyllum*.

Fonte: www.fieldmuseum.org

1.6 FAMÍLIA ERYTHROXYLACEAE - GÊNERO ERYTHROXYLLUM

A família Erythroxylaceae é composta por quatro gêneros: *Aneulophus*, *Erythroxylum*, *Nectaropetalum* e *Pinacopodium* (HEGNAUER, 1981). O gênero

Erythroxylum compreende cerca de 250 espécies de árvores e arbustos tropicais, amplamente distribuídos na América do Sul, África e Madagascar (SANTOS; LIMA; SILVEIRA, 2003).

Evans (1981) alertou que o estudo sistemático do gênero ainda está incompleto e, várias espécies que são usadas na medicina tradicional ainda permanecem desconhecidas e, que muitas outras que são cultivadas, contêm quantidade considerável de cocaína, o que foi confirmado em um estudo de revisão realizado por Bieri et al. (2006).

Os constituintes químicos do gênero são principalmente alcalóides tropânicos, diterpenos, flavonóides glicosídeos (ZUANAZZI et al., 2001; GONZÁLEZ-GUEVARA et al., 2006, BARREIROS et al., 2007).

Em Cuba, o gênero *Erythroxylum* é usado na etnomedicina como antiinflamatório, antibacteriano, diurético, no tratamento de doenças venéreas, dores musculares e afecções respiratórias (CANO; VOLPATO, 2004).

Quanto à atividade antimicrobiana Manabe et al. (1992) sugeriram a utilização da *Erythroxylum catuaba* Arr. Cam. nas infecções oportunistas por *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* em pacientes HIV positivos, sendo também observado que o extrato de Catuaba inibiu significativamente o vírus da imunodeficiência adquirida através de um efeito citopático e por expressão antigênica. Contudo, sobre a espécie *Erythroxylum suberosum* (Figura 2) nada foi relatado na literatura acerca de suas atividades biológicas.



Figura 2 – Foto da espécie vegetal *Erythroxylum suberosum*.

Fonte: www.fieldmuseum.org

1.7 FAMÍLIA LAMIACEAE - GÊNERO HYPTIS

A família Lamiaceae tem grande importância econômica, possuindo uma extensa gama de atividades comprovadas, tais como antimicrobiana, espasmolítica, carminativa, hepatoprotetora, antivirais, antioxidante, inseticida (CAPECKA; MARECZEK; LEJA, 2005; MATKOWSKI; PIOTROWSKA, 2006; KIVILOMPOLO; HUÖTYLÄINEN, 2007; ROZMAN; KALINOVIC; KORUNIC, 2007).

O gênero *Hyptis* é constituído por aproximadamente 400 espécies distribuídas principalmente na América tropical, desde o sul dos Estados Unidos até a Argentina. Espécies deste gênero se caracterizam pela presença de substâncias com potencial biológico significativo, principalmente, atividades antimicrobiana, antiinflamatória, antinociceptivo, citotóxica, nematocida, inseticida, genotóxica (NOVELO, et al., 1993; URONES et al., 1998; OLIVEIRA et al., 2004; FACEY et al., 2005; SILVA et al., 2006; CAVALCANTI et al., 2007; SANTOS et al., 2007).

Segundo Falcão e Menezes (2003), a importância farmacológica desse gênero é tão grande, que até o ano de 2002, vinte e cinco espécies de *Hyptis* foram estudadas sob os aspectos: etnofarmacológicos; farmacológicos; e quanto à sua composição química, o que é representado por sua variedade de constituintes químicos.

Diversos trabalhos demonstram que, dentre os constituintes químicos presentes nas espécies de *Hyptis* investigadas, os terpenóides são os principais metabólitos responsáveis pelas atividades biológicas apresentadas por tais espécies, podendo-se destacar também algumas α -pironas (MUKHERJEE; MUKHERJEE; GHOSH, 1984; TANOWITZ; JUNAK; SMITH, 1984; PEREDA-MIRANDA; GASCÓN-FIGUEROA, 1988; PEREDA-MIRANDA; GARCÍA; DELGADO, 1990; RAJA RAO; RAO; PRAKASA RAO, 1990; ALMTORP; HAZELL; TORSSELL, 1991; PEREDA-MIRANDA et al., 1993; KUHNT; RIMPLER; HEINRICH, 1994; PEREDA-MIRANDA; FRAGOSO-SERRANO; CERDA-GARCÍA-ROJAS, 2001; BOALINO et al., 2003; CHUKWUJEKWU et al., 2005).

Atividades antimicrobiana, antinociceptiva, inseticida e citotóxica tem sido descritas para o óleo essencial obtido de diversas espécies de *Hyptis* (BARBOSA; RAMOS, 1992; AZEVEDO et al., 2001; AZEVEDO et al., 2002; ARAUJO, et al., 2003; FALCÃO; MENEZES, 2003; FACEY et al., 2005; OLIVEIRA et al., 2005; LISBOA et al., 2006; MARTINS et al., 2006; ARRIGONI-BLANK et al., 2007; MENEZES et al., 2007).

A espécie *Hyptis suaveolens* inibiu significativamente a atividade de bactérias gram-positivas, gram-negativas e fungos (IWU et al., 1990; ASEKUN; EKUNDAYO; ADENIYI, 1999; MALELE et al., 2003).

Souza et al. (2002) verificaram as propriedades antifúngicas de plantas do cerrado brasileiro (*Hyptis ovalifolia*, *Hyptis suaveolens*, *Hyptis saxatilis*, *Hyptidendrum canum*, *Eugenia uniflora*, *Eugenia dysenterica*, *Caryocar brasiliensis* e *Lafoensia pacari* sobre isolados de dermatófitos). Resultados positivos demonstraram as propriedades antifúngicas destas plantas em ensaios *in vitro*, sendo os extratos mais ativos os de *Hyptis ovalifolia* e *Eugenia uniflora*.

Em 2003, Souza et al. extraíram o óleo volátil e as frações aquosas, hexânica e metanólica de *Hyptis ovalifolia* comprovando que tal espécie inibiu o crescimento de dermatófitos em diferentes concentrações.

Posteriormente em 2004, Oliveira et al. submeteram as folhas de *Hyptis ovalifolia* à hidrodestilação, sendo que o componente principal ((R)-6-[(Z)-1-heptenila]-5,6-diidro-2H-piranona) do óleo essencial isolado por cromatografia em coluna, mostrou atividade *in vitro* contra quatro espécies de dermatófitos.

Cepas resistentes de *Staphylococcus aureus* se mostraram sensíveis à fase diclorometânica obtida de *Hyptis pectinata* (FRAGOSO-SERRANO; GIBBONS; PEREDA-MIRANDA, 2005).

A espécie *Hyptis cana* (Figura 3) é uma planta de uso medicinal, nativa do cerrado brasileiro, usada como vermífuga, repelente de insetos, males do estômago, gripes e resfriados (GUARIN NETO, 1987; VUADEN, 2005).

No entanto, não foram encontrados relatos na literatura sobre suas atividades antimicrobiana e citotóxica, nem tampouco sobre estudos fitoquímicos desta espécie.



Figura 3 – Foto da espécie vegetal *Hyptis cana*.

Fonte: Universidade de Cuiabá

1.8 FAMÍLIA PROTEACEAE - GÊNERO ROUPALA

A família Proteaceae inclui mais de 60 gêneros, em um total de cerca 1500 espécies conhecidas, que surgem predominantemente nas regiões tropicais e subtropicais do planeta, principalmente nos continentes Australiano e Africano. No Brasil a família é caracterizada por três gêneros e aproximadamente 40 espécies, ocorrendo da Bahia até o Paraná, especialmente a *Roupala brasiliensis*. Algumas espécies produzem madeira, outras possuem sementes comestíveis e muitas outras têm interesse ornamental (LEANDRO et al., 2007; WINTERS, 2007).

Na literatura há trabalhos associados aos aspectos botânicos e agrônômicos da espécie *Roupala brasiliensis* (Figura 4), fazendo parte da composição arbórea em matas e florestas do Brasil que estão sendo drasticamente reduzidas (BERTANI et al., 2001; CAMPOS; LANDGRAF, 2001; JURINITZ; JARENKOW, 2003; MEYER et al., 2004; ROCHA et al., 2005; KOZERA; DITTRICH; SILVA, 2006), porém não foram encontrados relatos sobre a composição química desta espécie.



Figura 4 – Foto da espécie vegetal *Roupala brasiliensis*.

Fonte: www.nybg.org

1.9 FAMÍLIA SIMAROUBACEAE - GÊNERO SIMAROUBA

A família Simaroubaceae compreende 28 gêneros com aproximadamente 25 espécies, distribuídas nas regiões tropicais e semitropicais, onde é utilizada na construção de casas e na medicina popular, com atividades no tratamento da malária, inflamações e nas viroses (ARRIAGA et al., 2002).

Em investigações realizadas com essa família, foi constatada atividade antimicrobiana de algumas espécies (ARANA; JULCA, 1986; AJAYEOBA; ADENIYI; OKOGUN, 1995; KOIKE, 2003).

Quassinóides são os principais constituintes de algumas espécies do gênero Simarouba (ARRIAGA et al., 2002) e, são descritos por possuírem ações biológicas, antivirais, antiinflamatórias, antitumoral e, especialmente antimaláricas (GHOSH et al., 1977; POLONSKY, 1978).

Extratos alcoólicos e aquosos da casca de *Simarouba amara* são usados como tônicos, nas diarreias e na malária (BONTÉ et al., 1996). Para Grieve (2007), *Simarouba versicolor* (Figura 5) apresenta propriedades semelhantes à *S. amara*, ou seja, os frutos e cascas são utilizados como anti-helmínticos e para mordida de cobra.

No Brasil, a planta *S. versicolor* é conhecida popularmente como pau-paraíba, caixeta, marubá, gavilan e negrilla. O extrato etanólico da raiz de *S. versicolor* foi responsável pela

alta mortalidade de insetos triatomídeos transmissores de *Trypanosoma cruzi*, na doença de Chagas (FERNANDES et al., 2004; COELHO; DE PAULA; ESPINDOLA, 2006).



Figura 5 – Fotos da espécie vegetal *Simarouba versicolor*

Fonte: www.fieldmuseum.org

Em trabalho realizado por Pires et al. (2007), o extrato aquoso de *S. versicolor* tornou-se uma alternativa para o controle do carrapato bovino *Boophilus microplus*, onde a resistência a outros inseticidas tem se desenvolvido. Os extratos diclorometânicos e metanólicos das folhas caule e galhos de *S. versicolor* apresentaram resultados tóxicos positivos na letalidade de formigas cortadeiras que causam sérios danos à agricultura (SIMOTE et al., 2004).

1.10 FAMÍLIA STERCULIACEAE - GÊNERO GUAZUMA

Sterculiaceae é uma família com distribuição mundial, representada por diversos gêneros e espécies. Em um estudo conduzido por Reyd et al. (2005) com cinco espécies dessa família, foi verificada a atividade antibacteriana, como forma de justificar sua utilização na tradicional medicina na África do Sul.

Guazuma ulmifolia Lam., (Figura 6) popularmente conhecida como mutamba, é largamente distribuída no Continente Americano, desde o México até a América do Sul (ROCHA et al., 2007; SEIGLER et al., 2005). Investigações fitoquímicas realizadas com esta

espécie vegetal coletada no México e na Costa Rica revelaram, respectivamente, a presença de proantocianidinas oligoméricas e poliméricas e de glicosídeos cianogênicos (ARRIAGA et al., 1996; HÖR et al., 1996; ARRIAGA et al., 1997; SEIGLER et al., 2005; ROCHA et al., 2007).

A literatura também registra algumas atividades biológicas, como por exemplo, anti-secretória nas diarreias, hemorragias, hipertensão, distúrbios gastrointestinais e respiratórios (HÖR; HEINRICH; RIMPLER, 1996; CABALLERO-GEORGE et al., 2001; BERENGUER et al., 2007).

Camporese et al. (2003), descreveram a atividade antibacteriana dos extratos metanólico e hexânico das cascas de *G. ulmifolia*, coletadas em Belize, América Central, frente a cepas de *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*, respectivamente. Em trabalhos desenvolvidos na Guatemala, a espécie *G. ulmifolia* apresentou atividade antibacteriana no tratamento de distúrbios gastrointestinais provocadas por enterobactérias (CACERES et al., 1990; NAVARRO et al., 2003).

No Brasil, através de estudos preliminares, realizou-se a triagem da atividade antibacteriana do extrato etanólico de *G. ulmifolia*, pela técnica de difusão em ágar, onde foi observado a formação do halo de inibição frente à microrganismos Gram-positivos e Gram-negativos (VIOLANTE; SOUZA; VENTURINI, 2004; FERNANDES; SANTOS, 2005).



Figura 6 – Fotos da espécie vegetal *Guazuma ulmifolia*

Fonte: www.nybg.org

1.11 TESTES PARA DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Dentre os métodos disponíveis para determinação da atividade antimicrobianos mais utilizados são: difusão, diluição (macro e microdiluições) e bioautográficos. Destes, o ensaio por difusão é o que apresenta maiores problemas, pois muitas substâncias não se difundem no meio de cultura. (ZACCHINO, 2001).

O método da microdiluição é uma adaptação da metodologia da macrodiluição aplicada para o ensaio antimicrobiano. Há muitos trabalhos na literatura que documentam uma excelente concordância entre estes dois métodos, sendo que o primeiro apresenta várias vantagens, entre elas uma quantidade menor de reagentes e amostras (ESPINEL et al., 1991; ESPINEL et al., 1992; BARCHIESI et al., 1994; PFALLER et al., 1995). O método da microdiluição também tem a vantagem de ser quantitativo, sendo possível determinar a concentração inibitória mínima (CIM), como sendo a menor concentração que inibe o crescimento do microrganismo, podendo ser usado tanto para amostras solúveis em água quanto lipossolúveis (MITSCHER et al., 1972).

A CIM para a determinação da atividade antibacteriana e antifúngica de extratos vegetais, é realizada segundo técnicas descritas pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, anteriormente denominado NCCLS – National Committee for Clinical Laboratory Standards). O método consiste no preparo de diluições sucessivas da amostra a ser testada, em meios de cultura, inocular o microrganismo em estudo e após incubação verificar a menor concentração (maior diluição) do agente antimicrobiano que inibiu o crescimento do microrganismo (NCCLS, 2003).

1.12 TESTE PARA DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA

Artemia salina Leach. é um microcrustáceo encontrado em ambientes marinhos. Este organismo é bastante utilizado em testes laboratoriais devido a sua facilidade de cultivo, seu curto tempo de geração, sua distribuição cosmopolita e sua disponibilidade de cistos com características genotípicas e fisiológicas semelhantes, porém inativos, o que permite ensaios com variabilidade reduzida (KOUTSAFIS; AOYAMA, 2007).

O ensaio da letalidade de organismos simples, como o de toxicidade para *A. salina* é baseado na correlação observada entre a toxidez sobre o microcrustáceo e a citotoxicidade sobre células cancerosas do tipo P-388, sendo considerado um bioensaio preliminar no estudo de extratos brutos e substâncias puras vegetais com potencial atividade anticâncer (MEYER et al., 1982).

