



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE MEDICINA
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS
LABORATÓRIO DE FARMACOGNOSIA

Fernanda Melo e Silva

POTENCIAL ANTIFÚNGICO DE EXTRATOS DE PLANTAS
MEDICINAIS DO CERRADO BRASILEIRO

Brasília – DF

Junho de 2008

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Fernanda Melo e Silva

**POTENCIAL ANTIFÚNGICO DE EXTRATOS DE PLANTAS
MEDICINAIS DO CERRADO BRASILEIRO**

Dissertação submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Médicas.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Laila Salmen Espíndola

Brasília – DF

Junho de 2008

Esta dissertação foi submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Médicas, outorgado pela Universidade de Brasília.

Fernanda Melo e Silva

Prof^a. Dr^a. Laila Salmen Espíndola

- Orientadora -

Prof^a. Dr^a. Maria do Rosário Rodrigues Silva

Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública - Universidade Federal de Goiás

- Examinador -

Prof. Dr. Alain Fournet

Institut de Recherche pour le Développement - Paris.

- Examinador -

Prof. Dr. José Realino de Paula

Departamento de Tecnologia Farmacêutica - Universidade Federal de Goiás

- Examinador -

Dissertação aprovada em 13 / 06/ 08

A Deus,

AGRADECIMENTOS

Este espaço é dedicado a todos os que participaram direta ou indiretamente e que estiveram ao meu lado durante a realização deste trabalho.

À **Prof^a. Dr^a. Laila Salmen Espíndola**, meus agradecimentos pela orientação, compreensão, confiança e contribuição para evolução do meu saber científico e humanitário.

Ao **Prof. Dr. José Júlio Costa Sidrim**, por seu interesse na construção desse trabalho e por disponibilizar as instalações do Centro Especializado em Micologia Médica (CEMM) sem as quais a realização deste estudo não teria sido possível.

À **Prof^a. Dr^a. Rossana de Aguiar Cordeiro**, ao **Prof. Dr. Marcos Fábio Gadelha Rocha** e à **Prof^a. Dr^a. Raimunda Sâmia Nogueira Brilhante**, pela orientação e sugestões técnico-científicas que em muito contribuíram nos experimentos.

À **Prof^a. Dr^a. Maria do Rosário Rodrigues Silva**, pela disponibilidade e gentileza incontestáveis e pelas importantes sugestões que foram fundamentais para a solidificação dos trabalhos com fungos no Laboratório de Farmacognosia da UnB.

Ao **Prof. Dr. José Realino de Paula** e ao **Dr. Alain Fournet**, por aceitarem gentilmente o convite de integrar essa banca e pelas valiosas sugestões.

Ao **Prof. Dr. Jose Elias de Paula**, pela fundamental atuação no funcionamento do Lab. de Farmacognosia. Agradeço pela coleta das plantas e pelas agradáveis conversas.

Ao **Prof. Dr. Edilberto Rocha Silveira** e sua aluna **Renata**, pela especial acolhida em Fortaleza, pela ajuda e ensinamentos.

Aos **professores, funcionários e estudantes** dos Laboratórios de Parasitologia/FM/UnB, Biologia Molecular de *Trypanossoma cruzi*/FM/UnB, Farmacologia Molecular/FM/UnB, Dermatologicologia/FM/UnB, Imunologia Celular/FM/UnB e EMBRAPA-

CENARGEN, pela paciência e empréstimo de equipamentos e materiais necessários para o bom andamento do trabalho.

Aos queridos amigos do CEMM: **Priscila, Érika, Karol, Manu, Lydia, Patrícia, JJ, Tetê, Raquel, Érika Pacheco, Amanda, Renato, Silviane, Natan, Atualpa**, pelo agradável convívio e ajuda. Gostaria ainda de agradecer pelo acolhimento, pela amizade especial, pela disponibilidade, conselhos, estímulos e, acima de tudo, paciência. A ajuda de vocês foi mais do que decisiva nesse trabalho.

À **Izabel**, por me ajudar com a estatística do trabalho. Obrigada por todas as aulas, pelas dicas e correções. Desculpe-me as várias interrupções da sua hora de almoço.

À **Clarice**, por, pacientemente, me ensinar tudo o que eu precisava e deveria saber, por me mostrar cada método e procedimento. Obrigada pela bondade em repassar seus conhecimentos.

À **Mariana e Lorena**, pela amizade ofertada, pelos conhecimentos, sugestões e idéias. Obrigada pelo carinho dispensado e pelo sorriso nas horas certas.

Ao **Phellipe** e à **Carol**, pela grande ajuda na realização dos testes. Obrigada por poder contar com vocês em todos os momentos, pela motivação e pelos finais de semana cedidos para repicar os fungos ou ler algum resultado. É sempre bom saber que não estamos sozinhos.

Aos amigos do Laboratório de Farmacognosia: **Ellen, Renata, Everton, Aline, Nashira, Ênio, Tathi, Thiago, Jair, Artur, Dani, Karla, Alice**, que fizeram com que desde o primeiro momento me sentisse parte integrante do grupo de trabalho. E a todos os outros que ao longo deste percurso foram entrando para o grupo e que de uma forma ou de outra contribuíram para uma maior motivação e realização deste trabalho. Obrigada pelas conversas, risadas, viagens e, principalmente, compreensão.

Às minhas inseparáveis amigas **Mariana, Maria Fernanda, Maria Isabel e Ana Luísa**, obrigada por existirem. Só de lembrar que meu mundo tem pessoas maravilhosas como vocês, eu já ganho forças para continuar seguindo em frente. Muito obrigada pelo carinho, pelos conselhos e por todos os bons momentos. Também por compartilhar minhas preocupações, maluquices, conquistas e alegrias. Desculpe-me pelas ausências.

Ao meu amado **Leonardo**, por ser meu porto-seguro e minha fonte de inspiração. Obrigada por me apoiar, por torcer pelos resultados, por ir ao campo coletar plantas, por enfrentar comigo todos os obstáculos que surgiram na execução desse trabalho. Obrigada ainda pela paciência e, principalmente, pelo amor incondicional. Desculpe-me pelas ausências.

Ao **Celso, Alzira, Larissa e Marcelo**, por sempre me acolherem tão bem em sua família. Obrigada pelos almoços, pelo acesso à internet e, principalmente, por todo carinho dispensado. Desculpe-me qualquer incômodo.

Aos **meus pais e irmã**, pela compreensão e, acima de tudo, pela paciência. Obrigada pelas conversas, pelo amor, pelo apoio financeiro e por me ensinar que o mais importante na conquista é aprender a superar os problemas. Eu amo vocês!

Pelas vezes em que não agradei, obrigada...

Este trabalho foi realizado graças ao auxílio da bolsa fornecida pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES.

“Bom mesmo é ir à luta com determinação,
abraçar a vida com paixão, perder com classe
e vencer com ousadia, pois o triunfo pertence
a quem se atreve.” (Charles Chaplin)

RESUMO

As limitações terapêuticas, o desenvolvimento de resistência, a toxicidade relacionada a antifúngicos, as significantes interações medicamentosas e a biodisponibilidade insuficiente dos antifúngicos convencionais tornam necessários o desenvolvimento de medicamentos para tratar as novas e emergentes infecções fúngicas. O Cerrado é o segundo maior bioma do Brasil e foi identificado como um dos mais distintos biomas sulamericanos, constituindo uma importante fonte de moléculas vegetais inovadores para diversas condições, incluindo as doenças infecciosas. Dessa forma, o objetivo desse estudo foi avaliar o potencial antifúngico de extratos de plantas do Cerrado utilizadas tradicionalmente para tratar infecções e feridas. Dos 66 extratos testados na concentração de 20 mg/mL, a atividade foi pouco expressiva sobre *Candida albicans* e 17 foram ativos para *Trichophyton rubrum*. Os extratos diclorometânicos da madeira do caule e da madeira da raiz de *Kielmeyera coriacea*, os hexânicos da folha de *Renealmia alpinia* e *Stryphnodendron adstringens* e o diclorometânico da madeira do caule de *Tabebuia caraiba* foram os mais promissores apresentando a média geométrica dos valores da concentração inibitória mínima (CIM) entre 170,39 e 23,23 µg/mL. Esse estudo mostra que extratos de plantas do Cerrado são de particular interesse como fonte de novos agentes para o tratamento de infecções dermatofíticas. Dessa forma, um estudo mais profundo, com isolamento de substâncias e análise sobre outras espécies de dermatófitos, permitiria uma melhor investigação da susceptibilidade desses fungos.

Palavras-chave: Atividade antifúngica, Cerrado, Plantas medicinais, *Trichophyton rubrum*, *Renealmia alpinia*.

ABSTRACT

Therapeutic limitations, development of fungal drug resistances, drug-related toxicity, significant drug interactions and insufficient bioavailability of the conventional antifungal drugs make necessary the development of drugs able to treat the new and emerging fungal infections. The *Cerrado* is the second greater biome of Brazil and it was identified as one of the most distinguished biomes of South America, becoming an important source of innovative vegetal molecules to treat several conditions, including infectious diseases. Thus, the objective of this study is to evaluate the antifungal potential of *Cerrado* plants used to treat infections and wounds. Of the 66 extracts tested in the concentration of 20 mg/ml, none showed relevant activity against *Candida albicans* and 17 were active to *Trichophyton rubrum*. The dicloromethanic extracts of stem wood and root wood of *Kielmeyera coriacea*, the hexanic extracts of the leaves of *Renealmia alpinia* and *Stryphnodendron adstringens*, and the dicloromethanic extracts of stem wood of *Tabebuia caraiba* were the most promising, presenting geometric means of minimal inhibitory concentration (MIC) values between 170.39 and 23.23 µg/ml. The present study shows that extracts of *Cerrado* plants are of particular interesting as source of new agents to the treatment of dermatophytics infections. Therefore, a deeper study, with the isolation of substances and the analysis against other dermatophytes, would allow a better investigation of these fungi susceptibility.

Key-words: Antifungal activity, Cerrado, Medicinal plants, *Trichophyton rubrum*, *Renealmia alpinia*.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Classificação das micoses e exemplos de doenças -----	24
Tabela 2 -	Principais tipos de dermatofitoses e respectivas espécies envolvidas -----	28
Tabela 3 -	Espectro das Candidíases -----	31
Tabela 4 -	Principais espécies de <i>Candida</i> envolvidas em doenças humanas -----	34
Tabela 5 -	Alcalóides com atividade antimicrobiana -----	74
Tabela 6 -	Terpenóides com atividade antimicrobiana -----	75
Tabela 7 -	Flavonóides e outros compostos fenólicos com atividade antimicrobiana -----	78
Tabela 8 -	Plantas nativas e invasoras do Cerrado avaliadas quanto ao potencial antifúngico -----	97
Tabela 9 -	Outras plantas encontradas no Brasil avaliadas quanto ao potencial antifúngico-----	114
Tabela 10 -	Espécies vegetais do Cerrado testadas em fungos patogênicos -----	147
Tabela 11 -	Nome vulgar e uso tradicional das plantas estudadas -----	149
Tabela 12 -	Tempo aproximado de crescimento dos fungos para preparo do inóculo no teste de difusão em ágar -----	154
Tabela 13 -	Tempo aproximado de crescimento dos fungos para preparo do inóculo no teste de microdiluição -----	160
Tabela 14 -	Resultados do teste de difusão em cavidade para os 66 extratos triados -----	167

Tabela 15 - Diluição seriada de extratos ativos sobre <i>Trichophyton rubrum</i> pelo método de difusão em cavidade -----	174
Tabela 16 - Concentração inibitória mínima (CIM) dos 5 extratos ativos sobre diferentes isolados clínicos de <i>T. rubrum</i> pelo método da microdiluição -----	175

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Emergência de espécies de <i>Candida não-albicans</i> -----	33
Figura 2 -	Porcentagem de isolados de infecção sanguínea de hospitais Dos Estados Unidos nos anos de 2002 e 2004 -----	39
Figura 3 -	Evolução histórica dos fármacos antifúngicos -----	43
Figura 4 -	Estrutura química da anfotericina B -----	44
Figura 5 -	Mecanismo de ação da anfotericina B e outros agentes antifúngicos -----	45
Figura 6 -	Estrutura química da nistatina -----	48
Figura 7 -	Estrutura química da flucitosina -----	48
Figura 8 -	Estrutura química dos imidazóis e triazóis -----	50
Figura 9 -	Mecanismo de ação dos derivados imidazólicos -----	51
Figura 10 -	Estrutura química do itraconazol -----	53
Figura 11	Estrutura química do fluconazol -----	54
Figura 12	Triazóis de segunda geração: (a) voriconazol, (b) ravuconazol, (c) posaconazol e (d) albaconazol -----	55
Figura 13 -	Mecanismo de ação do voriconazol -----	56
Figura 14 -	Equinocandinas (a) caspofungina, (b) micafungina e (c) anidulafungina -----	59
Figura 15 -	Mecanismos de ação dos diferentes agentes antifúngicos ----	60
Figura 16 -	Principais mecanismos de resistência dos azóis e polienos ---	62
Figura 17 -	Novos medicamentos originados de microrganismos terrestres. (a) e (e) antifúngicos, (b) antibiótico, (c) imunossupressor, (d) inibidores da redutase da HMG-CoA, (f)	

	antiinflamatório -----	66
Figura 18 -	Novo medicamento, (a) analgésico não-opiíode, e candidatos a medicamento (b), (c) e (d) atividade antitumoral, originados de organismos marinhos -----	67
Figura 19 -	Novos medicamentos derivados de vertebrados e invertebrados terrestres. (a) hipoglicemiante e (b) antiplaquetário -----	68
Figura 20 -	Medicamentos desenvolvidos a partir de estruturas naturais líderes -----	68
Figura 21 -	Entidades químicas disponíveis (1981 a 2002) por fonte (N - produto natural, ND - derivado de produto natural, S - sintético, S* - síntese total a partir de grupos farmacofóricos de produtos naturais) -----	69
Figura 22 -	Exemplos de medicamentos originados de plantas que estão no mercado ou em fases de pesquisa clínica: (a) artéter, (b) galantamina, (c) nitisinona, (d) tiotrópio, (e) morfina-6-glucuronida, (f) vinflunina, (g) exatecana e (h) calanolida A ----	72
Figura 23 -	Distribuição da vegetação do Cerrado no Brasil -----	84
Figura 24 -	Espécies vegetais símbolos do Cerrado (a) araticum, (b) caliandra e (c) árvore de pequi -----	85
Figura 25 -	Gradiente estrutural da vegetação do Cerrado -----	86
Figura 26 -	As 25 áreas conhecidas como <i>hotspots</i> -----	87
Figura 27 -	Representação da estimativa de cobertura vegetal nativa do Cerrado -----	88
Figura 28 -	Plantas do bioma Cerrado relatadas em estudos científicos	

	(a) <i>Stryphnodendron adstringens</i> , (b) <i>Byrsonima verbascifolia</i> , (c) <i>Qualea grandiflora</i> , (d) <i>Hymenaea stigonocarpa</i> , (e) <i>Himatanthus obovatus</i> , (f) <i>Casearia sylvestris</i> -----	96
Figura 29 -	Seqüência de produção dos extratos (a) Identificação e coleta, (b) Separação dos órgãos, dessecação e estabilização, (c) Pulverização, (d) Maceração, (e) Filtração, (f) Concentração, (g) Dessecação, (h) Extrato bruto -----	153
Figura 30 -	Cavidades feitas no Ágar Batata-Dextrose -----	156
Figura 31 -	Preparo do inóculo para fungos filamentosos -----	157
Figura 32 -	Inoculação do microrganismo na placa de Petri -----	158
Figura 33 -	Adição dos extratos na cavidade -----	158
Figura 34 -	Filtração do meio RPMI 1640 tamponado com MOPS -----	161
Figura 35 -	Diluição seriada das amostras -----	163
Figura 36 –	Zonas de inibição de crescimento sobre <i>T. rubrum</i> (CEMM 01-4-021) formadas pelos extratos (a) <i>Kielmeyera coriacea</i> MR, d; (b) <i>Kielmeyera coriacea</i> MC, d; (c) <i>Tabebuia caraiba</i> MC, d; (d) <i>Stryphnodendron adstringens</i> F, h; (e) <i>Renealmia</i> <i>alpinia</i> F, h -----	172
Figura 37 –	Diâmetros dos halos formados pelos diferentes extratos nas concentrações de 5, 10 e 20 mg/mL sobre <i>T. rubrum</i> (CEMM 01-4-021) -----	173
Figura 38 –	Xantonas (2 a 5) e composto bifenílico (1) isolados dos extratos diclorometânicos de folhas e raiz de <i>Kielmeyera</i> <i>coriacea</i> com atividade antifúngica-----	177

ABREVIATURAS

a	Água
ac	Acetona
AIDS	Acquired Immunodeficiency Syndrome
ATCC	American Type Culture Collection
Bb	Bulbo
BHI	Brain Heart Infusion
C	Caule
Ca	Cálcio
CBM	Concentração Bactericida Mínima
CC	Casca do caule
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
Ce	Cera epicuticular da folha
CEMM	Centro Especializado em Micologia Médica
CFM	Concentração Fungicida Mínima
CI₅₀	Concentração Inibitória de 50%
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CL₁₀₀	Concentração Letal
CLSI	Clinical and Laboratory Institute
CR	Casca da raiz
CYP	Citocromo P450
d	Diclorometano
DMSO	Dimetilsulfóxido
e	Etanol
ECA	Enzima Conversora de Angiotensina I
ERV	<i>Enterococcus faecalis</i> resistente a vancomicina
EUA	Estados Unidos da América

F	Folhas
FDA	Food and Drug Administration
Fl	Flores
Fr	Fruto
GS	Grupo de substituição
h	Hexano
HCl	Ácido clorídrico
HIV	Human Immunodeficiency Vírus
I	Inflorescência
IT	Inibição total
m	Metanol
MOPS	Ácido 3-[N-morfolino]-propoanossulfônico
MR	Madeira da raiz
MTT	3-(4,5 dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium
L	Latéx
N/a	Não tem atividade
NR	Nódulos da raiz
OE	Óleo essencial
OF	Óleo fixo
OMS	Organização Mundial da Saúde
PEG	Polietilenoglicol
PA	Partes aéreas
Pc	Pericarpo
PI	Planta inteira
p-INT	p-iodonitrotetrazolium
PVC	Policloreto de vinila
R	Raiz
Re	Resina

RPMI	Roswell Park Memorial Institute Medium
Rz	Rizoma
S	Sementes
SARM	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina
SARV	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a vancomicina
sh	Solução hidroalcoólica 90%
TZC	Cloridrato de 2,3,5-trifeniltetrazolium
UnB	Universidade de Brasília
UTI	Unidade de Terapia Intensiva
UV	Ultra-violeta

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	- 21 -
1.1. Os fungos e sua importância clínica	- 23 -
1.1.1. Dermatofitoses	- 26 -
1.1.2. Candidíase	- 30 -
1.1.2.1. Candidíase bucal	- 35 -
1.1.2.2. Candidíase vaginal	- 36 -
1.1.2.3. Candidemia	- 38 -
1.2. Farmacologia dos antifúngicos	- 42 -
1.2.1. Anfotericina B	- 44 -
1.2.1.1. Outras formulações	- 46 -
1.2.2. Nistatina	- 47 -
1.2.3. Flucitosina	- 48 -
1.2.4. Derivados imidazólicos	- 49 -
1.2.4.1. Triazóis de primeira geração	- 50 -
1.2.4.1.1. Itraconazol	- 52 -
1.2.4.1.2. Fluconazol	- 53 -
1.2.4.2. Triazóis de segunda geração	- 54 -
1.2.4.2.1. Voriconazol	- 55 -
1.2.4.2.2. Posaconazol	- 57 -
1.2.5. Equinocandinas	- 57 -
1.3. Mecanismos de resistência aos antifúngicos	- 60 -
1.4. Produtos naturais e o desenvolvimento de novos medicamentos	- 65 -
1.4.1. A importância das plantas na busca de moléculas ativas	- 70 -

1.4.2. Antimicrobianos de origem vegetal-----	- 73 -
1.5. O bioma Cerrado-----	- 84 -
1.5.1. Importância das plantas nativas do Cerrado-----	- 89 -
1.5.2. Estudos biológicos de algumas plantas do Cerrado-----	- 89 -
1.6. Ensaio antimicrobianos-----	- 131 -
1.6.1. Método de difusão em ágar-----	- 131 -
1.6.2. Método de diluição-----	- 134 -
1.6.3. Método de bioautografia-----	- 138 -
1.6.4. Recomendações específicas-----	- 140 -
2. OBJETIVOS-----	- 143 -
2.1. Geral-----	- 143 -
2.2. Específicos-----	- 143 -
3. MATERIAIS E MÉTODOS-----	- 145 -
3.1. Equipamentos-----	- 145 -
3.2. Vidrarias-----	- 145 -
3.3. Materiais não descartáveis-----	- 145 -
3.4. Materiais descartáveis-----	- 146 -
3.5. Reagentes-----	- 146 -
3.6. Identificação e Coleta-----	- 147 -
3.7. Obtenção dos extratos brutos-----	- 152 -
3.8. Testes de susceptibilidade à ação antimicrobiana dos extratos -----	- 154 -
3.8.1. Teste de difusão em ágar-----	- 154 -
3.8.1.1. Microrganismos e período de crescimento-----	- 154 -

3.8.1.2. Diluição dos extratos-----	- 154 -
3.8.1.3. Preparo dos controles-----	- 155 -
3.8.1.4. Preparo do meio de cultura e das cavidades-----	- 155 -
3.8.1.5. Preparo do inóculo-----	- 156 -
3.8.1.6. Teste-----	- 157 -
3.8.1.7. Leitura das placas e interpretação dos resultados-----	- 159 -
3.8.2. Teste de microdiluição-----	- 159 -
3.8.2.1. Microrganismos e período de crescimento-----	- 159 -
3.8.2.2. Diluição dos extratos-----	- 160 -
3.8.2.3. Preparo dos controles-----	- 160 -
3.8.2.4. Preparo do meio de cultura-----	- 161 -
3.8.2.5. Preparo do inóculo-----	- 162 -
3.8.2.6. Teste-----	- 163 -
3.8.2.7. Leitura das placas e interpretação dos resultados-----	- 164 -
3.9. Análise estatística-----	- 164 -
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO-----	- 166 -
5. CONCLUSÃO -----	- 186 -
6. PERSPECTIVAS -----	- 188 -
7. REFERÊNCIAS -----	- 190 -

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

1.1. Os fungos e sua importância clínica

O reino *Fungi*, assim classificado em 1969 pelo pesquisador Whittaker (SIDRIM; MOREIRA, 1999), é importante objeto de estudo das ciências médicas e áreas afins. Sua importância vem aumentando com a evolução terapêutica nas últimas décadas, visto o aumento considerável na sobrevivência dos pacientes, particularmente dos imunodeprimidos que se tornou um grupo propício para o desenvolvimento de infecções fúngicas (MASCHMEYER; HAAS, 2008; SABLE *et al.*, 2008).

Os avanços diagnósticos e terapêuticos surgidos nas últimas décadas favoreceram o tempo de sobrevivência de pacientes transplantados, de pacientes onco-hematológicos, daqueles que padecem de doenças crônicas, dos recém-nascidos prematuros, dos imunodeprimidos, dos queimados, de pacientes críticos, traumatizados e cirúrgicos, entre outros. Tais avanços acabaram condicionando o aparecimento e o incremento de uma população com alto risco de sofrer infecções fúngicas secundárias (GALVÁN; MARISCAL, 2006; MELLADO *et al.*, 2002; VENKATESAN *et al.*, 2005).

A análise dos registros de óbitos do Centro Nacional de Estatísticas de Saúde dos Estados Unidos mostrou que fatalidades relacionadas a infecções fúngicas aumentaram em mais de três vezes desde 1980, sobretudo a candidíase e a aspergilose. Em 1992, essas infecções foram a sétima causa mais comum de mortalidade e, em 1994, resultaram em mais de 30.000 hospitalizações (WARNOCK, 2007). Um estudo realizado em 2002 verificou que foram feitos mais de 600.000

transplantes por ano em todo o mundo e mais de 20% dos transplantados do pulmão sofrem de uma infecção por *Aspergillus* ou *Candida*. Não é surpreendente, portanto, que o mercado de antifúngicos tenha aumentado em 12% nos últimos 10 anos (MELLADO *et al.*, 2002).

As infecções fúngicas ou micoses abrangem algumas das doenças humanas mais comuns como as dermatofitoses, até infecções sistêmicas mais graves e debilitantes. De forma geral, tais infecções podem ser divididas em três grupos principais: infecções superficiais, subcutâneas e sistêmicas (Tabela 1) (HAY, 2006).

Tabela 1 - Classificação das micoses e exemplos de doenças.

Tipos de micoses	Exemplos de doenças
Superficiais	Dermatofitoses, candidíase superficial, infecções devido a <i>Malassezia</i> , <i>Scytalidium</i> e <i>Scopulariopsis</i> .
Subcutâneas	Esporotricose, micetomas, cromomicose, feo-hifomicose, zigomicose subcutânea, lobomicose.
Sistêmicas	Candidíase, criptococose, aspergilose, fusariose, zigomicose. Paracoccidiodomicose, histoplasmosse clássica e africana, coccidiodomicose, blastomicose, infecção devido a <i>Penicillium marneffe</i> .

Fonte: HAY, 2006 (com modificações).

As infecções superficiais são distribuídas em todo o mundo, sendo que fatores climáticos, como calor e umidade, aumentam a susceptibilidade a essas doenças. Elas podem alcançar altos níveis endêmicos e necessitar de intervenções públicas específicas (HAY, 2006).

As micoses subcutâneas, causadas por um grupo diversificado de fungos que atinge o homem e os animais, sobretudo nos trópicos e subtropicais (SIDRIM; MOREIRA, 1999), envolvem primariamente a derme e o tecido subcutâneo e raramente se disseminam (PANG *et al.*, 2004). Elas são conhecidas também como micoses de inserção, pois os microrganismos responsáveis são provenientes do ambiente externo e acometem o tecido subcutâneo e a derme após uma lesão do tecido (HAY, 2006).

As infecções sistêmicas são responsáveis por altas taxas de morbidade e mortalidade e são difíceis de diagnosticar, prevenir e tratar. *Candida* spp. é o quarto patógeno mais comum em infecção hospitalar nos Estados Unidos (EUA) (WISPLINGHOFF *et al.*, 2004) e o número de pessoas em risco de infecções fúngicas continua crescendo (BUSTAMANTE, 2005; RICHARDSON, 2005).

Além de *C. albicans* e *Aspergillus* spp., fungos emergentes como outras espécies de *Candida*, *Zygomycetes*, *Fusarium* spp. ou *Scedosporium* spp. têm se tornados cada vez mais freqüentes. A susceptibilidade desses fungos aos antifúngicos disponíveis pode ser limitada e a taxa de mortalidade a muitos desses fungos é maior que 70% em pacientes com doenças malignas hematológicas (PETRIKKOS; SKIADA, 2007).

As infecções sistêmicas podem ser divididas em infecções oportunistas e endêmicas. As oportunistas são infecções debilitantes e potencialmente fatais, que afetam pessoas com sistema imunológico comprometido, por exemplo, paciente com neutropenia, HIV positivo ou em uso de implante subcutâneo. Sua incidência pode flutuar de acordo com a prevalência de doenças subjacentes (HAY, 2006).

As endêmicas, também conhecidas como micoses respiratórias, são mais vistas nos trópicos, podendo apresentar manifestações clínicas de disseminação

hematogênica (HAY, 2006). Os fungos causadores dessas doenças apresentam virulência individual e inerente a cada espécie e são dimórficos, ou seja, passam da condição de filamentosos no meio ambiente para leveduriforme no hospedeiro (SIDRIM; MOREIRA, 1999).

1.1.1. Dermatofitoses

Dermatofitoses ou “tinhas” são micoses superficiais causadas pelos dermatófitos (RUIZ; ZAITZ, 2001). A história da micologia médica teve início com o estudo desses fungos em 1839 por Robert Remak (SIDRIM; MOREIRA, 1999). Os dermatófitos são fungos filamentosos, septados e hialinos que pertencem a três gêneros: *Microsporum*, *Trichophyton* e *Epidermophyton*, que possuem semelhanças taxonômicas, morfológicas, fisiológicas e imunológicas (GUPTA *et al.*, 2005).

O gênero *Epidermophyton* apresenta uma única espécie de importância: *E. floccosum*. O gênero *Microsporum* apresenta algumas espécies importantes como: *M. canis*, *M. gypseum*, *M. audouinii*, *M. cookei* e *M. nanum*. Enquanto o gênero *Trichophyton* tem como espécies mais importantes: *T. rubrum*, *T. mentagrophytes*, *T. tonsurans*, *T. schoenleinii*, *T. violaceum* e *T. verrucosum* (SANTOS *et al.*, 2002).

Esses fungos necessitam de queratina para o crescimento sendo capazes de invadir os tecidos queratinizados do homem e de animais, causando as dermatofitoses (RUIZ; ZAITZ, 2001). Por serem queratolíticos, eles estão restritos aos cabelos, unhas e superfície da pele, não invadindo superfície de mucosas (HAINER, 2003). As espécies queratinofílicas incapazes de produzir dermatofitoses são denominadas espécies correlatas de dermatófitos (GUPTA *et al.*, 2005).

Em geral, os dermatófitos vivem confinados no extrato córneo da epiderme e apêndices cutâneos (TANI *et al.*, 2007), principalmente nas áreas úmidas do corpo, como as regiões entre os dedos do pé, virilha e abaixo dos seios (CHUANG *et al.*, 2007). Entretanto, em determinadas situações, os dermatófitos podem invadir o extrato córneo rumo a camadas mais profundas da pele e ocasionar dermatofitoses subcutâneas e profundas (SIDRIM; MOREIRA, 1999).

Quanto a sua ecologia, há dermatófitos que vivem no solo e ocasionalmente infectam o homem (espécie geofílicas), outros que parasitam animais e raramente o homem (espécies zoofílicas) e aqueles que parasitam preferencialmente o homem (espécies antropofílicas) (HAINER, 2003; RUIZ; ZAITZ, 2001).

A transmissão para o homem pode acontecer de uma pessoa para a outra, a partir de dermatófitos do solo ou de animais e até mesmo indiretamente por meio de material contaminado, como artigos de tapeçaria, escovas de cabelo, chapéus e outros. No entanto, os organismos antropofílicos são responsáveis pela maioria das infecções de pele e sua transmissão ocorre por contato direto, exposição a células esfoliadas ou por meio de cortes na pele em pessoas imunodeficientes (HAINER, 2003).

Os fungos entram na pele e germinam nas camadas superficiais (HAINER, 2003). As manifestações clínicas resultam da patogenicidade dos dermatófitos, da reação dos hospedeiros (SANTOS *et al.*, 2002) e, também, da espécie fúngica envolvida. Sabe-se, por exemplo, que dermatófitos zoofílicos induzem a inflamações mais graves e que a inflamação causada por *T. mentagrophytes* é mais grave do que por *T. rubrum* (TANI *et al.*, 2007). A patogenicidade dos dermatófitos, por sua vez, está relacionada com a colonização, multiplicação desses fungos na camada

córnea da pele e conseqüente produção de enzimas chamadas queratinases, como as collagenases e elastases, que participam do processo inflamatório.

A infecção dermatofítica resulta em maior proliferação da pele, descamação e engrossamento da epiderme (TURCHIN *et al.*, 2005). No couro cabeludo e na barba pode causar alopecias (HARRIES; LEAR, 2004). As dermatofitoses são classificadas clinicamente de acordo com as localizações do corpo afetadas pelos fungos. A denominação é feita adicionando-se o nome em latim que designa o local do corpo afetado após a palavra “tinea” (Tabela 2) (SANTOS *et al.*, 2002).

Tabela 2 - Principais tipos de dermatofitoses e respectivas espécies envolvidas.

Dermatofitoses	Espécies envolvidas
Tinea unguium	<i>T. rubrum</i> , <i>T. mentagrophytes</i> var <i>interdigitale</i> , <i>E. floccosum</i>
Tinea pedis	<i>T. mentagrophytes</i> , <i>T. rubrum</i> , <i>E. floccosum</i>
Tinea corporis	<i>T. rubrum</i> , <i>T. mentagrophytes</i> , <i>E. floccosum</i> , <i>M. canis</i> , <i>M. gypseum</i>
Tinea cruris	<i>E. floccosum</i> , <i>T. rubrum</i> , <i>T. mentagrophytes</i>
Tinea capitis	<i>T. tonsuran</i> , <i>M. canis</i> , <i>T. violaceum</i> , <i>M. gypseum</i>
Tinea favus	<i>T. schoenleinii</i> , <i>T. verrucosum</i> , <i>T. violaceum</i> , <i>T. mentagrophytes</i>
Tinea manuum	<i>T. rubrum</i> , <i>T. mentagrophytes</i> , <i>M. gypseum</i> , <i>E. floccosum</i>
Tinea imbricata	<i>T. concentricum</i>

Fonte: SANTOS *et al.*, 2002.

A tinea unguium, também conhecida como onicomicose, e a tinea pedis são relacionadas como as doenças fúngicas superficiais mais comuns (KENMA; ELLEWSKI, 1996) e, de forma geral, a maioria dessas infecções não ameaça a vida, mas podem causar morbidade em pacientes imunocomprometidos e diabéticos (TURCHIN *et al.*,

2005). Apesar de se tratar de infecções primárias, ou seja, não há necessidade de que o indivíduo esteja com sistema imunológico debilitado para apresentar a doença, nas últimas décadas, observou-se a emergência de infecções oportunistas envolvendo dermatófitos, especialmente em imunocomprometidos (OZKUTUK *et al.*, 2007).

A distribuição dos dermatófitos varia em diferentes países e depende de vários fatores como estilo de vida, tipo de população, condições sócio-econômicas, migração de pessoas, idade, presença de animais domésticos e condições climáticas (CHINELLI *et al.*, 2003; DOLENC-VOLJC, 2005). A Academia Americana de Dermatologia estima que 10-20% da população é afetada por dermatófitos (PFALLER; SUTTON, 2006).

Os primeiros estudos epidemiológicos realizados no Brasil na década de 1930 ressaltam a grande incidência de tinhas por fungos antropofílicos, trazidos pelos imigrantes europeus. *T. rubrum* predomina como agente da dermatofitose de couro cabeludo nas regiões Sul e Sudeste do Brasil (RUIZ; ZAITZ, 2001; SANTOS *et al.*, 1997), enquanto *T. tonsurans* é o dermatófito mais isolado, principalmente em tinhas do couro cabeludo, nas regiões Norte e Nordeste. *T. mentagrophytes* aparece como segundo agente mais isolado em tinhas do pé e da unha, em todas as regiões do país (RUIZ; ZAITZ, 2001).

Existe uma predominância de *T. rubrum* como principal agente etiológico em várias regiões geográficas do mundo como Japão, Estados Unidos, México e em regiões do Brasil (WELSH *et al.*, 2006). No entanto, alguns estudos mostram o aparecimento de outros dermatófitos como principais agentes causadores de infecção, entre eles o *T. mentagrophytes* e o *M. canis* (DOLENC-VOLJC, 2005; PANASITI *et al.*, 2007).

T. rubrum pode produzir praticamente todos os quadros clínicos de dermatofitose e tem como características principais a tendência para cronicidade e a resistência aos tratamentos convencionais (SIQUEIRA *et al.*, 2006). A frequência desse agente aumenta com o processo de urbanização levando a sua predominância como causador da dermatofitose em grandes centros urbanos (RUIZ; ZAITZ, 2001).

A efetividade do tratamento tópico de infecções fúngicas continua sendo um importante desafio em dermatologia. Apesar do amplo espectro de ação dos antifúngicos tópicos sobre dermatófitos e leveduras, altas taxas de recidiva e recorrência de sintomas continuam sendo problemas clínicos importantes (PFALLER; SUTTON, 2006). As infecções nas unhas difíceis de erradicar podem apresentar níveis de recorrência de 25 a 40% dos casos, mesmo em uso de antifúngicos sistêmicos (WOODFOLK, 2005). Em muitos casos o uso tópico é feito de forma inapropriada, tanto em infecções extensivas como em unhas e couro cabeludo, fazendo necessária a terapia sistêmica (KARACA; KOÇ, 2004).

1.1.2. Candidíase

Em 1839, Langenbeck observou pela primeira vez em aftas bucais de um paciente com tifo a mais importante levedura patogênica ao homem, hoje conhecida como *Candida albicans*. Esse fungo, assim como outras espécies de *Candida*, é causador da Candidíase ou Candidose (SIDRIM; MOREIRA, 1999).

Os fungos do gênero *Candida* compõem parte da microbiota da pele, apêndices cutâneos, mucosas dos tratores digestivos e genitourinários dos seres humanos (GALVÁN; MARISCAL, 2006) e, algumas vezes, podem ser encontrados

no ambiente, inclusive solo, bebidas e comidas, provavelmente refletindo uma contaminação de fonte humana ou animal (MATTHEWS; BURNIE, 1998). A maioria das infecções causadas por *Candida* é de origem endógena, causada por leveduras integrantes da microbiota do paciente (GALVÁN; MARISCAL, 2006).

O espectro da candidíase é bastante extenso, indo desde manifestações mais simples, como a colonização das mucosas da boca, esôfago e vagina, até a candidíase disseminada, quadro sistêmico com a invasão de vários órgãos (Tabela 3) (DEVELOUX; BRETAGNE, 2005; SEGAL, 2005).

Tabela 3 - Espectro das Candidíases.

Tipo de candidíases

Candidíase cutânea

Candidíase cutânea do recém-nascido

Onicomicose por *Candida*

Candidíase orofaríngea

Candidíase cutaneomucosa crônica (CCMC)

Candidíase genital

Candidíase digestiva

Peritonites à *Candida* spp.

Pancreatite necrosante e infecção por *Candida* spp.

Infecções biliares por *Candida* spp.

Candidíase urinária

Candidíases sistêmicas:

- Candidíase do Sistema Nervoso Central

- Candidíase osteoarticular

- Candidíase hepatoesplênica

nascido

- Candidíase cardíaca

- Candidíase pulmonar

- Candidemia do recém

Fonte: DEVELOUX; BRETAGNE, 2005 (com adaptações).

Atualmente, a admissão em Unidade de Terapia Intensiva (UTI) é reconhecida como o principal fator de risco para infecções causadas por *Candida*, devido às formas de terapia invasiva e comprometedoras. Cateteres mantidos a longo prazo, antibióticos de amplo espectro, nutrição parenteral total, diabetes, cirurgia e esteróides são estabelecidos como fatores de risco em pacientes não-neutropênicos ou transplantados (BUSTAMANTE, 2005).

O gênero *Candida* engloba patógenos oportunistas muito bem sucedidos, causadores comuns de infecções sistêmicas que ameaçam a vida, que estão entre os cinco isolados mais freqüentes de cultura de sangue em pacientes de hospitais dos Estados Unidos (MATTHEWS; BURNIE, 1998).

C. albicans é uma levedura dimórfica que existe como organismo comensal e, dependendo dos métodos de coleta e dos locais do corpo, pode ser detectada em mais de 71% de indivíduos saudáveis (NAGLIK *et al.*, 2004). Porém, em indivíduos com sistema imunológico comprometido, as espécies de *Candida* podem tornar-se patogênicas (CONSOLARO *et al.*, 2006). Esse potencial patogênico de *C. albicans* ressalta a importância do sistema de defesa do hospedeiro no controle da infecção fúngica (NAGLIK *et al.*, 2004).

Para realizar a colonização e invasão nos tecidos e evitar mecanismos de defesa do hospedeiro, *C. albicans* desenvolveu uma série de complexos fatores de virulência (SCHALLER *et al.*, 2005). Esses incluem a troca fenotípica com habilidade de mudar a morfologia da célula, ou seja, de levedura para crescimento de hifas; habilidade de adesão à célula hospedeira; e atividade lipolítica e proteolítica extracelular (NAGLIK *et al.*, 2004).

A *Candida albicans* é o fungo patogênico mais freqüentemente associado com candidíase oral em indivíduos HIV positivo. Entretanto, nas últimas décadas, vem aumentando o número de relatos implicando outras espécies de *Candida* nesses pacientes e em outros grupos (BUSTAMANTE, 2005; SULLIVAN; COLEMAN, 1997).

É grande o interesse em espécies de *Candida* não-*albicans* devido o aumento e a mudança do perfil epidemiológico das candidíases (Tabela 4). As espécies emergentes são favorecidas pelo aumento de pacientes imunocomprometidos, pelo uso de novas práticas médicas e pela pressão medicamentosa de certos antifúngicos, por exemplo, o amplo uso de fluconazol que selecionou espécies não suscetíveis (*C. krusei*) ou menos suscetíveis (*C. glabrata*) (Figura 1) (DEVELOUX; BRETAGNE, 2005; GUTIÉRREZ *et al.*, 2002; SEGAL, 2005; WISPLINGHOFF *et al.*, 2004).

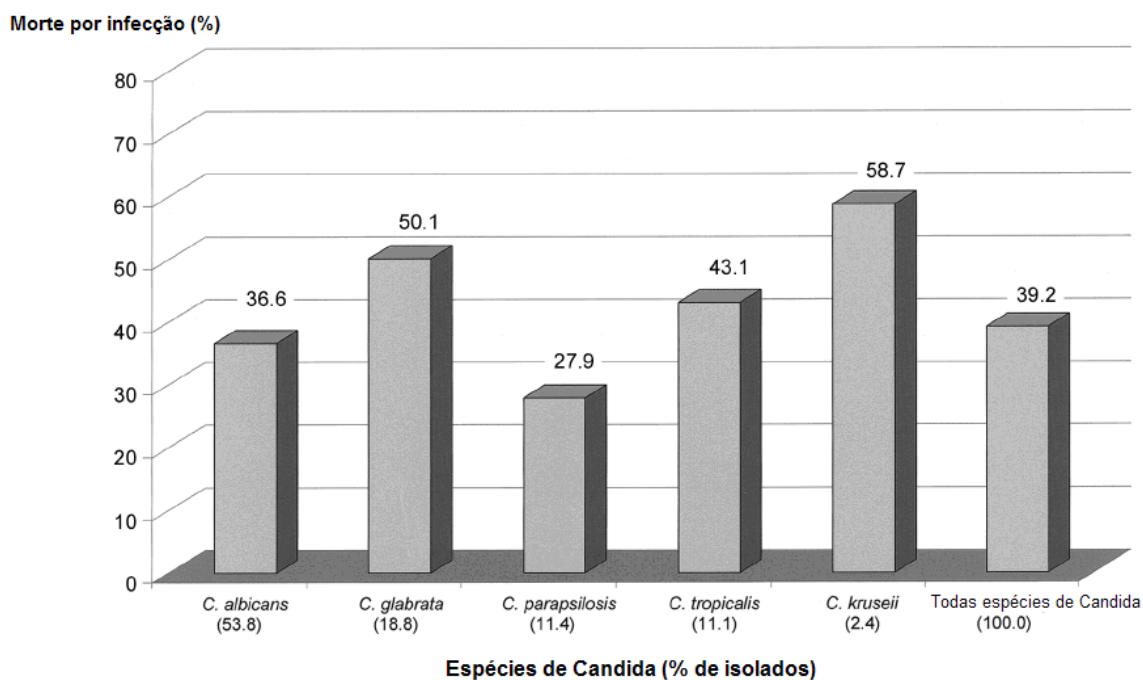


Figura 1 – Emergência de espécies de *Candida* não-*albicans*.

Fonte: WISPLINGHOFF *et al.*, 2004

Tabela 4 - Principais espécies de *Candida* envolvidas em doenças humanas.

Espécie	Freqüência	Habitat	Manifestações clínicas	Considerações
<i>C. albicans</i>	+++	Tubo digestivo	Candidoses cutaneomucosa, digestiva, urinária, sistêmica e candidemias	-
<i>C. glabrata</i>	++	Tubo digestivo e vias geniturinárias	Vaginites, candidoses urinária, sistêmica e candidemias	Muito freqüente em pacientes com câncer e podem ser resistentes ao fluconazol
<i>C. parapsilosis</i>	++	Pele	Candidemias, infecções associadas a cateteres, soluções contaminadas e endocardite	Freqüente causador da candidemia do recém-nascido
<i>C. tropicalis</i>	++	Solo, vegetação, água	Vaginites, candidemias e candidose sistêmica	Muito freqüente em pacientes com câncer
<i>C. krusei</i>	++	Laticínios e cervejas	Vaginites e Candidemias	Resistência ao fluconazol
<i>C. guilliermondii</i>	+	Laticínios	Endocardites e candidose sistêmica	-
<i>C. kefyr</i>	+	Laticínios	Candidose sistêmica	-
<i>C. lusitanae</i>	+	Tubo digestivo de animais	Candidemias e candidose sistêmica	Sensibilidade pequena e resistência à anfotericina B
<i>C. dublinensis</i>	+	-	Candidose oral em pacientes HIV positivo	Podem ser resistentes ao fluconazol
<i>C. rugosa</i>	+	Água e laticínios	Candidemia associada a cateteres	-
<i>C. norvegensis</i>	+	-	Candidemias	-
<i>C. zeylanoides</i>	+	Alimentos	Candidemias	-
<i>C. lipolytica</i>	+	Pele	Candidemia associada a cateteres	Levedura pouco virulenta
<i>C. famata</i>	+	Meio ambiente (ar)	Candidemias	-

Fonte: DEVELOUX; BRETAGNE, 2005.

1.1.2.1. Candidíase bucal

Candidíase bucal é a infecção fúngica oral mais comum no homem. As leveduras do gênero *Candida* são isoladas da mucosa bucal em 30 a 50% dos indivíduos saudáveis. Os picos de prevalência são observados em crianças com menos de 18 meses devido a uma imaturidade do sistema imune e em idosos devido ao uso de próteses dentárias (DEVELOUX; BRETAGNE, 2005; SOYSA *et al.*, 2004).

Todas as alterações na mucosa bucal podem culminar em uma candidíase, por exemplo, traumatismo consecutivo ao uso de prótese, câncer, ulcerações devido ao uso de citotóxicos e irradiação. A candidíase pode manifestar-se, ainda, como efeito adverso da terapia com corticóides, antibióticos de amplo espectro, imunossupressores e antidepressivos. A disfunção das glândulas salivares, com pouca secreção de saliva, também é uma importante causa de candidíase bucal (DEVELOUX; BRETAGNE, 2005; EPSTEIN; POLSKY, 1998). O aumento da prevalência de outros grupos de pacientes imunocomprometidos, desordens endócrinas comuns como o diabetes mellitus e deficiências nutricionais também contribuem para a ocorrência da candidíase bucal como uma aflição relativamente comum (SOYSA *et al.*, 2004).

A prevalência da candidíase bucal em pacientes com imunodeficiência progressiva e AIDS pode variar de 43 a 98% (HAY, 1999). Pacientes HIV positivo desenvolvem candidíase bucal como uma das primeiras e mais comuns manifestações, sendo muitas vezes um indicador da presença da AIDS e um marcador da progressão da doença (EPSTEIN; POLSKY, 1998; SOYSA *et al.*, 2004).

Os achados clínicos na candidíase da boca são bastante variáveis, desde quadros localizados, como as estomatites, até formas graves e generalizadas.

Todas as formas de candidíase bucal são consideradas oportunistas uma vez que vários fatores predisponentes facilitam a conversão de *Candida* comensal em um patógeno (ALEVA *et al.*, 2007; SOYSA *et al.*, 2004).

O tratamento da candidíase orofaríngea não-complicada é normalmente fácil de ser realizado, diferentemente dos casos mais graves, particularmente, em pacientes com sistema imune comprometido, ou os casos refratários. Recaídas são comuns e, a menos que condições subjacentes que predispõem à infecção sejam gerenciadas efetivamente, terapias longas ou intermitentes são necessárias (EPSTEIN; POLSKY, 1998).

1.1.2.2. Candidíase vaginal

A maioria, se não todas as mulheres, apresentam o fungo *Candida* na região vaginal em algum momento de suas vidas. Normalmente elas não manifestam sintomas ou sinais de vaginite e apresentam uma baixa concentração do fungo nessa região. Mudanças no ambiente vaginal induzem os efeitos patológicos do microrganismo (SOBEL, 2007).

A infecção causada por *Candida* spp. atinge 70-75% das mulheres pelo menos uma vez durante a vida, mais freqüentemente mulheres jovens na idade reprodutiva (WATSON & CALABRETTO, 2007). Cerca de 40 a 50% das mulheres irão vivenciar uma recorrência, das quais 10 a 20% na forma complicada da doença (BATTAGLIA *et al.*, 2005) e 5 a 8% delas apresentarão candidíase vulvovaginal recorrente com quatro ou mais episódios todo ano (SOBEL, 2007).

Entre 85 e 95% das cepas isoladas da vagina são pertencentes à espécie *C. albicans*. Das espécies não-*albicans*, *C. glabrata* e *C. tropicalis* são as mais comuns. Essas espécies não-*albicans* são freqüentemente mais resistentes ao tratamento

convencional (SOBEL *et al.*, 2004) e são responsáveis por mais de 33% dos casos de recorrência da doença (WATSON & CALABRETTO, 2007).

São vários os fatores que predispõem o indivíduo à candidíase vulvovaginal inclusive gravidez, uso de anticoncepcionais, infecção por HIV, diabetes mellitus descontrolada, entre outros. *Candida* ganha acesso ao lúmen vaginal e secreções principalmente pela área perianal adjacente e vários são os fatores de virulência que o fungo utiliza para instalar e manter a doença, entre eles enzimas proteolíticas, toxinas e produção de fosfolipases (SOBEL *et al.*, 2004).

A classificação de candidíase vulvovaginal universalmente aprovada aponta para duas formas clínicas da doença, a não complicada e a complicada, que são diferentes quanto à patogênese, sintomatologia e freqüência. O espectro clínico das vaginites sintomáticas varia de uma forma exudativa aguda com corrimento vaginal branco abundante e grande número de células fúngicas para o outro extremo com ausência ou pouco corrimento, poucos organismos, mas, ainda, com prurido (SOBEL, 2007). Dor vaginal, irritação, queimação vulvar, dor provocada pelo coito e dor ao urinar são sintomas comuns. O odor, se presente, é leve e inofensivo. O prurido vulvar é o sintoma mais comum da doença e está presente na maioria dos pacientes sintomáticos (SOBEL *et al.*, 2004).

Vários agentes tópicos do tipo azólico são efetivos para candidíase vaginal e estão disponíveis em uma variedade de formulações. Os azólicos orais alcançam taxas de cura comparáveis aos agentes tópicos. Diferentemente da candidíase oral, casos com *C. albicans* resistente são raros, entretanto, as espécies não-*albicans* não seguem esse mesmo padrão. Cerca de metade das cepas de *C. glabrata* isolada de casos de candidíase vulvovaginal recorrente mostraram reduzida sensibilidade ao fluconazol quando comparado com *C. albicans*. *C. krusei* isoladas

da região vaginal, embora resistente ao fluconazol e à flucitosina, respondem bem ao ácido bórico e outros azóis (SOBEL, 2007).

Nos EUA, onde candidíase vulvovaginal é a segunda causa de infecção vaginal, logo atrás da vaginose bacteriana, o diagnóstico e o tratamento dessa doença resultam em gastos de mais de um bilhão de dólares/ano (FOXMAN *et al.*, 2000).

1.1.2.3. Candidemia

Infecções mais sérias causadas por *Candida* spp. são descritas com vários termos, a maioria usada como sinônimo: profunda, invasiva, sistêmica, disseminada, entre outros. Os termos candidemia e infecção na corrente sanguínea causada por espécies de *Candida* são as definições em uso mais precisas e implicam no isolamento de *Candida* spp. do sangue (HOBSON, 2003).

Tais infecções são importantes causas de morbidade e mortalidade em pacientes hospitalizados e estão associadas à estadia prolongada nos hospitais, particularmente entre pacientes expostos a antibióticos, terapia imunossupressora, nutrição parenteral e múltiplos procedimentos médicos invasivos (WARNOCK, 2007). Um estudo realizado no Brasil mostra que a incidência de candidemia encontrada foi superior aos dados dos Estados Unidos e Europa (COLOMBO *et al.*, 2006). Um estudo realizado nos Estados Unidos na década de 90 estimou que o custo anual total com a candidemia pode chegar a 216 até 281 milhões de dólares/ano (HOBSON, 2003).

Essas infecções têm se tornado um importante problema para os hospitais terciários de todo o mundo (COLOMBO *et al.*, 2006). As espécies de *Candida* estão

entre as causas mais freqüente de infecções hospitalares (Figura 2), estando a mortalidade atribuída a candidemia próxima de 40% (KAUFFMAN, 2006a).

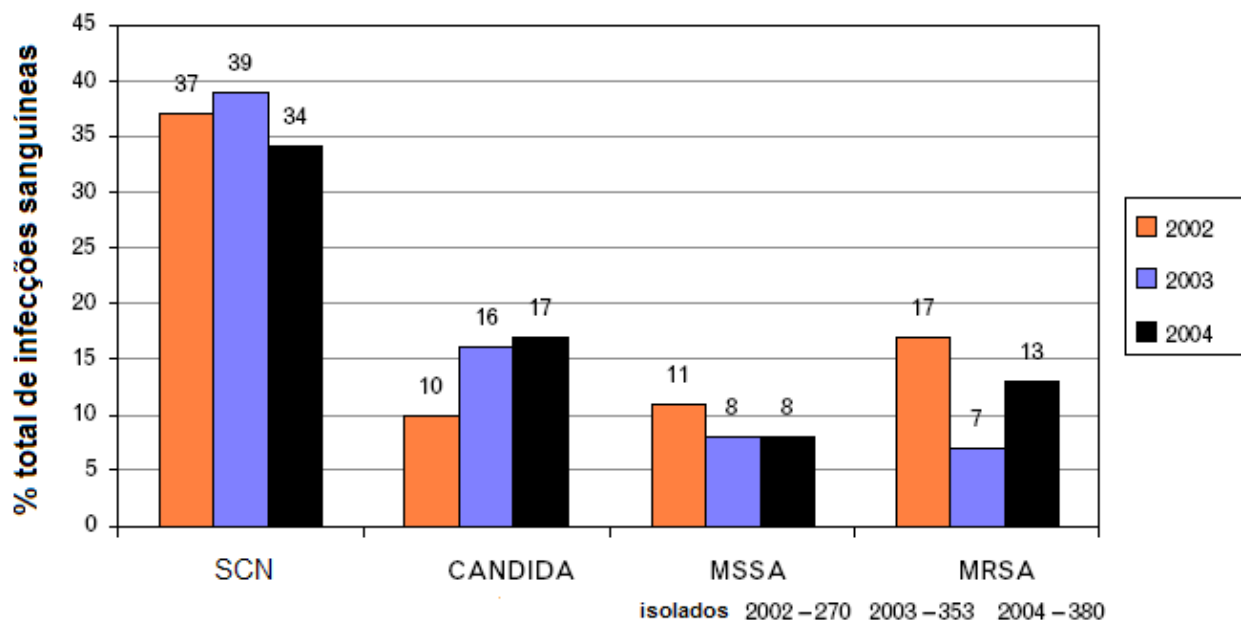


Figura 2 - Porcentagem de isolados de infecção sanguínea de hospitais dos Estados Unidos nos anos de 2002 a 2004 (SCN: *Staphylococcus coagulase-negativa*, MSSA: *Staphylococcus aureus* susceptível a meticilina, MRSA: *S. aureus* resistente a meticilina). Fonte: BUSTAMANTE, 2005.

C. albicans continua sendo a principal causa de candidemia em todo o mundo, mas a freqüência com a qual essa e outras espécies são identificadas em amostras de sangue varia com fatores geográficos e demográficos. Nos EUA, por exemplo, *C. glabrata* é a segunda espécie mais encontrada, já na América Latina, *C. tropicalis* e *C. parapsilosis* são a segunda e a terceira espécies mais freqüentes (WARNOK, 2007).

A alta incidência de *C. glabrata* deve-se, provavelmente, à profusa utilização de fluconazol como profilaxia e tratamento empírico, enquanto a alta incidência de *C.*

parapsilosis está envolvida com a utilização de cateteres intravenosos e nutrição parenteral (GALVÁN; MARISCAL, 2006).

O fluconazol é o agente antifúngico mais utilizado mundialmente no tratamento de candidemia, tanto pela eficácia como pelo baixo custo de aquisição. Entretanto, esse antifúngico tem atividade limitada sobre *C. glabrata* e *C. krusei* que são espécies isoladas com menos frequência (KAUFFMAN, 2006a). A terapia inadequada com fluconazol, por exemplo, pode aumentar a mortalidade entre os pacientes e os custos do hospital (GALVÁN; MARISCAL, 2006). Desse modo, torna-se de extrema importância a realização rotineira de testes de susceptibilidade para determinar qual é a espécie fúngica envolvida na infecção e, conseqüentemente, para determinar a terapia mais eficaz.

1.2. Farmacologia dos antifúngicos

O aumento do número de infecções fúngicas, especialmente em pacientes imunodeprimidos e pacientes em UTI com doenças múltiplas, têm criado uma necessidade urgente por novos agentes antifúngicos (KAUFFMAN, 2006b). O atraso do início da terapia antifúngica em pacientes criticamente doentes está associado a piores prognósticos (EGGIMANN *et al.*, 2003).

Por muitos anos o único antifúngico disponível para infecções invasivas foi a anfotericina B deoxicolato. Entretanto, esse medicamento está freqüentemente associado à nefrotoxicidade e efeitos colaterais relacionados à infusão. Além disso, ele não é adequado para o tratamento fora do hospital e não é consistentemente efetivo (MAERTENS; BOOGAERTS, 2005).

Com a introdução dos triazóis no início de 1990, o desenvolvimento de novos fármacos acelerou. A anfotericina B foi incorporada em formulações lipídicas, enquanto a primeira geração dos triazóis (fluconazol e itraconazol) mudou a epidemiologia das infecções por *Candida* e ofereceu novas opções de tratamento (PETRIKKOS; SKIADA, 2007).

Os triazóis, porém, estão envolvidos em importantes interações medicamentosas, principalmente no caso de pacientes recebendo quimioterapia, os pacientes transplantados e os portadores do vírus HIV. Além disso, o espectro antifúngico dos triazóis permanece subótimo, especialmente quando se consideram patógenos emergentes como *Fusarium spp.*, *Scedosporium spp.* e os zigomicetos (*Mucor spp.*). Também é importante considerar o surgimento de resistência, inclusive de resistência cruzada entre os triazóis (MAERTENS; BOOGAERTS, 2005).

Nos últimos seis anos, novos triazóis e novas equinocandinas foram aprovadas para uso, apresentando menor toxicidade e, em alguns casos, maior efetividade do que a anfotericina B deoxicolato (PETRIKKOS; SKIADA, 2007). São agentes com maiores espectros de atividade, excelente atividade antifúngica, favoráveis perfis farmacocinéticos e de toxicidade, mas ainda não totalmente explorados (Figura 3) (BUSTAMANTE, 2005).

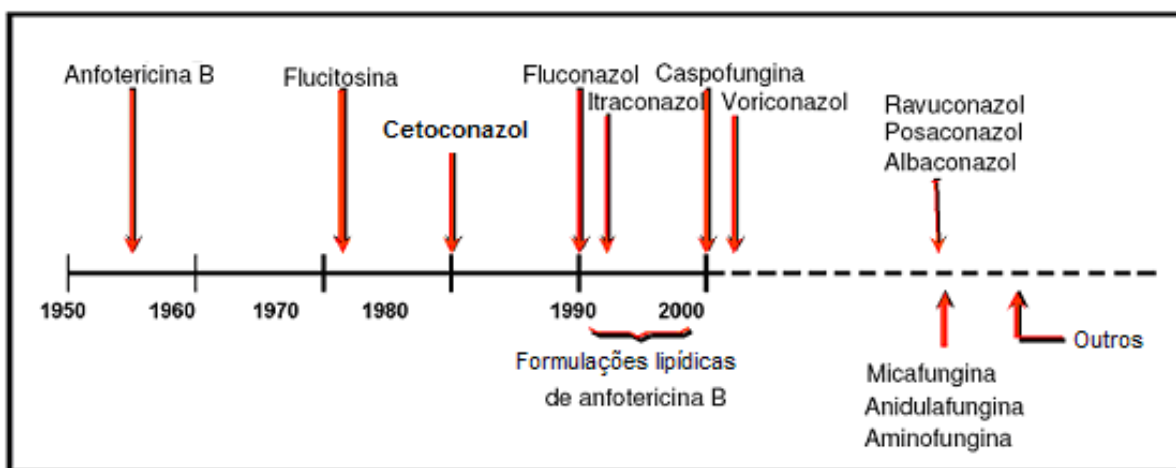


Figura 3 – Evolução histórica dos fármacos antifúngicos.

Fonte: CATALÁN; MONTEJO, 2006.

A toxicidade e as interações medicamentosas causadas pelos antifúngicos disponíveis requerem vigilância diária, ajuste de dose baseado em mudanças do estado clínico, função renal e dados laboratoriais (BUSTAMANTE, 2005). Um agente antifúngico ideal deve apresentar atividade fungicida de amplo espectro, sem utilizar mecanismos que causem toxicidade ao hospedeiro (CARRILLO-MUNOZ *et al.*, 2006). Precisam ser formulados tanto para administração oral quanto parenteral, ser extremamente seguros e o mais barato possível. Portanto, a procura por novos agentes antifúngicos deve continuar (ODDS, 2003).

1.2.1. Anfotericina B

A anfotericina B deoxilato (Figura 4), extraída de *Streptomyces nodosus* em meados de 1955, é um polieno com espectro de ação muito amplo, incluindo quase todas as leveduras e fungos filamentosos. O nome anfotericina deriva da característica anfotérica de sua estrutura molecular, formando tanto sais solúveis em meio ácido como em meio básico (FILIPPIN; SOUZA, 2006).

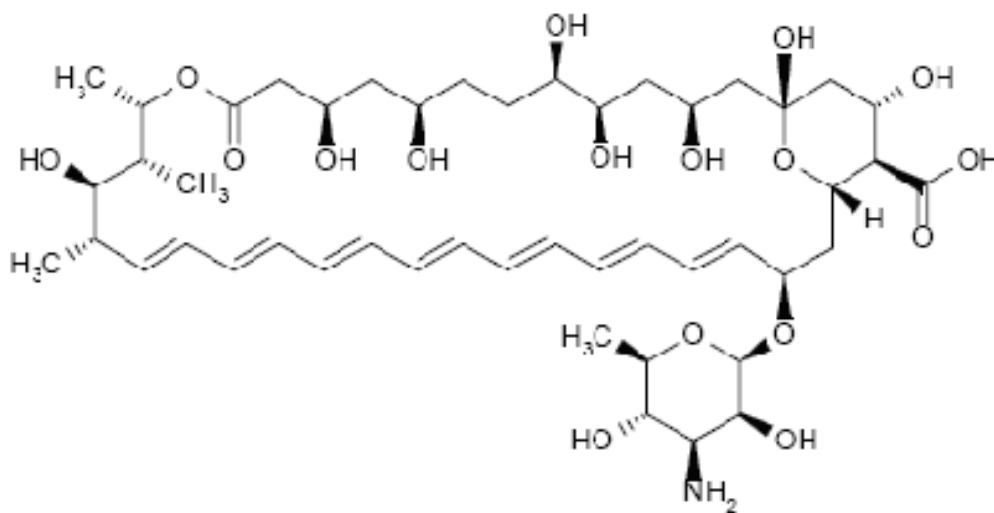


Figura 4 – Estrutura química da anfotericina B. Fonte: CARRILLO-MUNOZ *et al.*, 2006.

Este medicamento é considerado o “Padrão Ouro”, pois é o único agente disponível para tratar a maioria das infecções fúngicas invasivas graves. No entanto, hoje em dia, questiona-se esse rótulo visto o surgimento de novos fármacos muito efetivos e com maior segurança clínica (CATALÁN; MONTEJO, 2006).

Esse fármaco se fixa avidamente nos esteróis das células eucariotas e não nos das células procariontes, sendo que sua afinidade é maior pelo ergosterol dos

fungos do que pelo colesterol das células de mamíferos (CATALÁN; MONTEJO, 2006). Dessa forma, a anfotericina B interage especificamente com o ergosterol, esteróide constituinte exclusivo da parede celular fúngica, levando à formação de poros através de membranas lipídicas. A alteração da permeabilidade celular permite, portanto, o escape de pequenos íons e metabólitos, principalmente íons potássio, levando eventualmente à morte celular (Figura 5) (FILIPPIN & SOUZA, 2006).

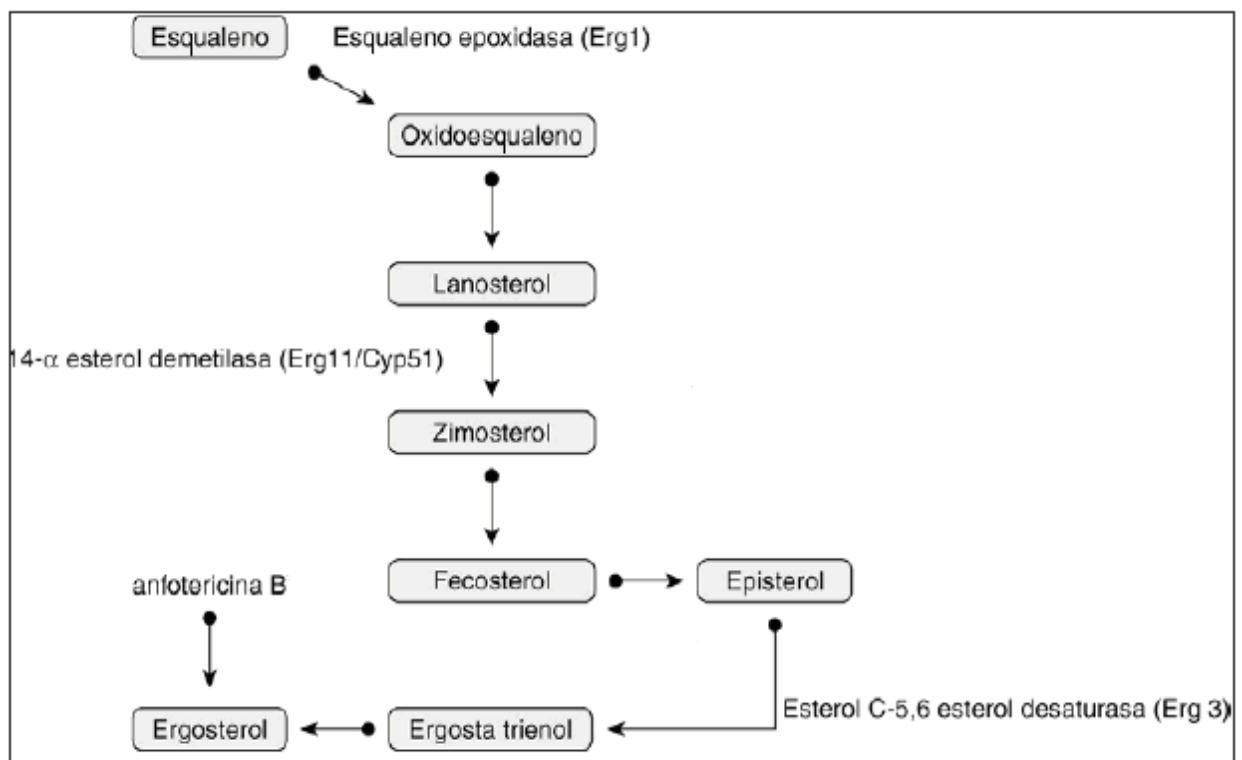


Figura 5 – Mecanismo de ação da anfotericina B e outros agentes antifúngicos.

Fonte: MELLADO ET AL., 2002.

Os efeitos colaterais, principalmente relacionados à administração e à nefrotoxicidade, ocorrem em 50 a 90% dos pacientes, sendo a nefrotoxicidade o

efeito adverso mais relevante e limitante para sua utilização (CATALÁN; MONTEJO, 2006; EGGIMANN *et al.*, 2003). As reações adversas agudas tais como febre, calafrios, tremores, náusea, vômitos e dor de cabeça ocorrem freqüentemente e estão relacionadas à infusão (EGGIMANN *et al.*, 2003). Alterações cardiovasculares como hipotensão, hipertensão e arritmia cardíaca foram observadas com menor freqüência. Hipocalemia, hipernatremia, diurese aumentada, hipomagnesemia, disfunção renal e efeitos tóxicos sobre a medula óssea estão associados com administrações repetidas (FILIPPIN & SOUZA, 2006).

Quando administrada com fármacos potencialmente nefrotóxicos, podem aumentar a nefrotoxicidade e quando administrada com corticosteróides e corticotropina podem potencializar a hipocalemia (CATALÁN; MONTEJO, 2006). A hipopotassemia induzida por anfotericina B aumenta a toxicidade de fármacos como os digitálicos, os relaxantes musculares e os antiarrítmicos. Seu uso concomitante com flucitosina pode aumentar a toxicidade induzida pela fluorocitosina e a terapia combinada com azóis pode induzir a resistência a anfotericina B por antagonismo de suas funções. Por fim, a combinação com o antiretroviral zidovudina pode potencializar mielotoxicidade e nefrotoxicidade (CATALÁN; MONTEJO, 2006).

Apesar de toda a toxicidade, a anfotericina B continua sendo o medicamento de escolha para o tratamento de infecções fúngicas sistêmicas incluindo aquelas causadas por novos patógenos e por patógenos resistentes aos azóis (PAUW, 2000).

1.2.1.1. Outras formulações

Para circundar as limitações do uso de anfotericina B, desenvolveram-se formulações menos tóxicas e novos métodos para veiculação do fármaco (FILIPPIN & SOUZA, 2006). Complexos lipídicos, dispersão coloidal em sulfato de colesisterila e formas lipossomais são menos tóxicas, pois apresentam menor afinidade pelas células de mamíferos (CARRILLO-MUNOZ *et al.*, 2006). Além disso, algumas formas podem ser administradas mais rapidamente e em doses maiores do que a formulação convencional (EGGIMANN *et al.*, 2003).