Vários trabalhos preconizam esta metodologia para avaliação da atividade citotóxica, correlacionando com outras atividades biológicas, como antimicrobiana, parasiticida, tripanocida (SIQUEIRA et al., 1998; ALVES et al., 2000; MOREIRA et al., 2003; NOLDIN et al., 2003; STEFANELLO et al., 2006; ALANÍZ-GARZA et al., 2007; CANALES et al., 2007; DÉCIGA-CAMPOS et al., 2007; OLIVA et al., 2007; LEI et al., 2008).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o potencial antimicrobiano e citotóxico de seis espécies vegetais do cerrado da Região Centro-Oeste.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar a atividade antimicrobiana *in vitro* dos extratos etanólicos brutos e das fases de diferentes polaridades obtidas por partição dos extratos etanólicos de *Hyptis cana*, *Roupala brasiliensis*, *Protium heptaphyllum*, *Simarouba versicolor*, *Erythroxylum suberosum*, *Guazuma ulmifolia*, sobre o crescimento de quatro cepas padronizadas de bactérias Gram-positivas, duas de bactérias Gram-negativas e seis cepas de fungos leveduriformes.

Avaliar a atividade citotóxica dos extratos etanólicos brutos e das fases de diferentes polaridades obtidas por partição dos extratos etanólicos de *Hyptis cana*, *Roupala brasiliensis*, *Protium heptaphyllum*, *Simarouba versicolor*, *Erythroxylum suberosum*, *Guazuma ulmifolia*, sobre a letalidade de larvas de *Artemia salina*.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA

A avaliação da atividade antifúngica das plantas selecionadas no presente trabalho foi realizada utilizando o método da microdiluição em caldo e os resultados obtidos estão resumidos na tabela 4.

Cryptococcus neoformans e *Candida krusei* demonstraram ser sensíveis a todos os extratos brutos, que inibiram o seu crescimento com valores de CIM compreendidos entre 31,25 – 500µg/mL.

Dentre os extratos vegetais, o que apresentou espectro de ação mais amplo foi o de *R. brasiliensis*, que inibiu todas as linhagens das cepas fúngicas testadas, mostrando atividade mais considerável contra *Candida glabrata* e *C. krusei* (CIM = 15,625µg/mL e CIM = 31,25µg/mL, respectivamente). Os extratos brutos de quatro das cinco espécies restantes (*G. ulmifolia*, *H. cana*, *P. heptaphyllum* e *S. versicolor*) demonstraram ser ativos contra duas cepas fúngicas, *C. krusei* e *C. neoformans* (CIM com valores de, pelo menos, 125µg/mL), enquanto que o extrato de *E. suberosum* exibiu uma CIM de 125µg/mL apenas contra *C. krusei*.

No que se refere à atividade antifúngica das frações resultantes das partições dos extratos etanólicos das seis plantas avaliadas neste trabalho, aquela com a mais elevada polaridade, a hidrometanólica obtida a partir de *R. brasiliensis*, não só foi a mais ativa dentre todas as frações testadas, com valores de CIM da ordem de 15,625µg/mL (contra *C. glabrata*), como também demonstrou possuir o efeito mais abrangente frente às outras cepas de *Candida* avaliadas. Quanto à atividade contra *C. krusei* foi também observado um resultado significativo para a fração hidrometanólica de *S. versicolor* (CIM = 31,35µg/mL), sugerindo que os constituintes mais polares destas duas plantas são os principais contribuintes para a atividade antifúngica contras as diversas cepas analisadas.

Frações específicas, obtidas após partição das outras espécies vegetais também exibiram uma significativa atividade antifúngica, tais como a fração hexânica, menos polar, de *H. cana* contra *C. neoformans* (CIM = 125µg/mL), a de polaridade intermediária (diclorometânica) de *E. suberosum* contra *C. glabrata* (CIM = 125µg/mL) e também frações polares como a acetato de etila de *S. versicolor* e *E. suberosum* contra *C. glabrata* e *C. krusei*,

(CIMs = 125 µg/mL e 62,5µg/mL, respectivamente). Por outro lado, todas as frações resultantes da partição dos extratos etanólicos de *E. suberosum*, *H. cana* e *R. brasiliensis* (exceto para a fração hidrometanólica da primeira espécie) inibiram o crescimento de *C. parapsilosis* em concentrações que variaram de 62,5 a 1000µg/mL.

Todas as frações hexânica e acetato de etila das seis espécies vegetais foram ativas contra *C. neoformans* em determinadas concentrações (valores de CIM entre 125µg/mL e 1000µg/mL), indicando que tanto compostos apolares quanto os polares presentes nas espécies em questão poderiam ser agentes promissores contra cepas desta estirpe fúngica. Da mesma forma, os constituintes mais polares das seis plantas pesquisadas são provavelmente os responsáveis pela atividade antifúngica contra *C. krusei*, uma vez que todas as frações hidrometanólicas e acetato de etila reduziram o crescimento desta cepa, com valores de CIM bastante variáveis, sendo observada como única exceção a fração hidrometanólica de *P. heptaphyllum*.

Extratos e frações obtidos de *P. heptaphyllum*, *S. versicolor* e *G. ulmifolia* não mostraram qualquer atividade significativa contra *C. albicans* e *C. tropicalis* (CIM superiores 1000µg/mL). O mesmo resultado foi obtido para *G. ulmifolia* no teste frente à *C. glabrata* (Tabela 4), enquanto que *E. suberosum* não foi eficaz contra *C. tropicalis*.

5.2 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

A atividade antibacteriana foi avaliada utilizando o método da microdiluição em caldo e os resultados estão descritos na tabela 5. As bactérias Gram-positivas investigadas neste trabalho demonstraram ser mais susceptíveis aos extratos vegetais do que as Gram-negativas. Isto pode ser explicado porque a membrana externa das bactérias Gram-negativas é conhecida por apresentar uma barreira resistente à penetração de vários agentes antimicrobianos e por possuir um espaço periplasmático que contém enzimas, as quais são capazes de inativar alguns antibióticos (DUFFY; POWER, 2001; SARTORI et al., 2003; SCHAECHTER et al., 2002). Também tem sido observado que esta resistência intrínseca que muitos microrganismos Gram-negativos apresentam esta relacionada com mecanismos especializados em expulsar substâncias estranhas para fora da célula, denominados bomba de efluxo (NIKAIDO, 1989; KÖHLER; PECHÉRE; PLÉSIAT, 1999; VAN BAMBEKE; MICHOT; TULKENS, 2003).

Tabela 4 - Concentração Inibitória Mínima ($\mu\text{g/mL}$) de extratos brutos e frações de plantas do Cerrado Brasileiro frente as cepas fúngicas selecionadas.

Espécies vegetais	Extratos e frações testadas	<i>C. albicans</i> ATCC 90028	<i>C. glabrata</i> ATCC 9030	<i>C. krusei</i> ATCC 6258	<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019	<i>C. tropicalis</i> ATCC 760	<i>C. neoformans</i> ATCC 32045
<i>Hyptis cana</i> Pohl ex Benth	EtOH	a	1000	125	1000	a	125
	HEX	1000	a	a	1000	a	125
	MeOH-H ₂ O 1:1	a	a	1000	1000	a	a
	DCM	1000	a	250	500	1000	1000
	AcOEt	a	1000	250	1000	1000	1000
<i>Roupala brasiliensis</i> Klotz.	EtOH	250	15,625	31,25	500	500	125
	HEX	a	a	a	1000	a	500
	MeOH-H ₂ O 1:1	250	15,625	31,25	62,5	a	a
	DCM	1000	a	250	1000	a	125
	AcOEt	500	500	62,5	125	1000	250
<i>Protium heptaphyllum</i> (Aubl.) March.	EtOH	a	a	125	1000	a	125
	HEX	a	a	500	a	a	500
	MeOH-H ₂ O 1:1	a	a	a	a	a	a
	DCM	a	a	a	a	a	a
	AcOEt	a	1000	500	a	a	500
<i>Simarouba versicolor</i> St. Hil	EtOH	a	a	250	a	a	250
	HEX	a	a	a	a	a	250
	MeOH-H ₂ O 1:1	a	a	31,25	a	a	a
	DCM	a	a	a	a	a	a
	AcOEt	a	125	1000	a	a	1000
<i>Erythroxylum suberosum</i> St. Hil	EtOH	a	a	125	1000	a	500
	HEX	a	a	a	250	a	250
	MeOH-H ₂ O 1:1	a	a	500	a	a	a
	DCM	a	125	500	1000	a	a
	AcOEt	500	a	62,5	1000	a	500
<i>Gazuma ulmifolia</i> Lam.	EtOH	a	a	125	a	a	250
	HEX	a	a	a	a	a	500
	MeOH-H ₂ O 1:1	a	a	1000	a	a	a
	DCM	a	a	a	a	a	a
	AcOEt	a	a	250	a	a	250
Anfotericina B	—	4	4	4	2	4	

EtOH: Extrato etanólico bruto; HEX; Hexano; MeOH-H₂O 1:1; DCM: Diclorometano; AcOEt: Acetato de etila.

^a CIM >1000

CIM indicada em $\mu\text{g/mL}$

Todos os extratos etanólicos inibiram as cepas de *Staphylococcus aureus* em concentrações variadas (com valores de CIM de pelo menos 125µg/mL) destacando-se a ação de *P. heptaphyllum* apenas frente a este microrganismo.

Quanto à atividade das frações obtidas a partir dos extratos brutos frente a *S. aureus*, convém destacar o baixo valor da Concentração Inibitória Mínima para a fração diclorometânica de *R. brasiliensis* (CIM = 15,625µg/mL). Também foram significativos os valores das CIMs da fração diclorometânica de *H. cana* (CIM = 62,5µg/mL) e das frações hidrometanólicas de *P. heptaphyllum* e *G. ulmifolia* (ambas com CIMs = 62,5µg/mL).

Interessantes também foram os resultados obtidos contra *S. aureus* apenas com as frações de maior polaridade (acetato de etila e hidrometanólica) obtidas de *H. cana*, *R. brasiliensis*, *P. heptaphyllum*, *S. versicolor*, *G. ulmifolia* e *E. suberosum*, as quais apresentaram valores de CIM na faixa de 62,5 a 250µg/mL, sugerindo que os constituintes de maior polaridade presentes nestas plantas seriam responsáveis pela atividade antibacteriana contra *S. aureus*.

Algumas das frações resultantes da partição dos extratos brutos de quatro espécies vegetais (*H. cana*, *G. ulmifolia*, *R. brasiliensis* e *S. versicolor*) foram ativas contra a outra bactéria Gram-positiva avaliada neste trabalho, *Enterococcus faecalis*. Em particular, as mais ativas foram as frações diclorometânica e acetato de etila obtidas de *H. cana* (CIM = 62,5µg/mL e 31,25µg/mL, respectivamente) e a fração diclorometânica de *R. brasiliensis* (CIM = 62,5µg/mL), em comparação com as frações hexânica e hidrometanólica. Desta forma, as atividades relevantes apresentadas pelas fases diclorometânica de *H. cana* e *R. brasiliensis* contra tanto *S. aureus* como *E. faecalis* sugerem que os constituintes de polaridade intermediária destas duas plantas sejam considerados agentes potencialmente antibacterianos contra estas duas estirpes de microrganismos.

Embora os extratos brutos de *S. versicolor* e *G. ulmifolia* não tenham demonstrado efeito relevante contra *E. faecalis* (CIM $\geq$ 1000µg/mL), é interessante observar que as frações acetato de etila de ambas as plantas apresentaram CIMs de 250µg/mL.

Com relação à atividade antibacteriana frente às cepas Gram-negativas avaliadas neste trabalho, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa*, observou-se que nenhum dos extratos avaliados bem como, suas respectivas frações, apresentaram qualquer atividade significativa (CIMs $\geq$ 1000µg/mL).

Tabela 5 – Concentração Inibitória Mínima ($\mu\text{g/mL}$) de extratos brutos e frações de plantas do Cerrado Brasileiro frente as cepas bacterianas selecionadas.

Espécies vegetais	Extratos e frações testadas	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>E. faecalis</i> ATCC29218	<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>S. aureus</i> ATCC25923
<i>Hyptis cana</i> Pohl ex Benth	EtOH	a	500	a	1000	250
	HEX	a	a	a	a	125
	MeOH-H ₂ O 1:1	a	1000	1000	a	a
	DCM	a	62,5	1000	1000	62,5
	AcOEt	a	31,25	1000	1000	125
<i>Roupala brasiliensis</i> Klotz.	EtOH	1000	1000	1000	1000	125
	HEX	a	1000	a	a	125
	MeOH-H ₂ O 1:1	1000	1000	1000	a	125
	DCM	a	62,5	1000	1000	15,625
	AcOEt	1000	1000	1000	1000	125
<i>Protium heptaphyllum</i> (Aubl.) March.	EtOH	a	a	a	a	125
	HEX	a	a	a	a	a
	MeOH-H ₂ O 1:1	a	a	a	a	62,5
	DCM	a	a	a	a	1000
	AcOEt	a	a	a	a	125
<i>Simarouba versicolor</i> St. Hil	EtOH	a	1000	a	a	125
	HEX	a	a	a	a	a
	MeOH-H ₂ O 1:1	a	1000	a	a	125
	DCM	a	a	a	a	a
	AcOEt	a	250	a	a	125
<i>Erythroxylum suberosum</i> St. Hil	EtOH	a	a	a	a	250
	HEX	a	a	a	a	a
	MeOH-H ₂ O 1:1	a	a	1000	a	250
	DCM	a	a	a	a	a
	AcOEt	a	a	1000	1000	250
<i>Gazuma ulmifolia</i> Lam.	EtOH	a	a	a	1000	125
	HEX	a	a	a	a	a
	MeOH-H ₂ O 1:1	a	1000	a	a	62,5
	DCM	a	a	a	1000	a
	AcOEt	a	250	a	a	125
Cloranfenicol	—	< 0,25	0,5	1	8	0,5

EtOH: Extrato etanólico bruto; HEX; Hexano; MeOH-H₂O 1:1; DCM: Diclorometano; AcOEt: Acetato de etila

^a CIM >1000

CIM indicada em $\mu\text{g/mL}$

Em um estudo realizado por Camporese et al. (2003) os extratos hexânico e metanólico da casca de *G. ulmifolia* coletada em Belize (América Central) foram considerados ativos frente a cepas de *E. coli* (ATCC 2592) e *P. aeruginosa* (ATCC 27853), respectivamente; embora, tenham apresentado altos valores de CIMs (2500µg/mL), enquanto que cepas de *S. aureus* (ATCC 25923) e *E. faecalis* (ATCC 29212) não foram inibidas pelos extratos hexânico, clorofórmico e metanólico desta planta.