No entanto, as formulações lipídicas são 10 a 100 vezes mais caras do que a convencional e, dessa forma, a maioria das instituições restringe o seu uso. Estudos mostram que essas novas formulações reduziram a toxicidade, porém têm pouco impacto na sobrevivência do paciente (MELLADO *et al.*, 2002). Geralmente recomendam-se essas novas formulações de forma restrita para pacientes refratários ao tratamento, intolerantes a outras formas ou pacientes de grande risco (EGGIMANN *et al.*, 2003).

1.2.2. Nistatina

A nistatina (Figura 6) é obtida a partir de *Streptomyces noursei* e pertence à classe dos antifúngicos polienos. Esse medicamento liga-se ao ergosterol da membrana fúngica, resultando em extravazamento de eletrólitos intracelulares e morte celular (CARRILLO-MUNOZ *et al.*, 2006).

A nistatina é um agente antifúngico restrito à aplicação tópica devido a sua grande toxicidade sistêmica, não sendo recomendada para a profilaxia e o tratamento de infecções graves causadas por *Candida* (EGGIMANN *et al.*, 2003; ELLEPOLA; SAMARANAYAKE, 2000).

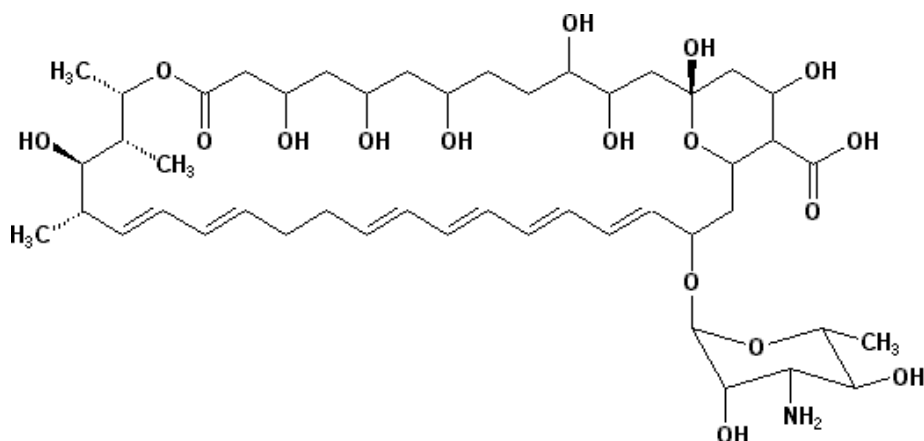


Figura 6 – Estrutura química da nistatina. Fonte: HAC-WYDRO *et al.*, 2007.

1.2.3. Flucitosina

Esse composto (Figura 7) foi inicialmente desenvolvido como um medicamento anticancerígeno (ODDS, 2003). Seu uso clínico é limitado devido às falhas terapêuticas relacionadas à rápida emergência de resistência, particularmente quando usado sozinho. Dessa forma, o tratamento combinado com outro antifúngico é o mais recomendado (EGGIMANN *et al.*, 2003; PAUW, 2000).

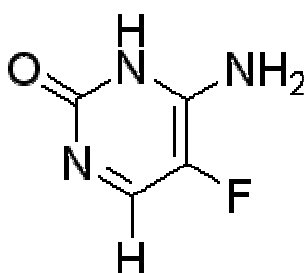


Figura 7 – Estrutura química da flucitosina. Fonte: CATALÁN; MONTEJO, 2006.

O mecanismo de ação está relacionado com a conversão da flucitosina em 5-fluorouracil por enzimas presentes nas células fúngicas e não em humanas. O 5-fluorouracil compete com o uracil pela incorporação no RNA fúngico após fosforilação e, assim, bloqueia a síntese de proteínas (EGGIMANN *et al.*, 2003).

O tempo de meia-vida desse fármaco é de apenas 4 a 6 horas, sendo, portanto, necessária a administração em quatro doses diárias (EGGIMANN *et al.*, 2003). Visto que a flucitosina é análoga do agente quimioterápico 5-fluorouracil, a reação adversa mais grave é a leucopenia e a trombocitopenia que aparecem a partir da segunda semana de tratamento (PAUW, 2000).

Também podem aparecer toxicidade hepática, eosinofilia e exantema (CATALÁN; MONTEJO, 2006). A maioria dos estudos recomenda monitoramento da concentração sangüínea pelo menos uma vez por semana e ajuste de dose para distúrbios da função renal (EGGIMANN *et al.*, 2003).

1.2.4. Derivados imidazólicos

A introdução dos derivados imidazólicos resultou em uma nova era no tratamento das infecções fúngicas e, mais do que qualquer outra classe de antifúngicos, os azóis vêm sendo refinados e melhorados ao longo dos anos (ODDS, 2003). Estes são os antifúngicos mais usados na prática clínica (CHEN; SORRELL, 2007) e são um grupo de fármacos fungistáticos sintéticos cuja natureza dos grupos anilos modifica as propriedades físico-químicas, terapêuticas, tóxicas, entre outras (AZANZA *et al.*, 2007; CATALÁN; MONTEJO, 2006).

Em função do número de nitrogênios no anilo imidazólico, eles se dividem em imidazóis (miconazol, cetoconazol) e triazóis (fluconazol, itraconazol, voriconazol) (Figura 8) (AZANZA *et al.*, 2007; CATALÁN; MONTEJO, 2006).

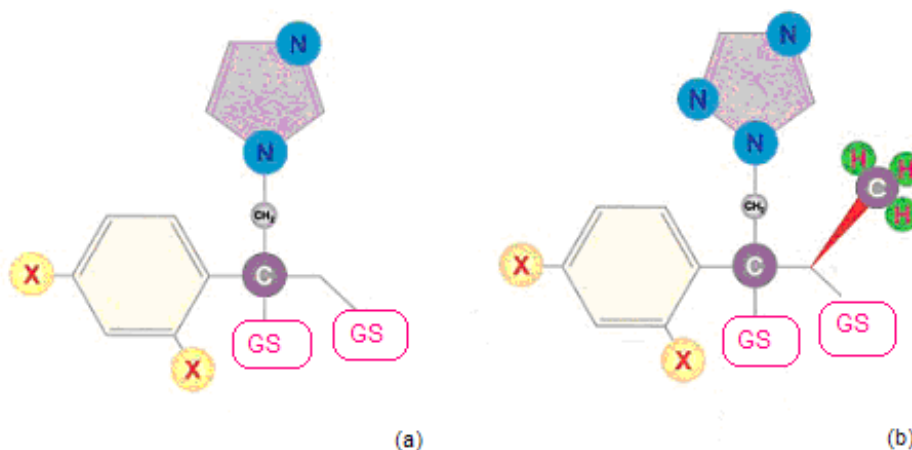


Figura 8 – Estrutura química dos imidazóis e triazóis (a) anel imidazólico em roxo, (b) anel triazólico em roxo, GS (grupo de substituição). Fonte: ODDS, 2003.

O miconazol foi o primeiro medicamento introduzido, no entanto, não é mais utilizado devido a falhas no tratamento. O cetoconazol, que pode ser administrado por via oral, tem um perfil de toxicidade muito baixo e é útil para várias desordens. Entretanto, sua biodisponibilidade é errática e depende do pH estomacal, o que contribuiu para falhas na clínica (EGGIMANN *et al.*, 2003). Embora não seja o fármaco de escolha, este pode ser utilizado para o tratamento de micoses sistêmicas como a paracoccidioidomicose.

1.2.4.1. Triazóis de primeira geração

A primeira geração dos azóis inibe seletivamente a enzima lanosterol C-14-demetilase associada ao citocromo P450 (CYP3A4 e CYP2C9) dos fungos bloqueando a conversão de lanosterol em ergosterol, resultando na diminuição da síntese do ergosterol e, conseqüentemente, inibição da formação da parede celular (Figura 9). Além disso, os triazóis produzem uma acumulação de peróxido de

hidrogênio capaz de lesionar a estrutura das organelas intracelulares dos fungos (ANDRIOLE, 2000; CATALÁN; MONTEJO, 2006).

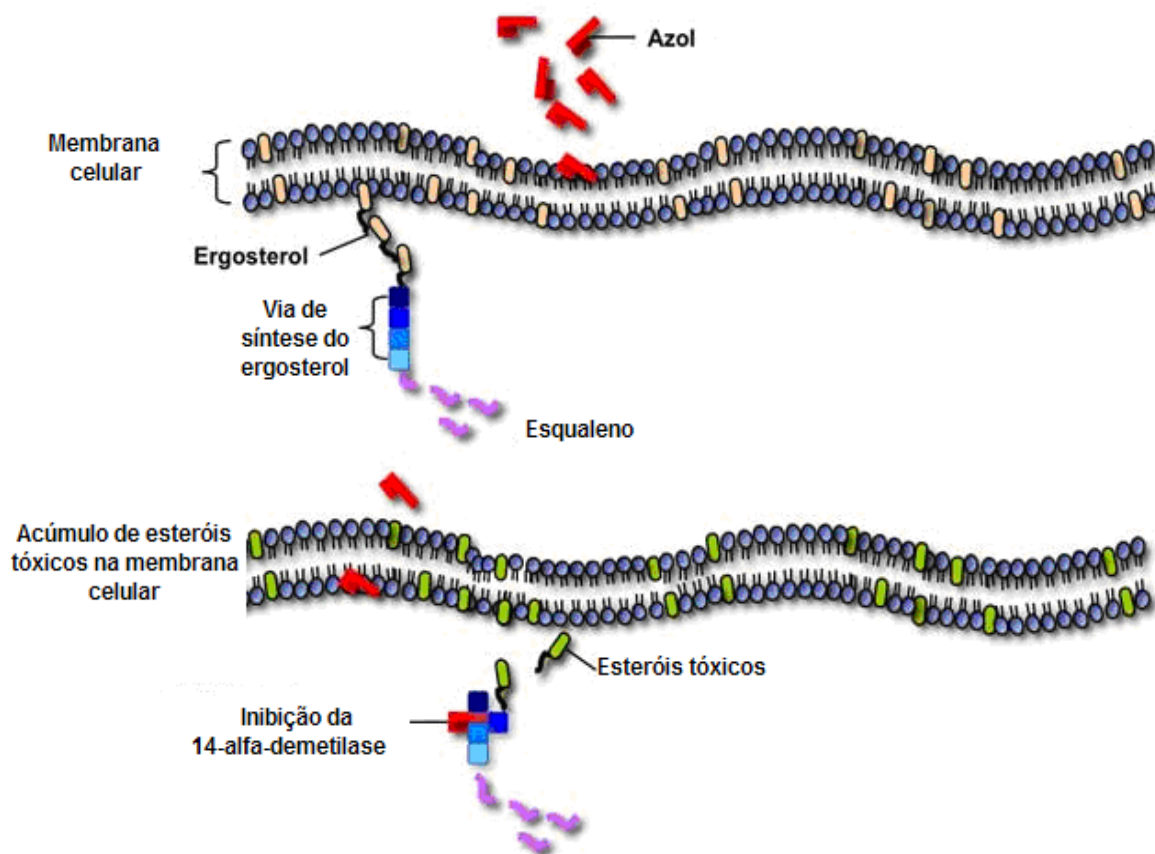


Figura 9 – Mecanismo de ação dos derivados imidazólicos. Fonte: ODDS, 2003.

Devido ao local de metabolização desses antifúngicos, as interações farmacológicas são bastante relevantes na prática clínica. Os inibidores ou indutores dessas enzimas podem aumentar ou diminuir, respectivamente, as concentrações plasmáticas desses fármacos (CHEN; SORRELL, 2007). Eles não são recomendados durante a gravidez e a lactação devido aos possíveis efeitos teratogênicos, embriotóxicos e passagem para o leite materno (CATALÁN; MONTEJO, 2006). A ação fungicida requer concentrações muito elevadas, por esse

motivo, se a dose fungistática não é administrada por tempo suficiente, podem ocorrer recaídas (CATALÁN; MONTEJO, 2006). A atividade antifúngica dos triazóis é mais restrita do que os polienos. De modo geral, esses medicamentos são disponíveis para uso oral e a incidência de efeitos colaterais é escassa, sendo esses medicamentos bem tolerados (EGGIMANN *et al.*, 2003).

1.2.4.1.1. Itraconazol

O itraconazol (Figura 10) tem atividade sobre leveduras e alguns fungos filamentosos, inclusive *Aspergillus*. As desvantagens desse medicamento são a variável biodisponibilidade, havendo uma grande variação do pico plasmático entre diferentes pessoas, e o gosto desagradável (CHEN; SORRELL, 2007).

Esse fármaco é insolúvel em água e muito solúvel em lipídeos. Assim, a absorção oral das cápsulas de itraconazol necessita de um meio ácido para otimizar a absorção. Recomenda-se, pois, a administração conjunta com sucos de frutas, refrigerantes e comida (CATALÁN; MONTEJO, 2006).

A metabolização hepática do itraconazol é elevada e apenas 1% é eliminado pela urina. Assim, é necessário ajustar a dose para insuficiência hepática. O itraconazol é metabolizado principalmente pelo citocromo CYP3A4 (WINGARD; LEATHER, 2004).

O uso prolongado e altas doses de itraconazol podem provocar hipopotassemia, hipertensão moderadas (CATALÁN; MONTEJO, 2006) e falência cardíaca, necessitando de acompanhamento estrito (EGGIMANN *et al.*, 2003).

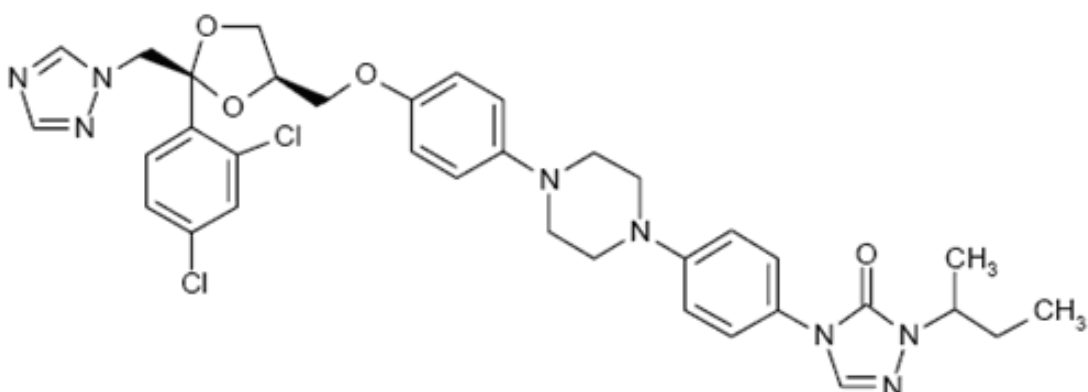


Figura 10 - Estrutura química do itraconazol. Fonte: CATALÁN; MONTEJO, 2006.

1.2.4.1.2. Fluconazol

Esse medicamento (Figura 11) está disponível na formulação oral e intravenosa. Tem boa atividade sobre espécies de *Candida* e *Cryptococcus neoformans*, porém com casos de resistência em certas espécies de *Candida non-albicans* (CHEN; SORRELL, 2007).

Apresenta elevada biodisponibilidade oral independente da acidez gástrica e também está disponível para administração intravenosa. É distribuído até mesmo nos tecidos corpóreos, incluindo o sistema nervoso central (EGGIMANN *et al.*, 2003). O fluconazol é eliminado por via renal, sendo 80% recuperado inalterado na urina. A meio-vida de eliminação é de 30 horas, fazendo-se necessário ajuste de dose no caso de insuficiência renal. O fluconazol inibe as isoenzimas CYP3A4 e CYP2C9 (WINGARD & LEATHER, 2004).

É normalmente bem tolerado, mas pode, excepcionalmente, desencadear a síndrome de Stevens-Johnson principalmente em populações com alto risco de AIDS e pacientes oncológicos (CATALÁN; MONTEJO, 2006). Sua excelente

tolerabilidade e o limitado número de interações medicamentosas tornam-no agente de primeira escolha para quase todos os casos de candidíase em pacientes imunodeprimidos (EGGIMANN *et al.*, 2003).

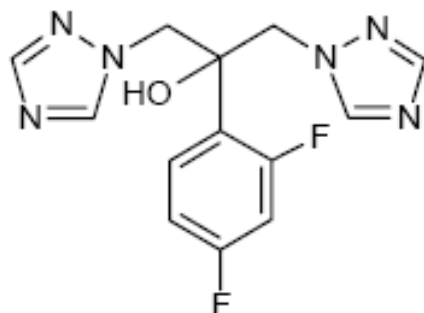
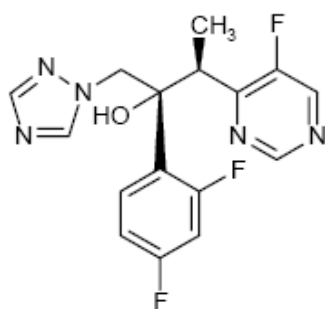


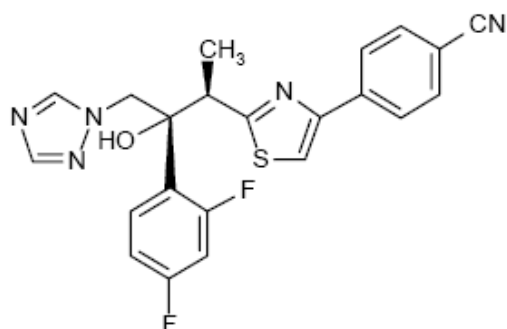
Figura 11 - Estrutura química do fluconazol. Fonte: CATALÁN; MONTEJO, 2006.

1.2.4.2. Triazóis de segunda geração

Nos últimos seis anos, dois novos triazóis foram aprovados: voriconazol e posaconazol. Existem ainda os triazóis ravuconazol e albaconazol que estão em fase II de pesquisa clínica (Figura 12) (PETRIKKOS; SKIADA, 2007).



(a)



(b)

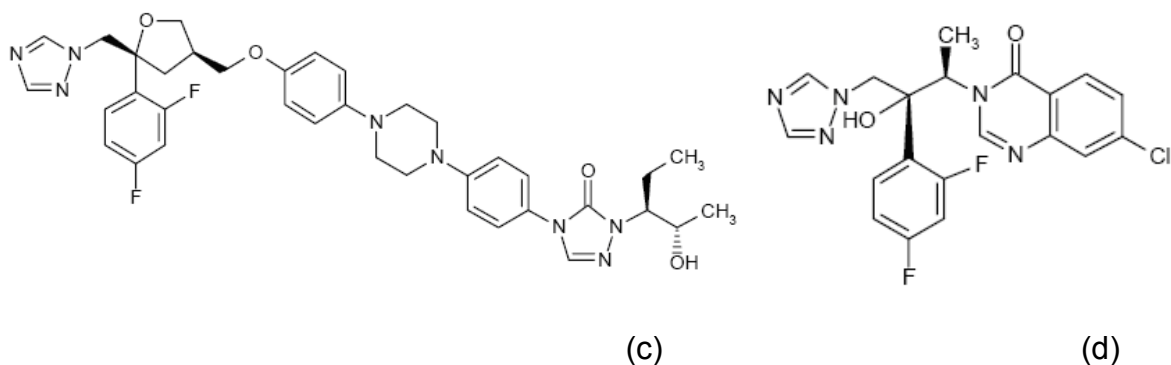


Figura 12 - Triazóis de segunda geração: (a) voriconazol, (b) ravuconazol, (c) posaconazol e (d) albaconazol. Fonte: CARRILLO-MUNOZ *et al.*, 2006.

1.2.4.2.1. Voriconazol

O voriconazol entrou no mercado em 2002 e é um derivado do fluconazol com maior atividade sobre cepas de *C. albicans* resistentes ao fluconazol, bem como isolados de *Aspergillus* resistente a anfotericina B, e outros fungos menos comuns (PETRIKKOS; SKIADA, 2007).

O voriconazol é disponível tanto na forma oral quanto intravenosa e tem excelente biodisponibilidade (90%). Seu tempo de meia vida é de seis horas, é metabolizado no fígado e sua excreção não é afetada por falência renal (CATALÁN; MONTEJO, 2006).

Diferente do fluconazol, o voriconazol também inibe a enzima 24-metileno dihidrolanosterol demetilase de certos fungos filamentosos e de leveduras (Figura 13). Tal mecanismo explica sua efetividade sobre micoses que não respondem ao fluconazol (CANUTO; RODERO, 2002).

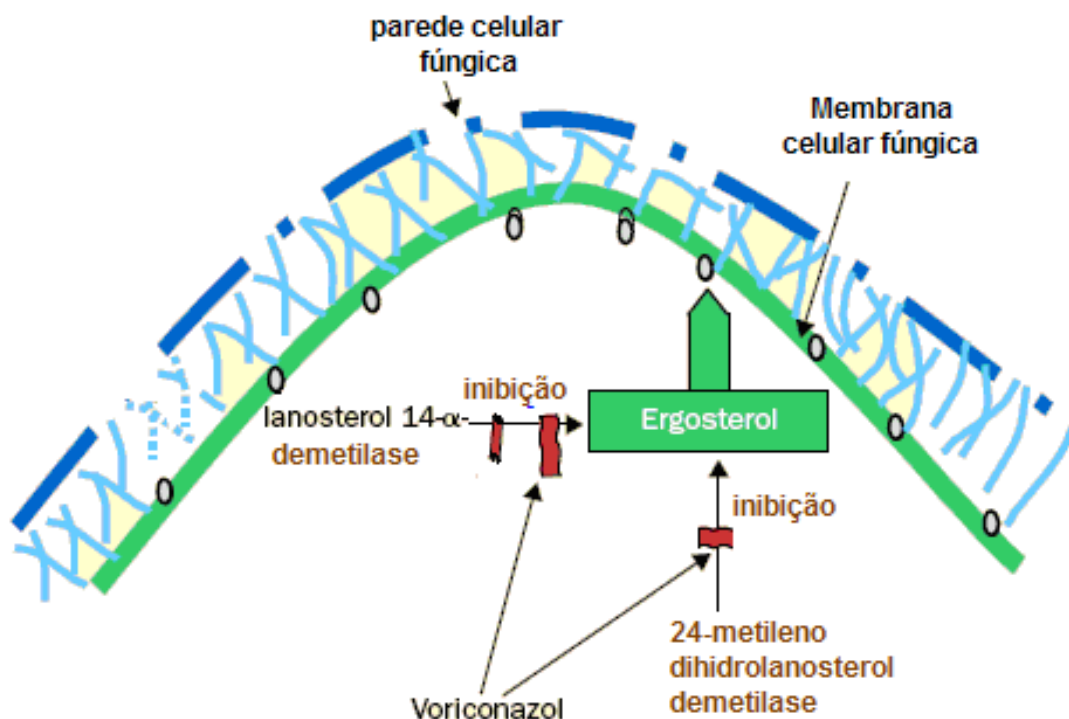


Figura 13 - Mecanismo de ação do voriconazol. Fonte: CANUTO; RODERO, 2002.

Esse medicamento apresenta poucos efeitos colaterais e todos reversíveis, os mais comuns sendo moderada alteração das transaminases, distúrbios visuais, *rash* cutâneo e distúrbios gastrointestinais (KAUFFMAN, 2006b). Pacientes com disfunção hepática leve a moderada devem ter a dose do medicamento reduzida em 50%, não sendo recomendado em caso de disfunção hepática grave (CATALÁN; MONTEJO, 2006).

Assim como os outros azóis, o voriconazol interage com medicamentos que são substratos para as enzimas do citocromo P450 3A4, aumentando seus níveis séricos. Seu uso deve ser evitado em pacientes fazendo uso de ciclosporina, rifampicina, fenitoína, carbamazepina, ritonavir e barbitúricos de longa ação (PETRIKKOS; SKIADA, 2007).

1.2.4.2.2. Posaconazol

O posaconazol é um análogo hidroxilado do itraconazol. Foi aprovado primeiramente na Europa em 2005 e depois pelo FDA em 2006 para profilaxia contra infecção invasiva por *Aspergillus* e *Candida*. A maior diferença entre este e o voriconazol é que o posaconazol é ativo contra zigomicetos, sendo o único agente, além da anfotericina B, ativo contra esse fungo (PETRIKKOS; SKIADA, 2007).

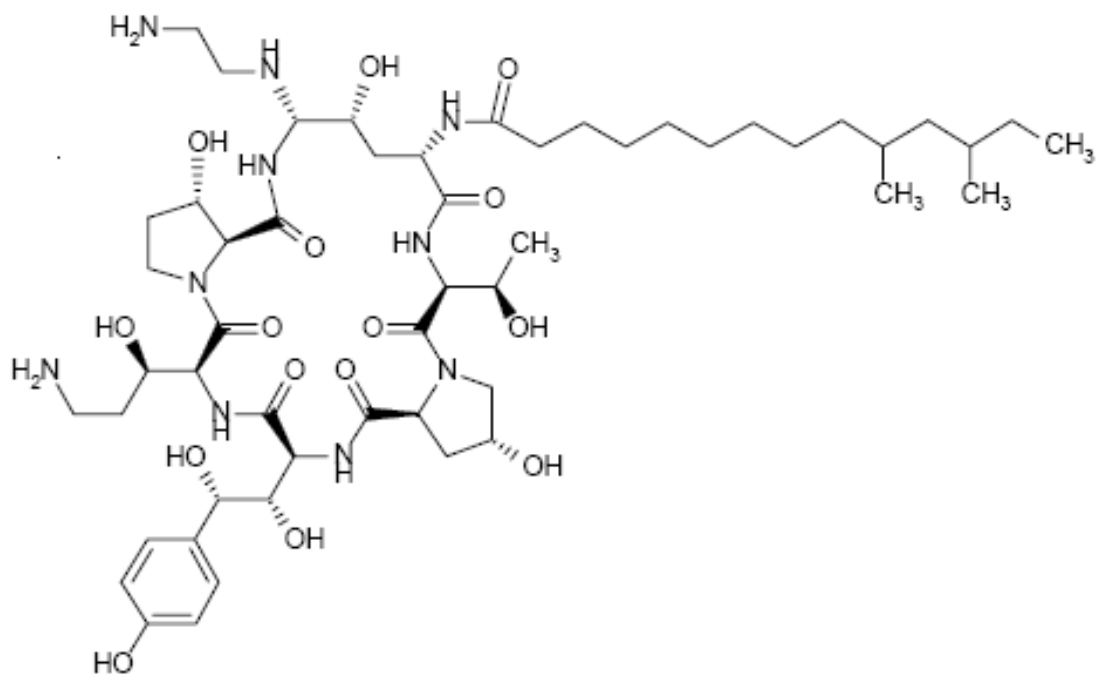
Sua biodisponibilidade é de 8 a 47% em indivíduos com estômago vazio, aumentando para 400% após a ingestão de refeições ricas em gordura. É metabolizado principalmente no fígado e aproximadamente 77% do medicamento é encontrado inalterado nas fezes. Uma pequena quantidade é também excretada na urina (PETRIKKOS; SKIADA, 2007).

A principal limitação do posaconazol é a indisponibilidade de uma formulação intravenosa e, conseqüentemente, sua não utilização em pacientes severamente doentes. Apresenta poucos efeitos colaterais, sendo os mais comuns, náuseas, vômito, dor de cabeça, dor abdominal e diarreia. A elevação das enzimas hepáticas pode ocorrer. Interage com outros medicamentos de forma similar ao voriconazol, mas o posaconazol parece ter um perfil menor de interação quando comparado com os outros triazóis (KAUFFMAN, 2006b).

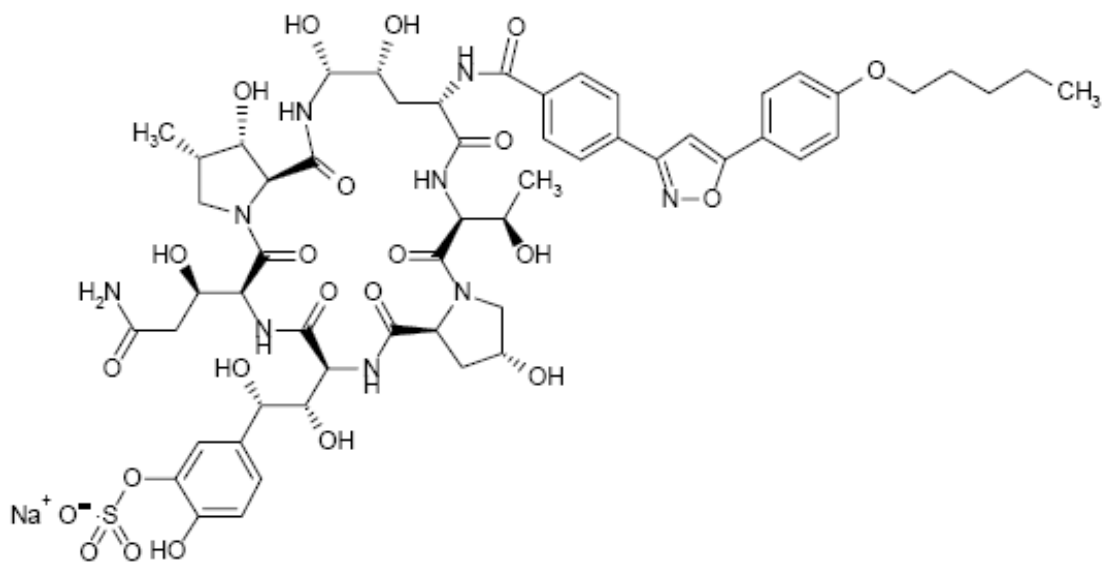
1.2.5. Equinocandinas

São lipopeptídeos anfifílicos, produtos da ciclopentamina, formados durante a fermentação de alguns fungos como *Zalerion arboricola* ou *Aspergillus nidulans* var. *echinulatus*. As três equinocandinas atualmente usadas são: caspofungina,

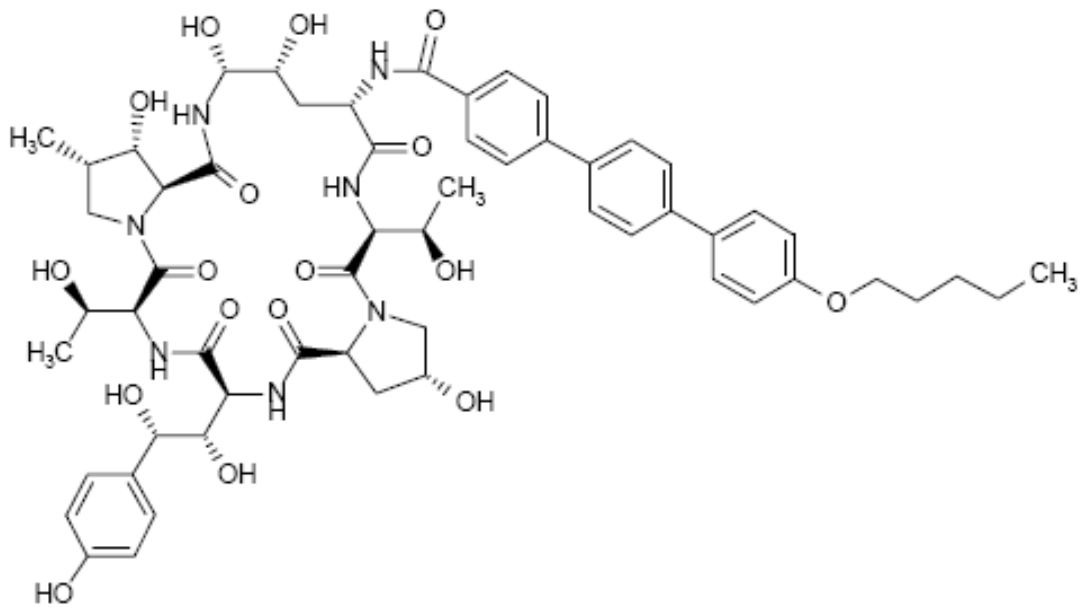
aprovada pelo *Food and Drug Administration* (FDA) em 2001; micafungina, disponível em 2005; e anidulafungina, aprovada em 2006 (Figura 14) (PETRIKKOS; SKIADA, 2007).



(a)



(b)



(c)

Figura 14 – Equinocandinas (a) caspofungina, (b) micafungina e (c) anidulafungina.

Fonte: CARRILLO-MUNOZ *et al.*, 2006.

Essa classe de antifúngicos apresenta um mecanismo de ação diferente de todos os outros, consistindo na inibição da (1,3)- β -d-glucana sintase que produz um importante componente da parede celular de muitos fungos patogênicos como *Candida* spp. e *Aspergillus* spp. A inibição da (1,3)- β -d-glucana sintase desorganiza a estrutura da parede celular em crescimento resultando em instabilidade osmótica e morte das células fúngicas susceptíveis. Como a parede celular de *C. neoformans* consiste basicamente de α -(1,3) ou α -(1,6) glucana, este fungo é resistente a equinocandinas. O alvo dessa classe não existe em células de mamíferos, portanto, a toxicidade é mínima (Figura 15) (ODDS, 2003).

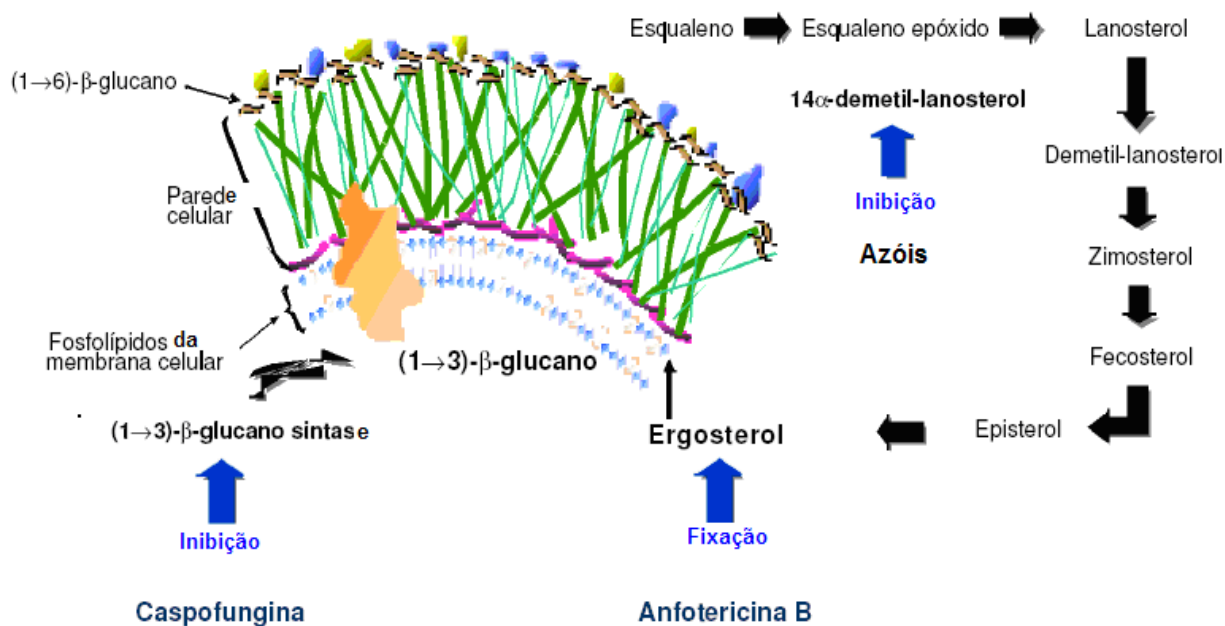


Figura 15 – Mecanismos de ação dos diferentes agentes antifúngicos.

Fonte: CATALÁN & MONTEJO, 2006.

As equinocandinas são extremamente seguras e eficazes comparando-a com outras classes de agentes antifúngicos. Assim, a escolha do agente é determinada pelo custo (KAUFFMAN, 2006b). Essa classe apresenta algumas poucas interações significantes uma vez que não é substrato nem inibidor do citocromo P450 (PETRIKKOS; SKIADA, 2007).

1.3. Mecanismos de resistência aos antifúngicos

A resistência antimicrobiana é um grande problema que diz respeito aos patógenos humanos, inclusive os fungos. Programas de vigilância a resistência antifúngica vêm sendo conduzidos por diferentes grupos em todo o mundo,

sugerindo que a emergência de infecções invasivas devido a *Candida não-albicans* resistentes ao fluconazol podem ser um problema cada vez mais crescente em vários centros médicos (CANUTO; RODERO, 2002; MATTA *et al.*, 2007).

As taxas de resistência de isolados sanguíneos de *Candida glabrata* ao fluconazol alcançam níveis de 7 a 14% em hospitais dos Estados Unidos e 3,7 a 40% em hospitais europeus (MATTA *et al.*, 2007). Infelizmente, a resistência das espécies de *Candida* parece não se restringir aos azóis, pois existe relato da resistência desses microrganismos à caspofungina (BAIXENCH *et al.*, 2007).

A resistência não é exclusiva das leveduras. Vários estudos indicam a emergência de menor susceptibilidade desses agentes às espécies de *Aspergillus* (CHAMILOS; KONTOYIANNIS, 2005; HOWARD *et al.*, 2006;). Vários fungos filamentosos como *Pseudallescheria boydii*, *Scopulariopsis*, *Fusarium* e leveduras como *Candida lusitanae* e *C. guilliermondii* apresentam resistência primária à anfotericina B (CANUTO; RODERO, 2002; WHITE *et al.*, 1998).

Existem vários mecanismos propostos para explicar a resistência de vários fungos aos antifúngicos disponíveis (Figura 16). Sabe-se, inclusive, que muitos desses mecanismos podem coexistir dentro de uma mesma célula (KONTOYIANNIS; LEWIS, 2002).

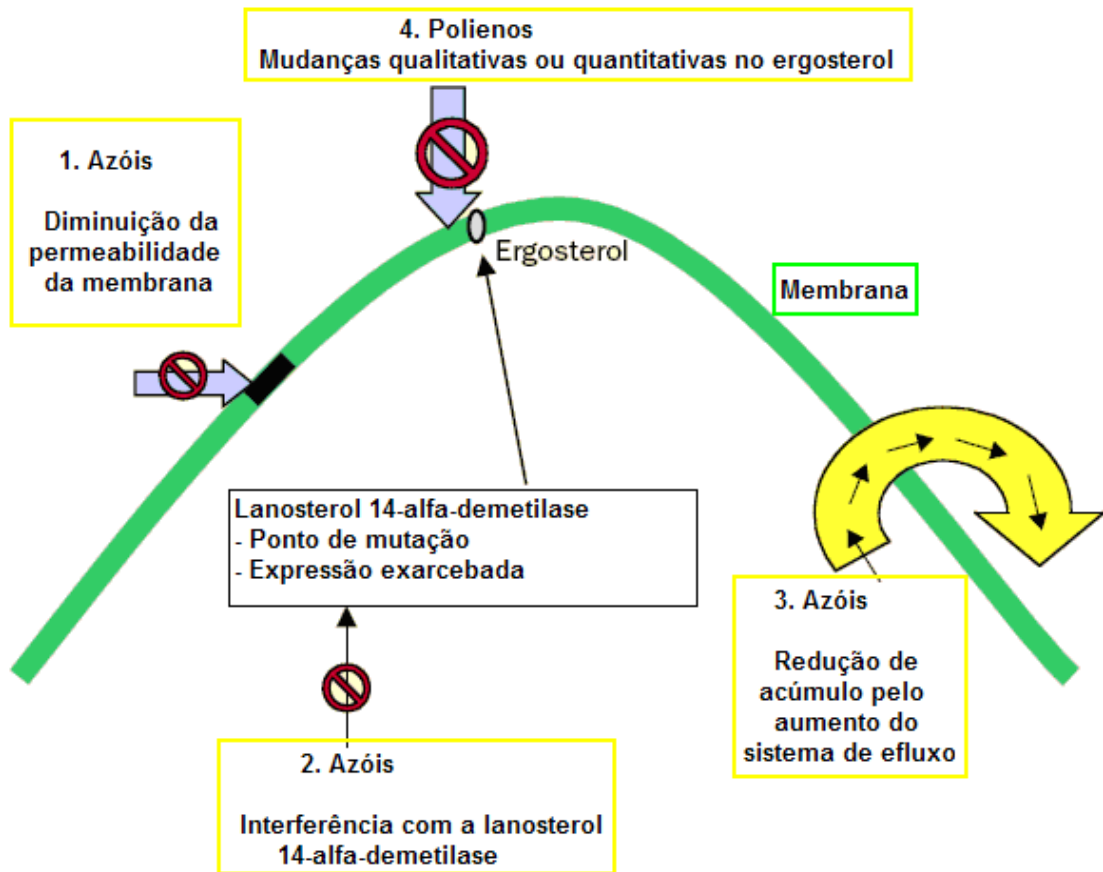


Figura 16 – Principais mecanismos de resistência dos azóis e polienos.

Fonte: CANUTO; RODERO, 2002.

A incapacidade do fármaco para alcançar as enzimas dentro da célula pode ser devido à existência de barreiras de permeabilidade ou ao sistema de bombeamento ativo do composto para o exterior. Em leveduras, por exemplo, têm-se relacionado à resistência secundária dos azóis com o aumento da expressão de transportadores. Entre eles, podem-se citar os transportadores ABC (*CDR1* e *CDR2*) responsáveis pela resistência a quase todos os azóis e os transportadores MSF (*MDR1*) que seriam os responsáveis pela resistência ao fluconazol (MELLADO *et al.*, 2002; WHITE *et al.*, 1998).

Em fungos filamentosos também se tem descrito transportadores homólogos aos das leveduras. Os genes dos fungos *Aspergillus fumigatus* (*MDR1* e *MDR2*), *A. flavus* (*MDR1*), *A. nidulans* (*atrA*, *atrB* e *atrC*) e *Penicillium digitatum* (*PMR1*, *PMR5*) pertencem a família dos transportadores ABC. O aumento de sua expressão relaciona-se com a resistência a diversos compostos com atividade antifúngica, mas não diretamente aos azóis (MELLADO *et al.*, 2002).

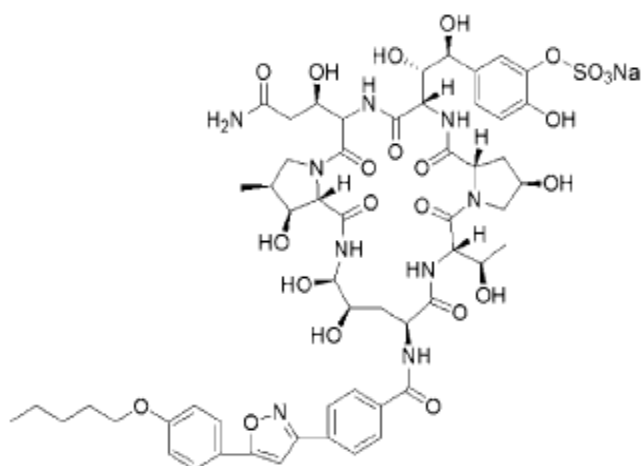
O aumento do número de cópias da enzima ou modificações devido a mutações impede a interação fármaco-enzima. Por exemplo, a mutação da enzima C-5,6 esterol desaturase (produto do gene *ERG3*) envolvida na síntese do ergosterol confere resistência moderada a anfotericina B. Esta mutação sempre vem acompanhada de mutações do gene *ERG11* que codifica a enzima 14 α -lanosterol-desmetilase, o que implica na existência de resistência cruzada da anfotericina B e dos azóis (CANUTO; RODERO, 2002; KONTOYIANNIS; LEWIS, 2002; MELLADO *et al.*, 2002).

O aumento do número de cópias do gene *ERG11* ou de sua expressão pode originar resistência aos azóis. Por exemplo, sabe-se que em *A. fumigatus* a transformação com um plasmídeo que contém o gene *ERG11* confere resistência ao itraconazol. Sugere-se que este aumento se deve a resposta da célula à diminuição de ergosterol e acúmulo de esteróis tóxicos (MELLADO *et al.*, 2002).

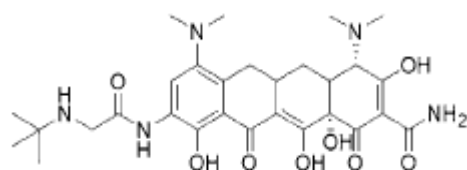
Modificações nas enzimas das vias metabólicas ou alterações no processamento intracelular do fármaco são outros mecanismos de resistência. Por exemplo, alterações no conteúdo de ergosterol da membrana dos fungos secundárias a mutações nas vias de biossíntese do ergosterol parece ser o mecanismo mais característico da resistência de *Candida* e *Saccharomyces cerevisiae* aos polienos (KONTOYIANNIS; LEWIS, 2002).

1.4. Produtos naturais e o desenvolvimento de novos medicamentos

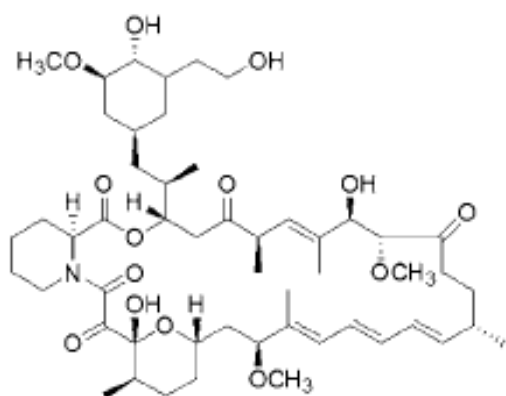
Os produtos naturais são utilizados para tratar e prevenir doenças desde a origem do homem. Esses produtos são provenientes de plantas, microrganismos, organismos marinhos e vertebrados e invertebrados terrestres (CHIN *et al.*, 2006; KOEHN; CARTER, 2005). Além do isolamento de produtos naturais, outros métodos são utilizados na busca de novos medicamentos, incluindo a síntese química, a química combinatória e a modelagem molecular. Apesar do grande interesse das indústrias farmacêuticas nesses últimos métodos, uma vez que são menos complexos, não há como desconsiderar a importância dos produtos naturais na busca por moléculas inovadoras e potenciais medicamentos (Figuras 17 a 19) (BALUNAS; KINGHORN, 2005; CHIN *et al.*, 2006).



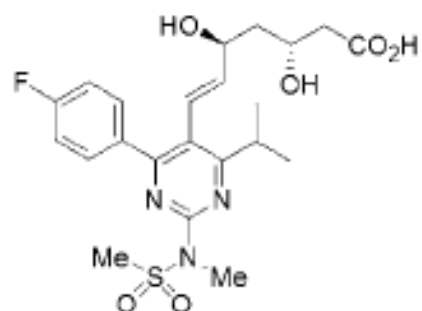
(a) Micafungina



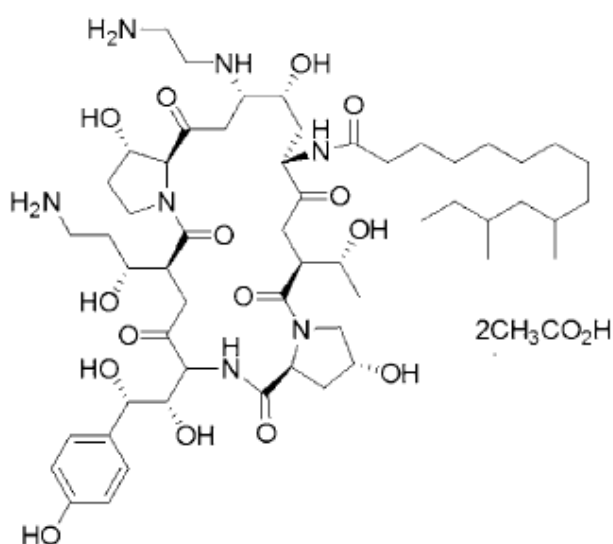
(b) Tigeciclina



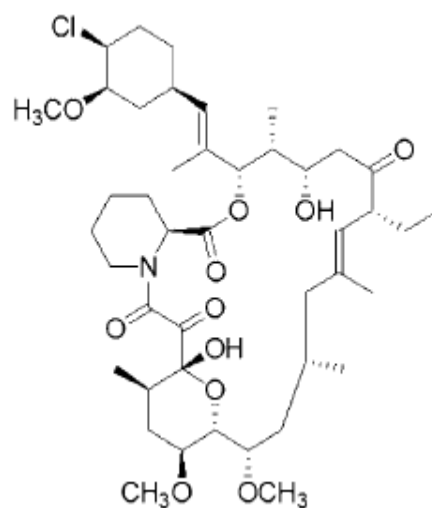
(c) Everolimus



(d) Rosuvastatina



(e) Caspofungina

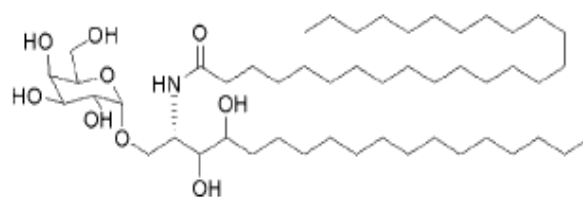


(f) Pimecrolimus

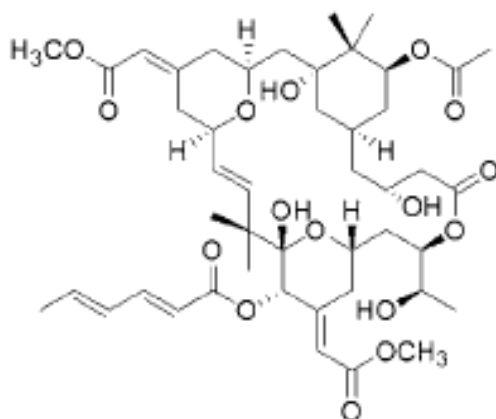
Figura 17 - Novos medicamentos originados de microrganismos terrestres. (a) e (e) antifúngicos, (b) antibiótico, (c) imunossupressor, (d) inibidores da redutase da HMG-CoA, (f) antiinflamatório. Fonte: CHIN *et al.*, 2006.



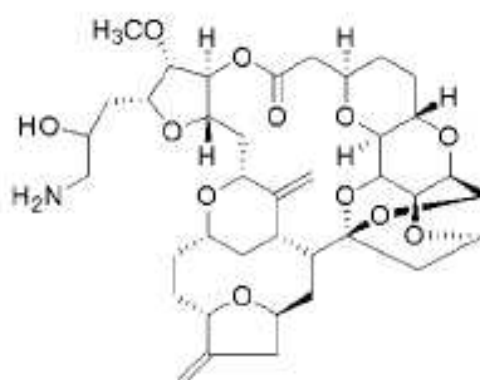
(a) Ziconotida



(b) KRN 7000



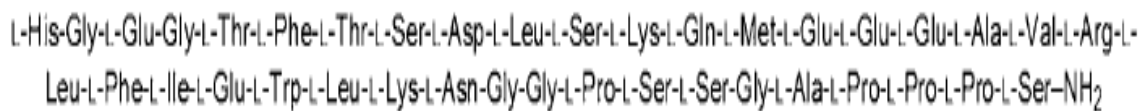
(c) Briostatina 1



(d) Halicondrina E-7389

Figura 18 - Novo medicamento, (a) analgésico não-opiáceo, e candidatos a medicamento (b), (c) e (d) atividade antitumoral, originados de organismos marinhos.

Fonte: CHIN *et al.*, 2006.



(a) Exenatida

D-Phe-L-Pro-L-Arg-L-Pro-Gly-Gly-Gly-Gly-L-Asn-Gly-L-Asp-L-Phe-L-Glu-L-Glu-L-Ile-L-Pro-L-Glu-L-Glu-L-Tyr-L-Leu

(b) Bivaliridina

Figura 19 - Novos medicamentos derivados de vertebrados e invertebrados terrestres. (a) hipoglicemiante e (b) antiplaquetário. Fonte: CHIN *et al.*, 2006.

Os produtos naturais são uma das principais fontes de agentes terapêuticos inovadores para diversas condições, incluindo as doenças infecciosas (COS *et al.*, 2006). Várias moléculas naturais ou sintetizadas a partir do modelo natural servem como estruturas medicamentosas líderes (Figura 20) (GURIB-FAKIM, 2006; VUORELA *et al.*, 2004).

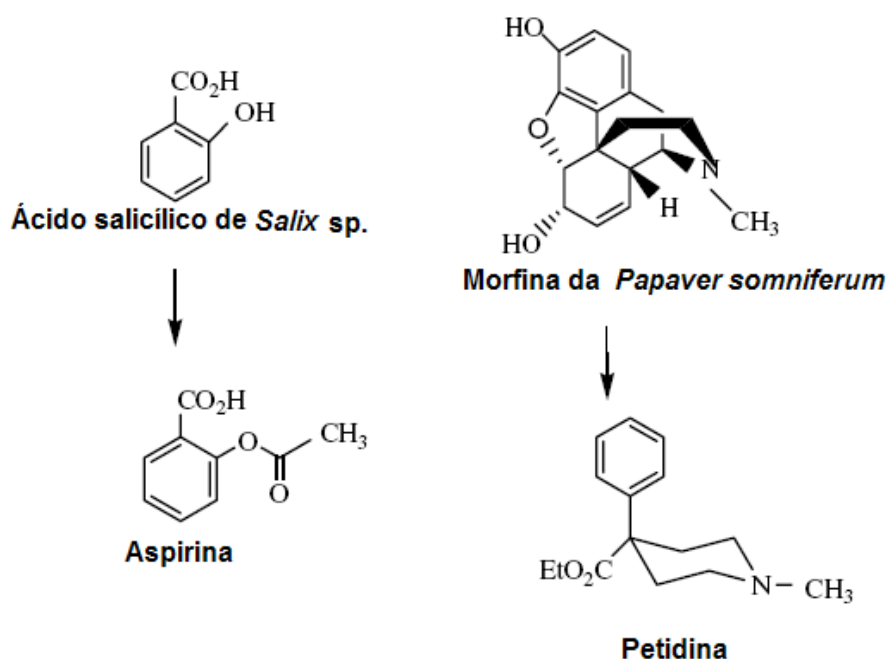


Figura 20 - Medicamentos desenvolvidos a partir de estruturas naturais líderes.

Fonte: GURIB-FAKIM, 2006.

Produtos naturais e medicamentos derivados são usados para tratar 87% das categorias de doenças humanas, incluindo os antibacterianos, antineoplásicos, anticoagulantes, antiparasitários, imunossuppressores, entre outros. Esses abrangem 33% de todas as novas entidades químicas lançadas no mercado, sendo 16% sintetizados a partir do grupo farmacofórico de produtos naturais (Figura 21) (NEWMAN *et al.*, 2003).

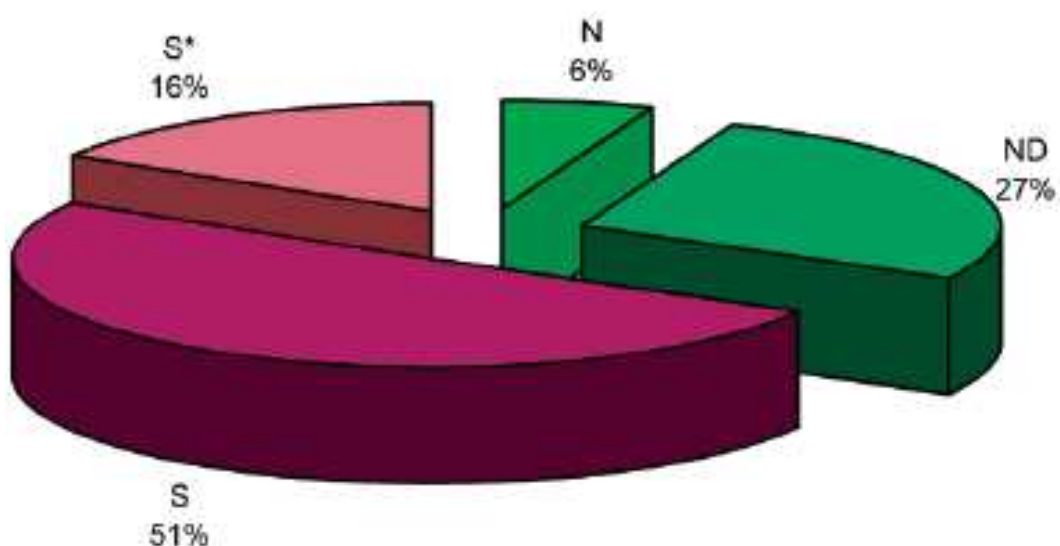


Figura 21 - Entidades químicas disponíveis (1981 a 2002) por fonte (N - produto natural, ND - derivado de produto natural, S - sintético, S* - síntese total a partir de grupos farmacofóricos de produtos naturais). Fonte: NEWMAN *et al.*, 2003.

Combinando essas categorias, a pesquisa de produtos naturais contribui com 49% das entidades no mercado (NEWMAN *et al.*, 2003). No futuro, os produtos naturais continuarão a desempenhar um papel fundamental como substâncias ativas e modelos moleculares para a descoberta e validação de fármacos (VUORELA *et al.*, 2004).

1.4.1. A importância das plantas na busca de moléculas ativas

As informações sobre a planta a ser utilizada para determinada enfermidade e a forma empregada (inicialmente as tinturas, cataplasmas, chás) foram passadas de geração em geração ao longo da história da humanidade (BALUNAS; KINGHORN, 2005; GURIB-FAKIM, 2006). De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), 80% da população mundial, principalmente em países em desenvolvimento, dependem de plantas e seus derivados para cuidar da saúde (BALUNAS; KINGHORN, 2005; GURIB-FAKIM, 2006).

Na história mais recente, o uso das plantas envolveu o isolamento de compostos ativos, começando com o isolamento da morfina no início do século 19 e posteriormente da cocaína, codeína, digoxina, quinina e outros usados até hoje na prática médica. Esta grande diversidade de estruturas químicas das plantas corresponde aos metabólitos secundários especializados, envolvidos na relação do organismo com o meio ambiente, atuando, por exemplo, como produtos de sinalização, substância de defesa contra predadores e parasitas, ou na resistência contra pragas e doenças (DIXON, 2001; PIETERS; VLIETINCK, 2005).

Estima-se que as plantas produzam uma notável diversidade de mais de 100.000 metabólitos secundários. Eles são distintos dos componentes do metabolismo primário por não serem componentes essenciais para o processo metabólico da planta (DIXON, 2001). Muitos autores apontam que os metabólitos secundários apresentam características de grande diversidade química, especificidade bioquímica e propriedades comuns aos produtos naturais como múltiplos estereocentros, centros quirais, anéis aromáticos, sistemas complexos de anéis, diferentes níveis de saturação da molécula e diferentes números e taxas de

heteroátomos. Todas essas características mostram ser extremamente relevantes na descoberta de novos medicamentos e servem para diferenciá-los dos compostos sintéticos (KOEHN; CARTER, 2005; PATERSON; ANDERSON, 2005).

Vários medicamentos já foram introduzidos no mercado e são derivados de planta, entre eles: o artéter (Artemotil®), potente antimalárico derivado da artemisinina, uma lactona sesquiterpênica isolada da *Artemisia annua* L. (Asteraceae). A galantamina (Reminil®), aprovada para o tratamento da doença de Alzheimer, é um produto natural isolado da *Galanthus woronowii* Losinsk (Amarilidaceae) (Figura 22) (BALUNAS; KINGHORN, 2005).

A nitisinona (Orfadin®), um derivado de planta utilizado para o tratamento de uma doença rara e hereditária, a tirosinemia, foi obtida a partir de modificações da mesotriona, herbicida baseado no produto natural leptospermona isolado de *Callistemon citrinus* Stapf. (Myrtaceae). Por fim, pode-se mencionar o tiotrópio (Spririva®), para o tratamento da Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica, derivado do ipratrópio, que é derivado de atropina isolada de *Atropa belladonna* L. (Solanaceae) (Figura 22) (BALUNAS; KINGHORN, 2005; CHIN *et al.*, 2006).

Vários outros compostos estão em fase III de pesquisa clínica ou em fase de registro e são uma sutil modificação de medicamentos já em uso. Pode-se citar a morfina-6-glucuronida com menos efeitos colaterais que a morfina; vinflunina mais eficaz que a vinblastina e o exatecana que é um análogo da camptotecina (Figura 22) (BALUNAS; KINGHORN, 2005).

A calanolida A, produto isolado de *Calophyllum lanigerum*, está em fase II de estudo e apresenta um mecanismo de ação inovador no tratamento da AIDS, atuando como um inibidor não-nucleosídeo da transcriptase reversa (Figura 22). Outras substâncias em fase II são a combrestatina A4 fosfato e o composto AVE-

8062 capazes de causar interrupção da vasculatura de tumores. Ambos derivados da combrestatina A4 isolada da árvore africana *Combretum caffrum* (Figura 22) (BALUNAS; KINGHORN, 2005).

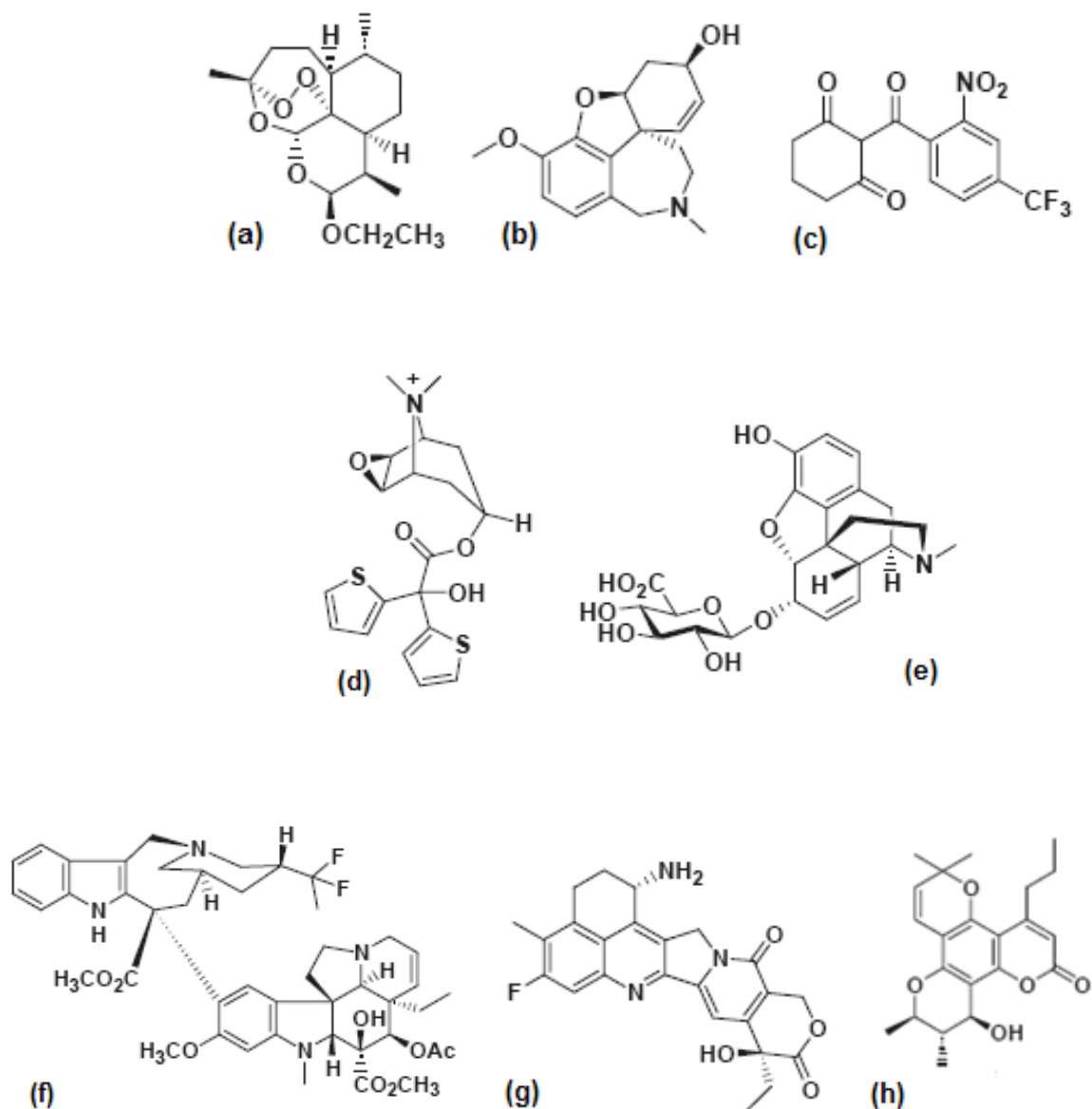


Figura 22 - Exemplos de medicamentos originados de plantas que estão no mercado ou em fases de pesquisa clínica: (a) artétera, (b) galantamina, (c) nitisinona, (d) tiotrópio, (e) morfina-6-glucuronida, (f) vinflunina, (g) exatecana e (h) calanolida A. Fonte: BALUNAS; KINGHORN, 2005.

1.4.2. Antimicrobianos de origem vegetal

As tabelas abaixo mostram alguns metabólitos secundários isolados de plantas com atividade antifúngica e antibacteriana. Ainda não existe no mercado uma molécula vegetal ou derivado contra fungos e bactérias. Entretanto, as plantas produzem e utilizam antimicrobianos que apresentam espectro de ação relativamente amplo para combater fitopatógenos. Muitas plantas e seus compostos já foram testados sobre patógenos humanos com bons resultados (DIXON, 2001; THEVISSEN et al., 2007).

Tabela 5 - Alcalóides com atividade antimicrobiana.

Referência	Substâncias isoladas - CIM µg/mL (microorganismos)	Família: Espécie	Droga vegetal ^a : solvente
EVIDENTE <i>et al.</i> , 2004	(1) (-)-Lycorine – 39 (<i>Candida albicans</i>) (2) (-)-Amarbellisine – 63 (<i>C. albicans</i>) (3) (+)-Vittatine – 31 (<i>C. albicans</i>)	Amaryllidaceae: <i>Amaryllis belladonna</i> L.	Bb: etanol
OTSHUDI <i>et al.</i> , 2005	(1) Coccoline – 15,62 (<i>Campylobacter jejuni</i> , <i>Salmonella typhimurium</i>)	Menispermaceae: <i>Epipetrum villosum</i> (Exell) Troupin	CR: metanol
RAHMAN; GRAY, 2005	(1) Mahanimbine – 25 (<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Proteus vulgaris</i>) (2) Girinimbine – 3,13 (<i>Staphylococcus aureus</i>) (3) 3-formylcarbazole – 25 (<i>Aspergillus niger</i> , <i>C. albicans</i>) (4) 3-formyl-methoxycarbazole – 25 (<i>A. niger</i> , <i>S. aureus</i>) (5) 3-formyl-9 methoxycarbazole – 25 (<i>C. albicans</i> , <i>P. vulgaris</i>) (6) Carbazole-3-carboxylic acid – 50 (<i>C. albicans</i> , <i>Escherichia coli</i>) (7) 3,3'-[oxybis(methylene)] bis(9-methoxy-9H-carbazole) – 6,25 (<i>P. vulgaris</i>)	Rutaceae: <i>Murraya koenigii</i> (L) Spreng.	CC: éter de petróleo
THOUVENEL <i>et al.</i> , 2003	(1) <i>Canthin-6-one</i> – 12,8 ^p (<i>Candida glabrata</i> , <i>Candida tropicalis</i> , <i>A. niger</i> , <i>Aspergillus terreus</i> , <i>Trichosporon beigeli</i> , <i>Trichosporon cutaneum</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Geotrichum candidum</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i>) (2) 5-Methoxycanthin-6-one – 12,3 ^b (<i>Trichophyton mentagrophytes</i> var. <i>interdigitale</i>)	Rutaceae: <i>Zanthoxylum chloperone</i> var. <i>angustifolium</i> Engl.	CC: diclorometano

^a Droga vegetal: Bb (bulbos), CR (casca da raiz), CC (casca do caule). ^b Concentração em µM/L

Tabela 6 - Terpenóides com atividade antimicrobiana.

Referência	Substâncias isoladas - CIM µg/mL (microorganismos)	Família: Espécie	Droga vegetal ^a : solvente
ANGEH <i>et al.</i> , 2007	Triterpenóides (1) Imberbic acid, (2) 3,30-dihydroxy-12-oleanen-22-one and (3) 1,3,24 trihydroxy-12-olean-29-oic acid – 16 (<i>E. coli</i>) (4) 1-hydroxy-12-olean-30-oic acid – 24 (<i>Enterococcus faecalis</i>)	Combretaceae: <i>Combretum imberbe</i>	F: hexano
	Triterpenóide pentacíclico (5) 1 α ,23d hydroxy-12-oleanen-29-oic acid-3 β -O-2,4-di-acetyl-rhamnopyranoside – 16 (<i>E. coli</i>)		
DICKSON <i>et al.</i> , 2007	Diterpenóides do tipo cassano (1) Deoxycaesaldekarin C – 47 ^b (<i>B. subtilis</i>) (2) Benthaminin 1 – 47 ^b (<i>Micrococcus flavus</i> , <i>S. aureus</i>) (3) Benthaminin 2 – 48 ^b (<i>M. flavus</i> , <i>S. aureus</i>)	Caesalpiniaceae: <i>Caesalpinia benthamiana</i> (Baill.) Herend. and Zarucchi	CC: éter de petróleo
DREWES <i>et al.</i> , 2006	Diterpenos (1) ent-beyer-15-en-19-ol – 3,1 (<i>Bacillus cereus</i>) (2) 4-epimer entbeyer-15-en-18-ol – 3,6 (<i>B. cereus</i>) (3) 15 β , 16 β -epoxide-ent-beyeran-19-ol – 19,5 (<i>B. cereus</i>) (4) Nidoanomalin – 62,5 (<i>B. cereus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>S. epidermidis</i>) (5) Malonic acid – 78,1 (<i>C. neoformans</i>)	Asteraceae: <i>Helichrysum tenax</i> var <i>tenax</i>	Fi: hexano
EL-SEEDI <i>et al.</i> , 2002	Diterpenóides (1) 15-Acetoxy-7-labden-17-oic acid – 64 (<i>E. coli</i>)	Asteraceae: <i>Eupatorium glutinosum</i>	F e C: hexano

^a Droga vegetal: F (folhas), CC (casca do caule), FI (flores), C (caule), Re (resina), PA (partes aéreas), R (raiz), PI (planta inteira), S (sementes), NR (nódulos da raiz), CR (casca da raiz). ^b Concentração em µM/L. ^c ERV: *Enterococcus faecalis* resistente a vancomicina e SARM; *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina.