No presente trabalho, no entanto, os valores das CIMs apresentados pela fração hexânica de *G. ulmifolia* contra *E. coli* (CIM > 1000µg/mL) e pelo extrato etanólico contra *P. aeruginosa* (CIM = 1000µg/mL) não diferiram significativamente daqueles apresentados pela espécie coletada na América Central. Por outro, o extrato etanólico bruto inibiu o crescimento de *S. aureus* (CIM = 125µg/mL), enquanto que as frações acetato de etila e hidrometanólica exibiram atividade contra *E. faecalis* (CIM = 250µg/mL e 1000µg/mL, respectivamente).

Algumas espécies do gênero *Hyptis* são conhecidas pelas suas significativas propriedades etnofarmacológicas, incluindo atividade antimicrobiana (SOUZA et al, 2002; FALCÃO; MENEZES, 2003; OLIVEIRA et al., 2004; OLIVA et al., 2005; NANTITANON; CHOWWANAPHOONPOHN; OKOOGI, 2007).

O óleo essencial obtido da resina de *P. heptaphyllum* coletado no Nordeste do Brasil revelou propriedades antimicrobianas (BANDEIRA et al., 2006).

Embora não haja estudos fitoquímicos ou relacionados à bioatividade a respeito da espécie *Erythroxylum suberosum*, extratos brutos de *E. catuaba* apresentaram atividade antibacteriana *in vivo* contra *E. coli* e *S. aureus* (MANABE et al., 1992).

Bianco (2004), relatou a atividade de extratos de *Roupala montana* sobre *Streptococcus mutans*. Quanto à *R. brasiliensis*, apenas um trabalho foi encontrado sobre atividade biológica de um espécime coletado na Mata Atlântica, onde fez-se referência à sua ausência de atividade antimicrobiana (AGRIPINO et al., 2004).

Com relação a propriedades antimicrobianas de representantes do gênero *Simarouba*, existem escassos registros na literatura. De acordo com Cáceres et al. (1990), *S. glauca* apresentou atividade antibacteriana frente a enterobactérias, enquanto que alcalóides obtidos de *S. cuspidata* mostraram ser potencialmente antimicrobianos (GIESBRECHT et al., 1980).

5.3 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA

Os seis extratos EtOH e as vinte e quatro frações resultantes da partição inicial de extratos etanólicos brutos das plantas pesquisadas foram testados quanto à sua toxicidade frente ao microcrustáceo *Artemia salina*, de acordo com a metodologia descrita no item 3.4.5 e os resultados estão relacionados na tabela 6.

Foi observado que os extratos etanólicos brutos de apenas duas espécies (*E. suberosum* e *R. brasiliensis*) apresentaram atividade citotóxica sobre as larvas de *A. salina*.

O extrato etanólico de *E. suberosum* apresentou elevada toxicidade ($DL_{50} = 29,66\mu\text{g/mL}$), bem como a fase diclorometânica obtida por partição deste extrato ($DL_{50} = 1,3\mu\text{g/mL}$), seguida da fase acetato de etila ($DL_{50} = 476,9\mu\text{g/mL}$). Estes dados sugerem a presença de componentes citotóxicos de média polaridade nesta espécie.

O extrato etanólico de *R. brasiliensis* apresentou, por sua vez, atividade citotóxica moderada ($DL_{50} = 336,2\mu\text{g/mL}$), assim como as frações hidrometanólica ($DL_{50} = 197,7\mu\text{g/mL}$) e acetato de etila ($DL_{50} = 446,30\mu\text{g/mL}$) obtidas por partição, indicando que a citotoxicidade concentrou-se nos constituintes mais polares.

Na literatura há relatos de atividade citotóxica, frente a linhagens de células cancerígenas, de extratos brutos e compostos puros obtidos de espécies do gênero *Hyptis*, tais como: *H. capitata*, *H. martiusii*, *H. mutabilis*, *H. pectinata* e *H. spicigera* (FALCÃO; MENEZES, 2003; FRAGOSO-SERRANO; GIBBONS; PEREDA-MIRANDA, 2005; CAVALCANTE et al., 2006; OLIVA et al., 2007).

No que se refere a representantes do gênero *Erythroxylum*, dois flavonóides isolados de *E. catuaba* exibiram atividade citotóxica (SATO; SATO; FUJIMOTO, 2000).

Embora o extrato bruto de *P. heptaphyllum* não tenha apresentado atividade no presente trabalho, o óleo essencial obtido da resina de um espécime de *P. heptaphyllum* coletado no Nordeste do Brasil mostrou-se citotóxico no teste da *A. salina* (CITÓ et al., 2006). Em outro trabalho desenvolvido por Ramirez et al. (2004), foi avaliado o efeito citotóxico da resina desta espécie coletada na Venezuela.

Portanto, com base nos resultados obtidos no presente trabalho, trata-se do primeiro relato de atividade citotóxica frente à *A. salina* de extratos brutos e frações de *Erythroxylum suberosum* e *Roupala brasiliensis*.

Tabela 6 – Atividade citotóxica para *Artemia salina* dos extratos brutos e frações de plantas do Cerrado Brasileiro investigadas no presente trabalho.

Espécies vegetais	Extratos e frações testadas	DL ₅₀ (µg/mL)	Intervalo de Confiança 95% (µg/mL)
<i>Hyptis cana</i> Pohl ex Benth	EtOH	a	a
	HEX	a	a
	MeOH-H ₂ O 1:1	a	a
	DCM	a	a
	AcOEt	a	a
<i>Roupala brasiliensis</i> Klotz.	EtOH	336,2	279,2 – 404,8
	HEX	a	a
	MeOH-H ₂ O 1:1	197,7	137,1 – 285,1
	DCM	a	a
	AcOEt	446,3	284,0 – 698,9
<i>Protium heptaphyllum</i> (Aubl.) March	EtOH	a	a
	HEX	a	a
	MeOH-H ₂ O 1:1	a	a
	DCM	a	a
	AcOEt	a	a
<i>Simarouba versicolor</i> St. Hil	EtOH	a	a
	HEX	a	a
	MeOH-H ₂ O 1:1	a	a
	DCM	a	a
	AcOEt	a	a
<i>Erythroxylum suberosum</i> St. Hil	EtOH	29,7	27,8 – 31,7
	HEX	a	a
	MeOH-H ₂ O 1:1	a	a
	DCM	1,3	1,1 – 1,5
	AcOEt	476,9	400,3 – 547,0
<i>Gazuma ulmifolia</i> Lam.	EtOH	a	a
	HEX	a	a
	MeOH-H ₂ O 1:1	a	a
	DCM	a	a
	AcOEt	a	a
Sulfato quinidina		337,3	289,9- 392,3

EtOH: Extrato etanólico bruto; HEX; Hexano; MeOH-H₂O 1:1; DCM: Diclorometano; AcOEt: Acetato de etila

^aDL₅₀ > 1000µg/mL

6 CONCLUSÕES

Todas as plantas investigadas apresentaram significativa atividade antimicrobiana e/ou citotóxica, permitindo a possibilidade de se encontrar novos e eficazes compostos antimicrobianos e/ou antitumorais.

Os resultados obtidos para *Roupala brasiliensis* foram particularmente notáveis, não só para as atividades antimicrobiana e citotóxica apresentadas pelo seu extrato etanólico bruto, mas também por suas frações, ressaltando-se que até a presente data não há registros sobre os constituintes químicos desta planta.

Não foram encontrados na literatura relatos referentes a estudos fitoquímicos ou atividades biológicas de *Hyptis cana* e *Erythroxylum suberosum*, sendo o primeiro relato sobre as atividades antifúngicas e antibacterianas destas duas espécies.

O extrato etanólico de *E. suberosum*, particularmente a fase diclorometânica, apresentaram elevada atividade citotóxica, atividade esta também descrita pela primeira vez na literatura.

Propriedades antimicrobianas de *Simarouba versicolor* e as propriedades antifúngicas de *Guazuma ulmifolia* foram descritas pela primeira vez no presente trabalho.

7 REFERÊNCIAS

AARESTRUP, F.M. Association between consumption of antimicrobial agents in animal husbandry and the occurrence of resistance bacteria among food animals. *International Journal of Antimicrobial Agents*, v.12, n.4, p.279-285, aug., 1999.

ABIFISA – Associação Brasileira das Empresas do Setor Fitoterápico, Suplementos e de Promoção à Saúde. Serviço de Referência. Disponível em: <<http://www.abifisa.gov.br>> Acesso em: 04 dez. 2007.

AGRIPINO, D.G.; LIMA, M.E.L.; SILVA, M.R.; MEDA, C.I.; BOLZANI, V.S.; CORDEIRO, I.; YOUNG, M.C.M.; MORENO, P.R.H. Screening of Brazilian plants for antimicrobial and DNA-damaging activities. I. Atlantic Rain Forest – Ecological station Juréia-Itatins. *Biota Neotropica*, v.4, n.2, p.1-3, 2004. Referência. Disponível em: <<http://www.bioneotropica.org.br>> Acesso em: 15 nov. 2007.

AHMAD, I.; AND BEG, A.Z. Antimicrobial and phytochemical studies on 45 Indian plants against multi-drug resistant human pathogens. *Journal of Ethnopharmacology*, v.74, p. 113-123, 2001.

AJAYEOBA, E.O.; ADENITY, B.A.; OKOGUN, J.I. Antimicrobial activity of creatine, an alkaloid synthesized from indole. *Phytotherapy Research*, v.9, n.1, p69-71, 1995.

ALANÍS-GARZA, B.A.; GONZÁLEZ-GONZÁLEZ, G.M.; SALAZAR-ARANDA, R.; WAKSMAN DE TORRES, N.; RIVAS-GALINDO, V.M. Screening of antifungal activity of plants from the northeast of México. *Journal of Ethnopharmacology*, v.114, p.468-471, 2007.

ALBUQUERQUE, J.F.C. et al. Atividade antimicrobiana de pó de serra de Madeira de Lei (*Tabebuia* sp). In: XVIII SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 2004, Manaus. *Anais...Manaus: INPA e FDB*. p.79.

ALMEIDA, A.B.P. et al. Avaliação da atividade antimicrobiana do decoccto de *Bryophyllum pinnatum* KURZ. Crassulaceae, Folha da fortuna, frente a bactérias isoladas de amostras clínicas veterinárias. In: XVII SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 2002, Cuiabá. *Anais...Cuiabá*. p. 30.

ALMEIDA, E.X.; CONSERVA, L.M.; LEMOS, R.P.L. Coumarins, coumarinolignoids and terpenes from *Protium heptaphyllum*. *Biochemical Systematics and Ecology*, v.30, p.685-687, 2002.

ALMEIDA; M.I.; BEDENDO, J.; CAVASIN, E.D.; TOGNIM, M.C.B. Prevalência e perfil de sensibilidades de amostras de *Staphylococcus aureus* isoladas de casos clínicos de infecções hospitalares. *Revista Eletrônica de Enfermagem*, v.9, n.2, p.489-495. Publicação on line 2007. Serviço de Referência. Disponível em: <<http://www.fen.ufg.br/revista>> Acesso em: 12 dez. 2007.

ALMTORP, G.T.; HAZELL, A.C.; TORSSELL, K.B.G. A lignan and pyrone and other constituents from *Hyptis capitata*. *Phytochemistry*, v.30, n.8, p.2752-2756, 1991.

ÁLVAREZ, C.A.G.; CASTRO, A.L.L.; GONZALEZ, M.J.P.; JIMÉNEZ, M.L.N. Mecanismos de resistencia em *Pseudomonas aeruginosa*: entendiendo a um peligroso enemigo. *Revista da Faculdade de Medicina da Universidade Nacional da Colômbia*, v.53, n.1, 2005. Serviço de Referência. Disponível em: <<http://www.scielo.cl>>. Acesso em: 12 dez. 2007.

ALVES, P.M.; LEITE, P.H.A.S.; PEREIRA, J.V.; PEREIRA, L.F.; PEREIRA, M.S.V.; HIGINO, J.S.; LIMA, E.O. Atividade antifúngica do extrato de *Psidium guajava* Linn. (goiabeira) sobre leveduras do gênero *Candida* da cavidade bucal oral: uma avaliação *in vitro*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.16, n.2, p.192-196, abr./jun., 2006.

ALVES, S.H.; OLIVEIRA, L.T.O.; SANTURIO, J.M. A importância de *Candida dublinensis* no diagnóstico laboratorial das micoses oportunistas. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*, v.32, n.2, p.65-68, 2000.

ALVES, T.M.A.; SILVA, A.F.; BRANDÃO, M.; GRANDI, T.S.M.; SMÂNIA, E.F.A.; SMÂNIA JÚNIOR, A.; ZANI, C.L. Biological screening of Brazilian medicinal plants. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.95, n.3, p.367-373, may./jun., 2000.

ANDRADE, C.A.; PEITZ, C.; CÚNICO, M.; CARVALHO, J.L.S.; ABRAHÃO, W.M.; MIGUEL, O.G.; MIGUEL, M.D.; KERBER, V.A. Avaliação da atividade antibacteriana e triagem fitoquímica das flores de *Acacia podalyriifolia* A. Cunn. Ex G. Don Leguminosae-Mimosoideae. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.15, n.1, p.13-15, jan./mar., 2005.

ANTUNES, R.M.P.; LIMA, E.O.; PEREIRA, M.S.V.; CAMARA, C.A.; ARRUDA, T.A.; CATÃO, R.M.R.; BARBOSA, T.P.; NUNES, X.P.; DIAS, C.S.; SILVA, T.M.S. Atividade antimicrobiana *in vitro* e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de fitoconstituintes e produtos sintéticos sobre bactérias e fungos leveduriformes. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.16, n.4, p.517-524, out./dez., 2006.

ARANA, C.A.; JULCA, B.T. *Picramnia macrostachys* Ami (Simaroubaceae). *Revista Peruana de Bioquímica*, v.8, n.2, p.16-19, 1986.

ARAUJO, E.C.C.; SILVEIRA, E.R.; LIMA, M.A.S.; NETO, M.A.; DE ANDRADE, I.L.; LIMA, M.A.A.; SANTAGO, G.M.P.; MESQUITA, A.L.M. Inseticidal activity and chemical composition of volatile oils from *Hyptis martiusii* Benth. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.51, n.13; p.3760-3762, jun., 2003.

ARRIAGA, A.M.C.; MACHADO, M.I.L.; CRAVEIRO, A.A. Oil analysis of *Guazuma ulmifolia* leaves. *Revista Brasileira de Farmácia*, v.77, n.2, p.45-46, 1996.

ARRIAGA, A.M.C.; MACHADO, M.I.L.; CRAVEIRO, A.A.; POULIQUEN, Y.B.M.; MESQUITA, A.G. Volatile constituents from leaves of *Guazuma ulmifolia*. *Journal of Essential Oil Research*, v.9, n.6, p.705-706, 1997.

ARRIAGA, A.M.C.; MESQUITA, A.C.; POULIQUEN, Y.B.M.; LIMA, R.A.; CAVALCANTE, S.H.; CARVALHO, M.G.; SIQUEIRA, J.A.; ALEGRIO, L.V.; BRAZ-

FILHO, R. Chemical constituents of *Simarouba versicolor*. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v.74, n.3, p.415-424, 2002.