FERESIN <i>et al.</i> , 2003a	Diterpeno (1) Labda-7,13E-dien-2 β ,15-diol – 12,5 (<i>Epidermophyton floccosum</i> , <i>Trichophyton rubrum</i>)	Asteraceae: <i>Baccharis grisebachii</i>	Re: diclorometano
GASPAR- MARQUES <i>et al.</i> , 2006	Diterpenos (1) Coleon U – 0,98 (SARM) ^c (2) 7 α -acetoxo-6 β -hidroxioleanone e (3) Horminone – 7,81 (SARM) (4) 6 β -hidroxioleanone – 62,5 (SARM) (5) 6 β -7 α -dihidroxioleanone – 31,25 (ERV) ^c (6) 7a,12-Dihidroxy-17(15-16)-abeoabieta-8,12,16-triene-11,14-dione, (7) 16-acetoxo-7a,12-dihidroxy-8,12-abietadiene-11,14-dione e (8) 3a-acetoxo-3a,7b,12-trihidroxy-17(15-16),18(4-3)-bisabeo-abieta-4(19),8,12,16-tetraene-11,14-dione – 31,25 (SARM, ERV)	Lamiaceae: <i>Plectranthus gradientatus</i> e <i>Plectranthus heroensis</i>	PA e R: acetona
GBAGUIDI <i>et al.</i> , 2005	Ácidos triterpênicos (1) Oleanolic acid e (2) Ursolic acid – 15 (<i>Dermatophilus congolensis</i>)	Rubiaceae: <i>Mitracarpus scaber</i>	PA: etanol
KUETE <i>et al.</i> , 2007a	Triterpeno (1) Friedelin – 0,61 (<i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Salmonella typhi</i> , <i>Streptococcus faecalis</i>)	Clusiaceae: <i>Garcinia smeathmannii</i> Oliver	CC: etanol
LIU <i>et al.</i> , 2007	Diterpenóides (1) 18- β -L-3',5'-diacetoxiarabino-furanosyl-ent-kaur-16-ene – 15,6 (<i>Streptococcus mutans</i> , <i>Actinomyces viscosus</i>) (2) 18- β -D-3',6'-diacetoxyluco-pyranosyl-ent-kaur-16-ene – 62,5 (<i>A. viscosus</i>)	Alismaceae: <i>Sagittaria pygmaea</i>	PI: etanol 95%
MENG <i>et al.</i> , 2000	Sesquiterpenóide (1) 3 β ,8 β -dihidroxy-11 α H-guaia-4(15),10(14)-diene-12,6 α -olide – 50 (<i>A. niger</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>E. coli</i>) Monoterpeno (1) (1R,4R,5R)-5-benzoyloxybornan-2-one – 25 (<i>B. subtilis</i>)	Asteraceae: <i>Soroseris hookeriana</i> Stebb. Subsp. erysimoides (Hand. -Mazz.)	PA: metanol/ éter de petróleo
^a Droga vegetal: F (folhas), CC (casca do caule), FI (flores), C (caule), Re (resina), PA (partes aéreas), R (raiz), PI (planta inteira), S (sementes), NR (nódulos da raiz), CR (casca da raiz). ^b Concentração em μ ML. ^c ERV: <i>Enterococcus faecalis</i> resistente a vancomicina e SARM; <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina.			

MURTHY <i>et al.</i> , 2005	Diterpenóides (1) 16 α -hydroxy-cleroda-3,13(14)-Z-diene-15,16-olide – 0,78 (<i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. typhimurium</i>) (2) 16-oxo-cleroda-3,13(14)-E-diene-15-oic acid – 1,56 (<i>E. coli</i> , <i>Klebsiella aerogenes</i> , <i>S. typhimurium</i>)	Annonaceae: <i>Polyalthia longifolia</i> Thw.	S: hexano
MURTHY <i>et al.</i> , 2006	Diterpenóides quinonaméticos (1) Bharangin – 5 (<i>Clostridium sp.</i>)	Verbenaceae: <i>Premna herbceae</i>	NR: hexano
ORABI <i>et al.</i> , 2001	Triterpenos (1) Maytenfolic acid – 12,5 (<i>P. aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i>) (2) Friedilane acid – >12.5 (<i>S. aureus</i>)	Celastraceae: <i>Maytenus heterophylla</i>	F: etanol 95%
RABE; STADEN, 2000	Sesquiterpeno (1) Muzigadial – 12,5 (<i>S. aureus</i>)	Canellaceae: <i>Warburgia salutaris</i>	CC: acetato de etila
RODRÍGUEZ <i>et al.</i> , 2005	Triterpeno fenólico (1) 7-Oxoblepharodol e (2) Blepharotriol – 8 (<i>B. subtilis</i>)	Celastraceae: <i>Maytenus blepharodes</i>	CR: hexano: éter (1:1)
STAVRI <i>et al.</i> , 2006	Iridóide glucosídico (1) Ajugoside – 32 (<i>S. aureus</i> NorA)	Scrophulariaceae: <i>Scrophularia deserti</i>	PI: clorofórmio
SATHIAMOORTHY <i>et al.</i> , 2007	Iridóide glucosídico (1) Agnuside – 12,5 (<i>C. neoformans</i> , <i>T. mentagrophytes</i>) (2) Negundoside – 6,25 (<i>C. neoformans</i> , <i>T. mentagrophytes</i>)	Verbenaceae: <i>Vitex negundo</i> (Linn.)	F: etanol
WELLSOW <i>et al.</i> , 2006	Diterpenos (1) Coleon A e (2) Coleon A lactone – 25 (<i>B. subtilis</i>) (3) Coleon U – 3,13 (<i>B. subtilis</i>) (4) Coleon U quinone – 6,25 (<i>Pseudomonas syringae</i>)	Lamiaceae: <i>Plectranthus saccatus</i>	F: acetona

^a Droga vegetal: F (folhas), CC (casca do caule), FI (flores), C (caule), Re (resina), PA (partes aéreas), R (raiz), PI (planta inteira), S (sementes), NR (nódulos da raiz), CR (casca da raiz). ^b Concentração em $\mu\text{M/L}$. ^c ERV: *Enterococcus faecalis* resistente a vancomicina e SARM; *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina.

Tabela 7 - Flavonóides e outros compostos fenólicos com atividade antimicrobiana.

Referência	Substâncias isoladas - CIM µg/mL (microorganismos)	Família: Espécie	Droga vegetal ^a : solvente
AMER <i>et al.</i> , 2004	Flavonóide (1) apigenin O-β-D-(6"- <i>trans-p</i> -coumaroyl)-glucoside – 64 (<i>B. subtilis</i>)	Acanthaceae: <i>Acanthus arboreus</i>	PI: etanol 95%
BYLKA <i>et al.</i> , 2004	Flavonóide (1) Isocytifoside – 15,6 (<i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>Bacillus pumilis</i>)	Ranunculaceae: <i>Aquilegia vulgaris</i> L.	F: metanol
CHACHA <i>et al.</i> , 2005	Flavonóides (1) Erylatissin A e (2) Neobavaisoflavone – 0,02 (<i>Candida mycoderma</i>) (3) Erylatissin B – 1 (<i>S. aureus</i>) (4) Erylatissin C e (5) Abyssinone II – 0,01 (<i>C. mycoderma</i>) (6) Daidzein e (7) Calycosin – 0,05 (<i>C. mycoderma</i>) (8) Phaseollidin e (9) Genistein – 0,1 (<i>C. mycoderma</i>) (10) Cristacarpin – 0,01 (<i>B. subtilis</i>) (11) 4,2',4'-trihydroxy-3'-γ,γdimethylallylchalcone – 0,01 (<i>S. aureus</i>) (12) 4,2',4'-trihydroxychalcone e (13) Demethylmedicarpin – 0,5 (<i>C. mycoderma</i>)	Fabaceae-Papilionoideae: <i>Erythrina latissima</i>	MC: metanol/ clorofórmio
CHANG; CASE, 2005	Glicosídeos fenólicos (1) Cuneatasides A – 20 ^b (<i>M. epidermidis</i>) (2) Cuneatasides B – 20 ^b (<i>S. aureus</i> , <i>M. epidermidis</i>)	Sargentodoxaceae: <i>Sargentodoxa cuneata</i>	C: acetona/água
DREWES <i>et al.</i> , 2005	1,4-benzoquinonas (1) 2-methyl-6-(3-methyl-2-butenyl) benzo-1,4-quinone – 37 (<i>C. albicans</i>) (2) 3-hydroxy-2-methyl-5-(3-methyl-2-butenyl)-benzo-1,4-quinone – 9,8 (<i>S. epidermidis</i>)	Haloragaceae: <i>Gunnera perpersa</i>	PA: metanol

^a Droga vegetal: PI (planta inteira), F (folha), MC (madeira do caule), C (Caule), PA (partes aéreas), MR (madeira da raiz), CR (casca da raiz), Re (resina), CC (casca do caule), R (raiz), Pc (pericarpo). ^b Concentração em µM/L. ^c SARM: *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina e SARV: *Staphylococcus aureus* resistente a vancomicina.

ERASTO <i>et al.</i> , 2004	Flavonóides (1) Isogacaeonin C – 0,05 (<i>B. subtilis</i>) (2) Bolusanthin III – 0,05 (<i>C. mycoderma</i>) (3) Bolusanthin IV – 0,05 (<i>S. aureus</i>)	Fabaceae: <i>Bolusanthus speciosus</i>	MR: clorofórmio e acetato de etila
EYONG <i>et al.</i> , 2006	Antraquinona (1) Newbouldiaquinone – 0,31 (<i>E. coli</i>)	Bignoniaceae: <i>Newbouldia laevis</i>	CR: metanol/ diclorometano
FERESIN <i>et al.</i> , 2003b	Benzoquinona (1) Embelin – 50 (<i>E. coli</i>)	Oxalidaceae: <i>Oxalis erythrorhiza</i>	PA: hexano
FERESIN <i>et al.</i> , 2003a	Derivados do ácido p-cumarínico (1) 4-Acetyl-3-prenyl-p-coumaric acid e (2) 4-Acetyl-3,5-diprenylcinnamic acid – 100 (<i>Epidermophyton floccosum</i>) (3) Drupanin e (4) 3,5-Diprenyl-4-hydroxycinnamic acid – 50 (<i>E. floccosum</i>)	Asteraceae: <i>Baccharis grisebachii</i>	Re: diclorometano
KUETE <i>et al.</i> , 2007b	Cumarinas (1) Psoralen – 9,76 (<i>B. subtilis</i>) (2) Bergapten – 78,12 (<i>E. cloacae</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>C. albicans</i> , <i>C. glabrata</i>) (3) 7-methoxycoumarin – 19,53 (<i>C. albicans</i>) (4) 7-hydroxycoumarin – 39,06 (<i>Candida krusei</i> , <i>C. albicans</i>) (5) O- [3-(2,2-dimethyl-3-oxo-2H-furan-5-yl) butyl] bergapton – 4.88 (<i>Bacillus megaterium</i>)	Moraceae: <i>Treculia obovoidea</i> N.E. Brown	C: metanol
	Flavonóides (1) 4,2', 4'-trihydroxychalcone – 4,88 (<i>B. cereus</i>) (2) 4,2', 4'-trihydroxy-3-prenylchalcone – 4,88 (<i>S. typhi</i> , <i>B. cereus</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>C. albicans</i> , <i>Bacillus megaterium</i>)		
	Ácido fenólico (1) 3-hydroxy-4-methoxybenzoic acid – 19,53 (<i>C. albicans</i>)		
^a Droga vegetal: PI (planta inteira), F (folha), MC (madeira do caule), C (Caule), PA (partes aéreas), MR (madeira da raiz), CR (casca da raiz), Re (resina), CC (casca do caule), R (raiz), Pc (pericarpo). ^b Concentração em µM/L. ^c SARM: <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a metilina e SARV: <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a vancomicina.			

KUETE <i>et al.</i> , 2007c	Flavonóides (1) Gancaonin Q – 0,61 (<i>B. cereus</i>) (2) Stipulin – 4,88 (<i>B. cereus</i>) (3) Angusticommin B – 0,31 (<i>Enterobacter cloacae</i>) (4) Bartericin A – 0,31 (<i>Citrobacter freundii</i>)	Moraceae: <i>Dorstenia angusticornis</i> Engl	C: metanol
LENTA <i>et al.</i> , 2007	Derivados Anthraquinona (1) Zenkequinone A – 18,75 (<i>P. aeruginosa</i>) (2) Zenkequinone B – 9,50 (<i>P. aeruginosa</i>) (3) Sterequinone-F – 18,5 (<i>B. megaterium</i>) Composto fenólico (4) p-coumaric acid – 18,75 (<i>B. subtilis</i> , <i>B. megaterium</i>)	Bignoniaceae: <i>Stereospermum zenkeri</i> K. Schum. ex De Wild	CC: acetato de etila
LU <i>et al.</i> , 2001	Piranocumarina (1) Praeruptorin A – 100 (<i>S. agalactiae</i>)	Apiaceae: <i>Peucedanum praeruptorum</i>	R: metanol
MACHADO <i>et al.</i> , 2002	Elagitaninos (1) Punicalagin – 61,5 (SARM) ^c	Punicaceae: <i>Punica granatum</i> Linn.	Pc: etanol
MARTINI <i>et al.</i> , 2004	Flavonóides (1) 5-hydroxy-7,4'-dimethoxyflavone e (2) Rhamnocitrin – 25 (<i>Vibrio cholerae</i>) (3) Quercetin-5,3'-dimethylether, (4) Rhamnazin e (5) Genkwanin – 50 (<i>V. cholerae</i>)	Combretaceae: <i>Combretum erythrophyllum</i>	F: acetona
MENG <i>et al.</i> , 2000	Flavonóides (1) Diosmetin e (2) Isoluteolin – 25 (<i>B. subtilis</i>) Derivados do ácido benzóico (1) p-methoxybenzoic acid – 25 (<i>A. niger</i>) (2) Isovanillic acid – 25 (<i>A. niger</i> , <i>B. subtilis</i>)	Asteraceae: <i>Sorozeris hookeriana</i> subsp. <i>erysimoides</i>	PA: metanol/ éter de petróleo

^a Droga vegetal: Pl (planta inteira), F (folha), MC (madeira do caule), C (Caule), PA (partes aéreas), MR (madeira da raiz), CR (casca da raiz), Re (resina), CC (casca do caule), R (raiz), Pc (pericarpo). ^b Concentração em µM/L. ^c SARM: *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina e SARV: *Staphylococcus aureus* resistente a vancomicina.

OGUNDIPE et al., 2001	Flavonóides (1) Quercetin-7,4'-disulphate – 3,13 (<i>S. aureus</i>) (2) Quercetin – 75 (<i>B. cereus</i>) (3) Quercetin-3',4'-disulphate – 6,25 (<i>S. aureus</i>) (4) Quercetin-3,4'-diacetate – 62,5 (<i>S. aureus</i>)	Euphorbiaceae: <i>Alchornea laxiflora</i>	F: hexano
PAIVA et al., 2003	Naftoquinona (1) Plumbagin – 0,78 (<i>C. albicans</i>)	...1 Plumbaginaceae: <i>Plumbago scandens</i>	R: clorofórmio
PEGNYEMB et al., 2005	Biflavonóide (1) Sulcatone – 8,12 (<i>B. subtilis</i>)	Ochnaceae: <i>Ouratea sulcata</i>	F: metanol
RAHMAN; GRAY, 2002	Flavanonas (1) Pyranoflavanone – 100 (<i>S. aureus</i>) (2) 5,7,40 -trihidroxy-6,8-di -(3-methylbut-2-enyl)-flavanone (3) Demethylsuberosin e (4) 1-hidroxy-3-methoxy-Nmethyl-acridan-9-one – 50 (<i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i>)	Rutaceae: <i>Feronia limonia</i>	CC: éter de petróleo
RUKACHAISIRIKUL et al., 2007	Cumarina (1) (E)-5,8-diepoxi-24(x)-methylcholesta-6,22-dien-3-ol – 50 (<i>S. aureus</i>)		
	Pterocarpanos (1) Erybraedin A – 0,78 (<i>S. agalactiae</i> , <i>Streptococcus constellatus</i> , <i>Streptococcus mutans</i> , <i>Streptococcus milleri</i> , SARM ^o) (2) Erythrabysin II – 0,78 (<i>S. mutans</i> , <i>S. milleri</i> , SARM ^o) (3) Erystagallin A – 0,78 (<i>S. agalactiae</i> , <i>S. constellatus</i> , SARM ^o) (4) Erythrabissin-1 – 1,56 (<i>S. mutans</i>) (5) Erycristagallin – 0,39 (SARV ^o)	Leguminosae: <i>Erythrina subumbrans</i>	C: hexano e diclorometano
	Isoflavona (1) Erysubin F – 50 (<i>Streptococcus sobrinus</i> , SARV ^o)		

^a Droga vegetal: PI (planta inteira), F (folha), MC (madeira do caule), C (Caule), PA (partes aéreas), MR (madeira da raiz), CR (casca da raiz), Re (resina), CC (casca do caule), R (raiz), Pc (pericarpo). ^b Concentração em µM/L. ^c SARM: *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina e SARV: *Staphylococcus aureus* resistente a vancomicina.

	(2) Glabrol – 6,25 (SARV ^c)		
	Flavanonas		
	(1) 5-hydroxysofhoranone – 0,78 (<i>S. agalactiae</i>)		
SATHIAMOORTHY et al., 2007	Flavonóide glicosídico	Verbenaceae: <i>Vitex negundo</i> (Linn.)	F: etanol
	(1) Vitegnósido – 6,25 (<i>C. neoformans</i> , <i>T. mentagrophytes</i>)		
	Flavona		
	(1) Luteolin – 25 (<i>S. faecalis</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i> , <i>C. neoformans</i> , <i>Candida parapsilosis</i>)		
	(2) 5'-hydroxy-3', 4', 3, 6, 7-pentamethoxyflavone – 12,5 (<i>C. neoformans</i>)		
	Glicosilflavona		
	(1) iso-orientin – 12,5 (<i>T. mentagrophytes</i>)		
SATO et al., 2000	Flavonas	Lamiaceae: <i>Scutellaria barbata</i> D. Don	PA: etanol 50%
	(1) Apigenin – 3,9 (SARM ^c)		
	(2) Luteolin – 62,5 (SARM ^c)		
TADA et al., 2002	Derivados cumarínicos	Umbelliferae: <i>Prangos pabularia</i>	R: acetato de etila
	(1) Oxypeucedanin – 62,5 (SARM ^c)		
	(2) Imperiatorin – 62,5 (SARM ^c , <i>P. aeruginosa</i>)		
	(3) Osthol – 31,25 (SARM ^c , <i>P. aeruginosa</i>)		
TSUKIYAMA et al., 2002	Retrochalcona	Fabaceae: <i>Glycyrrhiza inflata</i>	R: água
	(1) Licochalcone A – 2 (<i>Bacillus coagulans</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>Bacillus stearothermophilus</i>)		
WAFFO et al., 2000	Isoflavonóide	Leguminosae: <i>Erythrina indica</i>	CR: metanol/ diclorometano
	(1) Indicanine B – 9,7 (<i>S. aureus</i>)		

^a Droga vegetal: PI (planta inteira), F (folha), MC (madeira do caule), C (Caule), PA (partes aéreas), MR (madeira da raiz), CR (casca da raiz), Re (resina), CC (casca do caule), R (raiz), Pc (pericarpo). ^b Concentração em µM/L. ^c SARM: *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina e SARV: *Staphylococcus aureus* resistente a vancomicina.

1.5. O bioma Cerrado

O Cerrado constitui o segundo maior bioma brasileiro ocupando uma área de aproximadamente dois milhões de km², o que corresponde a cerca de 24% do território nacional (Figura 23) (KLINK; MACHADO, 2005). Essa área inclui grande parte do Brasil central com adjacências à Floresta Amazônica, Caatinga, Floresta Atlântica, Pantanal e Floresta de Pinheiros no sul do Brasil, bem como as partes do nordeste do Paraguai e leste da Bolívia (BRASIL, 1999; OLIVEIRA; MARQUIS, 2002).

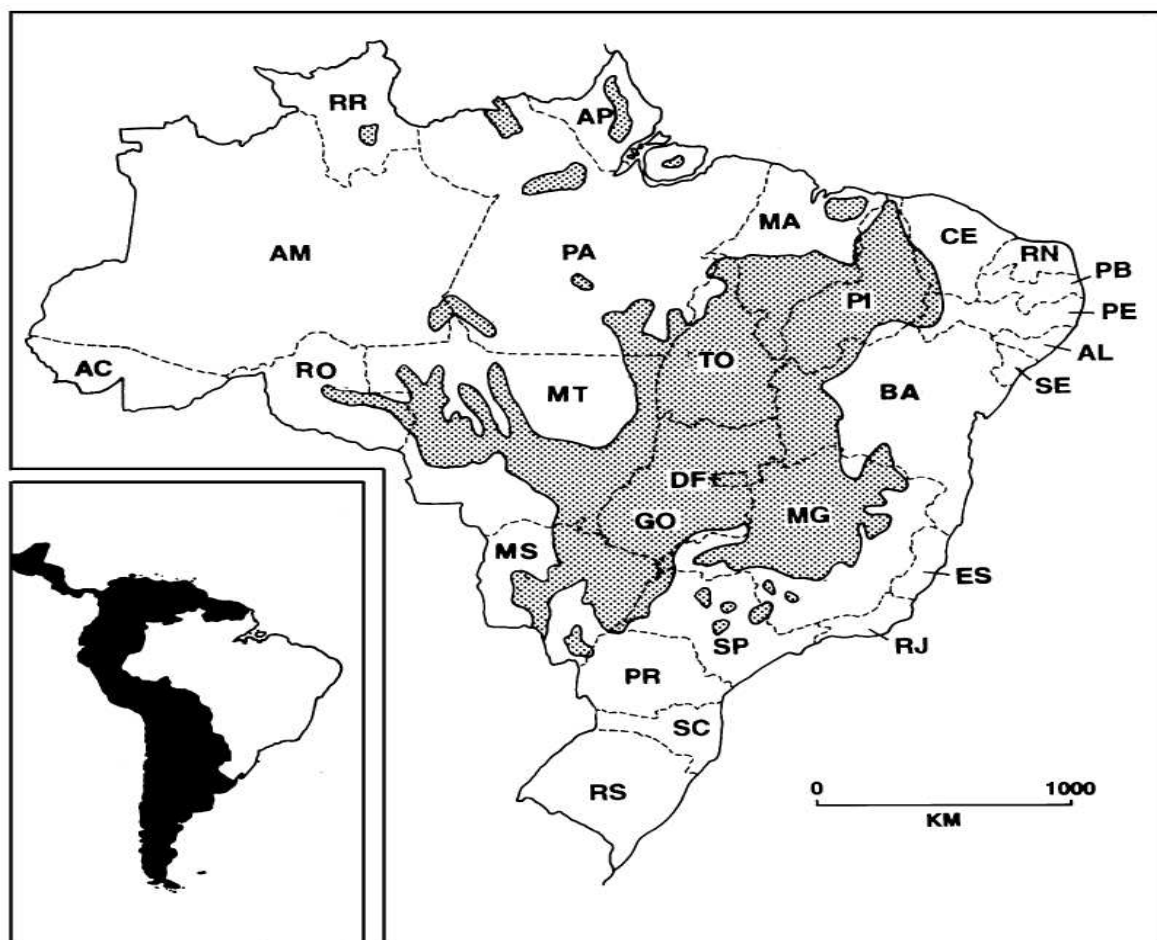


Figura 23 – Distribuição da vegetação do Cerrado no Brasil.

Fonte: RATTER *et al.*, 1997.

O Cerrado sempre foi identificado como um dos mais distintos biomas sulamericanos. As espécies endêmicas deste bioma testemunham uma longa e dinâmica história evolutiva (BRASIL, 1999). Existem cerca de 10.000 espécies de plantas lenhosas (44% endêmicas) (Figura 24), 837 espécies de aves (3,4% endêmicas), 161 de mamíferos (19 ou 11% endêmicas), 120 de répteis (24 ou 20% endêmicas) e 150 espécies de anfíbios (45 ou 30% endêmicas). Porém, sua diversidade biológica é ainda pouco conhecida e estudada, principalmente quando comparada ao que se dispõe sobre a Amazônia e a Mata Atlântica (BRASIL, 1999; MAURY, 2002).



(a)



(b)



(c)

Figura 24 – Espécies vegetais símbolos do Cerrado (a) araticum, (b) caliandra e (c) árvore de pequi. Fonte: www.google.com.br.

O clima do Cerrado é sazonal com invernos secos e verões chuvosos. Os solos são geralmente profundos, bem drenados e com uma baixa disponibilidade de nutrientes (OLIVEIRA; MARQUIS, 2002).

Em português, Cerrado significa “fechado”, “denso” e provavelmente foi aplicada a essa região devido à dificuldade de atravessá-la a cavalo (OLIVEIRA; MARQUIS, 2002). É constituído por um mosaico de vegetação, descritos em onze tipos principais, enquadrados em formações florestais (Mata Ciliar, Mata de Galeria, Mata Seca e Cerradão), savânicas (Cerrado sentido restrito, Parque de Cerrado, Palmeiral e Vereda) e campestres (Campo Sujo, Campo Limpo e Campo Rupestre). Considerando também os subtipos neste sistema são reconhecidos 25 tipos de vegetação, algumas são dispostas na figura 25 (RIBEIRO; WALTER, 1998).

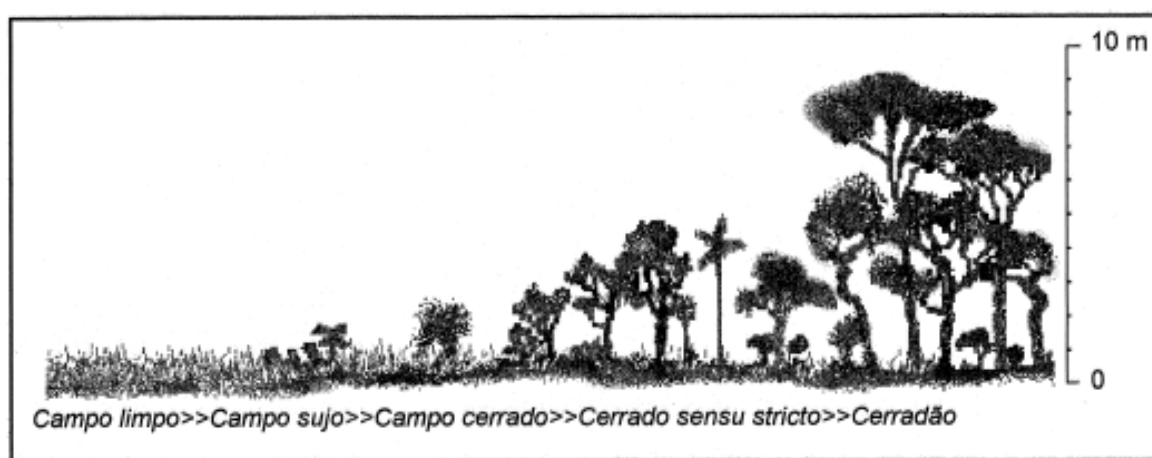


Figura 25 – Gradiente estrutural da vegetação do Cerrado. Fonte: MYSTRI, 1998.

Campo Limpo é a fisionomia com mais alta cobertura de gramínea e baixa concentração de arbustos. Cerrado sentido restrito apresenta menor cobertura de gramínea e maior cobertura arbustivo-arbórea. Cerradão apresenta ausência de gramíneas e a maior cobertura arbórea. As Matas de Galeria e as Matas Ciliares, com mais de 30% das espécies de plantas vasculares do bioma, têm extrema

importância para alimentação, reprodução e nidificação da fauna do bioma e abrigam 80% das espécies de mamíferos comuns do Cerrado. Ademais, o Cerrado é considerado o “berço das águas”, pois abriga nascentes de importantes bacias hidrográficas da América do Sul (BRASIL, 1999). Portanto, o Cerrado não é um bioma simples, apresentando desde uma formação vegetal aberta com poucas árvores até uma formação fechada onde as copas das árvores quase se tocam (PINTO, 1994).

Apesar da riqueza, com 6.429 espécies vegetais catalogadas, o bioma está sendo rapidamente convertido em pastagem e cultivo agrícola. Por isso, foi identificado como um dos mais ricos e ameaçados biomas mundiais. A excepcional concentração de espécies endêmicas está vivenciando grande perda de habitat, situação conhecida como *hotspots* (Figura 26) (MYERS *et al.*, 2000; RATTER *et al.*, 1997).

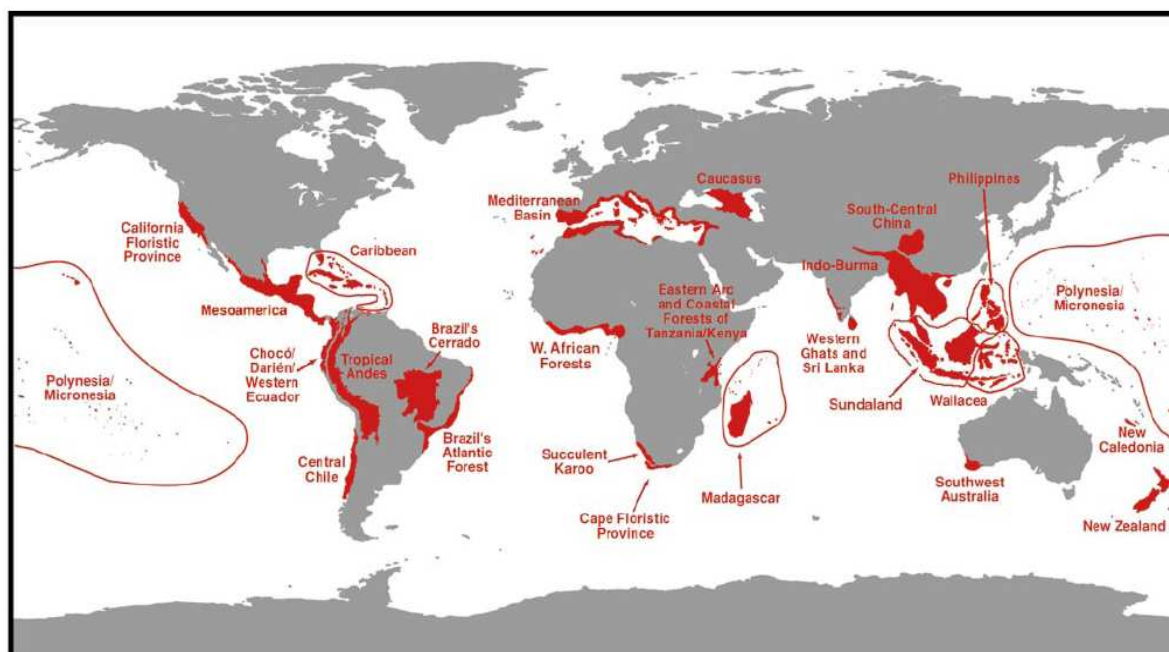


Figura 26 – As 25 áreas conhecidas como *hotspots*. Fonte: MYERS *et al.*, 2000.

O Cerrado vem sendo ocupado de forma rápida e intensiva para o desenvolvimento do setor agrícola. Entre 1970 e 1975, a velocidade média anual de desmatamento no Cerrado era de 40.600 km² por ano, cerca de 1,8 vezes mais do que o desflorestamento da Amazônia (OLIVEIRA; MARQUIS, 2002; SANO *et al.*, 2002). A indução ao desenvolvimento e o incentivo agrícola desprovidos de paralela proteção ambiental, resultam em processo acelerado de destruição e substituição (Figura 27) (OLIVEIRA-FILHO; LIMA, 2002; RATTER *et al.*, 1997).

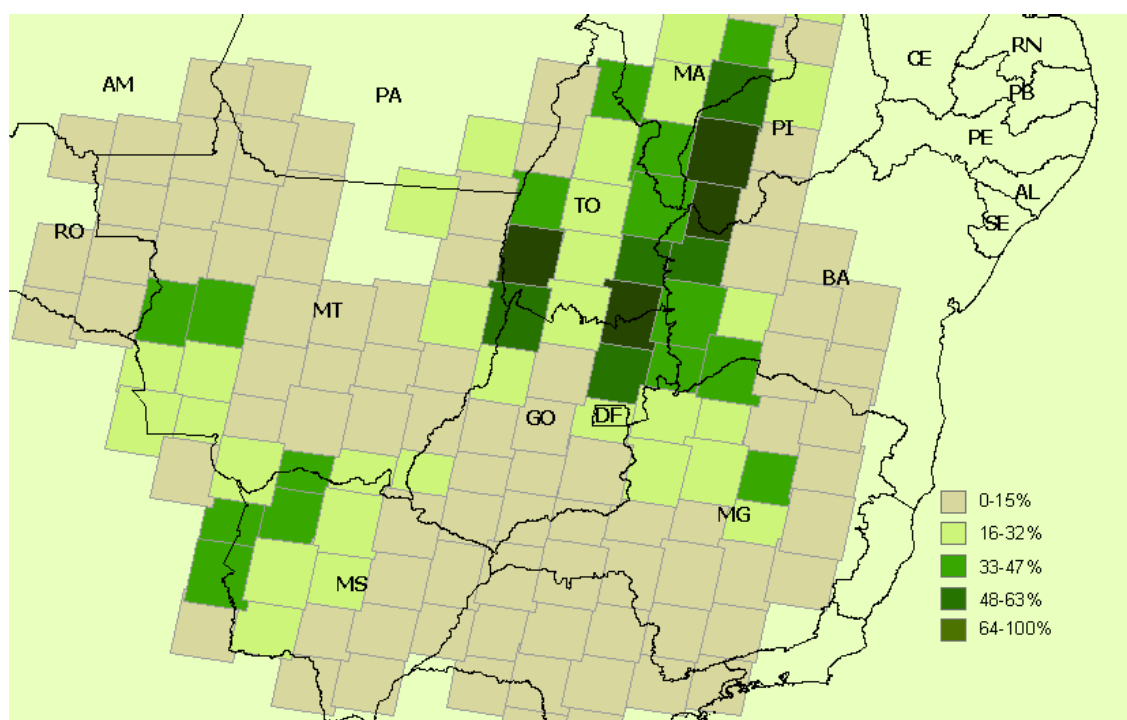


Figura 27 – Representação da estimativa de cobertura vegetal nativa do Cerrado

Fonte: MAURY, 2002.

Além de ser visto como o “celeiro do mundo” ou “área de expansão da fronteira agrícola” (EMBRAPA CERRADOS, 1999), apenas 1,5% de seu território é protegido nas diversas categorias de unidade de conservação (BRASIL, 1999; MAURY, 2002).

1.5.1. Importância das plantas nativas do Cerrado

O uso de espécies nativas pode ser uma alternativa econômica para o aproveitamento sustentado da região. Frutos como o araticum, buriti, cagaita e pequi, apresentam importantes teores de vitaminas do complexo B e são fontes potenciais de carotenóides pró-vitamina A. Além do elevado valor nutricional, os atrativos sensoriais como cor, sabor e aroma peculiares e intensos, podem ser explorados comercialmente (ALMEIDA *et al.*, 1998; RODRIGUEZ-AMAYA, 1996).