ARRIGONI-BLANK, M.F.; ANTONIOLLI, A.R.; CAETANO, L.C.; CAMPOS, D.A.; BLANK, A.F.; ALVES, P.B. Antinociceptive activity of the volatile oils of *Hyptis pectinata* L. Poit. (Lamiaceae) genotypes. *Phytomedicine*. Publicação *on line*, 2007. Serviço de Referência. Disponível em: <<http://www.sciencedirect>> Acesso em: 08 dez. 2007.

ARRUDA, E.A.G. Infecção hospitalar por *Pseudomonas aeruginosa* multi-resistente: análise epidemiológica no HC-FMUSP. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v.31, p.503-504, set./out., 1998.

ASEKUN, O.T.; EKUNDAYO, O.; ADENIYI, B.A. Antimicrobial activity of the essential oil of *Hyptis suaveolens* leaves. *Fitoterapia*, n.70, p.440-442, 1999.

AUSTIN, D.J.; KRISTINSSON, K.G.; ANDERSON, R.M. The relationship between the volume of antimicrobial consumption in human communities and the frequency of resistance. *Medical Science*, v.96, n.3, p.1152-1156, feb., 1999. . Serviço de Referência. Disponível em: <<http://www.pnas.org>> Acesso em: 03 dez. 2007.

AVANCINI, C.A.M.; WIEST, J.N.; MUNDSTOCK, E. Atividade bacteriostática e bactericida do decoccto de *Baccharis trimera* (Less.) D.C., Compositae, carqueja, como desinfetante ou anti-séptico. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.52, n.3; p.230-234, 2000.

AZEVEDO, N.R.; CAMPOS, I.F.P.; FERREIRA, H.D.; PORTES, T.A.; SANTOS, S.C.; SERAPHIN, J.C.; DE PAULA, J.R.; FERRI, P.H. Chemical variability in the essential oil of *Hyptis suaveolens*. *Phytochemistry*, n.57, p.733-736, 2001.

AZEVEDO, N.R.; CAMPOS, I.F.P.; FERREIRA, H.D.; PORTES, T.A.; SERAPHIN, J.C.; DE PAULA, J.R.; SANTOS, S.C.; FERRI, P.H. Essential oil chemotypes in *Hyptis suaveolens* from Brazilian Cerrado. *Biochemical Systematics and Ecology*, n.30, p.205-216, 2002.

BANDEIRA, P.N.; FONSECA, A.M.; COSTA, S.M.O.; LINS, M.U.D.S.; PESSOA, O.D.L.; MONTE, F.J.P. NOGUEIRA, N.A.P.; LEMOS, T.L.G. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil resin of *Protium heptaphyllum*. *Natural Product Communications*, v.1, n.2, p.117-120, 2006.

BANDEIRA, P.N.; PESSOA, O.D.L.; TREVISAN, M.T.S.; LEMOS, T.L.G. Metabólitos secundários de *Protium heptaphyllum* March. *Química Nova*, v.25, n.6B, p.1078-1080, 2002.

BARCHIESI, F.; COLOMBO, A.L.; Mc GOUGH, D.A.; RINALDI, M.G. Comparative study of broth macrodilution and microdilution techniques foi in vitro antifungal susceptibility testing of yeasts by using the National Committee for Clinical Laboratory Standard's proposed standard. *J. Clin. Microbiol.*, v.32, p. 2494-2500, 1994.

BARBOSA, P.P.P.; RAMOS, C.P. Studies on the antiulcerogenic activity of the essential oil of *Hyptis mutabilis*. *Phytotherapy Research*, v.6, n.2, p.114-115, mar./apr., 1992.

BARREIROS, M.L.; DAVID, J.P.; DAVID, J.M.; LOPES, L.M.X.; SÁ, M.S.; COSTA, J.F.O.; ALMEIDA, M.Z.; QUEIRÓZ, L.P.; SANT'ANA, A.E.G. Ryanodane diterpenes from two *Erythroxylum* species. *Phytochemistry*, v.68, p. 1735-1739, 2007.

BARRETA, J.P.; IÑIGUEZ, R.V.; SANCHEZ, M.R. Escherichia coli de flora gastrointestinal normal como reservorio de resistencia a antibióticos em uma población infantil dela cidade de La Paz. *Biofarbo*, v.11, p.90-97, 2003. Serviço de Referência. Disponível em: <<http://www.scielo.cl>>. Acesso em: 01 dez. 2007.

BARTON, M.D. Antibiotic use in animal feed and its impact on human health. *Nutrition Research Reviews*, v.13, p.279-299, 2000.

BELL, D.M. Resistência antimicrobiana: el panorama em los Estados Unidos de América. In: *Resistencia antimicrobiana em las Américas: magnitud del problema y su contención*. Washington D.C.: Pan American Health Org, p.187-188, 2001.

BERENGUER, B.; TRABADELA, C.; SÁNCHEZ-FIDALGO, S.; QUÍLEZ, A.; MIÑO, P.; DE LA PUERTA, R.; MARTÍN-CALERO, M.J. The aerial parts of *Guazuma ulmifolia* Lam. Protect against NSAID-induced gastric lesions. *Journal of Ethnopharmacology*, v.114, p.153-160, 2007.

BERTANI, D.F.; RODRIGUES, R.R.; BATISTA, J.L.F.; SHEPHERD, G.J. Análise temporal da heterogenicidade florística e estrutural em uma floresta ribeirinha. *Revista Brasileira de Botânica*, v.24, n.1, p.11-23, 2001.

BIANCO, K.G.; *Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos vegetais da savana brasileira sobre Streptococcus mutans e sua capacidade de desmineralização e a adesão à superfície de vidro*. 2004. Dissertação. Universidade Estadual Paulista – Faculdade de Odontologia de Araçatuba. Araçatuba, 2004.

BIERI, S.; BRACHET, A.; VEUTHEY, J.L.; CHRISTEN, P. Cocaine distribution in wild *Erythroxylum* species. *Journal of Ethnopharmacology*, v.103, p.439-447, 2006.

BOALINO, D.M.; CONNOLLY, J.D.; McLEAN, S.; REYNOLDS, W.F.; TINTO, W.F. α -pyrones and a 2(5H)-furanone from *Hyptis pectinata*. *Phytochemistry*, n.64, p.1303-1307, 2003.

BONIFÁCIO E SOUZA, E.M.; PAULA, C.R.; PURCHIO, A.; GAMBALE, W.; CORRÊA, B.; CURY, A.E. Aspectos morfo-fisiológicos, fatores de virulência e sensibilidade a antifúngicos de amostras de *Candida albicans*, sorotipos A e B, isoladas em São Paulo, Brasil. *Revista de Microbiologia*, v.23, n.3, p.247-253, 1990.

BONTÉ, F.; BARRÉ, P.; PINGUET, P.; DUSSER, I.; DUMAS, M.; MEYBEC, A. *Simarouba amara* extract increases human skin keratinocyte differentiation. *Journal of Ethnopharmacology*, v.53, p.65-74, 1996.

BOYD, M.R. The positions of intellectual property rights in drug discovery and development from natural products. *Journal of Ethnopharmacology*, v.51, p.17-27, 1996.

BRAGA F.G.; BOUZADA, M.L.M.; FABRI, R.L.; MATOS, M.O.; MOREIRA, F.O.; SCIO, E.; COIMBRA, E.S. Antileishmanial and antifungal activity of plants used in traditional medicine in Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*, v.111, p.396-402, 2007.

CABALLERO-GEORGE, C.; VANDERHEYDEN, P.M.L.; SOLIS, P.N.; PIETERS, L. SHAHAT, A.A.; GUPTA, M.P.; VAUQUELIN, G.; VLIETINCK, A.J. Biological screening of selected medicinal Panamanian plants by radioligand-binding techniques. *Phytomedicine*, v.8, n.1, p.59-70, 2001.

CACERES, A.; CANO, O.; SAMAYOA, B.; AGUILAR, L. Plants used in Guatemala for the treatment of gastrointestinal disorders. 1. Screening of 84 plants against enterobacteria. *Journal of Ethnopharmacology*, v.30, p.55-73, 1990.

CALDERONE, R.A.; FONZI, W.A. Virulence factors of *Candida albicans*. Trends in Microbiology, v.9, n.7, p.327-335, 2001. Serviço de Referência. Disponível em: <<http://www.scielo.cl>>. Acesso em: 12 dez. 2007.

CALIXTO, J.B. Biodiversidade como fonte de medicamentos. *Ciência e Cultura*, v.55, n.3, p.37-39, jul./sep., 2003.

CAMPELO, P. et al. Atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Lippia gracillis* HBK sobre o gênero enterococcus. In: XVII SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 2002, Cuiabá. *Anais...* Cuiabá. p.31.

CAMPOS, J.C.; LANDGRAF, P.R.C. Análise da regeneração natural de espécies florestais em matas ciliares de acordo com a distância da margem do lago. *Ciência Florestal*, v.11, n.2, p.143-151, 2001.

CAMPORESE, A.; BALICK, M.J.; ARVIGO, R.; ESPOSITO, R.G.; MORSELLINO, N.; SIMONE, F.; TUBARO, A. Screening of anti-bacterial activity of medicinal plants from Belize (Central América). *Journal of Ethnopharmacology*, v.87, n.3, p.103-107, 2003.

CANALES, M.; HERNÁNDEZ, T.; SERRANO, R.; HERNÁNDEZ, L.B.; DURAM, A.; RÍOS, V.; SIGRIST, S.; HERNÁNDEZ, H.L.H., GARCÍA, A.M.; ANGELES-LÓPEZ, O.; FERNÁNDEZ-ARAIZA, M.A.; AVILA, G. Antimicrobial and general toxicity activities of *Gymnosperma glutinosum*: A comparative study. *Journal of Ethnopharmacology*, v.110, p.343-347, 2007.

CANO, J.H.; VOLPATO, G. Herbal mixture in the traditional medicine of Eastern Cuba. *Journal of Ethnopharmacology*, v.90, n.2-3, p.293-316, 2004.

CAPECKA, E.; MARECZEK, A.; LEJA, M. Antioxidant activity of fresh and dry herbs of some *Lamiaceae* species. *Food Chemistry*, v.93, p.223-226, 2005

CARRETERO, M.E.; LÓPEZ-P, J.L.; ABAD, M.J.; BERMEJO, P.; TILLET, S.; ISRAEL, A.; NOGUERA-P, B. Preliminary study of the anti-inflammatory activity of hexane extract fractions from *Bursera simaruba* (Linneo) Sarg. (Burseraceae) leaves. *Journal of Ethnopharmacology*. Publicação on line, 2007. Serviço de Referência. Disponível em: <<http://www.sciencedirect>> Acesso em: 11 dez. 2007.

CASSETTARI, V.C.; SILVEIRA, I.R.; BALSAMO, A.C.; FRANCO, F. Outbreak of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in an intermediate-risk neonatal unit linked to onychomycosis in a healthcare worker. *Jornal de Pediatria*, v.82, n.4, 2006. Serviço de Referência. Disponível em: <<http://www.scielo.cl>>. Acesso em: 12 dez. 2007.

CAVALCANTE, E.C.A.; LIMA, M.A.S.; MONTENEGRO, R.C.; NOGUEIRA, M.; COSTA-LOTUFO, L.V.; PESSOA, C.; ODORICO DE MORAES, M.; SILVEIRA, E.R. Cytotoxic abietne diterpenes from *Hyptis martiusii* Benth. *Zeitschrift für Naturforschung*, v.61, n.3-4, p.177-183, 2006.

CAVALCANTI, B.C.; MOURA, D.J.; ROSA, R.M.; MORAES, M.O.; ARAUJO, E.C.C.; LIMA, M.A.S.; SILVEIRA, E.R.; SAFFI, J.; HENRIQUES, J.A.P.; PESSOA, C.; COSTA-LOTUFO, L.V. Genotoxic effects of tanshinones from *Hyptis martiusii* in V79 cell line. *Food and Chemical Toxicology*. Publicação on line, 2007. Serviço de Referência. Disponível em: <<http://www.sciencedirect>> Acesso em: 07 dez. 2007.

CECHINEL FILHO, V.; CAMPOS, F.; CORRÊA, R.; YUNES, R.A.; NUNES, R. Aspectos químicos e potencial terapêutico de imidas cíclicas: uma revisão da literatura. *Química Nova*, v.26, n.2, p.230-241, 2003.

CEREDA, R.F.; PIGNATARI, A.C.; HASHIMOTO, A.; SADER, H.S. *In vitro* antimicrobial activity against *Enterococci* isolated in a University Hospital in São Paulo, Brazil. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, v.1, n.2, p.83-90, 1997. Serviço de Referência. Disponível em: <<http://www.pubmed.gov>>. Acesso em: 11 dez. 2007.

CEREDA, R.F.; SADER, H.S.; JONES, R.N.; SEJAS, L.; MACHADO, A.M.; ZANATTA, Y.P.; REGO, S.T.M.S.; MEDEIROS, E.A.S. *Enterococcus faecalis* resistant to vancomycin and teicoplanin (VanA Phenotype) isolated from a bone marrow transplanted patients in Brazil. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, v.5, n.1, p.40-46, 2001. Serviço de Referência. Disponível em: <<http://www.pubmed.gov>>. Acesso em: 11 dez. 2007.

CESCHINI, L.; CAMPOS, E.G. Cytotoxic effects of *Cochlospermum regium* (Mart & Schrank) Pilger aqueous root extract on mammalian cells. *Journal of Ethnopharmacology*, v.103, n.2, p.302-305, 2006.

CITÓ, M.G.L.; COSTA, F.B.; LOPES, J.A.D.; OLIVEIRA, V.M.M.; CHAVES, M.H. Identificação de constituintes voláteis e folhas de *Protium heptaphyllum* Aubl (March). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v.8, n.4, p.4-7, 2006.

CHUKWUJEKWU, J.C.; SMITH, P.; COOMBES, P.H.; MULHOLLAND, D.A.; VAN STADEN, J. Antiplasmodial diterpenoid from the leaves of *Hyptis suaveolens*. *Journal of Ethnopharmacology*, n.102, p.295-297, 2005

COELHO, A.A.M.; DE PAULA, J.E.; ESPINDOLA, L.S.; Inseticidal activity of cerrado plant extracts on *Rhodnius milesi* Carcavallo, Rocha, Galvão & Jurberg (Hemiptera: Reduviidae), under laboratory conditions. *Neotropica Entomology*, v.35, n.1, p.133-138, 2006.

COHEN, M.L. Epidemiology of drug resistance: implications for a post – Antimicrobial era. *Science*, v.257, n.5073, p.1050-1055, 1992.

CORDELL, G.A. Biodiversity and drug discovery – a symbiotic relationship. *Phytochemistry*, v.55, p.463-40, 2000.

CROCCO, E.I.; MIMICA, L.M.J.; MURAMATU, L.H.; GARCIA, C.; SOUZA, V.M.; RUIZ, L.R.B.; ZAITIS, C. Identificação de espécies de *Candida* e susceptibilidade antifúngica *in vitro*: estudo de 100 pacientes com candidíases superficiais. *Anais Brasileiro de Dermatologia*, v.79, n.6, p.689-697, nov./dez., 2004.

CRUZ MARQUES D, ZUCCHI P. Comissões farmacoterapêuticas no Brasil: aquém das diretrizes internacionais. *Revista Panamericana de Salud Publica*, v.19, n.1, p.58-63, 2006.

DANTAS, Z.M.R.; OLIVEIRA, E.; VASCONCELOS-FILHO, P.A.; CECHINEL-FILHO, V. Susceptibilidade *in vitro* de espécies de *Candida* à maleimidazóis, naftilimidazóis e succimidazóis. *Revista Brasileira de Farmácia*, v.81, n.1-2, p.31-35, 2000.

DÉCIGA-CAMPOS, M.; RIVERO-CRUZ, I.; ARRIGA-ALBA, M.; CASTAÑEDA-CORRAL, G.; ANGELES-LÓPEZ, E.; NAVARRETE, A.; MATA, R. Acute toxicity and mutagenic activity of Mexican plants used in traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, v.110, p.334-342, 2007.

DE LA CRUZ-CAÑIZARES, J.; DOMÉNECH-CARBÓ, M.T.; GIMENO-ADELANTADO, J.V.; MATEO-CASTRO, R.; BOSCH-REIG, F. Study of *Burseraceae* resins used in binding media and varnishes from artworks by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. V.1093, P.177-194, 2005. Serviço de Referência. Disponível em: <<http://www.sciencedirect>> Acesso em: 11 dez. 2007.

DE LA CRUZ, M.G. *Plantas medicinais utilizadas por raizeiros: uma abordagem etnobotânica no contexto da saúde e doença*. 1997. Dissertação (Mestrado em Saúde e Ambiente). Instituto de Saúde Coletiva, Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, 1997.

DE LA CRUZ MOTA, M. G., GUARIM NETO, G. O estudo das plantas por uma abordagem holística. *Revista do Instituto de Saúde Coletiva*, Cuiabá, v.1, p.9-17, 1996.

DEUSCHLE, R.A.N. et al. Avaliação da atividade antimicrobiana de *Senecio desiderabilis* Vellozo. In: XVII SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 2002, Cuiabá. *Anais...* Cuiabá. p.31.

DUARTE, M.C.T.; FIGUEIRA, G.M.; SARTORATO, A.; REHDER, V.L.; DELARMELINA, C. Anti-*Candida* activity of Brazilian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, v.97, p.305-311, 2005.

DUFFY, C.F.; POWER, R.F. Antioxidant and antimicrobial properties of some Chinese plant extracts. *International Journal of Antimicrobial*, v.17, p.527-529, 2001.

DUWIEJUA, M.; ZEITLIN, I.J.; WATERMAN, P.G.; CHAPMAN, J.; MHANGO, G.J.; PROVAN, G.J. Anti-inflammatory activity of resins from some species of the plant family Burseraceae. *Planta Medica*, v.59, p.12-16, 1993.

ESPINEL, I.A.; KERKERING, T.M.; GOLDSON, P.R.; SHADOMY, S. Comparison study of broth macrodilution and microdilution antifungal susceptibility tests. *J. Clin. Microbiol.*, v:29, 1089-1094, 1991.

ESPINEL, I.A.; KISH, C.W.; KERKERING, T.M.; FROMTLING, R.A.; BERTIZAL, K.; GALGIANI, J.N.; VILLAREAL, K.; PFALLER, M.A.; GERARDEN, T.; RINALDI, M.G. Collaborative comparison macrodilution and microdilution antifungal susceptibility tests. *J. Clin. Microbiol.*, v:30, 3138-3145, 1992.

EVANS, W. The comparative phytochemistry of the genus *Erythroxylum*. *Journal of Ethnopharmacology*, v.3, n.2-3, p.265-277, march./may., 1981.

FACCHINI, P.H.; PAGNOCCA, F.C.; FERNANDES, J.B. Atividade antimicrobiana de *Protium heptaphyllum* (Burseraceae). In: XVII SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 2002, Cuiabá. *Anais...* Cuiabá. p.28.

FACEY, P.C.; PORTER, R.B.R.; REESE, P.B.; WILLIAMS, L.A.D. Biological activity and chemical composition of the essential oil from Jamaican *Hyptis verticillata* Jacq. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, n.53, p. 4774-4777, 2005.

FALCÃO, D.Q.; MENEZES, F.S. Revisão etnofarmacológica, farmacológica e química do gênero *Hyptis*. *Revista Brasileira de Farmácia*, v.84, n.3, p.68-74, 2003.

FARNSWORTH, N.R. Ethnopharmacology and drug development. In: *Prance*, Ethnobotany and the Search for New Drugs. Wiley, Chichester (Ciba Foundation Symposium 185), p. 42-59, 1994.

FARNSWORTH, N.R.; AKERELE, O.; BENDEL, A.S.; SOEJARTA, D.D.; ENO, Z. Medical plants in therapy. *Bull. World. Health Organ.*, v.6, n.6, p.965-981, 1985.

FELFINI, J.M.; NOGUEIRA, P.E.; SILVA JÚNIOR, MC.; MARIMON, B.S.; DELITTI, W.B.C. Composição florística e fitossociologia do cerrado sentido restrito no município de Água Boa – MT. *Acta Botânica Brasileira*, v.16, n.1, p.103-112, 2002.

FERNANDES, A. C. et al. Atividade antimicrobiana de extratos das folhas de espécies de *Pouteria* (Sapotaceae). In: XVIII SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 2004, Manaus. *Anais...* Manaus: INPA e FDB. p.75.

FERNANDES, M.Z.L.C.M.; FERNANDES, R.M.; VIANA, G.E.N.; LOPES, Acute toxicity (LD₅₀) determination of the *Simarouba versicolor*, St Hill, aqueous extracts in mice. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, v.6, n.2, p.48-51, 2004.

FERNANDES, O.F.L.; COSTA, T.R.; COSTA, M.R.; SOARES, A.J.; PEREIRA, J.S.C.; SILVA, M.R.R. *Cryptococcus neoformans* isolados de pacientes com AIDS. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v.33, n.1, p.75-78, 2000.

FERNANDES, T.T.; SANTOS, A.T.F. Atividade antimicrobiana das plantas *Plathymenia reticulata*, *Hymenaea courbaril* e *Guazuma ulmifolia*. *Revista Patologia Tropical*, v.34, n.2, p. 113-122, maio/ago., 2005.

FRAGOSO-SERRANO, M.; GIBBONS, S.; PEREDA-MIRANDA, R. Anti-staphylococcal and cytotoxic compounds from *Hyptis pectinata*. *Planta Medica*, v.71, n.3, p.278-280, 2005.

FRANSSEN, F.F.; SMEIJSTERS, L.J.; BERGER, I.; MEDINILLA-ALDANA, B.E. *In vivo* and *in vitro* antiplasmodial activities of some plants traditionally used in Guatemala against malaria. *Antimicrobial Agents Chemother*, v.41, n.7, p.1500-1503, 1997.

GALES, A.C.; PIGNATARI, A.C.; JONES, R.N.; BARETTA, M.; SADER, H.S. Avaliação da atividade *in vitro* dos novos antimicrobianos da classe das fluoroquinolonas, cefalosporinas e carbapenens contra 569 amostras clínicas de bactérias gram-positivas. *Revista da Associação Médica Brasileira*, v.43, n.2, p.137-144, apr./jun., 1997.

GERST, J.T. Detección de la resistencia a los antibióticos con los sistemas Vitek y Vitek 2 de bioMérieux. In: *Resistencia antimicrobiana em las Américas: magnitud del problema y su contención*. Washington D.C.: Pan American Health Org, p.12-38, 2001.

GHOSH, P.C.; LARRAHONDO, J.E.; LEQUESNE, P.W.; RAFFAUF, R.F. Antitumor plants. IV. Constituents of *Simarouba versicolor*. *Lloydia*, v.40, n.4, p.364-369, jul./aug., 1977. Serviço de Referência. Disponível em: <<http://www.pubmed.gov>>. Acesso em: 11 dez. 2007.

GIESBRECHT, A.M. Potentially antimicrobial alkaloids were obtained from occurring in Brazil. *Ciência e Cultura*, v.32, p.117-119, 1980.

GILANI, A.H.; ATTA-UR-RAHMAN. Perspectives of ethnopharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*, v.100, n.1-2, p.43-49, aug., 2005.

GODOY, M. de F.P., FACHINNI, P.H., PAGNOCCA, F.C., FERNANDES, J.B. Atividade antimicrobiana de *Protium heptaphyllum*. In: XVII SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 2002, Cuiabá. *Anais...* Cuiabá. p.28.

GONZALEZ, P.A. Vigilancia de la resistencia a antimicrobianos. *Revista Chilena de Infectologia*, v.19, supl.2, p.135-139. 2002. Serviço de Referência. Disponível em: <<http://www.scielo.cl>>. Acesso em: 01 dez. 2007.

GONZALEZ-GUEVARA, J.L.; VÉLEZ-CASTRO, H.; GONZÁLEZ-GARCÍA, K.L.; PAYO-HILL, A.L.; GONZÁLEZ-LAVAUT, J.A.; MOLINA-TORRES, J.; PIETRO-GONZÁLEZ, S. Flavonoid glycosides from Cuban *Erythroxylum* species. *Biochemical Systematics and Ecological*, v.34, p.539-542, 2006.

GONZALEZ-SALVATIERRA, R.; GUAZMAN-BLANCO, M. La resistencia a antimicrobianos em las Américas. *Revista Panamericana de Salud Publica*, v.6, n.6, p.437-439, 1999.

GRIEVE, M.A. *Modern herbal*. Serviço de Referência. Disponível em: <<http://www.botanical.com>>. Acesso em: 11 dez. 2007.

GUARIM NETO, G. *Plantas utilizadas na medicina popular cuiabana: um estudo preliminar*. Cuiabá: UFMT, n.4, p.45-50, 1984.

_____. *Espécies frutíferas do cerrado mato-grossense*. Cuiabá: FBCN, n.20, p.46-56, 1985.

_____. *Plantas medicinais utilizadas na medicina popular do Estado de Mato Grosso*. Brasília: MCT/CNPq, 58p, 1987.

_____. O saber tradicional pantaneiro: as plantas medicinais e a educação ambiental. *Revista Eletrônica do Mestrado em Educação Ambiental*. Fundação Universidade Federal do Rio Grande, v.17, jul/dez., 2006.

GUARIM NETO, G.; MORAIS, R. G. *Recursos medicinais de espécies do cerrado de Mato Grosso: um estudo bibliográfico*. *Acta Botanica Brasileira*, v.17, n.4, p. 561-584, 2003.

HAMDAN, J.S.; HAHN, R.C. Antifungal drugs for sytemic mycosis: na overview of mechanism of action and resistance. *Anti-Infective Agents in Medicinal Chemistry*, v.5, n.4, p.1-10, 2006.

HEGNAUER, R. Chemotaxonomy of Erythroxylaceae (including some ethnobotanical notes on old world species). *Journal of Ethnopharmacology*, v.3, n.2-3, p.279,292, march./may., 1981.

HIRUMA-LIMA, C.A. et al. Brazilian “cerrado” medicinal plant presents an important antiulcer activity. *Journal of Ethnopharmacology*. v. 104, n. 1, p. 207-214, mar. 2006.

HÖR, M.; HEINRICH, M.; RIMPLER, H. Proanthocyanidin polymers whith antisecretory activity and proanthocyanidin oligomers from *Guazuma ulmifolia* Bark. *Phytochemistry*, v.42, n.1, p.109-119, 1996.

HORTAL, M.; BAZET, C.; MATTURO, M.; PALACIO, R.; CAMOU, T. Infecciones intrahospitales em Uruguay: resistencia a los antibióticos de los principales microorganismos identificados. In: *Resistencia antimicrobiana em las Américas: magnitud del problema y su contención*. Washington D.C.: Pan American Health Org, p.178-186, 2001.

IWU, M.M.; EZEUGWU, C.O.; OKUNJI, C.O.; SANSON, D.; TEMPESTA, M.S. Antimicrobial activity and terpenoids of the essential oil of *Hyptis suaveolens*. *International Journal of Crude Drug Research*, v.28, n.1, p.73-76, 1990.

JOLAD, S.D.; WIEDHOPF, M.; COLE, J.R. Cytotoxic agents from *Bursera morelensis* (Burseraceae): Deoxypodophyllotoxin and a new lignan, 5'-desmethoxydeoxypodophyllotoxin. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.66, n.6, p.892-893, 1977. Serviço de Referência. Disponível em: < <http://www.interscience> > Acesso em: 11 dez. 2007.

JOLY, A.B. *Introdução à taxonomia vegetal*. Ed. Nacional: São Paulo, 777p, 1979.

JÚNIOR, I.E.S. et al. Avaliação da atividade antibacteriana dos extratos hidroalcoólicos de *Aspidosperma subincanum* MART. e *Echinodorus macrophyllus* MICHEL pelo método de

microdiluição. In: XVIII SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 2004, Manaus. *Anais...Manaus*: INPA e FDB. p.136

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. *Biologia Celular e Molecular*. 10 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1977.

JURINITZ, C.F.; JARENKOW, J.A. Estrutura do componente arbóreo de uma floresta estacional na Serra do Sudeste, Rio Grande do Sul, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica*, v.26, n.4, p.475-487, 2003.

KATO, L. et al. Estudo Fitoquímico e atividade antibacteriana do extrato etanólico de espécies da Família *Podostemaceae*. In: XVII SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 2002, Cuiabá. *Anais... Cuiabá*. p.27.

KIVILOMPOLO, M.; HYÖTYLÄINEN, T. Comprehensive two-dimensional liquid chromatography in analysis of Lamiaceae herbs: Characterisation and quantification of antioxidant phenolic acids. *Journal of Chromatography A*, v.1145, p.155-164, 2007.

KOIKE, K. Studies on the biologically active natural products of *Simaroubaceous* plants. *Japanese Society of Pharmacognosy*, v.57, n.5, p.157-162, 2003.

KÖHLER, T.; PECHÉRE, J.C.; PLÉSIAT, P. Bacterial antibiotic efflux systems of medical importance. *Cellular and Molecular Life Sciences*, v.56, p.771-778, 1999.

KONEMAN, E.W.; ALLEN, S.D.; JANDA, W.M.; SCHERECKENBERGER, P.C. WINN JÚNIOR, W.C. *Diagnóstico Microbiológico: Texto e Atlas Colorido*, 5 ed. Rio de Janeiro: Medsi, 2001.

KOUTSAFTIS, A.; AOYAMA, I. Toxicity of four antifouling biocides and their mixtures on the brine shrimp *Artemia salina*. *Science of the Total Environment*, v.387, p.166-174, 2007.

KOZERA, C.; DITRICH, V.A.O.; SILVA, S.M. Fitossociologia do componente arbóreo de um fragmento de floresta ombrófila mista montana, Curitiba, PR, BR. *Floresta*, v.36, n.2, p.225-237, 2006.

KUHNT, M.; RIMPLER, H.; HEINRICH, M. Lignans and other compounds from the mixe Indian medicinal plant *Hyptis verticillata*. *Phytochemistry*, v.36, n.2, p.485-489, 1994.