Também deve ser mencionado o potencial madeireiro, ornamental e medicinal de muitas espécies. Muitas plantas do Cerrado são usadas pelas pessoas que vivem nessa área para tratar diversas doenças tropicais, incluindo esquistossomose, leishmaniose, malária, infecções fúngicas e bacterianas, entre outras (DUARTE *et al.*, 2005). No entanto, as plantas utilizadas na medicina tradicional do Cerrado não têm ainda despertado de forma significativa os interesses da comunidade científica (IORIS, 1999). Portanto, estudos químicos e biológicos, com o isolamento e comprovação da atividade de princípios ativos, são ações que devem ser feitas a fim de explorar o potencial medicamentoso da diversidade química do Cerrado e lutar contra o desmatamento agressivo dessa região.

1.5.2. Estudos biológicos de algumas plantas do Cerrado

A atividade inseticida de vinte e quatro plantas do Cerrado foi avaliada pelo nosso grupo sobre *Rhodnius milesi*, inseto vetor da Doença de Chagas. Nesse estudo, 50 µg dos extratos hexânicos e etanólicos de diferentes partes das plantas *Simarouba versicolor* (Simaroubaceae), *Guarea kunthiana*, *Guarea guidonia*

(Meliaceae) e *Talauma ovata* (Magnoliaceae) causaram mortalidade entre 20% e 95% em comparação com os controles (COELHO *et al.*, 2006).

Nosso grupo avaliou ainda o potencial antiinflamatório de quatorze extratos de três plantas do Cerrado quanto à inibição de óxido nítrico. Os extratos etanólicos da casca do caule e das folhas de *Serjania lethalis* e *Cupania vernalis* (Sapindaceae), respectivamente, inibiram praticamente toda a produção desse mediador pró-inflamatório, coincidindo com o uso tradicional dessas plantas (NAPOLITANO *et al.*, 2005).

Extratos hexânicos e metanólicos das folhas de *Austroplenckia populnea* (Celastraceae), outra planta do Cerrado, apresentaram significativa atividade antiulcerogênica e analgésica reduzindo lesões induzidas por etanol e indometacina/betanecol (SEITO *et al.*, 2002). A investigação dos parâmetros reprodutivos de camundongos machos mostrou que o extrato metanólico das folhas de *A. populnea* afeta o comportamento sexual e a concentração de esperma (MAZARO *et al.*, 2002).

Isolados de *Lychnophora ericoides* (Asteraceae), conhecida como arnica da serra, mostraram atividade analgésica quando avaliados *in vivo* por meio do modelo de contorção abdominal induzida por ácido acético em camundongos (SANTOS *et al.*, 2005). Também o velutinol A, isolado do rizoma de *Mandevilla velutina* (Apocynaceae), apresentou ação antinociceptiva em alguns modelos de dor inflamatória aguda e persistente (MATTOS *et al.*, 2006).

Qualea grandiflora (Vochysiaceae), espécie do Cerrado usada tradicionalmente para o tratamento de feridas e doenças inflamatórias, teve seu extrato hidroalcoólico da casca do caule avaliado quanto à capacidade de prevenir e curar lesões da mucosa gástrica por meio de testes *in vivo*, mostrando ser um

importante agente antiúlcero-gênico (HIRUMA-LIMA *et al.*, 2006a). Também o extrato hidroalcoólico e frações das folhas dessa planta mostraram efeito depressivo e analgésico no sistema nervoso central, além de se comportar como um potencial anticonvulsivante (GASPI *et al.*, 2006).

O extrato hidroalcoólico e frações flavonosídicas das folhas de *Alchornea castaneaefolia* (Euphorbiaceae), espécie do Cerrado utilizada tradicionalmente para o tratamento da úlcera, reduziram danos gástricos em animais (HIRUMA-LIMA *et al.*, 2006b). Outra planta também com potencial antiúlcero-gênico é a *Byrsonima crassa* (Malpighiaceae), cujos extratos hidroalcoólico, metanólico e clorofórmico mostraram redução de formação de lesão associada à administração de HCl/ etanol em camundongos (SANNOMIYA *et al.*, 2007a).

O extrato etanólico das folhas de *Hancornia speciosa* (Apocynaceae), planta do Cerrado, exerceu efeitos cardiovasculares, sendo capaz de inibir a enzima conversora de angiotensina I (ECA) (SERRA *et al.*, 2005) e exercer efeito vasodilatador em anéis aórticos de camundongo via produção de óxido nítrico (FERREIRA *et al.*, 2007). Outras plantas do Cerrado com atividade de inibição da ECA maior que 50% são *Calophyllum brasiliense* (Clusiaceae), extrato etanólico do caule, e *Combretum fruticosum* (Combretaceae), extrato etanólico das folhas (BRAGA *et al.*, 2007a).

Ácido kaurenóico e ácido pimaradienóico, isolados de *Vigueira robusta* e *V. arenaria* (Asteraceae), inibiram a musculatura lisa de camundongos ao bloquear o influxo de Ca^{+} (AMBROSIO *et al.*, 2006; TIRAPELLI *et al.*, 2002) e guaianolídeos, isolados de *Viguiera gardneri*, apresentaram atividade antiinflamatória por meio da inibição do fator de transcrição NF-kB (SCHORR *et al.*, 2002).

O extrato etanólico e frações das folhas de *Byrsonima crassifolia* (Malpighiaceae) mostraram moderada atividade sobre *Trypanosoma cruzi* quando comparados com os controles positivos (BERGER *et al.*, 1998) e extratos metanólicos e de acetato de etila da raiz e do caule, testados a 2,5 mg/ml, formaram halos de até 20 mm quando avaliados sobre bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (MARTINEZ-VÁSQUEZ *et al.*, 1999).

Um estudo realizado pelo nosso grupo investigou trinta e um extratos de plantas do Cerrado sobre as formas promastigotas de *Leishmania donovani* e amastigotas de *Trypanosoma cruzi*. Quinze extratos foram ativos sobre *L. donovani*, apresentando valores de CI_{50} entre 0,1-10 $\mu\text{g/mL}$. Entre as plantas encontram-se *Annona crassiflora* (Annonaceae), *Himatanthus obovatus* (Apocynaceae), *Guarea kunthiana*, *Cupania vernalis* e *Serjania lethalis*. No que diz respeito aos testes com *T. cruzi*, extratos de *A. crassiflora*, *Duguetia furfuracea* (Annonaceae) e *Casearia sylvestris* var. *língua* (Flacourtiaceae) foram os mais ativos com CI_{50} entre 0,3-10 $\mu\text{g/mL}$ (MESQUITA *et al.*, 2005a).

Frações alcaloídicas das folhas de nove plantas, sete delas endêmicas do Cerrado, foram testadas sobre cepas cloroquina-resistentes e cloroquina-susceptíveis de *Plasmodium falciparum*. As frações alcaloídicas das plantas *Guatteria australis* (Annonaceae), *Cissampelos ovalifolia* (Menispermaceae) e *Duguetia lanceolata* (Annonaceae), todas do Cerrado, foram as mais ativas, apresentando $CI_{50} \leq 5 \mu\text{g/mL}$ (FISCHER *et al.*, 2004).

Outra investigação do nosso grupo foi feita avaliando duzentos e quatro extratos de plantas do Cerrado sobre uma cepa cloroquina-resistente de *P. falciparum*. O extrato hexânico da madeira da raiz de *Matayba guianensis* (Sapindaceae) mostrou atividade com $CI_{50} = 6,1 \mu\text{g/mL}$ para *P. falciparum* e índice

de seletividade igual a 16,4 sobre células fetais humanas de fibroblastos do pulmão, MRC-5 (MESQUITA *et al.*, 2007). Após uma série de fracionamentos biomonitorados, foi possível isolar quatro éteres diglicosídeo inéditos ativos com valores de CI_{50} entre 2,5 e 8,9 $\mu\text{g/mL}$ (MESQUITA *et al.*, 2005b). Testes *in vivo* com camundongos infectados com *P. berghei* mostraram boa atividade antimalárica do extrato etanólico do caule de *Remijia ferruginea* (Rubiaceae) (ANDRADE-NETO *et al.*, 2003).

Um estudo analisou a atividade moluscicida de extratos de seis plantas do Cerrado sobre o hospedeiro intermediário da esquistossomose, o molusco *Biomphalaria glabrata*. *Stryphnodendron adstringens*, *S. polyphyllum* (Mimosaceae), *Caryocar brasiliensis* (Caryocaraceae) e *Eugenia dysenterica* (Myrtaceae) foram altamente tóxicos ao molusco na concentração de 100 ppm e de 20 ppm, apenas *S. polyphyllum* produziu mortalidade de 40% (BEZERRA *et al.*, 2002).

Em outro estudo, sessenta plantas do Cerrado foram avaliadas e os extratos metanólico/diclorometânico das folhas de *Byrsonima verbascifolia*, metanólico das folhas de *B. intermedia* (Malpighiaceae) e metanólico/diclorometânico do caule de *Hymenaea stigonocarpa* (Leguminosae) apresentaram $CL_{100/72\text{ h}} \leq 40$ ppm para o molusco *B. glabrata* (ALVES *et al.*, 2000). O extrato metanólico dos galhos de *Kielmeyera variabilis* (Clusiaceae) também apresentou atividade moluscicida na concentração de 12,5 ppm (PINHEIRO; CORTEZ, 2003).

O extrato etanólico das sementes de sucupira do Cerrado, *Pterodon pubescens* (Leguminosae), apresentou atividade sobre uma linhagem celular de câncer resistente aos medicamentos disponíveis e possibilitou o isolamento do diterpeno furano 1, com atividade antiproliferativa (VIEIRA *et al.*, 2007).

Um estudo conduzido com extratos hidroalcoólico da casca do caule de *Vatairea macrocarpa* (Leguminosae), utilizou camundongos normais e diabéticos e analisou os níveis de glicose sérica e urinária, resistência à insulina e tolerância oral à glicose, mostrando melhora significativa (OLIVEIRA *et al.*, 2008).

Efeitos mutagênicos foram verificados para extratos e frações de *Strychnos pseudoquina* (Loganiaceae), tendo o extrato metanólico das folhas o maior potencial mutagênico (SANTOS *et al.*, 2006), assim como os extratos das folhas de *Byrsonima crassa* (CARDOSO *et al.*, 2006) e metanólico das folhas de *B. intermedia* (SANNOMIYA *et al.*, 2007b). O extrato aquoso da raiz de *Cochlospermum regium* (Cochlospermaceae) também apresentou atividade citotóxica sobre células de mamíferos não-tumorais (CESCHINI *et al.*, 2006).

A atividade antioxidante de várias plantas do Cerrado foi detectada, inclusive, em *Annona crassiflora*, cujos componentes polares da casca do caule e da semente mostraram excelente atividade (ROESLER *et al.*, 2007a). O mesmo foi verificado para cinco flavonóides de *Lychnophora passerina* (Asteraceae), triterpenos de *Cheiloclinium cognatum* (Celastraceae) (CHICARO *et al.*, 2004; JELLER *et al.*, 2004) e frutos de *Eugenia dysenterica*, *Caryocar brasiliensis* e *A. crassiflora* (ROESLER *et al.*, 2007b).

Várias plantas do Cerrado mostraram atividade antimicrobiana sobre bactérias Gram-positivas e Gram-negativas: *Bauhinia curvula* (Leguminosae), *Byrsonima verbascifolia*, *Hymenaea stigonocarpa*, *Lafoensia pacari* (Lythraceae), *Lantana camara* (Verbenaceae), *Plathymenia foliolosa* (Leguminosae), *Pouteria torta* (Sapotaceae), *Roupala montana* (Proteaceae), *Stryphnodendron adstringens*, *Styrax camporum* (Styracaceae) (ALVES *et al.*, 2000).

A tabela 8 mostra algumas plantas nativas ou invasoras do Cerrado estudadas quanto a suas propriedades antifúngicas. A tabela 9 mostra essa atividade em plantas de outras regiões do Brasil. Para identificar quais espécies pertenciam ao Cerrado foi utilizado um levantamento feito pelo IBGE sobre a flora vascular do bioma Cerrado (MENDONÇA *et al.*, 1998).



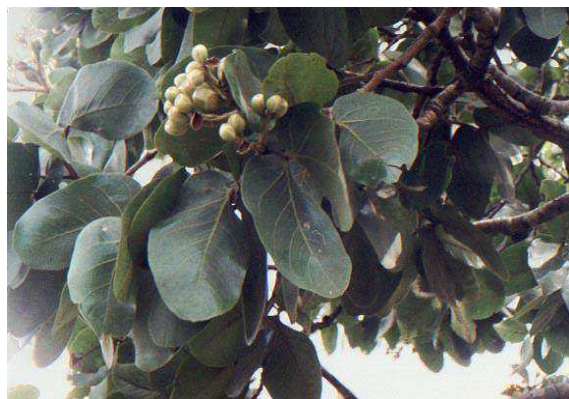
(a)



(b)



(c)



(d)



(e)



(f)

Figura 28 - Plantas do bioma Cerrado relatadas em estudos científicos (a) *Stryphnodendron adstringens*, (b) *Byrsonima verbascifolia*, (c) *Qualea grandiflora*, (d) *Hymenaea stigonocarpa*, (e) *Himatanthus obovatus*, (f) *Casearia sylvestris*. Fonte: www.google.com.br.

Tabela 8 - Plantas nativas e invasoras do Cerrado avaliadas quanto ao potencial antifúngico.

Espécie (Família)	Órgão^a vegetal ou substâncias isoladas (solvente^b)	Referência
<i>Achyrocline satureioides</i> (Lam.) DC. (Asteraceae)	F (OE^c, e) N/a ^e <i>C. albicans</i>	DUARTE <i>et al.</i> , 2005
<i>Amaioua intermedia</i> Mart. (Rubiaceae)	C (e) e F (e) N/a <i>C. albicans</i> (C ^d = 10 mg/mL)	AGRIPINO <i>et al.</i> , 2004
<i>Anacardium occidentale</i> (Anacardiaceae)	CC (e) N/a <i>C. albicans</i> (C = 100 mg/mL) <i>C. neoformans</i> halo 10 mm (C = 100 mg/mL) e CIM 625 µg/mL	BRAGA <i>et al.</i> , 2007b
<i>Andira humilis</i> C. Mart. (Leguminosae)	F (a) N/a <i>C. sphaerospermum</i> 100 µg em bioautografia	ALVES <i>et al.</i> , 2000
<i>Annona cacans</i> Warm. (Annonaceae)	F (e) N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	AGRIPINO <i>et al.</i> , 2004
<i>Annona crassiflora</i> Mart. (Annonaceae)	F (a, d/m) N/a <i>C. sphaerospermum</i> 100 µg em bioautografia	ALVES <i>et al.</i> , 2000
<i>Arrabidaea brachypoda</i> (DC) Bur. (Bignoniaceae)	3',4'-dihydroxy-5,6,7-trimethoxyflavone, cirsiol e cirsimaritin <i>C. sphaerospermum</i> 1 µg em bioautografia Hispidulin <i>C. sphaerospermum</i> 10 µg em bioautografia	ALCERITO <i>et al.</i> , 2002

^a Órgão vegetal: A (amêndoas), Ce (cera epicuticular), CC (casca do caule), F (folha), Fl (flor), Fr (fruto), I (inflorescência), MC (madeira do caule), PA (partes aéreas), R (raiz), S (semente). ^b Solventes: a (água), ac (acetona), d (diclorometano), e (etanol), ee (éter etílico), m (metanol). ^c Óleos: OE (óleo essencial), OF (óleo fixo). ^d C (concentração do extrato). ^e N/a: não tem atividade.

<i>Aspidosperma olivaceum</i> Müll. Arg. (Apocynaceae)	F (e) N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	AGRIPINO <i>et al.</i> , 2004
<i>Austroplenkia populnea</i> Reiss (Celastraceae)	F (m) N/a <i>C. sphaerospermum</i> 100 µg em bioautografia	ALVES <i>et al.</i> , 2000
<i>Baccharis dracunculifolia</i> DC. (Asteraceae)	F (OE, e) C. <i>albicans</i> CIM > 2 mg/mL C (d/m) N/a <i>C. sphaerospermum</i> 100 µg em bioautografia	DUARTE <i>et al.</i> , 2005 e ALVES <i>et al.</i> , 2000
<i>Bauhinia curvula</i> Benth. (Caesalpinoideae)	F (d, m) C. <i>sphaerospermum</i> 100 µg em bioautografia	ALVES <i>et al.</i> , 2000
<i>Bixa orellana</i> L. (Bixaceae)	S (e) N/a <i>C. albicans</i> e <i>C. neoformans</i> (C = 100 mg/mL) Fr (e) N/a <i>C. albicans</i> (C = 100 mg/mL) C. <i>neoformans</i> halo 17 mm (C = 100 mg/mL) e CIM 78 µg/mL	BRAGA <i>et al.</i> , 2007b
<i>Brosimum gaudichaudii</i> (Moraceae)	R (d) C. <i>sphaerospermum</i> 100 µg em bioautografia	ALVES <i>et al.</i> , 2000
<i>Byrsonima coccolobifolia</i> Kunth (Malpighiaceae)	C (d/m) e F (a) N/a <i>C. sphaerospermum</i> 100 µg em bioautografia	ALVES <i>et al.</i> , 2000
<i>Byrsonima intermedia</i> (Malpighiaceae)	F (a) e F (m) N/a <i>C. sphaerospermum</i> 100 µg em bioautografia	ALVES <i>et al.</i> , 2000

^a Órgão vegetal: A (amêndoas), Ce (cera epicuticular), CC (casca do caule), F (folha), FI (flor), Fr (fruto), I (inflorescência), MC (madeira do caule), PA (partes aéreas), R (raiz), S (semente). ^b Solventes: a (água), ac (acetona), d (diclorometano), e (etanol), ee (éter etílico), m (metanol). ^c Óleos: OE (óleo essencial), OF (óleo fixo). ^d C (concentração do extrato). ^e N/a: não tem atividade.

<i>Byrsonima verbascifolia</i> (Malpighiaceae)	CC (a, m) N/a <i>C. sphaerospermum</i> 100 µg em bioautografia	ALVES <i>et al.</i> , 2000
<i>Cabralea canjerana</i> (Vell.) Mart. (Meliaceae)	C (e) e F (e) N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	AGRIPINO <i>et al.</i> , 2004
<i>Cajanus cajan</i> (L.) Millsp. (Leguminosae)	F (e) <i>C. albicans</i> halo 20 mm (C = 100 mg/mL) e CIM 1.250 µg/mL <i>C. neoformans</i> halo 10 mm (C = 100 mg/mL) e CIM 625 µg/mL S (e) <i>C. albicans</i> halo 10 mm (C = 100 mg/mL) e CIM 2.500 µg/mL <i>C. neoformans</i> halo 5 mm (C = 100 mg/mL) e CIM 156 µg/mL	BRAGA <i>et al.</i> , 2007b
<i>Calophyllum brasiliense</i> Camb. (Clusiaceae)	C (e) e F(e) N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL) F (d/m) N/a <i>C. sphaerospermum</i> 100 µg em bioautografia	AGRIPINO <i>et al.</i> , 2004 e ALVES <i>et al.</i> , 2000
<i>Cariniana estrellensis</i> (Raddi) Kuntze (Lecythidaceae)	F (e) N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	AGRIPINO <i>et al.</i> , 2004
<i>Caryocar brasiliense</i> (Caryocaraceae)	F (e) <i>C. neoformans</i> var. <i>neoformans</i> CIM 250 - >1000 µg/mL <i>C. neoformans</i> var. <i>gattii</i> CIM 1000 - >1000 µg/mL Ce (ee) (mês de março) <i>C. neoformans</i> var. <i>neoformans</i> CIM 500 - >1000 µg/MI	PASSOS <i>et al.</i> , 2002

^a Órgão vegetal: A (amêndoas), Ce (cera epicuticular), CC (casca do caule), F (folha), FI (flor), Fr (fruto), I (inflorescência), MC (madeira do caule), PA (partes aéreas), R (raiz), S (semente). ^b Solventes: a (água), ac (acetona), d (diclorometano), e (etanol), ee (éster etílico), m (metanol). ^c Óleos: OE (óleo essencial), OF (óleo fixo). ^d C (concentração do extrato). ^e N/a: não tem atividade.

	<i>C. neoformans</i> var. <i>gattii</i> CIM >1000 µg/mL	
	Ce (ee) (mês de outubro)	
	<i>C. neoformans</i> var. <i>neoformans</i> CIM 15,6 - >1000 µg/mL	
	<i>C. neoformans</i> var. <i>gattii</i> CIM 1000 - >1000 µg/mL	
	S (OF)	
	<i>C. neoformans</i> var. <i>neoformans</i> CIM 15,6 - >1000 µg/mL	
	<i>C. neoformans</i> var. <i>gattii</i> CIM 1000 - >1000 µg/mL	
	A (OF)	
	<i>C. neoformans</i> var. <i>neoformans</i> CIM 62,5 - >1000 µg/mL	
	<i>C. neoformans</i> var. <i>gattii</i> CIM 1000 - >1000 µg/mL	
<i>Casearia decandra</i> Jacq. (Flacourtiaceae)	C (e) e F (e)	AGRIPINO et al., 2004
<i>Casearia sylvestris</i> Sw. (Flacourtiaceae)	N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	
	C (e) e F (e)	AGRIPINO et al., 2004
	N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	e ALVES et al., 2000
	F (d/m)	
	N/a <i>C. sphaerospermum</i> 100 µg em bioautografia	
<i>Copaifera langsdorffii</i> Desf. (Caesalpinoideae)	F (d/m)	ALVES et al., 2000
<i>Clusia criuva</i> (Clusiaceae)	C (e) e F (e)	AGRIPINO et al., 2004
	N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	

^a Órgão vegetal: A (amêndoas), Ce (cera epicotilar), CC (casca do caule), F (folha), FI (flor), Fr (fruto), I (inflorescência), MC (madeira do caule), PA (partes aéreas), R (raiz), S (semente). ^b Solventes: a (água), ac (acetona), d (diclorometano), e (etanol), ee (éter etílico), m (metanol). ^c Óleos: OE (óleo essencial), OF (óleo fixo). ^d C (concentração do extrato). ^e N/a: não tem atividade.

<i>Cordia verbenacea</i> DC. (Boraginaceae)	F (e) e F (OE) N/a <i>C. albicans</i> (C = 100 mg/mL) <i>C. neoformans</i> halo 12 mm (C = 100 mg/mL) e CIM 312 µg/mL	BRAGA <i>et al.</i> , 2007b e DUARTE <i>et al.</i> , 2005
<i>Cordia sellowiana</i> Cham. (Boraginaceae)	F (e) N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	AGRIPINO <i>et al.</i> , 2004
<i>Costus spiralis</i> (Jacq.) Roscoe (Costaceae)	F (e) N/a <i>C. albicans</i> e <i>C. neoformans</i> (C = 100 mg/mL)	BRAGA <i>et al.</i> , 2007b e AGRIPINO <i>et al.</i> , 2004
<i>Croton urucurana</i> (Euphorbiaceae)	F (OE) <i>E. floccosum</i> , <i>M. canis</i> , <i>T. mentagrophytes</i> e <i>T. rubrum</i> CIM 2,5 µg/mL <i>T. tonsurans</i> CIM 1,25 µg/mL	GURGEL <i>et al.</i> , 2005
<i>Davilla rugosa</i> Poir (Dilleniaceae)	F (m) N/a <i>C. sphaerospermum</i> 100 µg em bioautografia	ALVES <i>et al.</i> , 2000
<i>Dilodendron bipinnatum</i> Radlk (Sapindaceae)	Fr (d) <i>C. sphaerospermum</i> 100 µg em bioautografia F (d) N/a <i>C. sphaerospermum</i> 100 µg em bioautografia	ALVES <i>et al.</i> , 2000
<i>Drimys brasiliensis</i> (Winteraceae)	CC (d) <i>M. canis</i> e <i>T. mentagrophytes</i> CIM 100 µg/mL; <i>M. gypseum</i> e <i>T. rubrum</i> CIM 62,5 µg/mL; <i>E. floccosum</i> CIM 12,5 µg/mL CC (m) <i>M. canis</i> e <i>E. floccosum</i> CIM 500 µg/mL; <i>T. mentagrophytes</i> , <i>M. gypseum</i> e	MALHEIROS <i>et al.</i> , 2005

^a Órgão vegetal: A (amêndoas), Ce (cera epicuticular), CC (casca do caule), F (folha), Fl (flor), Fr (fruto), I (inflorescência), MC (madeira do caule), PA (partes aéreas), R (raiz), S (semente). ^b Solventes: a (água), ac (acetona), d (diclorometano), e (etanol), ee (éter etílico), m (metanol). ^c Óleos: OE (óleo essencial), OF (óleo fixo). ^d C (concentração do extrato). ^e N/a: não tem atividade.

T. rubrum CIM 1000 µg/mL

C (d)

M. canis e *T. mentagrophytes* CIM 250 µg/mL; *M. gypseum*, *E. floccosum* e

T. rubrum CIM 100 µg/mL

C (m)

M. canis, *T. mentagrophytes*, *M. gypseum*, *E. floccosum* e *T. rubrum* CIM > 1000 µg/mL

F (d)

T. mentagrophytes e *M. gypseum* CIM 1000 µg/mL; *M. canis*, *E. floccosum* e

T. rubrum CIM 500 µg/mL

F (m)

M. canis, *T. mentagrophytes*, *M. gypseum*, *E. floccosum* e *T. rubrum* CIM > 1000 µg/mL

Polygodial

M. canis, *T. mentagrophytes*, *M. gypseum* CIM > 100 µg/mL; *T. rubrum* CIM 25 µg/mL; *E. floccosum* CIM 3 µg/mL

1-β-(p-methoxycinnamoyl) polygodial

T. rubrum e *E. floccosum* CIM 25 µg/mL; *M. canis* CIM 100 µg/mL; *T.*

mentagrophytes CIM 62,5 µg/mL, *M. gypseum* CIM 50 µg/mL

Drimanial

T. rubrum, *E. floccosum*, *M. canis*, *T. mentagrophytes*, *M. gypseum* CIM >

^a Órgão vegetal: A (amêndoas), Ce (cera epicuticular), CC (casca do caule), F (folha), Fl (flor), Fr (fruto), I (inflorescência), MC (madeira do caule), PA (partes aéreas), R (raiz), S (semente). ^b Solventes: a (água), ac (acetona), d (diclorometano), e (etanol), ee (éter etílico), m (metanol). ^c Óleos: OE (óleo essencial), OF (óleo fixo). ^d C (concentração do extrato). ^e N/a: não tem atividade.

	100 µg/mL	
	1-β-(p-cumaroyloxy) polygodial	
	<i>T. rubrum</i> , <i>T. mentagrophytes</i> e <i>E. floccosum</i> CIM 25 µg/mL; <i>M. canis</i> CIM 62,5 µg/mL; <i>M. gypseum</i> CIM 50 µg/mL	AGRIPINO <i>et al.</i> , 2004
<i>Ecclinusa ramiflora</i> Mart. (Sapotaceae)	C, F (e) N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	ALVES <i>et al.</i> , 2000
<i>Emmotum nitens</i> Milers (Icacinaceae)	F (m) <i>C. sphaerospermum</i> 100 µg em bioautografia C (m) N/a <i>C. sphaerospermum</i> 100 µg em bioautografia	
<i>Erythrina speciosa</i> (Leguminosae)	C (e) <i>C. albicans</i> , <i>C. krusei</i> , <i>C. parapsilosis</i> e <i>C. tropicalis</i> CIM > 1000 µg/mL	HOLETZ <i>et al.</i> , 2002
<i>Eugenia dysenterica</i> DC. (Myrtaceae)	F (OE) <i>C. neoformans</i> var. <i>neoformans</i> CIM 250 µg/mL <i>C. neoformans</i> var. <i>gattii</i> CIM 125 µg/mL	COSTA <i>et al.</i> , 2000
<i>Eugenia uniflora</i> (Myrtaceae)	F (e) <i>M. canis</i> , <i>M. gypseum</i> e <i>T. mentagrophytes</i> CIM 500-1000 µg/mL <i>T. rubrum</i> CIM 500 µg/mL; <i>C. albicans</i> CIM > 1000 µg/mL; <i>C. parapsilosis</i> CIM 125 µg/mL; <i>C. krusei</i> e <i>C. tropicalis</i> CIM 31,2 µg/mL	BRAGA <i>et al.</i> , 2007b, SOUZA <i>et al.</i> , 2002, e HOLETZ <i>et al.</i> , 2002

^a Órgão vegetal: A (amêndoas), Ce (cera epicuticular), CC (casca do caule), F (folha), FI (flor), Fr (fruto), I (inflorescência), MC (madeira do caule), PA (partes aéreas), R (raiz), S (semente). ^b Solventes: a (água), ac (acetona), d (diclorometano), e (etanol), ee (éter etílico), m (metanol). ^c Óleos: OE (óleo essencial), OF (óleo fixo). ^d C (concentração do extrato). ^e N/a: não tem atividade.

S (e)			
	<i>C. albicans</i> halo 9 mm (C = 100 mg/mL) e CIM 2.500 µg/mL		
	<i>C. neoformans</i> halo 3 mm (C = 100 mg/mL) e CIM 156 µg/mL		
<i>Ficus insipida</i> Willd. (Moraceae)			AGRIPINO <i>et al.</i> , 2004
C, F (e)			
N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)			
<i>Guapira opposita</i> (Vell.) Reitz. (Nyctaginaceae)			AGRIPINO <i>et al.</i> , 2004
C, F (e)			
N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)			
<i>Guarea macrophylla</i> Vahl. (Meliaceae)			AGRIPINO <i>et al.</i> , 2004
F (e)			
N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)			
<i>Guazuma ulmifolia</i> Lam. (Sterculiaceae)			ALVES <i>et al.</i> , 2000
CC (m)			
N/a <i>C. sphaerospermum</i> 100 µg em bioautografia			
<i>Hyeronima alchorneoides</i> Allemao (Euphorbiaceae)			AGRIPINO <i>et al.</i> , 2004
F (e)			
N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)			
<i>Hymenaea courbaril</i> L. (Fabaceae)			AGRIPINO <i>et al.</i> , 2004 e ALVES <i>et al.</i> , 2000
CC (a)			
N/a <i>C. sphaerospermum</i> 100 µg em bioautografia			
<i>Hymenaea stigonocarpa</i> C. Mart. (Caesalpinoideae)			ALVES <i>et al.</i> , 2000
CC, F (d/m)			
N/a <i>C. sphaerospermum</i> 100 µg em bioautografia			

^a Órgão vegetal: A (amêndoas), Ce (cera epicuticular), CC (casca do caule), F (folha), FI (flor), Fr (fruto), I (inflorescência), MC (madeira do caule), PA (partes aéreas), R (raiz), S (semente). ^b Solventes: a (água), ac (acetona), d (diclorometano), e (etanol), ee (éster etílico), m (metanol). ^c Óleos: OE (óleo essencial), OF (óleo fixo). ^d C (concentração do extrato). ^e N/a: não tem atividade.

<i>Hyptis ovalifolia</i> Benth. (Lamiaceae)	F (OE) <i>M. canis</i> , <i>M. gypseum</i> e <i>T. mentagrophytes</i> CIM 500 µg/mL <i>T. rubrum</i> CIM 250 µg/mL Partição aquosa F (e) <i>M. canis</i> e <i>T. rubrum</i> CIM 1000 µg/mL Partição metanólica F (e) <i>M. canis</i> e <i>T. rubrum</i> CIM 500 µg/mL; <i>M. gypseum</i> e <i>T. mentagrophytes</i> CIM 1000 µg/mL Partição hexânica F (e) <i>M. canis</i> , <i>M. gypseum</i> e <i>T. rubrum</i> CIM 1000 µg/mL F (e) <i>M. canis</i> CIM 15,6 - 250 µg/mL e <i>T. rubrum</i> CIM 62,5 - 250 µg/mL; <i>T. mentagrophytes</i> CIM 250 - 1000 µg/mL; <i>M. gypseum</i> CIM 62,5 - 1000 µg/mL	SOUZA <i>et al.</i> , 2003 e SOUZA <i>et al.</i> , 2002
<i>Ilex theezans</i> Mart. (Aquifoliaceae)	F (e) N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	AGRIPINO <i>et al.</i> , 2004
<i>Indigofera suffruticosa</i> Mill (Fabaceae)	F (a) <i>M. canis</i> halo 17 mm e <i>T. rubrum</i> halo 20 mm (C = 10 mg/mL)	LEITE <i>et al.</i> , 2006
<i>Inga edulis</i> Mart. (Fabaceae)	F (e) N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	AGRIPINO <i>et al.</i> , 2004
<i>Inga laurina</i> (Sw.) Willd. (Fabaceae)	F (e) N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	AGRIPINO <i>et al.</i> , 2004

^a Órgão vegetal: A (amêndoas), Ce (cera epicuticular), CC (casca do caule), F (folha), FI (flor), Fr (fruto), I (inflorescência), MC (madeira do caule), PA (partes aéreas), R (raiz), S (semente). ^b Solventes: a (água), ac (acetona), d (diclorometano), e (etanol), ee (éter etílico), m (metanol). ^c Óleos: OE (óleo essencial), OF (óleo fixo). ^d C (concentração do extrato). ^e N/a: não tem atividade.

<i>Lafoensia pacari</i> St. H. (Lythraceae)	F (m) C. <i>sphaerospermum</i> 100 µg em bioautografia	ALVES et al., 2000
<i>Lantana camara</i> L. (Verbenaceae)	F (e) N/a C. <i>albicans</i> e C. <i>neoformans</i> (C = 100 mg/mL) R (d) C. <i>sphaerospermum</i> 100 µg em bioautografia	BRAGA et al., 2007b e ALVES et al., 2000
<i>Leonurus sibiricus</i> L. (Lamiaceae)	PA (d/m) N/a C. <i>sphaerospermum</i> 100 µg em bioautografia	ALVES et al., 2000
<i>Licania kunthiana</i> Hook. f. (Chrysobalanaceae)	F (e) N/a C. <i>albicans</i> (C = 10 mg/mL)	AGRIPINO et al., 2004
<i>Licania hoehnei</i> Pilg. (Chrysobalanaceae)	F (e) N/a C. <i>albicans</i> (C = 10 mg/mL)	AGRIPINO et al., 2004
<i>Lippia sidioides</i> Cham. (Verbenaceae)	F (OE) C. <i>albicans</i> e C. <i>tropicalis</i> CIM 1240 µg/mL e <i>M. canis</i> CIM 13,7 µg/mL	FONTENELLE et al., 2007
<i>Lippia alba</i> (Mill.) N.E.Br. (Verbenaceae)	F (e) C. <i>albicans</i> , C. <i>parapsilosis</i> e C. <i>tropicalis</i> CIM > 1000 µg/mL C. <i>krusei</i> CIM > 125 µg/mL	OLIVEIRA et al., 2006, DUARTE et al., 2005 e HOLETZ et al., 2002
	F (OE) C. <i>albicans</i> CIM 600 µg/mL; C. <i>albicans</i> halo 23,6 mm; C. <i>guilliermondii</i> halo 40 mm; C. <i>parapsilosis</i> halo 12 mm; C. <i>neoformans</i> halo 20,6 mm ; <i>T. rubrum</i> halo 50 mm; <i>F. pedrosoi</i> halo 15 mm	

^a Órgão vegetal: A (amêndoas), Ce (cera epicuticular), CC (casca do caule), F (folha), FI (flor), Fr (fruto), I (inflorescência), MC (madeira do caule), PA (partes aéreas), R (raiz), S (semente). ^b Solventes: a (água), ac (acetona), d (diclorometano), e (etanol), ee (éter etílico), m (metanol). ^c Óleos: OE (óleo essencial), OF (óleo fixo). ^d C (concentração do extrato). ^e N/a: não tem atividade.