KUNIN, C.M. Resistance to antimicrobial drugs – A worlswilde calamity. *Annal of Internal Medicine*, v.118, n.7, p.557-561, 1993. Serviço de Referência. Disponível em: <<http://www.annals.highwere.org>> Acesso em: 03 dez. 2007.

LACAZ, C.S.; PORTO, E.; MARTINS, I.E.C.; *Micologia Médica*. 8 ed. São Paulo: Sarvier, 1991.

LEANDRO, M.J.; OLIVEIRA, M.; MELO, C.; MEXIA, A. Pragas chave de Proteaceae em Portugal. [on line]. Serviço de Referência. Disponível em: <http://europrotea.pt/downloads/pragas_chave_de_proteaceae-portugal-2.doc> Acesso em: 11 dez. 2007.

LEI, J.; YU, J.; YU, H.; LIAO, Z.; Composition, cytotoxicity and antimicrobial activity of essential oil from *Dictamnus dasycarpus*. *Food Chemistry*, v.107, p.1205, 1209, 2008.

LEMONICA I.P.; ALVARENGA, C.M.D. Abortive and teratogenic effect of *Acanthospermum hispidum* DC. and *Cajanus cajan* (L.) Millps. in pregnant rats. *Journal of Ethnopharmacology*, v.43, p.39-44, 1994.

LIMA, E.O.; GOMPERTZ, O.F.; MARÇAL, PAULO, M.Q.; GIESBRECHT, A.M. *In vitro* antifungal activity of essential oils against clinical isolates of dermatophytes. *Revista de Microbiologia*, v.23, n.4, p.235-238, 1992.

LIMA, I.O.; OLIVEIRA, R.A.G.; LIMA, E.O.; FARIAS, N.M.P.; SOUZA, E.L. Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre espécies de *Candida*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.16, n.2, p.197-201, abr./jun., 2006.

LIMA, M.R.; LUNA, J.S.; SANTOSM, A.F.; ANDRADE, M.C.C., SANT'ANA, A.E.G.; GENET, J.P.; MARQUEZ, B.; NEUVILLE, L.; MOREAU, N. Anti-bacterial activity of some Brazilian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, v105, p.137-147, 2006.

LISBOA, A.C.C.D; MELLO, I.C.M.; NUNES, R.S.; SANTOS, M.A.; ANTONIOLLI, A.R.; MARÇAL, R.M.; CAVALCANTI, S.C.H. Antinociceptive effect of *Hyptis pectinata* leaves extracts. *Fitoterapia*, v.77, n.6, p.439-442, sep., 2006.

LLOP, A.; TAMARGO, I.; PÉREZ, M.; TORAÑO, G.; RAMIREZ, M.; BRAVO, L.; SOSA, J.; LLANES, R.; MONTORO, E.; BRAVO, J.; BORGES, M. Resistencia a los antimicrobianos y vigilancia microbiológica em Cuba. In: *Resistencia antimicrobiana em las Américas: magnitud del problema y su contención*. Washington D.C.: Pan American Health Org, p.116-123, 2001.

LOGUERCIO, A.P.; BATTISTIN, A.; VARGAS, A.C., HENZEL, A.; WITT, N.M. Atividade antibacteriana de extrato hidro-alcoólico de folhas de jambolão (*Syzygium cumini* (L.) Skells). *Ciência Rural*, v.35, n.2, p.371-376, mar./abr., 2005.

LOPES, A.A.; SALGADO, K.; MARTINELLI, R.; ROCHA, H. Aumento da frequência de resistência à norfloxacin e ciprofloxacina em bactérias isoladas em uroculturas. *Revista da Associação Médica Brasileira*, v.44, n.3, p.196-200, 1998.

MAIA, R.M.; BARBOSA, P.R.; CRUZ, F.G.; ROQUE, N.F.; FASCIO, M. Triterpenos da resina de *Protium heptaphyllum* March (Burseraceae): caracterização em misturas binárias. *Química Nova*, v.23, n.5, p623-626, 2000.

MAHASNEH, A.M.A.; ADEL, M.A.; EL-OQLAH, A.A.B. Antimicrobial activity of extracts of herbal plants used in yhe traditional medicine of Jordan. *Journal of Ethnopharmacology*, v.64, n.3, p. 271-276, 1999.

MALELE, R.S.; MUTAYABARWA, C.K.; MWANGI, J.W.; THOITHI, G.N.; LOPEZ, A.G.; LUCINI, E.I.; ZYGADIO, J.A. Essential oil of *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. From Tanzania: composition and antifungal activity. *Journal of Essential Oil Research*, v.15, n.6, p.438-440, nov./dec., 2003.

MANABE, H.; SAKAGAMI, H.; ISHIZONE, H.; KUSANO, H.; FUJIMAKI, M.; WDA, C.; KOMATSU, N.; NAKASHIMA, H.; MURAKAMI, T.; YAMAMOTO, N. Effects of catuaba extracts on microbial and HIV infection. *In vivo*, v.6, n.2, p.161-165. 1992. Serviço de Referência. Disponível em: < <http://grande.nal.usda.gov> > Acesso em: 04 dez. 2007.

MARQUES, E.B. *Estudo da formação de biofilme em superfície abióticas: influência de cátions divalentes e a ocorrência de determinantes de virulência em amostras clínicas de Enterococcus faecalis*. 2004. Dissertação (Mestrado em Microbiologia). Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2004.

MARTÍNEZ, M.J.; BETANCOURT, J.; ALONSO-GONZÁLEZ, N.; JAUREGUI, A. Screening of some Cuban medicinal plants for antimicrobial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, v.53, n.3, p.171-174, 1996.

MARTINS, F.T.; SANTOS, M.H.; POLO, M.; BARBOSA, L.C.A. Variação química do óleo essencial de *Hyptis suaveolens* (L.) Poit., sob condições de cultivo. *Química Nova*, v.29, n.6, p.1203-1209, 2006.

MATKOWSKI, A.; PIOTROWSKA, M. Antioxidant and free radical scavenging activities of some medicinal plants from the Lamiaceae. *Fitoterapia*, v.77, p.346-353, 2006.

McLAUGHLIN, J.L.; CHANG, C-J.; SMITH, D.L. In: *Studies in Natural Products*, v.9, Ed. Atta-ur-Rahman, Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, p.383-409, 1991.

MENEZES, E.A.; NASCIMENTO, K.M.; SOARES, K.P.; AMORIN, L.N.; LIMA NETO, J.G.; CUNHA, F.A. Avaliação da atividade in vitro do meropenem contra cepas de *Klebsiella pneumoniae* produtoras de betalactamases de espectro expandido isoladas na cidade de Fortaleza, Ceará. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v.40, n.3, p.349-350, mai./jun., 2007.

MENEZES, E.A.; SANTOS, S.A.; MONTEIRO, M.N.R.; PARENTE, T.M.L.; FREIRE, C.C.F.; FLORÊNCIO, M.R.V. Frequência de candidíase na mucosa bucal de pacientes portadores de SIDA na cidade de Fortaleza, Ceará. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*, v.34, n.1, p.47-49, 2002.

MENEZES, I.A.C.; MARQUES, M.S.; SNTOS, T.C.; DIAS, K.S.; SILVA, A.B.L.; MELLO, I.C.M.; LISBOA, A.C.C.D.; ALVES, P.B.; CAVALCANTI, S.C.H.; MARÇAL, R.M.; ANTONIOLLI, A.R. Antinociceptive effect and acute toxicity of the essential oil of *Hyptis fruticosa* in mice. *Fitoterapia*, v.78, p.192-195, 2007.

MEYER, B. N.; FERRIGNI, N. R.; PUTNAM, J. E.; JACOBSEN, L. B.; NICHOLS, D. E.; MCLAUGHLIN, J. L. Brine shrimp – a convenient general bioassay for active-plant constituents. *Planta Medica*, v.45, p.31-34, 1982.

MEYER, S.T.; SILVA, A.F.; MARCO JÚNIOR, P.; MEIRA NETO, J.A. Composição florística da vegetação de um trecho de floresta de galeria do Parque Estadual do Rola-Moça na Região Metropolitana de Belo Horizonte, MG, Brasil. *Acta Botânica Brasileira*, v.18, n.4, p.701-709, 2004.

MIMS, C.; PLAYFAIR, J.; ROITT, I.; WAKELIND, D.; WILLIAMS, R. *Microbiologia Médica*. 2 ed. São Paulo: Manole, 1999.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. *Consenso sobre o uso racional de antimicrobianos*. Brasília: 1998.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. *Terapias aliadas à medicina convencional são regulamentadas no SUS*. Brasília. Serviço de Referência. Disponível em: <<http://www.saude.gov.br>> Acesso em: 04 dez. 2007.

MIRANDA, E.T.; SILVA, R.A.M.; FUSCO-ALMEIDA, A.M.; MELHEM, M.C.S.; PUKINSKAS, S.R.B.S.; MENDES-GIANNINI, M.J.S. Epidemiologia de candidíase hospitalar: importância da identificação específica. *Revista Ciências Farmacêuticas*, v.24, n.1, p.39-45, 2003.

MITSCHER, L.A.; BEAL, J.L.; BATHALA, M.S. Antimicrobial agents from higher plants. 1. Introduction, rationale, and methodology. *Lloydia*, v. 35,157-161, 1972.

MOCCELINI S. K. et al. Estudo químico e avaliação da atividade antimicrobiana de *Zanthoxylum rigidum* Humb Et Bompl. In: XVII SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 2002, Cuiabá. *Anais...* Cuiabá. p.52.

MOREIRA, F.P.M.; COUTINHO, V.; MONTANHER, A.B.P.; CARO, M.S.B.; BRIGHENTE, I.M.C.; PIZZOLATTI, M.G. Flavonóides e triterpenos de *Baccharis pseudotenuifolia* – Bioatividade sobre *Artemia salina*. *Química Nova*, v.26, n.3, p.309-311, 2003.

MUKHERJEE, K.S.; MUKHERJEE, R.K.; GHOSH, P.K. Chemistry of *Hyptis suaveolens*: a pentacyclic triterpene. *Journal of Natural Products*, v.47, n.2, p.377-378, mar./apr., 1984.

MURRAY, P.R.; ROSENTHAL, K.S.; KOBAYASHI, G.S.; PFALLER, M.A. *Microbiologia Médica*. 4 ed., Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 604p, 2002.

NANTITANON, W.; CHOWWANAPHOONPOHN, S.; OKOOGI, S. Antioxidant and antimicrobial activities of *Hyptis suaveolens* essential oil. *Scentia Pharmaceutica*, v.75, n.1, p.35-46, 2007.

NAPOLITANO, D.R. et al. Down-modulation of nitric oxide production in murine macrophages treated with crude plant extracts from the Brazilian Cerrado. *Journal of Ethnopharmacology*, v.99, p. 37-41, 2005.

NASCIMENTO, G.G.F.; LOCATELLI, J.; FREITAS, P.C.; SILVA, G.L. Antibacterial activity of plants extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. *Brazilian Journal of Microbiology*, v.31, n.4, p.247-256, 2000.

NASSARALLA, B.R.A. Guia para a prevenção da resistência antimicrobiana em hospitais: artigo comentado. *Revista Patologia Tropical*, v.26, n.2, p.173-177, jul./dez., 1997.

NAVARRO, M.C.; VILLARREAL, M.L.; ROJAS, G.; XAVIERB, L. Antimicrobial evaluation of some plants used in Mexican tradicional medicine for the treatment of infectious diseases. *Journal of Ethnopharmacology*, v.53, n.3, p. 143-146, 1996.

NAVARRO, M.C.; MONTILLA, M.P.; CABO, M.M.; GALISTEO, M.; L, A.; MORALES, C.; BERGER, I. Antibacterial, antiprotozoal and antioxidant activity of five plants used in Izabal for infectious diseases. *Phytotherapy Research*, v.17, n.4, p.325-329, 2003.

NCCLS - NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. *Método de referência para testes de diluição em caldo para a determinação da sensibilidade a terapia antifúngica das leveduras*: Norma Aprovada. 2ed. Norma M27-A2 do NCCLS, v.22, n.15, Pennsylvania, Estados Unidos, 2002.

NCCLS - NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. *Método de referência para testes de sensibilidade a agentes antimicrobianos por diluição para bactérias de crescimento aeróbio*: norma Aprovada. 6ed. Norma M7-A6 do NCCLS, v.22, n.15, Pennsylvania, Estados Unidos, 2003.

NEWMAN, D.J.; CRAGG, G.M. Natural products as source of new drugs over the last 25 years. *Journal of Natural Products*, v.70, p. 461-477, 2007.

NEWMAN, D.J.; CRAGG, G.M.; SNADER, K.M. Natural products as source of new drugs over the period 1981-2002. *Journal of Natural Products*, v.66, p. 1022-1037, 2003.

NIKAIDO, H. Outer membrane barrier as a mechanism of antimicrobial resistance. *Antimicrobial Agents Chemoteraphy*, v.33, p.1831-1836, 1989.

NODARSE HERNANDEZ, R. Evaluación de la resistência bacteriana in vitro durante 13 años em uma instituição. *Revista Cubana de Medicina Militar*, v.33, n.1, 2004. Serviço de Referência. Disponível em: <<http://www.scielo.cl>>. Acesso em: 03 dez. 2007.

NOGUEIRA, C.M.D.; MORAIS, N.M.T.; LOPES, M.F.G.; CAVALCANTE DE SÁ, M.J.H. Análises químicas de plantas medicinais. *Revista Brasileira de Farmácia*, v.77, n.1, p.5-6, 1996.

NOLDIN, V.F.; CHECHINEL FILHO, V.; MONACHE, F.D.; BENASSI, J.C.; CHRISTMANN, I.L.; PEDROSA, R.C.; YUNES, R.A. Composição química e atividades biológicas das folhas de *Cynara scolymus* L. (Alcachofra) cultivada no Brasil. *Química Nova*, v.26, n.3, p.331-334, 2003.

NORRBY, S.R.; NORD, C.E.; FINCK, R. Lack of development of new antimicrobial drigs: a potential serious threat to public health. *Infectious diseases*, v.5, n.2, p.115-119, 2005.

NOVELO, M.; CRUZ, J.G.; HERNÁNDEZ, L.; PEREDA-MIRANDA, R. Cytotoxic constituents from *Hyptis verticillata*. *Journal of Natural Products*, v.56, n.10, p.1728-1736, 1993.

OLIVA, M.M.; DEMO, M.S; LOPES, A.G.; LOPEZ, M.L.; ZYGAD, J.A.; Antimicrobial activity and composition of *Hyptis mutabilis* essential oil. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, v.11, n.4, p.57-63, 2005.

OLIVA, M.M.; GALUCCI, N.; ZYGADLO, J.A.; DEMO, M.S. Cytotoxic activity of Argentinean essential oils on *Artemia salina*. *Pharmaceutical Biology*, v.45, n.4, p.259-262, 2007.

OLIVEIRA, C.M.A.; SILVA, M.R.R.; KATO, L.; SILVA, C.C., FERREIRA, H.D.; SOUZA, L.K.H. Chemical composition and antifungal activity of the essential oil of *Hyptis ovalifolia* Benth. (Lamiaceae). *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v.15, n.5, p.756-759, 2004.

OLIVEIRA, M.J.; CAMPOS, I.F.P.; OLIVEIRA, C.B.A.; SANTOS, M.R.; SOUZA, P.S.; SANTOS, S.C.; SERAPHIN, J.C.; FERRI, P.H. Influence of growth phase on the essential oil composition of *Hyptis suaveolens*. *Biochemical Systematics and Ecology*, n.33, p.275-285, 2005.

PAGE, C.; CURTIS, M.; SUTTER, M.; WALKER, M.; HOFFMAN, B. Tratamento das infecções fúngicas. In: *Farmacologia Integrada*. 1 ed., São Paulo: Manole, p.479-486, 1999.

PAGNO, T.; BLIND, L.Z.; BIAVATTI, M.W.; KREUGER, M.R.O. Cytotoxic activity of the dichloromethane fraction from *Vernonia scorpioides* (Lam.) Pers. (Asteraceae) against Ehrlich's tumor cells in mice. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, v.39, n.11, p.1483-1491, nov., 2006.

PECORA, J.D.; GUERISOLI, D.M.Z.; ESTRELA, C. *Características da citologia bacteriana*. Publicação on line, 1997. Serviço de Referência. Disponível em: <<http://www.forp.usp.br/restauradora/calcio/citolog.htm>> Acesso em: 12 dez. 2007.

PEREDA-MIRANDA, R.; FRAGOSO-SERRANO, M.; CERDA-GARCÍA-ROJAS, C.M. Application of molecular mechanics in the total stereochemical elucidation of spicigerolide, a cytotoxic 6-tetraacetyl-oxyheptenyl-5,6-dihydro- α -pyrone from *Hyptis spicigera*. *Tetrahedron*, n.57, p.47-53, 2001.

PEREDA-MIRANDA, R.; GARCÍA, M.; DELGADO, G. Structure and stereochemistry of four α -pyrones from *Hyptis oblongifolia*. *Phytochemistry*, v.29, n.9, p.2971-2974, 1990.

PEREDA-MIRANDA, R.; GASCÓN-FIGUEROA, M. Chemistry of *Hyptis mutabilis*: new pentacyclic triterpenoids. *Journal of Natural Products*, v.51, n.5, p. 996-998, set./oct., 1988.

PEREDA-MIRANDA, R.; HERNÁNDEZ, L.; VILLAVICENCIO, M.J.; NOVELO, M.; IBARRA, P.; CHAI, H.; PEZZUTO, J.M. Structure and stereochemistry of pectinolides A-C novel antimicrobial and cytotoxic 5,6-dihydro- α -pyrones from *Hyptis pectinata*. *Journal of Natural Products*, v.56, n.4; p.583-593, apr., 1993.

PERESI, J.T.M.; ALMEIDA, I.A.Z.C.; CARDIGA, E.A.; MARQUES, D.F.; CARNICEL, F.A.; HOFFMANN, F.L. Susceptibilidade antimicrobiana de cepas de *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* spp. Isoladas de alimentos envolvidos em surtos de doenças bacterianas transmitidas por alimentos, ocorridos na região noroeste do Estado de São Paulo, no período de abril de 1990 a dezembro de 2003. Instituto Adolf Lutz. Publicação on line, 2007. Serviço de Referência. Disponível em: <<http://www.ial.sp.gov.br/publicacao/biblioteca>> cesso em: 08 dez. 2007.

PETRONE, R.R.C.B.; BALDASSI, L.; BIDOIA, E. Sensibilidade de *Staphylococcus aureus* aos extratos da *Aristolochia gigantea* Mart. E Zucc. *Arquivos do Instituto de Biologia*, v.71, p.1-749, 2004.

PETROVICK, P.R.; MARQUES, L.C.; DE PAULA, I.C. New rules for phytopharmaceutical drug registration in Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*, v.66, p.51-55, 1998.

PFALLER, M. A.; MESSER, S.A.; COFFMANN, S. Comparison of visual and spectrophotometric methods of MIC, endpoint determinations by using broth microdilution methods of tests five antifungal agents, including the new triazole D0870. *J. Clin. Microbiol.*, v.33, 1094-1097, 1995.

PHONGPAICHIT, S.; SUBHADHIRASAKUL, S.; WATTANAPIROMSAKUL, C. Antifungal activities of extracts from Thai medicinal plants against opportunistic fungal pathogens associated with AIDS patients. *Mycoses*, v.48, p.333-338, 2005.

PIMENTA, L.P.S.; PINTO, G.B.; TAKAHASHI, J.A.; SILVA, L.G.F.; BOAVENTURA, M.A.D. Biological screening of Annonaceous Brazilian Medicinal Plants using *Artemia salina* (Brine Shrimp Test). *Phytomedicine*, v.10, n.2-3, p.209-212, 2003.

PIRES, J.E.P.; FERNANDES, R.M.; FERNANDES, M.Z.L.C.M.; VIANA, G.E.N.; DOURADO, J.C.L.; SOUZA, S.A.A. Determinação da concentração inibitória média (CI₅₀) do extrato aquoso de *Simarouba versicolor*, St Hill sobre a ovipostura do carrapato bovino (*Boophilus microplus*, Canestrine, 1887). *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, v.9, n.4, p.23-26, 2007.

POLONSKI, J.; VARON, Z.; JACQUEMIN, H; PETTIT, G.R. The isolation and structure of 13,18-dihydroglauucarubinone, a new antineoplastic quassinoid from *Simarouba amara*. *Experientia*, v.34, p.1122-1123, 1978.

POZO, X.; GIMENEZ, A. Biodirected analysis of *Simarouba amara* (Simaroubaceae) using the *Artemia salina* bioassay. *Revista Boliviana de Química*, v.15, n.1, p.52, 1998.

PRABHAKAR, P.; CHERIAN, B.; SWANSTON, W.H.; BRATHWAITE, A.; WHITEBOURNE, F.; GRUPO DE VIGILANCIA DE LA RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DEL CARIBE. Resistencia a los antimicrobianos em el Caribe. In: *Resistencia antimicrobiana em las Américas: magnitud del problema y su contención*. Washington D.C.: Pan American Health Org, p.124-140, 2001.

PRADO, V.J.; TRUCCO, O.A.; DURÁN, C.T.; MAMANI, R.J.; ROYER, M.F. Perfil de resistência a los antimicrobianos em agentes causantes de infección del tracto urinário em niños chilenos. *Revista Médica do Chile*, v.129, n.8, 2001. Serviço de Referência. Disponível em: <<http://www.scielo.cl>>. Acesso em: 12 dez. 2007.

QUIGNARD, E.L.J.; NUNOMURA, S.M.; POHLIT, A.M.; ALECRIM, A.M.; SILVA PINTO, A.C.; PORTELA, C.N.; OLIVEIRA, L.C.P.; CASTRO DON, L.; ROCHA E SILVA, L.F.; HENRIQUE, M.C.; SANTOS, M.; SOUZA PINTO, P.; SILVA, S.G. Median lethal concentrations of Amazonian plant extracts in the Brine Shrimp Assay. *Pharmaceutical Biology*, v.42, n.3, p.253-257, 2004.

RAHALISON, L.; HAMBURGER, M.; HOSTETTMANN, K.; MONOD, M.; GONZALEZ, A.G. Screening for antifungal activity of Panamanian plants. *International Journal of Pharmacognosia*, v.31, n.1, p.68-76, 1993. Serviço de Referência. Disponível em: <<http://www.cat.inist.fr>> Acesso em: 11 dez. 2007.

RAJA RAO, K.V.; RAO, L.J.M.; PRAKASA RAO, N.S. An A-ring contracted triterpenoid from *Hyptis suaveolens*. *Phytochemistry*, v.29, n.4, p.1326-1329, 1990.

RAMIREZ, I.; JIMNEZ, D.; BAHSAS, A.; JIMENEZ, M. Phytochemical study and evaluation of the toxicity of the resin of *Protium heptaphyllum* (Aubl.) March. *Revista Latinoamericana de Química*, v.32, n.2, p.56-60, 2004.

REYD, K.A.; JÄGER, A.K.; LIGHT, M.E.; MULHOLLAND, D.A.; VAN STADEN, J. Phytochemical and pharmacological screening of *Sterculiaceae* species and isolation of antibacterial compounds. *Journal of Ethnopharmacology*, v.97, p.285-291, 2005.

RIBEIRO, A.Q.; LEITE, J.P.V.; DANTAS-BARROS, A.M. Perfil da utilização de fitoterápicos em farmácias comunitárias de Belo Horizonte sob a influência da legislação nacional. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.15, n.1, p.65-70, jan./mar., 2005.

RIPOLL-LOZANO, M.Á. Con los antibióticos no se juega. *Medicina general*, v.42, p.167-168, 2002.

RIVERO-CRUZ, J.F.; LEZUTEKONG, R.; LOBO-ECHEVERRI, T.; ITO, A.; MI, Q.; CHAI, H.B.; SOEJARTO, D.D.; CORDELL, G.A.; PEZZUTO, J.M.; SWANSON, S.M.; ORELLI, I.; KINGHORN, A.D. Cytotoxic constituents of the twigs of *Simarouba glauca* collected from a plot in Southern Florida. *Phytotherapy Research*, v.19, n.2, p.136-140, 2005.

ROCHA, A.F.N. *Desafios para o desenvolvimento de fitomedicamentos no Brasil no contexto da indústria farmacêutica*. 2004. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública). Escola Nacional de Saúde Pública, Rio de Janeiro, 2004.

ROCHA, C.T.V.; CARVALHO, D.A.; FONTES, M.A.; OLIVEIRA FILHO, A.T.; VAN DEN BERG, E.; MARQUES, J.J.G.S.M. Comunidade arbórea de um *continuum* entre floresta paludosa e de encosta em Coqueiral, Minas Gerais, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica*, v.28, n.2, p.203-218, 2005.

ROCHA, J.C.B.; PEDROCHI, F.; HERNANDES, L.; MELLO, J.C.P.; BAESSO, M.L. Ex vivo evaluation of the percutaneous penetration of proanthocyanidin extracts from *Guazuma ulmifolia* using photoacoustic spectroscopy. *Analytica Chimica Acta*, v.58, p. 132-136, 2007.

RODRIGUES, G. Fitomedicamentos têm notável expansão mercadológica. *Phytociência - Aché*, n.1, p.1, 2007. Serviço de Referência. Disponível em: <<http://www.ache.com.br>> Acesso em: 04 dez. 2007.

ROSAS, L.V.; CORDEIRO, M.S.C.; CAMPOS, F.R.; NASCIMENTO, S.K.R.; JANUÁRIO, A.H.; FRANÇA, S.C.; NOMIZO, A.; TOLDO, M.P.A.; ALBUQUERQUE, S.; PEREIRA, P.S. In vitro evaluation of the cytotoxic and trypanocidal activities of *Ampelozizyphus amazonicus* (Rhamnaceae). *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, v.40, n.5, p.6630670, 2007.

ROSSI, A.; GALAS, M.; TOKUMOTO, M.; GUELFAND, L.; RED NACIONAL LABORATÓRIOS WHONET-ARGENTINA. Red de laboratórios para la vigilancia de la resistencia a los antimicrobianos. In: *Resistencia antimicrobiana em las Américas: magnitude del problema y su contención*. Washington D.C.: Pan American Health Org, p.84-95, 2001.

ROZMAN, V.; KALINOVIC, I.; KORUNIC, Z. Toxicity of naturally occurring compounds of Lamiaceae and Lauraceae to three stored-product insects. *Journal of Stored Products Research*, v.43, p. 349-355, 2007.

RÜDIGER, A.L.; SIANI, A.C.; VEIGA JÚNIOR, V.F. The chemistry and pharmacology of the South America genus *Protium* Burm. F. (Burseraceae). *Pharmacognosy Reviews*. V.1, n.1, p.93-104, 2007. Serviço de Referência. Disponível em: < <http://www.phcogrew.com> > Acesso em: 05 dez. 2007.

SADER, H.S.; GALES, A.C.; PFALLER, M.A.; MENDES, R.E.; ZOCCOLI, C.; BARTH, A.; JONES, R.N. Pathogen frequency and resistance patterns in brazilian hospitals: summary of results from three years of the SENTRY antimicrobial surveillance program. *Brazilian Journal of Infections Diseases*, v.5, n.4, p.200-214, aug., 2001.

SANNOMIYA, M.; CARDOSO, C.R.P.; FIGUEIREDO, M.E.; RODRIGUES, C.M.; SANTOS, L.C., SANTOS, F.V.; SERPELONI, J.M.; CÔLUS, I.M.S.; VILEGAS, W.; VARANDA, E.A. Mutagenic evaluation and chemical investigation of *Byrsonima intermedia* A. Juss. Leaf extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, v.112, n.2, p.319-326, 2007.

SANTOS, A.F.; ZEVEDO, D.P.L.; SANTOS MATA, R.C.; DINIS DE MENDONÇA, D.I.M.; SANT'ANA, A.E.G. The lethality of *Euphorbia conspícua* to adults of *Biomphalaria glabrata*, cercaria of *Schistosoma mansoni* and larvae of *Artemia salina*. *Bioresource Technology*, v.98, n.1, p.135-139, 2007.

SANTOS, C.C.; LIMA, M.A.S.; SILVEIRA, E.R. Micromolecular secondary metabolites of *Erythroxylum barbatum*. *Biochemical Systematics and Ecology*, v.31, p.661-664, 2003.

SANTOS, T.C.; MARQUES, M.S.; MENEZES, I.A.C.; DIAS, K.S.; SILVA, A.B.L.; MELLO, I.C.M.; CARVALHO, A.C.S.; CAVALCANTI, S.C.H.; ANTONIOLLI, A.R.; MARÇAL, R.M. Antinociceptive effect and toxicity of the *Hyptis suaveolens* leaves aqueous extract on mice. *Fitoterapia*, v. 78, p.333-336, 2007.

SANTOS, T.C.; TOMASSINI, T.C.B.; CABRAL, L.M. Estudos preliminares sobre a constituição química e atividade antimicrobiana de *Mikania glomerata* Sprengel. *Revista Brasileira de Farmácia*, v.79, n.4, p.54-55, 1998.

SARTORI, M.R.K.; PRETTO, J.B.; CRUZ, A.B.; BRESCIANI, L.F.V.; YUNES, R.A.; SORTINO, M.; ZACHINO, S.A.; CECHINEL FILHO, V. Antifungal activity of fractions and two pure compounds of flowers from *Wedelia paludosa* (*Acmela brasiliense*) (ASTEARACEAE). *Pharmazie*, v.58, n.8, p.567-569, 2003.

SATOH, M.; SATOH, Y.; FUJIMOTO, Y. Cytotoxic constituents from *Erythroxylum catuaba*, isolation and cytotoxic activities of cinchonain. *Natural Medicine*, v.54, n.2, p.97-100, 2000.