<i>Lippia alba</i> f. <i>intermedia</i> (Verbenaceae)	F (OE) C. <i>albicans</i> serotipo B ATCC 36802 halo 23 mm; C. <i>albicans</i> halo 29 mm; C. <i>guilliermondii</i> halo 35 mm; C. <i>parapsilosis</i> halo 25 mm; C. <i>neoformans</i> halo 21 mm; T. <i>rubrum</i> 50 mm; F. <i>pedrosoi</i> halo 18 mm	OLIVEIRA <i>et al.</i> , 2006
<i>Machaerium opacum</i> Vogel (Fabaceae)	F (d) N/a C. <i>sphaerospermum</i> 100 µg em bioautografia	ALVES <i>et al.</i> , 2000
<i>Matayba elaeagnoides</i> (Cambess) Radlk. (Sapindaceae)	F (e) N/a C. <i>albicans</i> (C = 10 mg/mL)	AGRIPINO <i>et al.</i> , 2004
<i>Matayba juglandifolia</i> Radlk. (Sapindaceae)	F (e) N/a C. <i>albicans</i> (C = 10 mg/mL)	AGRIPINO <i>et al.</i> , 2004
<i>Miconia albicans</i> (SW.) Triana (Melastomataceae)	F (m) N/a C. <i>sphaerospermum</i> 100 µg em bioautografia	ALVES <i>et al.</i> , 2000
<i>Mitracarpus villosus</i> (Rubiaceae)	F (e/a) C. <i>albicans</i> e A. <i>niger</i> CIM 2000 µg/mL; F. <i>solani</i> CIM 1000 µg/mL; T. <i>rubrum</i> e M. <i>gypseum</i> CIM 500 µg/mL I (e/a) C. <i>albicans</i> e A. <i>niger</i> CIM 4000 µg/mL; F. <i>solani</i> e M. <i>gypseum</i> CIM 2000 µg/mL; T. <i>rubrum</i> CIM 1000 µg/mL	IROBI; DARAMOLA, 1993
<i>Myrsine umbellata</i> Mart. (Myrsinaceae)	F (e) N/a C. <i>albicans</i> (C = 10 mg/mL)	AGRIPINO <i>et al.</i> , 2004

^a Órgão vegetal: A (amêndoas), Ce (cera epicuticular), CC (casca do caule), F (folha), FI (flor), Fr (fruto), I (inflorescência), MC (madeira do caule), PA (partes aéreas), R (raiz), S (semente). ^b Solventes: a (água), ac (acetona), d (diclorometano), e (etanol), ee (éter etílico), m (metanol). ^c Óleos: OE (óleo essencial), OF (óleo fixo). ^d C (concentração do extrato). ^e N/a: não tem atividade.

<i>Norantea brasiliensis</i>	C, F (e)	AGRIPINO et al., 2004
Choisy (Marrubiacaceae)	N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	
<i>Ocimum gratissimum</i> L. (Lamiaceae)	F (OE) <i>C. neoformans</i> CIM 125 - 250 µg/mL; <i>M. gypseum</i> e <i>T. rubrum</i> CIM 125 - 250 µg/mL; <i>M. canis</i> CIM 250 - 500 µg/mL e <i>T. mentagrophytes</i> CIM 250 µg/mL	BRAGA et al., 2007b, LEMOS et al., 2005 e SILVA et al., 2005
	FI (e) <i>C. albicans</i> halo 12 mm (C = 100 mg/mL) e CIM 5000 µg/mL <i>C. neoformans</i> halo 40 mm (C = 100 mg/mL) e CIM 625 µg/mL	
	F (e) <i>C. neoformans</i> CIM 250 - >1000 µg/mL; <i>M. gypseum</i> , <i>T. rubrum</i> , <i>M. canis</i> e <i>T. mentagrophytes</i> CIM 1000 µg/mL; <i>C. albicans</i> halo 15 mm (C = 100 mg/mL) e CIM 1250 µg/mL; <i>C. neoformans</i> halo 16 mm (C = 100 mg/mL) e CIM 78 µg/mL	
	Partição hexânica F (e) <i>C. neoformans</i> CIM 62,5 - 500 µg/mL; <i>M. gypseum</i> , <i>T. rubrum</i> , <i>M. canis</i> e <i>T. mentagrophytes</i> CIM 62,5 - 125 µg/mL	
	Partição clorofórmica F (e) <i>C. neoformans</i> CIM 62,5 - 125 µg/mL; <i>M. gypseum</i> , <i>T. rubrum</i> , <i>M. canis</i> e <i>T. mentagrophytes</i> CIM 500 µg/mL	
	Partição de acetato de etila F (e) <i>C. neoformans</i> CIM 250 - >1000 µg/mL	

^a Órgão vegetal: A (amêndoas), Ce (cera epicuticular), CC (casca do caule), F (folha), FI (flor), Fr (fruto), I (inflorescência), MC (madeira do caule), PA (partes aéreas), R (raiz), S (semente). ^b Solventes: a (água), ac (acetona), d (diclorometano), e (etanol), ee (éter etílico), m (metanol). ^c Óleos: OE (óleo essencial), OF (óleo fixo). ^d C (concentração do extrato). ^e N/a: não tem atividade.

<i>Ocotea odorifera</i> (Vell.)	F, C (e)	AGRIPINO <i>et al.</i> , 2004
J.G. Rohwer (Lauraceae)	N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	
<i>Ocotea velloziana</i> Mez. (Lauraceae)	F (e) N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	AGRIPINO <i>et al.</i> , 2004
<i>Ormosia arborea</i> (Vell.) Harms (Leguminosae)	F (e) N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	AGRIPINO <i>et al.</i> , 2004
<i>Pera glabrata</i> (Schott) (Euphorbiaceae)	F (e) N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	AGRIPINO <i>et al.</i> , 2004
<i>Piper aduncum</i> L. (Piperaceae)	F (e) C. <i>albicans</i> halo 10 mm (C = 100 mg/mL) e CIM 1250 µg/mL C. <i>neoformans</i> halo 14 mm (C=100 mg/mL) e CIM 312 µg/mL C (OE) N/a <i>C. sphaerospermum</i> e <i>C. cladosporioides</i> em bioautografia F (OE) C. <i>albicans</i> CIM 2000 µg/mL; <i>C. sphaerospermum</i> 50 µg e N/a <i>C. cladosporioides</i> em bioautografia	BRAGA <i>et al.</i> , 2007b, NAVICKIENE <i>et al.</i> , 2006 e DUARTE <i>et al.</i> , 2005
<i>Piper arboreum</i> (Piperaceae)	C, F, Fr (OE) N/a <i>C. sphaerospermum</i> e <i>C. cladosporioides</i> em bioautografia Fr (OE) C. <i>sphaerospermum</i> 50 µg e <i>C. cladosporioides</i> 10 µg em bioautografia	NAVICKIENE <i>et al.</i> , 2006

^a Órgão vegetal: A (amêndoas), Ce (cera epicuticular), CC (casca do caule), F (folha), Fr (fruto), FI (flor), FI (inflorescência), MC (madeira do caule), PA (partes aéreas), R (raiz), S (semente). ^b Solventes: a (água), ac (acetona), d (diclorometano), e (etanol), ee (éter etílico), m (metanol). ^c Óleos: OE (óleo essencial), OF (óleo fixo). ^d C (concentração do extrato). ^e N/a: não tem atividade.

<i>Piper tuberculatum</i> (Piperaceae)	F (OE) N/a <i>C. sphaerospermum</i> e <i>C. cladosporioides</i> em bioautografia C (OE) <i>C. sphaerospermum</i> 50 µg e N/a <i>C. cladosporioides</i> em bioautografia Fr (OE) <i>C. sphaerospermum</i> 10 µg e <i>C. cladosporioides</i> 50 µg em bioautografia	NAVICKIENE et al., 2006
<i>Piptadenia gonoacantha</i> (Mart.) J.F. Macbride (Mimosaceae)	F (e) N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	AGRIPINO et al., 2004
<i>Plathymenia foliolosa</i> Benth. (Mimosaceae)	F (a, m) N/a <i>C. sphaerospermum</i> 100 µg em bioautografia	ALVES et al., 2000
<i>Polygonum punctatum</i> (Polygonaceae)	Polygodial <i>C. sphaerospermum</i> 100 µg em bioautografia	ALVES et al., 2001
<i>Pothomorphe umbellata</i> (L.) Miq. (Piperaceae)	F (e) <i>C. albicans</i> halo 1 mm (C = 100 mg/mL) e CIM 2500 µg/mL <i>C. neoformans</i> halo 6 mm (C = 100 mg/mL) e CIM 625 µg/mL	BRAGA et al., 2007b
<i>Pouteria grandiflora</i> (A. DC.) Radlk. (Sapotaceae)	F (e) N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	AGRIPINO et al., 2004
<i>Pouteria torta</i> (Sapotaceae)	Pouterina <i>F. oxysporum</i> 85% de inibição; <i>C. musae</i> 54% de inibição; <i>S. cerevisiae</i> 100% de inibição após 50 horas (C = 280 µg/mL)	BOLETI et al., 2007 e ALVES et al., 2000

^a Órgão vegetal: A (amêndoas), Ce (cera epicotilar), CC (casca do caule), F (folha), FI (flor), Fr (fruto), I (inflorescência), MC (madeira do caule), PA (partes aéreas), R (raiz), S (semente). ^b Solventes: a (água), ac (acetona), d (diclorometano), e (etanol), ee (éter etílico), m (metanol). ^c Óleos: OE (óleo essencial), OF (óleo fixo). ^d C (concentração do extrato). ^e N/a: não tem atividade.

F (m)			
<i>Psidium guajava</i> L (Myrtaceae)	<i>C. sphaerospermum</i> 100 µg em bioautografia		HOLETZ et al., 2002
F (e)			
	<i>C. albicans</i> CIM 125 µg/mL; <i>C. krusei</i> e <i>C. tropicalis</i> CIM 15,6 µg/mL		
	<i>C. parapsilosis</i> CIM 62,5 µg/mL		
Qualea parviflora Mart. (Vochysiaceae)		CC (a, m)	ALVES et al., 2000
	N/a <i>C. sphaerospermum</i> 100 µg em bioautografia		
Quararibea turbinata Poir. (Bombacaceae)		F (e)	AGRIPINO et al., 2004
	N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)		
Rollinia sericea R.E. Fries (Annonaceae)		F (e)	AGRIPINO et al., 2004
	N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)		
Rosmarinus officinalis L. (Lamiaceae)		F (e)	BRAGA et al., 2007b
	<i>C. albicans</i> halo 10 mm (C = 100 mg/mL) e CIM 5000 µg/mL		
	<i>C. neoformans</i> halo 12 mm (C = 100 mg/mL) e CIM 156 µg/mL		
Roupala brasiliensis Klotzsch (Proteaceae)		F (e)	AGRIPINO et al., 2004
	N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)		
Roupala heterophylla Pohl (Proteaceae)		F (m)	ALVES et al., 2000
	N/a <i>C. sphaerospermum</i> 100 µg em bioautografia		
Roupala montana Aubl. (Proteaceae)		F (a)	ALVES et al., 2000
	N/a <i>C. sphaerospermum</i> 100 µg em bioautografia		

^a Órgão vegetal: A (amêndoas), Ce (cera epicuticular), CC (casca do caule), F (folha), FI (flor), Fr (fruto), I (inflorescência), MC (madeira do caule), PA (partes aéreas), R (raiz), S (semente). ^b Solventes: a (água), ac (acetona), d (diclorometano), e (etanol), ee (éter etílico), m (metanol). ^c Óleos: OE (óleo essencial), OF (óleo fixo). ^d C (concentração do extrato). ^e N/a: não tem atividade.

<i>Rustia formosa</i> (Cham. & Schltidl)	F (e)		AGRIPINO et al., 2004
Klotzsch (Rubiaceae)	N/a	<i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	
<i>Sabicea brasiliensis</i> Wernham (Rubiaceae)	PA (m)	N/a	ALVES et al., 2000
<i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi (Anacardiaceae)	F (e)	N/a	BRAGA et al., 2007b
		<i>C. albicans</i> halo 15 mm (C = 100 mg/mL) e CIM 1250 µg/mL	
		<i>C. neoformans</i> halo 20 mm (C = 100 mg/mL) e CIM 156 µg/mL	
<i>Sclerolobium aureum</i> (Tul.) Baill. (Fabaceae)	F (m)		ALVES et al., 2000
<i>Solanum americanum</i> Mill. (Solanaceae)	F (e)	N/a	BRAGA et al., 2007b
		<i>C. albicans</i> halo 10 mm (C = 100 mg/mL) e CIM 5000 µg/mL	
<i>Sorocea bonplandii</i> (Baill) W.C. Burger, Lang. & Wess. Boer (Moraceae)	F (e)	N/a	AGRIPINO et al., 2004
<i>Spilanthes acmella</i> Mart. (Asteraceae)	F (e)		HOLETZ et al., 2002
		<i>C. albicans</i> , <i>C. krusei</i> , <i>C. tropicalis</i> e <i>C. parapsilosis</i> CIM > 1000 µg/mL	
<i>Stachytarpheta cayennensis</i> (Verbenaceae)	PA (e)		BRAGA et al., 2007b
<i>Stryphnodendron adstringens</i> (Mart.) Coville (Mimosaceae)	PA (e)	N/a	ISHIDA et al., 2006 e ALVES et al., 2000
		<i>C. albicans</i> e <i>C. neoformans</i> (C = 100 mg/mL)	

^a Órgão vegetal: A (amêndoas), Ce (cera epicuticular), CC (casca do caule), F (folha), FI (flor), Fr (fruto), I (inflorescência), MC (madeira do caule), PA (partes aéreas), R (raiz), S (semente). ^b Solventes: a (água), ac (acetona), d (diclorometano), e (etanol), ee (éter etílico), m (metanol). ^c Óleos: OE (óleo essencial), OF (óleo fixo). ^d C (concentração do extrato). ^e N/a: não tem atividade.

CC (ac/a)			
<i>Candida</i> spp. CIM 0,48 - 31,25 µg/mL			
Partição acetato de etila CC (ac/a)			
<i>Candida</i> spp. CIM 0,97 - 31,25 µg/mL			
Partição aquosa CC (ac/a)			
<i>Candida</i> spp. CIM 0,97 - 7,8 µg/mL			SANCHES <i>et al.</i> , 2005
<i>Stryphnodendron obovatum</i> (Mimosaceae)	CC (ac/a)	<i>C. albicans</i> , <i>C. parapsilosis</i> , <i>C. krusei</i> e <i>C. tropicalis</i> CIM > 1000 µg/mL	
	Partição acetato de etila CC (ac/a)	<i>C. albicans</i> , <i>C. parapsilosis</i> , <i>C. krusei</i> e <i>C. tropicalis</i> CIM > 1000 µg/mL	
	Partição aquosa CC (ac/a)	<i>C. albicans</i> , <i>C. parapsilosis</i> , <i>C. krusei</i> e <i>C. tropicalis</i> CIM > 1000 µg/mL	
	Epigallocatequina-(4β→8)-galocatequina, galocatequina e epigallocatequina	<i>C. albicans</i> , <i>C. parapsilosis</i> , <i>C. krusei</i> e <i>C. tropicalis</i> CIM > 100 µg/mL	
<i>Styrax camporum</i> (Styracaceae)	F (dl/m)		ALVES <i>et al.</i> , 2000
<i>Styrax ferrugineus</i> (Styracaceae)		N/a <i>C. sphaerospermum</i> 100 µg em bioautografia	
		5-(3''-hidroxipropil)-7-metoxi-2-(3',4'-metileno-dioxiifenil) benzofuran	PAULETTI <i>et al.</i> , 2000
		<i>C. sphaerospermum</i> 5 µg em bioautografia	
		5-(3''-hidroxipropil)-7-metoxi-2-(3',4'-dimetoxifenil)benzofuran	
		<i>C. sphaerospermum</i> 10 µg em bioautografia	

^a Órgão vegetal: A (amêndoas), Ce (cera epicuticular), CC (casca do caule), F (folha), FI (flor), Fr (fruto), I (inflorescência), MC (madeira do caule), PA (partes aéreas), R (raiz), S (semente). ^b Solventes: a (água), ac (acetona), d (diclorometano), e (etanol), ee (éter etílico), m (metanol). ^c Óleos: OE (óleo essencial), OF (óleo fixo). ^d C (concentração do extrato). ^e N/a: não tem atividade.

5-[3''-(β-d-Glucopyranosyloxy)propyl]-7-methoxy-2-(3',4'-methylenedioxy phenyl) benzofuran, 5-[3''-(β -dGlucopyranosyloxy) propyl]-7-methoxy-2-(3',4'-dimethoxyphenyl) benzofuran e dihydrodehydrodiconiferyl alcohol		
N/a <i>C. sphaerospermum</i> 20 µg em bioautografia		
<i>Tabebuia obtusifolia</i> (Cahm)	F (e)	AGRIPINO et al., 2004
Bureau (Bignoniaceae)	N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	
<i>Tabebuia ochracea</i> (Cham.) Standl. (Bignoniaceae)	F (m) e MC (d)	ALVES et al., 2000
<i>Tabebuia serratifolia</i> (Vahl.) G. Nicholson (Bignoniaceae)	N/a <i>C. sphaerospermum</i> 100 µg em bioautografia	AGRIPINO et al., 2004
<i>Tapirira guianensis</i> Aubl. (Anacardiaceae)	F (e)	AGRIPINO et al., 2004
<i>Vernonia polyanthes</i> Less. (Asteraceae)	N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	
<i>Xylopia aromatica</i> (Lam) Mart. (Annonaceae)	F (e)	BRAGA et al., 2007b
	N/a <i>C. albicans</i> e <i>C. neoformans</i> (C = 100 mg/mL)	
	CC (a, d/m)	ALVES et al., 2000
	N/a <i>C. sphaerospermum</i> 100 µg em bioautografia	

^a Órgão vegetal: A (amêndoas), Ce (cera epicuticular), CC (casca do caule), F (folha), FI (flor), Fr (fruto), I (inflorescência), MC (madeira do caule), PA (partes aéreas), R (raiz), S (semente). ^b Solventes: a (água), ac (acetona), d (diclorometano), e (etanol), ee (éter etílico), m (metanol). ^c Óleos: OE (óleo essencial), OF (óleo fixo). ^d C (concentração do extrato). ^e N/a: não tem atividade.

Tabela 9 - Outras plantas encontradas no Brasil avaliadas quanto ao potencial antifúngico.

Espécie (Família)	Órgão vegetal^a ou substância isolada (solvente^b)	Referência
<i>Achillea millefolium</i> L. (Asteraceae)	F (OE^c) <i>C. albicans</i> CIM 250 µg/mL F (e) <i>C. albicans</i> , <i>C. krusei</i> , <i>C. parapsilosis</i> e <i>C. tropicalis</i> CIM > 1000 µg/mL	DUARTE <i>et al.</i> , 2005 e HOLETZ <i>et al.</i> , 2002
<i>Actinostemon concolor</i> Spreng. (Euphorbiaceae)	C, F (e) N/a ^e <i>C. albicans</i> (C ^d = 10 mg/mL)	AGRIPINO <i>et al.</i> , 2004
<i>Allium schoenoprasum</i> L. (Liliaceae)	F (OE) e F (e) <i>C. albicans</i> CIM > 2 mg/mL	DUARTE <i>et al.</i> , 2005
<i>Aloysia gratissima</i> (Gillies & Hook) Tronc. (Verbenaceae)	F (OE) e F (e) <i>C. albicans</i> CIM > 2 mg/mL	DUARTE <i>et al.</i> , 2005
<i>Aloysia triphylla</i> (L'H'er.) Britton (Verbenaceae)	F (OE) e F (e) <i>C. albicans</i> CIM > 2 mg/mL	DUARTE <i>et al.</i> , 2005
<i>Amphirrhox longifolia</i> (A. St. Hil.) Spreng. (Violaceae)	C, F (e) N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	AGRIPINO <i>et al.</i> , 2004
<i>Annona salzmanii</i> D.C. (Annonaceae)	Reticulin, anonaine, laurelliptin e isobaldin N/a <i>C. albicans</i> , <i>C. tropicalis</i> e <i>C. neoformans</i> (C = 1 mg/mL)	PAULO <i>et al.</i> , 1992
<i>Anthemis nobilis</i> L. (Asteraceae)	F (OE) <i>C. albicans</i> CIM 800 µg/mL	DUARTE <i>et al.</i> , 2005

^a Órgão vegetal: C (caule), F (folha), Fl (flor), PA (partes aéreas), Fr (fruto), S (semente). ^b Solventes: a (água), ac (acetona), ae (acetado de etila), cl (clorofórmio), ep (éter de petróleo), d (diclorometano), e (etanol), m (metanol). ^c C (concentração do extrato). ^d Óleo: OE (óleo essencial). ^e N/a: não tem atividade.

	F (e)		
	<i>C. albicans</i> CIM > 2 mg/mL		
<i>Arctium lappa</i> Willd (Asteraceae)	F (e)	<i>C. albicans</i> , <i>C. krusei</i> , <i>C. parapsilosis</i> e <i>C. tropicalis</i> CIM > 1000 µg/mL	HOLETZ et al., 2002
<i>Artemisia annua</i> L. (Asteraceae)	F (OE)		DUARTE et al., 2005
	<i>C. albicans</i> CIM 1000 µg/mL		
	F (e)		
	<i>C. albicans</i> CIM > 2 mg/mL		
<i>Aspidosperma ramiflorum</i> Müll. Arg (Apocynaceae)	F (e)		AGRIPINO et al., 2004
	<i>C. albicans</i> halo 2,5 mm (C = 10 mg/mL)		
	C (e)		
	<i>C. albicans</i> halo 1,4 mm (C = 10 mg/mL)		
<i>Baccharis trimera</i> DC. (Asteraceae)	F (OE)		DUARTE et al., 2005
	<i>C. albicans</i> CIM 2000 µg/mL		
	F (e)		
	<i>C. albicans</i> CIM > 2 mg/mL		
<i>Barnebya dispar</i> (Griseb.) (Malpighiaceae)	F (e)		AGRIPINO et al., 2004
	N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)		
<i>Bowdichia virgilioides</i> Kunth (Fabaceae)	C (d/m) e F (a)		ALVES et al., 2000
	N/a <i>C. sphaerospermum</i> 100 µg em bioautografia		
<i>Brosimum guianense</i> (Aubl.) Huber (Moraceae)	F (e)		AGRIPINO et al., 2004
	N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)		

^a Órgão vegetal: C (caule), F (folha), FI (flor), PA (partes aéreas), Fr (fruto), S (semente). ^b Solventes: a (água), ac (acetona), ae (acetado de etila), cl (clorofórmio), ep (éter de petróleo), d (diclorometano), e (etanol), m (metanol). ^c C (concentração do extrato). ^d Óleo: OE (óleo essencial). ^e N/a: não tem atividade.

<i>Cabralea polytricha</i> Jussieu (Meliaceae)	Fr (d, m) N/a <i>C. sphaerospermum</i> 100 µg em bioautografia	ALVES et al., 2000
<i>Caesalpinia pyramidalis</i> Tul. (Leguminosae)	F (a) <i>C. albicans</i> e <i>C. neoformans</i> CIM 12,5 µg/mL <i>C. guilliermondii</i> e <i>T. rubrum</i> CIM 6,25 µg/mL, <i>F. pedrosoi</i> CIM 200 µg/mL	CRUZ et al., 2007
<i>Campomanesia phaea</i> (Berg.) L.R. Landrum (Myrtaceae)	C, F (e) N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	AGRIPINO et al., 2004
<i>Conchocarpus fontanesianus</i> (Rutaceae)	F (e) N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	AGRIPINO et al., 2004
<i>Couepia venosa</i> Prance. (Chrysobalanaceae)	F (e) N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	AGRIPINO et al., 2004
<i>Cryptocaria saligna</i> (Lauraceae)	F (e) N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	AGRIPINO et al., 2004
<i>Chrysophyllum flexuosum</i> Mart. (Sapotaceae)	F (e) N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	AGRIPINO et al., 2004
<i>Chrysophyllum inornatum</i> Mart. (Sapotaceae)	F (e) N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	AGRIPINO et al., 2004
<i>Cupania oblongifolia</i> Mart. (Sapindaceae)	F (e) N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	AGRIPINO et al., 2004
<i>Cyathea corcovadensis</i> (Raddi) Domin (Cyatheaceae)	F (e) N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	AGRIPINO et al., 2004

^a Órgão vegetal: C (caule), F (folha), FI (flor), PA (partes aéreas), Fr (fruto), S (semente). ^b Solventes: a (água), ac (acetona), ae (acetado de etila), cl (clorofórmio), ep (éter de petróleo), d (diclorometano), e (etanol), m (metanol). ^c C (concentração do extrato). ^d Óleo: OE (óleo essencial). ^e N/a: não tem atividade.

<i>Cymbopogon martini</i> (Roxb.) W.	F (OE, e)	DUARTE <i>et al.</i> , 2005
Watson (Poaceae)	N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	
<i>Cymbopogon winterianus</i> Jowitt (Poaceae)	F (OE) <i>C. albicans</i> CIM 600 µg/mL F (e) <i>C. albicans</i> CIM > 2 mg/mL	DUARTE <i>et al.</i> , 2005
<i>Cyperus articulatus</i> L. (Cyperaceae)	F (OE) <i>C. albicans</i> CIM 1600 µg/mL	DUARTE <i>et al.</i> , 2005
<i>Cyperus rotundus</i> L. (Cyperaceae)	F (OE) <i>C. albicans</i> CIM 600 µg/mL F (e) <i>C. albicans</i> CIM > 2 mg/mL	DUARTE <i>et al.</i> , 2005
<i>Dalbergia nigra</i> (Fabaceae)	F (m) N/a <i>C. sphaerospermum</i> 100 µg em bioautografia	ALVES <i>et al.</i> , 2000
<i>Duguetia hadrantha</i> (Annonaceae)	Hadranthine-A <i>C. albicans</i> CIM 20 µg/mL e N/a <i>C. neoformans</i> Hadranthine-B N/a <i>C. albicans</i> e <i>C. neoformans</i> 4,5-dioxo-1-azaaporphine imbiline-1 <i>C. albicans</i> CIM 50 µg/mL Sampangine <i>C. albicans</i> CIM 0,39 µg/mL e <i>C. neoformans</i> CIM 0,78 µg/mL	MUHAMMAD <i>et al.</i> , 2001

^a Órgão vegetal: C (caule), F (folha), FI (flor), PA (partes aéreas), Fr (fruto), S (semente). ^b Solventes: a (água), ac (acetona), ae (acetado de etila), cl (clorofórmio), ep (éter de petróleo), d (diclorometano), e (etanol). ^c C (concentração do extrato). ^d Óleo: OE (óleo essencial). ^e N/a: não tem atividade.

3-methoxysampangine		
<i>C. albicans</i> CIM 20 µg/mL e <i>C. neoformans</i> CIM 3,125 µg/mL		
<i>Eriotheca pentaphylla</i> (Vell.) A. Robyns (Bombacaceae)	F (e) N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	AGRIPINO <i>et al.</i> , 2004
<i>Erythroxylum cuspidifolium</i> Mart. (Erythroxylaceae)	F (e) N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	AGRIPINO <i>et al.</i> , 2004
<i>Eugenia pitanga</i> (O. Berg) Kiaersk. (Myrtaceae)	F (d/m) <i>C. sphaerospermum</i> 100 µg em bioautografia	ALVES <i>et al.</i> , 2000
<i>Ficus pulchella</i> Schott (Moraceae)	C, F (e) N/a <i>C. sphaerospermum</i> 100 µg em bioautografia	AGRIPINO <i>et al.</i> , 2004
<i>Guatteria elliptica</i> R.E. Fries (Annonaceae)	F (e) N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	AGRIPINO <i>et al.</i> , 2004
<i>Heisteria silvianni</i> Schwacke (Olacaceae)	C, F (e) N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	AGRIPINO <i>et al.</i> , 2004
<i>Heteropteris chrysophylla</i> (Lam.) Kunth (Malpighiaceae)	C, F (e) N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	AGRIPINO <i>et al.</i> , 2004
<i>Hibiscus pernambucensis</i> Arruda (Malvaceae)	F (e) N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	AGRIPINO <i>et al.</i> , 2004

^a Órgão vegetal: C (caule), F (folha), FI (flor), PA (partes aéreas), Fr (fruto), S (semente). ^b Solventes: a (água), ac (acetona), ae (acetado de etila), cl (clorofórmio), ep (éter de petróleo), d (diclorometano), e (etanol), m (metanol). ^c C (concentração do extrato). ^d Óleo: OE (óleo essencial). ^e N/a: não tem atividade.

<i>Hirtella hebeclada</i> Moric. ex DC. (<i>Chrysobalanaceae</i>)	F (e) <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	AGRIPINO et al., 2004
<i>Hypericum caprifoliatum</i> (Clusiaceae)	PA (cl, ep, m) <i>C. albicans</i> , <i>C. neoformans</i> , <i>S. cerevisiae</i> , <i>A. fumigatus</i> , <i>A. flavus</i> , <i>A. niger</i> , <i>M. canis</i> , <i>M. gypseum</i> , <i>E. floccosum</i> , <i>T. mentagrophytes</i> e <i>T. rubrum</i> CIM > 1000 µg/mL	FENNER et al., 2005
<i>Hypericum connatum</i> (Clusiaceae)	PA (m) <i>C. albicans</i> , <i>C. neoformans</i> , <i>S. cerevisiae</i> , <i>A. fumigatus</i> , <i>A. flavus</i> , <i>A. niger</i> , <i>M. canis</i> , <i>M. gypseum</i> , <i>E. floccosum</i> , <i>T. mentagrophytes</i> e <i>T. rubrum</i> CIM > 1000 µg/mL	FENNER et al., 2005
<i>Hypericum myrianthum</i> (Clusiaceae)	PA (m) <i>C. albicans</i> , <i>C. neoformans</i> , <i>S. cerevisiae</i> , <i>A. fumigatus</i> , <i>A. flavus</i> , <i>A. niger</i> , <i>M. canis</i> , <i>M. gypseum</i> , <i>E. floccosum</i> , <i>T. mentagrophytes</i> e <i>T. rubrum</i> CIM > 1000 µg/mL	FENNER et al., 2005
<i>Hypericum piriiai</i> (Clusiaceae)	PA (m) <i>C. albicans</i> , <i>C. neoformans</i> , <i>S. cerevisiae</i> , <i>A. fumigatus</i> , <i>A. flavus</i> , <i>A. niger</i> , <i>M. canis</i> , <i>M. gypseum</i> , <i>E. floccosum</i> , <i>T. mentagrophytes</i> e <i>T. rubrum</i> CIM > 1000 µg/mL	FENNER et al., 2005
<i>Hypericum polyanthemum</i> (Clusiaceae)	PA (d, m) <i>C. albicans</i> , <i>C. neoformans</i> , <i>S. cerevisiae</i> , <i>A. fumigatus</i> , <i>A. flavus</i> , <i>A. niger</i> , <i>M. canis</i> , <i>M. gypseum</i> , <i>E. floccosum</i> , <i>T. mentagrophytes</i> e <i>T. rubrum</i> CIM > 1000 µg/mL	FENNER et al., 2005

^a Órgão vegetal: C (caule), F (folha), Fl (flor), PA (partes aéreas), Fr (fruto), S (semente). ^b Solventes: a (água), ac (acetona), ae (acetado de etila), cl (clorofórmio), ep (éter de petróleo), d (diclorometano), e (etanol). ^c C (concentração do extrato). ^d Óleo: OE (óleo essencial). ^e N/a: não tem atividade.

	PA (ep)		
		<i>E. floccosum</i> CIM 500 µg/mL; <i>C. albicans</i> , <i>C. neoformans</i> , <i>S. cerevisiae</i> , <i>A. fumigatus</i> , <i>A. flavus</i> , <i>A. niger</i> , <i>M. canis</i> , <i>M. gypseum</i> , <i>T. mentagrophytes</i> e <i>T. rubrum</i> CIM > 1000 µg/mL	
<i>Hypericum ternum</i> (Clusiaceae)	PA (m)		FENNER et al., 2005
		<i>C. albicans</i> , <i>C. neoformans</i> , <i>S. cerevisiae</i> , <i>A. fumigatus</i> , <i>A. flavus</i> , <i>A. niger</i> , <i>M. canis</i> , <i>M. gypseum</i> , <i>T. mentagrophytes</i> e <i>T. rubrum</i> CIM > 1000 µg/mL	
	PA (ep)		
		<i>C. albicans</i> e <i>M. canis</i> CIM > 1000 µg/mL; <i>C. neoformans</i> e <i>M. gypseum</i> CIM 250 µg/mL; <i>S. cerevisiae</i> , <i>T. mentagrophytes</i> e <i>E. floccosum</i> CIM 100 µg/mL; <i>A. fumigatus</i> , <i>A. flavus</i> , <i>A. niger</i> e <i>T. rubrum</i> CIM 500 µg/mL	
	PA (cl)		
		<i>A. flavus</i> CIM 1000 µg/mL; <i>T. rubrum</i> CIM 500 µg/mL; <i>S. cerevisiae</i> e <i>T. mentagrophytes</i> CIM 100 µg/mL; <i>C. albicans</i> , <i>C. neoformans</i> , <i>A. fumigatus</i> , <i>A. niger</i> , <i>M. canis</i> , <i>M. gypseum</i> , <i>E. floccosum</i> CIM 250 µg/mL	
<i>Lacistema lucidum</i> Schnizl. (Lacistemaceae)	F (e)		AGRIPINO et al., 2004
		N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	
<i>Machaerium nictitans</i> Benth. (Leguminosae)	F (e)		AGRIPINO et al., 2004
		N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	
<i>Malouetia arborea</i> (Vell.) Miers (Apocynaceae)	F (e)		AGRIPINO et al., 2004
		N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	

^a Órgão vegetal: C (caule), F (folha), Fl (flor), PA (partes aéreas), Fr (fruto), S (semente). ^b Solventes: a (água), ac (acetona), ae (acetato de etila), cl (clorofórmio), ep (éter de petróleo), d (diclorometano), e (etanol), m (metanol). ^c C (concentração do extrato). ^d Óleo: OE (óleo essencial). ^e N/a: não tem atividade.