SCHAECHTER, M.; ENGLEBERG, N.C.; EISENSTEIN, B.I.; MEDOFF, G. *Microbiologia: Mecanismos das doenças infecciosas*. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002, 642p.

SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; PETROVICK, P.R. Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos. In: *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 2 ed. Porto Alegre: UFSC, 2000.

SEIGLER, D.S.; PAULI, G.F.; FRÖLICH, R.; WEGELIUS, E.; NAHRSDT, A.; GLANDER, K.E.; EBINGER, J.E. Cyanogenic glycosides and menisdaurin from *Guazuma ulmifolia*, *Ostrya virginiana*, *Tiquila plicata*, and *Tiquilia canescens*. *Phytochemistry*, v.66, p.1567-1580, 2005.

SENA-FILHO, J.G.; MELO, J.G.S.; SARAIVA, A.M.; GONÇALVES, A.M.; PSIOTTANO, M.N.C.; XAVIER, H.S. Antimicrobial activity and phytochemical profile from the roots of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.16, n.4, p.506-509, out./dez., 2006.

SIANI, A.C.; RAMOS, M.F.S.; MENEZES-DE-LIMA, O.; RIBEIRO-DOS-SANTOS, R.; FERNANDEZ-FERREIRA, E.; SOARES, R.O.A.; SUSUNAGA, G.S.; GUIMARÃES, A.C.; ZOGHBI, M.G.B.; HENRIQUES, M.G.M.O. Evaluation of anti-inflammatory-related activity of essential oils from the leaves and resin of species of *Protium*. *Journal of Ethnopharmacology*, v.66, p.57-69, 1999.

SILVA, A.B.L.; DIAS, K.S.; MARQUES, M.S.; MENEZES, I.A.C.; SANTOS, T.C.; MELLO, I.C.M.; LISBOA, A.C.C.D.; CAVALCANTI, S.C.H.; MARÇAL, R.M.; ANTONIOLLI, A.R. Avaliação do efeito antinociceptivo e da toxicidade aguda do extrato aquoso da *Hyptis fruticosa* Salmz. Ex Benth. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.16, n.4, p.475-479, out./dez., 2006

SILVEIRA, G.P.; NOME, F.; GESSER, J.C.; MANDOLESI SÁ, M.; TEREZINI, H. Estratégias utilizadas no combate a resistência bacteriana. *Química Nova*, v.29, n.4, p.844-855, 2006.

SIMOTE, S.Y.; GOMES, F.; FERNANDES, J.B.; VIEIRA, P.C.; SILVA, M.F.G.F.; BUENO, O.C. Estudo fitoquímico de *Simarouba versicolor* associado ao controle de formigas cortadeiras. In: XXVI REUNIÃO ANUAL SOBRE EVOLUÇÃO, SISTEMÁTICA E ECOLOGIA MICROMOLECULARES, 2004, Rio de Janeiro. *Anais...* Rio de Janeiro, 2004, p36.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. *Farmacognosia – da planta ao medicamento*. 2 ed., Porto Alegre: UFSC, 2000.

SIQUEIRA, J.M.; BOMM, M.D.; PEREIRA, N.F.G.; GARCEZ, W.S.; BOAVENTURA, M.A.D. Estudo fitoquímico de *Unonopsis lindmanii* – Annonaceae, biomonitorado pelo ensaio de toxicidade sobre a *Artemia salina* Leach. *Química Nova*, v.21, n.5, p.557-559, 1998.

SMITH, D.L.; HARRIS, A.D.; JOHNSON, J.A.; SILBERGELD, E.K.; MORRIS JR, J.G. Animal antibiotic use has an early but important impact on the emergence of antibiotic resistance in human commensal bacteria. *National Academy Sciences*. Publicação *on line*,

2002. Serviço de Referência. Disponível em: <<http://www.pnas.org>> Acesso em: 03 dez. 2007.

SMITH, R.D.; COAST, J. Antimicrobial resistance: a global response. *Bulletin of the World Health Organization*, v.80, n.2, 2002.

SOMAVILLA, N.S. *Utilização de plantas medicinais por uma comunidade garimpeira do sudoeste mato-grossense*. 1998. Dissertação (Mestrado em Saúde e Ambiente) Instituto de Saúde Coletiva, Universidade Federal do Mato Grosso, Cuiabá, 1998.

SOUZA, C.A.S.; AVANCINI, C.A.M.; WIEST, J.M. Atividade antimicrobiana de *Tagetes minuta* L. – Compositae (Chinchilho) frente a bactérias gram-positivas e gram-negativas. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.37, n.6; 2000. Serviço de Referência. Disponível em: <<http://www.scielo.cl>>. Acesso em: 03 dez. 2007.

SOUZA, L.K.H.; OLIVEIRA, C.M.A.; FERRI, P.H.; OLIVEIRA, J.G.; SOUZA, A.H. Antimicrobial activity of *Hyptis ovalifolia* towards dermatophytes. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.87, n.7, p.963-965, oct., 2003.

SOUZA, L.K.H.; OLIVEIRA, C.M.A.; FERRI, P.H.; SANTOS, S.C.; OLIVEIRA JÚNIOR, J.G.; MIRANDA, A.T.B.; LIÃO, L.M.; SILVA, M.R.R. Antifungal properties of Brazilian cerrado plants. *Brazilian Journal of Microbiology* v. 33, n. 3, p. 247-249, jul./set. 2002.

SOUZA, C.D.; FELFINI, J.A. Uso de plantas medicinais na região de Alto Paraíso de Goiás, GO, Brasil. *Acta Botânica Brasileira*, v.20, n.1, p.135-142, 2006.

SPIRANDELLO, W.P., RIBEIRO, G.T.; ALVARES, J.O. Correlação entre o uso de quimioterápicos anti-infecciosos e mortalidade. *Revista da Associação Médica do Rio Grande do Sul*, v.49, n.3, p.137-216, jul./set., 2005.

STEFANELLO, M.E.; SALVADOR, M.J.; ITO, I.Y.; MACARI, P.A.T. Avaliação da atividade antimicrobiana e citotóxica de extratos de *Gochnatia polymorpha* ssp *flosca*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.16, n.4, p.525-530, out./dez., 2006.

SUFFREDINI, I.B. As bases fisiológicas do câncer e a pesquisa de novos antineoplásicos: a importância da biodiversidade brasileira. *Revista do Instituto de Ciências da Saúde*, v.20, n.2, p.103-115, jul./dez., 2002.

SUFFREDINI, I.B.; PACIENCIA, M.L.B.; FRANA, S.A.; VARELLA, A.D.; YOUNES, R.N. *In vitro* breast cancer cell lethality of Brazilian plant extracts. *Pharmazie*, v.62, n.10, p.798-800, 2007. Serviço de Referência. Disponível em: <<http://www.pubmed.gov>>. Acesso em: 10 jan. 2008.

SUFFREDINI, I.B.; PACIENCIA, M.L.B.; NEPOMUCENO, D.C.; YOUNES, R.N.; VARELLA, A.D. Antibacterial and cytotoxic activity of Brazilian plant extracts – Clusiaceae. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.101, n.3, p.287-290, 2006.

SUFFREDINI, I.B.; PACIENCIA, M.L.B.; VARELLA, A.D.; YOUNES, R.N. *In vitro* cytotoxic activity of Brazilian plant extracts against human lung, colon and CNS solid cancers and leukemia. *Fitoterapia*, v.78, n.3, p.223-226, 2007.

SUFFREDINI, I.B.; VARELLA, A.D.; YOUNES, R.N. Cytotoxic molecules from natural sources: tapping the Brazilian biodiversity. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, v.6, n.9, p.367-375, 2006. Serviço de Referência. Disponível em: <<http://www.ingentaconnect.com>>. Acesso em: 10 jan. 2008.

SUSUNAGA, G.S.; SIANI, A.C.; PIZZOLATTI, M.G.; YUNES, R.A.; MONACHE, F.D. Triterpenes from the resin of *Protium heptaphyllum*. *Fitoterapia*, v.72, p.709-711, 2001.
TANOWITZ, B.D.; JUNAK, S.A.; SMITH, D.M. Terpenoids of *Hyptis emory*. *Journal of Natural Products*, v.47, n.4, 739-740, 1984.

TAVARES, W. Bactérias gram-positivas problemas: resistência do estafilococo, do enterococo e do pneumococo aos antimicrobianos. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v.33, n.3, p.281,301, mai./jun., 2000.

TORRES, J.C.N.; MENEZES, E.A.; ANGELO, M.R.F.; OLIVEIRA, I.R.N.; SALVIANO, M.N.C.; XAVIER, D.E.; SANTOS FILHO, L. Cepas de *Pseudomonas* spp. Produtoras de metalo-betatalactamase isoladas no Hospital Geral de Fortaleza. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, v.42, n.5, p.313-319, 2006. Serviço de Referência. Disponível em: <<http://www.scielo.cl>>. Acesso em: 03 dez. 2007.

TRABULSI, L.R.; ALTHERTHUM, F.; GOMPERTZ, O.F.; CANDEIAS, J.A.N. *Microbiologia*. 3 ed. São Paulo: Atheneu, 1999.

URONES, J.G.; MARCOS, I.S.; DIEZ, D.; CUBILLA, L.R. Tricyclic diterpenes from *Hyptis dilatata*. *Phytochemistry*, v.48, n.6, p.1035-1038, 1998

VALENZUELA, E.F.; MALDONADO, C.S.; PAREDES, J.G. Actividade antifúngica de quitosano carbamato de etilo em *Candida albicans*. *Boletín Micológico*, v.18, p.105-110, dec., 2003.

VAN BAMBEKE, F.; MICHOT, J.M.; TULKENS, P.M. Antibiotic efflux pumps in eukaryotic cells: occurrence and impact on antibiotic cellular pharmacokinetics, pharmacodynamics and toxicodynamics. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, v.51, p.1067-077, 2003.

VEIGA JÚNIOR, V.; PINTO, A.C.; MACIEL, M.A.M. Plantas medicinais: cura segura? *Química Nova*, v.28, n.3, p.519-528, 2005.

VIEIRA-JÚNIOR, G.M.; SOUZA, C.M.L.; CHAVES, M.H. Resina de *Protium heptaphyllum*: isolamento, caracterização estrutural e avaliação das propriedades térmicas. *Química Nova*, v.28, n.2, p.183-187, 2005.

VILARINO, J.F.; SOARES, I.C.; SILVEIRA, C.M.; RÖDEL, P.P.; BORTOLI, R.; LEMOS, R.R. Perfil da automedicação em município do sul do Brasil. *Revista de Saúde Pública*, v.32, n.1, p.43-49, 1998. Serviço de Referência. Disponível em: <<http://www.scielo.cl>>. Acesso em: 04 dez. 2007.

VILLAS BÔAS, G.K.; GADELHA, C.A.G. Oportunidades na indústria de medicamentos e a lógica do desenvolvimento local baseado nos biomas brasileiros: bases para a discussão de uma política nacional. *Cadernos de Saúde Pública*, v.23, n.6, p.1463-1471, jan./jun., 2007.

VIOLANTE, I.M.P. et al. Atividade Antimicrobiana e abordagem fitoquímica de *Lafoensia pacari*. In: XVIII SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 2004, Manaus. *Anais...Manaus: INPA e FDB*. p.84.

VIKSVEEN, P. Antibiotics and the development of resistant microorganisms. Can homeopathy be an alternative? *Homeopathy*, v.92, n.2, p.99-107, apr., 2003.

VUADEN, E.R.; ALBUQUERQUE, M.C.F.; COELHO, M.F.B.; MENDONÇA, A.F. Germination and morphology of *Hyptis cana* Pohl (Lamaceae) seeds and seedlings. *Revista Brasileira de Sementes*, Pelotas, v. 27, n. 2, p.1-5, dec. 2005.

YASUNAKA, K.; ABE, F.; NAGAYAMA, A.; OKABE, H.; LOZADA-PÉREZ, L.; LÓPEZ-VILLAFRANCO, E.; MUÑIZ, E.E.; AGUILAR, A.; REYES-CHILPA, R. Antibacterial activity of crude extracts from Mexican medicinal plants and purified coumarins and xanthenes. *Journal of Ethnopharmacology*, v.97, n.3, p.293-299, 2005.

YUNES, R.A.; CALIXTO, J.A. *Plantas Medicinais sob a ótica da moderna química medicinal*. Chapecó: Argos, 2001.

YUNES, R.A.; CECHINEL FILHO, V. Breve análise histórica de plantas medicinais: sua importância na atual concepção de fármaco segundo os paradigmas ocidental e oriental. In: *Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna*. Chapecó: Argos, p.17-46, 2001.

WEEKS, A. DALY, D.C.; SIMPSON, B.B. The phylogenetic history and biogeography of the frankincense and myrrh family (Burseraceae) based on nuclear and chloroplast sequence data. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, v.35, p.85-101, 2005. Serviço de Referência. Disponível em: <<http://www.sciencedirect>> Acesso em: 11 dez. 2007.

WECKESSER, S.; ENGEL, K.; SIMON-HAARHANS, B.; WITTMER, A.; PELZ, K.; SCHEMP, C.M. Screening of plant extracts for antimicrobial activity against bacteria and yeasts with dermatological relevance. *Phytomedicine*, v.14, n.7-8, p.508-516, 2007.

WHO - World Health Organization. *Bulletin of the World Health Organization. Regulatory situation of herbal medicines*. A worldwide review, Geneva, 1998. [on line]. Serviço de Referência. Disponível em <<http://www.abifisa.gov.br>> Acesso em: 05 dez. 2007.

WHO - World Health Organization. Declaration of Alma-Ata. *International Conference on Primary Health Care*, Alma-Ata, USSR, 6-12. September, 1998. [on line]. Serviço de Referência. Disponível em World Web www.who.int/hpr/NPH/docs/declarationalmaata.pdf. Acesso em 04 dez. 2007.

WHO – World Health Organization. *Interventions and strategies to improve the use of antimicrobials in developing countries: a review*. 2001. [on line]. Serviço de Referência. Disponível em: <<http://www.who.int/drugresistance>> Acesso em: 01 dez. 2007.

WINTERS, G. *Roda de fogo: uma árvore de beleza incomum*. [on line]. Serviço de Referência. Disponível em: < <http://www.centropaisagistico.com.br/planta6.asp> > Acesso em: 11 dez. 2007.

ZACCHINO, S. *Estratégias para a descoberta de novos agentes antifúngicos*. In: YUNNES, R.A.; CALIXTO, J.A. Plantas Medicinais sob a ótica da moderna química medicinal. Chapecó: Argos, p. 47-75, 2001.

ZANETTI, G. D. et al. Atividade antimicrobiana de *Tropaeolum majus* L. In: XVII SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 2002, Cuiabá. *Anais...* Cuiabá. p.40.

ZUANAZZI, J.A.; TREMEA, V.; LIMBERGER, R.P.; SOBRAL, M.; HENRIQUES, A.T. Alkaloids of *Erythroxylum* (Erythroxylaceae) species from Southern Brazil. *Biochemical, Systematics and Ecology*, v.29, p.819-825, 2001.