<i>Mentha arvensis</i> var. <i>piperita</i> L. (Lamiaceae)	F (OE) <i>C. albicans</i> CIM 1100 µg/mL F (e) <i>C. albicans</i> CIM > 2 mg/mL	DUARTE <i>et al.</i> , 2005
<i>Mentha piperita</i> L. (Lamiaceae)	F (OE) <i>C. albicans</i> CIM 600 µg/mL F (e) <i>C. albicans</i> CIM > 2 mg/mL	DUARTE <i>et al.</i> , 2005
<i>Mentha pulegium</i> L. (Lamiaceae)	F (OE) <i>C. albicans</i> CIM 740 µg/mL F (e) <i>C. albicans</i> CIM > 2 mg/mL	DUARTE <i>et al.</i> , 2005
<i>Mentha spicata</i> L. (Lamiaceae)	F (OE) e F (e) <i>C. albicans</i> CIM > 2 mg/mL	DUARTE <i>et al.</i> , 2005
<i>Metrodorea nigra</i> A.St.-Hill. (Rutaceae)	F (e) N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	AGRIPINO <i>et al.</i> , 2004
<i>Miconia pyrifolia</i> Naud. (Melastomataceae)	F (e) N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	AGRIPINO <i>et al.</i> , 2004
<i>Mikania glomerata</i> Spreng. (Asteraceae)	F (OE) e F (e) <i>C. albicans</i> CIM > 2 mg/mL F (e) <i>C. albicans</i> e <i>C. parapsilosis</i> CIM > 1000 µg/mL	DUARTE <i>et al.</i> , 2005 HOLETZ <i>et al.</i> , 2002

^a Órgão vegetal: C (caule), F (folha), FI (flor), PA (partes aéreas), Fr (fruto), S (semente). ^b Solventes: a (água), ac (acetona), ae (acetado de etila), cl (clorofórmio), ep (éter de petróleo), d (diclorometano), e (etanol). ^c C (concentração do extrato). ^d Óleo: OE (óleo essencial). ^e N/a: não tem atividade.

<i>C. krusei</i> e <i>C. tropicalis</i> CIM 500 µg/mL		
<i>Mikania laevigata</i> Sch. Bip. ex Baker (Asteraceae)	F (OE) e F (e) <i>C. albicans</i> CIM > 2 mg/mL	DUARTE <i>et al.</i> , 2005
<i>Nectandra membranacea</i> (Sw.) (Griseb.) (Lauraceae)	F (e) N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	AGRIPINO <i>et al.</i> , 2004
<i>Ocimum basilicum</i> L. (Lamiaceae)	F (OE) e F (e) <i>C. albicans</i> CIM > 2 mg/mL	DUARTE <i>et al.</i> , 2005
<i>Ocimum selloi</i> Benth. (Lamiaceae)	F (OE) e F (e) <i>C. albicans</i> CIM > 2 mg/mL	DUARTE <i>et al.</i> , 2005
<i>Ocotea dispersa</i> (Nees) Mez. (Lauraceae)	F (e) N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	AGRIPINO <i>et al.</i> , 2004
<i>Origanum x applii</i> Boros (Lamiaceae)	F (OE) e F (e) <i>C. albicans</i> CIM > 2 mg/mL	DUARTE <i>et al.</i> , 2005
<i>Origanum vulgare</i> subsp. <i>virens</i> L. (Lamiaceae)	F (OE) e F (e) <i>C. albicans</i> CIM > 2 mg/mL	DUARTE <i>et al.</i> , 2005
<i>Ouratea multiflora</i> (Pohl.) Engl. (Ochnaceae)	F (e) N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	AGRIPINO <i>et al.</i> , 2004
<i>Parinari excelsa</i> Sabine (Chrysobalanaceae)	F (e) N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	AGRIPINO <i>et al.</i> , 2004
<i>Pausandra morisiana</i> Radek (Euphorbiaceae)	F (e) N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	AGRIPINO <i>et al.</i> , 2004

^a Órgão vegetal: C (caule), F (folha), FI (flor), PA (partes aéreas), Fr (fruto), S (semente). ^b Solventes: a (água), ac (acetona), ae (acetado de etila), cl (clorofórmio), ep (éter de petróleo), d (diclorometano), e (etanol), m (metanol). ^c C (concentração do extrato). ^d Óleo: OE (óleo essencial). ^e N/a: não tem atividade.

<i>Piper marginatum</i> Jacq. (Piperaceae)	F (OE) e F (e) <i>C. albicans</i> CIM > 2 mg/mL	DUARTE <i>et al.</i> , 2005
<i>Piper regnellii</i> (Miq.) C. DC. (Piperaceae)	F (OE) e F (e) <i>C. albicans</i> CIM > 2 mg/mL	DUARTE <i>et al.</i> , 2005
<i>Piper regnellii</i> Miq. (Piperaceae)	F (e) <i>C. krusei</i> CIM 125 µg/mL e <i>C. tropicalis</i> CIM 500 µg/mL <i>C. albicans</i> e <i>C. parapsilosis</i> CIM < 1000 µg/mL	HOLETZ <i>et al.</i> , 2002
<i>Piper regnellii</i> (Miq.) C. DC. var. <i>pallescens</i> (C. DC.) Yunck (Piperaceae)	F (ae) <i>C. albicans</i> CIM 125 µg/mL; <i>C. krusei</i> e <i>C. parapsilosis</i> CIM 500 µg/mL; <i>C. tropicalis</i> CIM > 1000 µg/mL	PESSINI <i>et al.</i> , 2005
	Eupomatenóide-6, eupomatenóide-5 e eupomatenóide-3 <i>C. albicans</i> , <i>C. krusei</i> , <i>C. parapsilosis</i> e <i>C. tropicalis</i> CIM > 1000 µg/mL	
	Conocarpano <i>C. albicans</i> e <i>C. tropicalis</i> CMI 6,3 µg/mL; <i>C. parapsilosis</i> CIM 25 µg/mL; <i>C. krusei</i> MIC 12,5 µg/mL	
<i>Pitcairnia flammea</i> Lindl. (Bromeliaceae)	F (e) N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	AGRIPINO <i>et al.</i> , 2004
<i>Pithecolobium avaremotemo</i> Mart. (Leguminosae)	C (m) <i>C. albicans</i> halo 20 mm (C = 50 mg/mL) N/a <i>C. tropicalis</i> (C = 50 mg/mL)	ARAÚJO <i>et al.</i> , 2002
<i>Plantago lanceolata</i> L. (Plantaginaceae)	F (e) <i>C. albicans</i> halo 20 mm (C = 100 mg/mL) e CIM 2500 µg/mL	BRAGA <i>et al.</i> , 2007b

^a Órgão vegetal: C (caule), F (folha), FI (flor), PA (partes aéreas), Fr (fruto), S (semente). ^b Solventes: a (água), ac (acetona), ae (acetato de etila), cl (clorofórmio), ep (éter de petróleo), d (diclorometano), e (etanol). ^c C (concentração do extrato). ^d Óleo: OE (óleo essencial). ^e N/a: não tem atividade.

	<i>C. neoformans</i> halo 4 mm (C = 100 mg/mL) e CIM 312 µg/mL	
<i>Plantago major</i> L. (Plantaginaceae)	F (e) <i>C. albicans</i> e <i>C. parapsilosis</i> CIM 1000 µg/mL, <i>C. krusei</i> CIM 125 µg/mL	HOLETZ <i>et al.</i> , 2002
<i>Plectranthus barbatus</i> Andrews (Lamiaceae)	F (OE) <i>C. albicans</i> CIM 2000 µg/mL F (e) N/a <i>C. tropicalis</i> (C = 50 mg/mL)	DUARTE <i>et al.</i> , 2005
<i>Polygonum hydropiperoides</i> Michx. (Polygonaceae)	F (e) N/a <i>C. albicans</i> e <i>C. neoformans</i> (C = 100 mg/mL) Fl (e) <i>C. albicans</i> halo 1 (C = 100 mg/mL) CIM 2500 µg/mL N/a <i>C. neoformans</i> (C = 100 mg/mL)	BRAGA <i>et al.</i> , 2007b
<i>Pourouma guianensis</i> Aubl. (Moraceae)	F (e) N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	AGRIPINO <i>et al.</i> , 2004
<i>Pouteria psamophila</i> (Mart.) Radlk. (Sapotaceae)	F (e) N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	AGRIPINO <i>et al.</i> , 2004
<i>Psychotria mapoureoidea</i> DC. (Rubiaceae)	C, F (e) N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	AGRIPINO <i>et al.</i> , 2004
<i>Psychotria nuda</i> (Cham. & Schltdl.) Wawra (Rubiaceae)	F (e) N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	AGRIPINO <i>et al.</i> , 2004

^a Órgão vegetal: C (caule), F (folha), Fl (flor), PA (partes aéreas), Fr (fruto), S (semente). ^b Solventes: a (água), ac (acetona), ae (acetato de etila), cl (clorofórmio), ep (éter de petróleo), d (diclorometano), e (etanol), m (metanol). ^c C (concentração do extrato). ^d Óleo: OE (óleo essencial). ^e N/a: não tem atividade.

<i>Pterocaulon alopecuroides</i> (Lam.) D.C. (Asteraceae)	PA (m)	STEIN et al., 2005
	<i>C. neoformans</i> CIM 25 µg/mL; <i>C. albicans</i> e <i>C. tropicalis</i> CIM 100 µg/mL <i>M. gypseum</i> , <i>T. rubrum</i> , <i>T. mentagrophytes</i> , <i>S. cerevisiae</i> CIM 50 µg/mL <i>A. flavus</i> , <i>A. niger</i> e <i>A. fumigatus</i> CIM 400 µg/mL	
	Partição metanólica PA (m) <i>C. albicans</i> , <i>C. tropicalis</i> , <i>A. flavus</i> , <i>A. niger</i> e <i>A. fumigatus</i> , <i>S. cerevisiae</i> CIM 400 µg/mL; <i>T. mentagrophytes</i> CIM 100 µg/mL, <i>C. neoformans</i> CIM 250 µg/mL; <i>M. gypseum</i> , <i>T. rubrum</i> CIM 200 µg/mL	
	Partição hexânica PA (m) <i>A. flavus</i> , <i>A. niger</i> e <i>A. fumigatus</i> CIM > 800 µg/mL, <i>T. rubrum</i> e <i>T. mentagrophytes</i> CIM 25 µg/mL, <i>M. gypseum</i> CIM 50 µg/mL; <i>C. albicans</i> e <i>S. cerevisiae</i> CIM 200 µg/mL, <i>C. tropicalis</i> e <i>C. neoformans</i> CIM 100 µg/mL	
	Partição diclorometânica PA (m) <i>T. rubrum</i> e <i>T. mentagrophytes</i> CIM 25 µg/mL, <i>M. gypseum</i> CIM 50 µg/mL; <i>C. albicans</i> e <i>C. tropicalis</i> CIM 200 µg/mL, <i>A. flavus</i> , <i>A. niger</i> e <i>A. fumigatus</i> CIM >800 µg/mL, <i>S. cerevisiae</i> e <i>C. neoformans</i> CIM 100 µg/mL	
<i>Pterocaulon alopecuroides</i> (Lam.) D.C. (Asteraceae)	5-methoxy-6,7-methylenedioxy coumarin e 7-(2',3'-epoxy 3'methyl butyloxy)-6-methoxy coumarin	STEIN et al., 2006
	<i>C. albicans</i> , <i>C. tropicalis</i> , <i>A. flavus</i> , <i>A. niger</i> e <i>A. fumigatus</i> , <i>S. cerevisiae</i> , <i>T. mentagrophytes</i> , <i>C. neoformans</i> , <i>M. gypseum</i> , <i>T. rubrum</i> CIM >250 µg/mL	
<i>Pterocaulon balansae</i> (Asteraceae)	5-methoxy-6,7-methylenedioxy coumarin	STEIN et al., 2006
	<i>C. albicans</i> , <i>C. tropicalis</i> , <i>A. flavus</i> , <i>A. niger</i> e <i>A. fumigatus</i> , <i>S. cerevisiae</i> , <i>T.</i>	

^a Órgão vegetal: C (caule), F (folha), Fl (flor), PA (partes aéreas), Fr (fruto), S (semente). ^b Solventes: a (água), ac (acetona), ae (acetado de etila), cl (clorofórmio), ep (éter de petróleo), d (diclorometano), e (etanol), m (metanol). ^c C (concentração do extrato). ^d Óleo: OE (óleo essencial). ^e N/a: não tem atividade.

<i>mentagrophytes</i> , <i>C. neoformans</i> , <i>M. gypseum</i> , <i>T. rubrum</i> CIM >250 µg/mL		STEIN <i>et al.</i> , 2005
<i>Pterocaulon interruptum</i> Chodat.	PA (m)	
(Asteraceae)	<i>M. gypseum</i> , <i>T. rubrum</i> , <i>T. mentagrophytes</i> CIM 400 µg/mL; <i>C. albicans</i> , <i>C. tropicalis</i> , <i>S. cerevisiae</i> , <i>A. flavus</i> , <i>A. niger</i> e <i>A. fumigatus</i> CIM >800 µg/mL; <i>C. neoformans</i> CIM 400 µg/mL	
	Partição metanólica PA (m)	
	<i>C. albicans</i> , <i>C. tropicalis</i> , <i>A. flavus</i> , <i>A. niger</i> e <i>A. fumigatus</i> CIM >800 µg/mL; <i>C. neoformans</i> CIM 250 µg/mL; <i>S. cerevisiae</i> CIM 500 µg/mL; <i>M. gypseum</i> , <i>T. rubrum</i> CIM 200 µg/mL; <i>T. mentagrophytes</i> CIM 100 µg/mL	
	Partição hexânica PA (m)	
	<i>A. flavus</i> e <i>A. fumigatus</i> CIM 400 µg/mL; <i>A. niger</i> CIM 200 µg/mL; <i>T. rubrum</i> e <i>T. mentagrophytes</i> CIM 12.5 µg/mL; <i>M. gypseum</i> CIM 25 µg/mL; <i>C. albicans</i> CIM 100 µg/mL; <i>S. cerevisiae</i> , <i>C. tropicalis</i> e <i>C. neoformans</i> CIM 50 µg/mL	
	Partição diclorometânica PA (m)	
	<i>T. rubrum</i> e <i>T. mentagrophytes</i> CIM 50 µg/mL; <i>M. gypseum</i> CIM 100 µg/mL; <i>C. albicans</i> e <i>C. tropicalis</i> CIM 200 µg/mL; <i>A. flavus</i> , <i>A. niger</i> e <i>A. fumigatus</i> CIM 400 µg/mL; <i>S. cerevisiae</i> e <i>C. neoformans</i> CIM 100 µg/mL	
<i>Pterocaulon polystachyum</i> DC.	PA (m)	STEIN <i>et al.</i> , 2006 e
(Asteraceae)	<i>C. neoformans</i> e <i>S. cerevisiae</i> CIM 100 µg/mL; <i>M. gypseum</i> , <i>T. rubrum</i> , <i>T. mentagrophytes</i> CIM 50 µg/mL; <i>C. albicans</i> e <i>C. tropicalis</i> CIM 200 µg/mL; <i>A. flavus</i> , <i>A. niger</i> e <i>A. fumigatus</i> CIM > 800 µg/mL	STEIN <i>et al.</i> , 2005

^a Órgão vegetal: C (caule), F (folha), FI (flor), PA (partes aéreas), Fr (fruto), S (semente). ^b Solventes: a (água), ac (acetona), ae (acetato de etila), cl (clorofórmio), ep (éter de petróleo), d (diclorometano), e (etanol), m (metanol). ^c C (concentração do extrato). ^d Óleo: OE (óleo essencial). ^e N/a: não tem atividade.

Partição metanólica PA (m)

C. albicans, *C. tropicalis*, *C. neoformans*, *S. cerevisiae*, *A. flavus*, *A. niger* e *A. fumigatus* CIM > 800 µg/mL; *M. gypseum*, *T. rubrum* e *T. mentagrophytes* CIM 250 µg/mL

Partição hexânica PA (m)

T. rubrum e *T. mentagrophytes* CIM 25 µg/mL; *M. gypseum* CIM 50 µg/mL; *A. flavus*, *A. niger*, *C. albicans* e *S. cerevisiae* CIM 200 µg/mL; *A. fumigatus*, *C. tropicalis* e *C. neoformans* CIM 100 µg/mL

Partição diclorometânica PA (m)

C. neoformans, *T. mentagrophytes* e *T. rubrum* CIM 100 µg/mL; *M. gypseum* CIM 200 µg/mL; *S. cerevisiae* CIM 500 µg/mL; *C. albicans*, *C. tropicalis*, *A. flavus*, *A. niger* e *A. fumigatus* CIM > 800 µg/mL

5-methoxy-6,7-methylenedioxycoumarin e ayapin

C. albicans, *C. tropicalis*, *A. flavus*, *A. niger* e *A. fumigatus*, *S. cerevisiae*, *T. mentagrophytes*, *C. neoformans*, *M. gypseum*, *T. rubrum* CIM > 250 µg/mL

Prenyletin e prenyletin-methyl-ether (sinergismo)

C. albicans, *C. tropicalis*, *A. flavus*, *A. niger* e *A. fumigatus*, *S. cerevisiae* CIM > 250 µg/mL; *C. neoformans* CIM 125 µg/mL; *T. rubrum* CIM 62,5 µg/mL; *M. gypseum* e *T. mentagrophytes* CIM 31,25µg/mL

Pterocarpus rohrii Vahl.

F (e)

AGRIPINO *et al.*,

(Leguminosae)

N/a *C. albicans* (C = 10 mg/mL)

2004

^a Órgão vegetal: C (caule), F (folha), FI (flor), PA (partes aéreas), Fr (fruto), S (semente). ^b Solventes: a (água), ac (acetona), ae (acetado de etila), cl (clorofórmio), ep (éter de petróleo), e (etanol), m (metanol). ^c C (concentração do extrato). ^d Óleo: OE (óleo essencial). ^e N/a: não tem atividade.

<i>Protium widgrenii</i> Engl. (Burseraceae)	F (e) N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	AGRIPINO et al., 2004
<i>Punica granatum</i> L. (Punicaceae)	F (e) <i>C. albicans</i> CIM > 1000 µg/mL; <i>C. parapsilosis</i> CIM > 12,5 µg/mL <i>C. krusei</i> e <i>C. tropicalis</i> CIM > 15,6 µg/mL	HOLETZ et al., 2002
<i>Rhamnidium glabrum</i> Reiss. (Rhamnaceae)	F (e) N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	AGRIPINO et al., 2004
<i>Rudgea recurva</i> Müll. Arg. (Rubiaceae)	F (e) N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	AGRIPINO et al., 2004
<i>Sambucus canadensis</i> L. (Caprifoliaceae)	F (e) <i>C. albicans</i> , <i>C. parapsilosis</i> , <i>C. krusei</i> e <i>C. tropicalis</i> CIM > 1000 µg/mL;	HOLETZ et al., 2002
<i>Sinningia mauroana</i> Chautems (Gesneriaceae)	F (e) N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	AGRIPINO et al., 2004
<i>Sinningia schiffneri</i> Fritsch (Gesneriaceae)	F (e) N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	AGRIPINO et al., 2004
<i>Solanum concinnum</i> Schoot ex. Sendt. (Solanaceae)	F (e) N/a <i>C. albicans</i> e <i>C. neoformans</i> (C = 100 mg/mL)	BRAGA et al., 2007b
<i>Stachys byzantina</i> K. Koch (Lamiaceae)	F (OE, e) <i>C. albicans</i> CIM > 2 mg/mL	DUARTE et al., 2005
<i>Stachytarpheta cayennensis</i> (Verbenaceae)	F (OE) <i>C. albicans</i> CIM 250 µg/mL	DUARTE et al., 2005

^a Órgão vegetal: C (caule), F (folha), FI (flor), PA (partes aéreas), Fr (fruto), S (semente). ^b Solventes: a (água), ac (acetona), ae (acetado de etila), cl (clorofórmio), ep (éter de petróleo), d (diclorometano), e (etanol), m (metanol). ^c C (concentração do extrato). ^d Óleo: OE (óleo essencial). ^e N/a: não tem atividade.

F (e)			
	<i>C. albicans</i> CIM > 2 mg/mL		
<i>Stevia rebaudiana</i> (Bertoni)	F (e)		DUARTE <i>et al.</i> , 2005
Bertoni (Lamiaceae)	<i>C. albicans</i> CIM > 2 mg/mL		
<i>Syzygium cumini</i> (L.) Skeels	F (e)		BRAGA <i>et al.</i> , 2007b
(Myrtaceae)	N/a <i>C. albicans</i> (C = 100 mg/mL)		
	<i>C. neoformans</i> halo 25 mm (C = 100 mg/mL) e CIM 78 µg/mL		
<i>Tanacetum vulgare</i> L.	F (e)		HOLETZ <i>et al.</i> , 2002
(Asteraceae)	<i>C. albicans</i> e <i>C. parapsilosis</i> CIM > 1000 µg/mL; <i>C. krusei</i> e <i>C. tropicalis</i> CIM 500 µg/mL		
<i>Tetrastylidium grandiflorum</i>	F (e)		AGRIPINO <i>et al.</i> ,
(Baill.) Sleumer (Olacaceae)	N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)		2004
<i>Tetrorchidium rubrivenium</i>	C, F (e)		AGRIPINO <i>et al.</i> ,
Poepp. (Euphorbiaceae)	N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)		2004
<i>Trichilia lepidota</i> Mart.	C, F (e)		AGRIPINO <i>et al.</i> ,
(Meliaceae)	N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)		2004
<i>Tropaeolum majus</i> L.	F (OE, e)		DUARTE <i>et al.</i> , 2005
(Tropeolaceae)	<i>C. albicans</i> CIM > 2 mg/mL		
<i>Virola gardneri</i> (A.DC.) Warb.	C, F (e)		AGRIPINO <i>et al.</i> ,
(Myristicaceae)	N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)		2004

^a Órgão vegetal: C (caule), F (folha), Fl (flor), PA (partes aéreas), Fr (fruto), S (semente). ^b Solventes: a (água), ac (acetona), ae (acetado de etila), cl (clorofórmio), ep (éter de petróleo), d (diclorometano), e (etanol), m (metanol). ^c C (concentração do extrato). ^d Óleo: OE (óleo essencial). ^e N/a: não tem atividade.

<i>Xylopia langsdorfiana</i> A. St. Hil.	F (e)	AGRIPINO <i>et al.</i> ,
& Tul. (Annonaceae)	N/a <i>C. albicans</i> (C = 10 mg/mL)	2004
<i>Ziziphus joazeiro</i> Mart.	C (a)	CRUZ <i>et al.</i> , 2007
(Rhamnaceae)	<i>C. albicans</i> CIM 25 µg/mL; <i>C. guilliermondii</i> e <i>T. rubrum</i> CIM 6,25 µg/mL <i>C. neoformans</i> CIM 100 µg/mL; <i>F. pedrosoi</i> CIM 400 µg/mL	

^a Órgão vegetal: C (caule), F (folha), FI (flor), PA (partes aéreas), Fr (fruto), S (semente). ^b Solventes: a (água), ac (acetona), ae (acetado de etila), cl (clorofórmio), ep (éter de petróleo), d (diclorometano), e (etanol), m (metanol). ^c C (concentração do extrato). ^d Óleo: OE (óleo essencial). ^e N/a: não tem atividade.

1.6. Ensaios antimicrobianos

A atividade antimicrobiana dos produtos naturais de origem vegetal, tanto extratos de plantas como substâncias puras, pode ser detectada quando se coloca essas amostras em contato com vários microrganismos e observa-se a resposta do crescimento microbiano (COS *et al.*, 2006).

Existe uma grande variedade de métodos para detectar atividade antimicrobiana. Dependendo do método os resultados podem ser grandemente influenciados uma vez que eles não são igualmente sensitivos ou não se baseiam nos mesmos princípios (COS *et al.*, 2006). Dessa forma, familiarizar-se com os princípios dos métodos atualmente disponíveis, suas limitações e as modificações propostas na literatura é de extrema importância.

Normalmente, esses métodos são classificados em três grandes grupos: métodos de difusão, diluição e bioautografia. Estes são os mais comumente utilizados pelos grupos de pesquisa de antimicrobianos de origem vegetal e serão descritos abaixo.

1.6.1. Método de difusão em Agar

Conhecido como teste de Kirby-Bauer, esse método foi padronizado por Bauer *et al.* em 1996. Este é o ensaio mais utilizado na triagem de plantas com atividade antimicrobiana bem como na prática clínica e é recomendado pelo *Clinical and Laboratory Institute (CLSI)*. Basicamente consiste em colocar um reservatório

impregnado com a amostra em contato com um meio de cultura inoculado e, ao final do período de incubação, medir o diâmetro da zona clara (zona de inibição de crescimento) ao redor do reservatório. A medida do diâmetro é um bom indicador da atividade antimicrobiana (PAIVA *et al.*, 2003).

O microrganismo pode ser inoculado de diferentes formas. Normalmente eles são inoculados na superfície do ágar sólido, mas eles também podem ser misturados no ágar a 45 a 50 °C (AL-FATIMI *et al.*, 2007; OWEN; PALOMBO, 2007). Alguns autores utilizam placas de Petri contendo duas camadas de meio. A primeira camada é colocada na placa e, logo após sua solidificação, outro tipo de ágar misturado com microrganismos é colocado por cima do primeiro (ARIAS *et al.*, 2004; FYHRQUIST *et al.*, 2002).

Existem diferentes tipos de reservatórios, como discos de papéis, cilindros de aço inoxidável e cavidades perfuradas no ágar. Alguns autores consideram as cavidades o único reservatório apropriado para extratos aquosos, pois a interferência das partículas é muito menor (COS *et al.*, 2006). Muitas vezes, antes de impregnar a amostra nos reservatórios, estas são esterilizadas por meio de filtração com filtros Millipore de 0,45 µm. Tal procedimento é feito principalmente quando se trata de extratos aquosos (GULLUCE *et al.*, 2007; TURKOGLU *et al.*, 2007).

Antes de incubar o sistema inoculado, ele pode ser mantido em temperaturas mais baixas por algumas horas com o objetivo de facilitar a difusão da amostra e, conseqüentemente, aumentar o diâmetro de inibição melhorando o limite de detecção. Alguns estudos consideram suficiente manter as placas a 4 °C por 1 a 2 horas (FAZELI *et al.*, 2007; YU *et al.*, 2007). Outros consideram suficiente deixar as placas à

temperatura ambiente por 30 minutos (OWEN; PALOMBO, 2007). Ainda utilizam filme plástico para selar as placas de Petri com o intuito de evitar eventual evaporação das amostras (CIMANGA *et al.*, 2002).

Os diâmetros das zonas de inibição são normalmente medidas com um paquímetro. O diâmetro também pode ser medido automaticamente com o auxílio de softwares (PROESTOS *et al.*, 2006; RADULOVIC *et al.*, 2007). Com o objetivo de facilitar a medida do halo, as placas de Petri podem ser borrifadas após o período de incubação com indicadores redox do tipo sais de tetrazolium (GERTSCH *et al.*, 2004).

Não existe nenhum valor padrão que determina que a amostra é ativa ou não. É freqüente expressar os resultados como um critério para determinar a suscetibilidade, suscetibilidade intermediária e resistência. Nesses casos, são criadas escalas baseadas no tamanho das zonas de inibição. Quanto maior o halo, mais sensível o microrganismo (DORDEVIC *et al.*, 2007; KUÇUK *et al.*, 2007). Também é possível comparar os halos das amostras com os halos formados pelos controles (antibiótico ou antifúngico) (KELMANSON *et al.*, 2000). Alguns autores só consideram uma amostra ativa se a razão do halo da amostra pelo halo do controle for maior que zero, ou seja, o halo da amostra é igual ou maior que a do controle (FENNELL *et al.*, 2004).

Existe uma variação do método de difusão em ágar utilizado tanto para óleos essenciais como para extratos brutos. Nessa técnica, os microrganismos são inoculados na superfície do ágar e, após 10 minutos, uma gota de 10 µL da amostra é colocada no centro da placa. Após o período de incubação, o diâmetro da zona de inibição é medido (CRUZ *et al.*, 2007; OLIVEIRA *et al.*, 2007).

Alguns estudos avaliam a atividade antimicrobiana ativada por luz utilizando a técnica de difusão em ágar. Nesses casos, uma placa é exposta à luz ultravioleta (UV) por 2 horas, enquanto outras placas são mantidas no escuro. Após o período de incubação, os diâmetros são medidos e verifica-se se a exposição à UV foi capaz de aumentar esse halo, sugerindo a presença de substâncias ativadas por fluorescência (LOPEZ *et al.*, 2001; OMAR *et al.*, 2000). Para alguns autores, a atividade da luz UV é considerada positiva se ambas as placas, aquela deixada no escuro e a deixada no UV, mostrar zonas de inibição. Se apenas a placa exposta ao UV apresentar os halos, a luz é considerada fototóxica (JOVEL *et al.*, 1996).

O método de difusão em ágar não é apropriado para investigar a atividade de amostras não polares ou aquelas que não se difundem facilmente no ágar (RÍOS; RECIO, 2005). Entretanto, essa técnica é extremamente utilizada até para amostras apolares. Em geral, as diferenças nas propriedades químicas, como solubilidade, volatilidade e difusão podem afetar a potência de diferentes amostras (COS *et al.*, 2006).

Esse método, simples e não-oneroso, é geralmente usado para a triagem de vários extratos. O extrato que apresentar atividade terá sua Concentração Inibitória Mínima (CIM) calculada posteriormente pelos métodos de diluição. É importante enfatizar que o método de difusão em ágar é utilizado para determinação qualitativa da atividade antimicrobiana. Normalmente, essa técnica verifica quais extratos apresentam potencial atividade e quais organismos são suscetíveis.

1.6.2. Método de diluição

Este teste é uma avaliação quantitativa da atividade antimicrobiana e se baseia no valor da CIM, diferente dos métodos de difusão e bioautografia que são utilizados para uma avaliação qualitativa. A CIM é definida como a menor concentração de uma amostra capaz de inibir qualquer crescimento visível do microrganismo e, apesar disso, não é um valor absoluto (NCCLS, 2003).

O valor “real” da CIM é encontrado entre a menor concentração capaz de inibir qualquer crescimento visível (isto é, a leitura da CIM) e a próxima concentração mais baixa. Até mesmo em condições controladas, o teste de diluição pode fornecer diferentes pontos finais de leitura toda vez que é realizado. Esse valor é importante uma vez que mostra a concentração necessária do agente antimicrobiano no local da infecção e que seja capaz de inibir o microrganismo infectante (NCCLS, 2003).

O método de diluição pode ser executado em meio sólido (diluição em ágar) ou em meio líquido (diluição em caldo). A metodologia da diluição em ágar está bem estabelecida e consiste em adicionar a amostra no ágar a 45 - 50 °C, misturá-la e colocá-la em placas de Petri. Cada placa recebe o meio com a amostra em concentração seriada. A suspensão do microrganismo é então espalhada na superfície do ágar e, ao final do período de incubação, as placas são avaliadas pela presença ou ausência de crescimento. O valor da CIM é determinado pela placa com menor concentração capaz de inibir qualquer crescimento (KUETE *et al.*, 2006).

Existem algumas variações dessa técnica. Alguns autores preparam a diluição seriada da amostra, mas em vez de misturar com o ágar, adicionam cada concentração em um reservatório. A menor concentração que ainda forma zona de inibição é

considerada CIM. Outros estudos misturam a amostra no ágar e, em vez de espalhar o microrganismo na superfície, fazem cavidades para adicioná-los (PAIVA *et al.*, 2003).

Em relação ao método de diluição em caldo, ele pode ser executado pela microdiluição ou pela macrodiluição. Ambos são similares, exceto pelo volume do caldo. A macrodiluição é conduzida em tubos, enquanto a microdiluição é feita em placas de 96 poços. Alguns autores sugerem a microdiluição em vez da macro uma vez que esta última requer grandes quantidades do extrato ou das frações cromatográficas, o que é uma séria limitação no isolamento de produtos naturais visto que o rendimento, em geral, é baixo (ELOFF, 1998).

Resumidamente, a diluição seriada das amostras é distribuída em tubos ou placas com o meio apropriado. Inóculos ajustados são adicionados também. A CIM é definida como a menor concentração com nenhum crescimento visível após o período de incubação. Quando a amostra é um óleo essencial, alguns solventes podem ser adicionados no meio para aumentar a solubilidade do óleo: Tween 20 ou 80, dimetilsulfóxido (DMSO), 2,5 a 6% de etanol, polietilenoglicol (PEG) 4000 na concentração de 1% ou monolaurato de sorbitano (GACHKAR *et al.*, 2007; SAIDANA *et al.*, 2007)

Para visualizar o crescimento microbiano no método de diluição em caldo, a turbidez e indicadores redox são os mais frequentemente utilizados. A turbidez pode ser estimada visualmente ou mais acuradamente pela medida da densidade óptica. Entretanto, amostras não totalmente solúveis podem interferir com a leitura, sendo, então, necessários os controles (COS *et al.*, 2006).

Os sais de tetrazolium são freqüentemente usados para indicar atividade biológica. O composto incolor age como um acceptor de elétrons e é reduzido em produtos coloridos nos organismos biologicamente ativos (ELOFF, 1998). Atualmente, os indicadores redox MTT (3-(4,5 dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium) e resazurina são os mais utilizados para quantificar o crescimento microbiano que é denotado pela coloração azul para MTT e rosa para resazurina. A menor concentração na qual nenhuma cor azul ou rosa é observada é dada como CIM (ELOFF, 1998; RAHMAN & GRAY, 2005). A resazurina tem ainda a vantagem de não precipitar sob redução, permitindo leituras diretas (COS *et al.*, 2006).

O violeta de p-iodonitrotetrazolium (p-INT) também é usado como um indicador redox. Na presença desse corante, os poços com crescimento microbiano apresentam coloração vermelha (LANGFIELD *et al.*, 2004). Alguns estudos mostram que o p-INT fornece resultados melhores do que o MTT (ELOFF, 1998). O vermelho fenol é outra substância que pode agir como corante. Nesse caso, a CIM é definida quando a cor no poço ainda é vermelha (THOUVENEL *et al.*, 2003).

Além dos indicadores citados, ainda existe o diacetato de fluoresceína que mede a intensidade de fluorescência. A menor concentração da amostra na qual nenhuma intensidade de fluorescência é observada é registrada como CIM (LIU *et al.*, 2006). Entretanto, essa técnica requer um significativo investimento em equipamentos e a validação não é fácil. Além disso, alguns meios podem absorver fluorescência e os constituintes fluorescentes da amostra podem interferir (COS *et al.*, 2006).

O método de diluição também pode ser empregado para distinguir entre a ação bactericida ou fungicida e bacteriostática ou fungistática. A concentração bactericida ou

fungicida mínima (CBM ou CFM) é a menor concentração capaz de causar a morte dos microrganismos e pode ser determinada ao inocular em placas de Petri as concentrações que inibiram completamente o crescimento no método de diluição. Após incubar essas placas verifica-se se houve crescimento posterior (bacteriostático) ou não (bactericida) (YADEGARINIA *et al.*, 2006).

Quando as amostras são solubilizadas em DMSO, a determinação da CIM pelo método de diluição em caldo pode não ser factível visto que o DMSO tem atividade tóxica dependente da concentração e, assim, pode interferir na interpretação dos resultados. No entanto, o DMSO é o solvente mais utilizado, porém em concentrações mais baixas (AL-BAKRI & AFIFI, 2007).

Apesar do fato da maioria dos estudos utilizarem ensaios de difusão para determinar atividade antimicrobiana dos extratos e substâncias puras, alguns autores sugerem que essa técnica pode apresentar muitas limitações e consideram o método de diluição a melhor alternativa (ELOFF, 1998; LANGFIELD *et al.*, 2004). Portanto, o registro final da atividade do extrato ou da substância pura deve ser feito pelo método de diluição em caldo sempre que possível (COS *et al.*, 2006).

1.6.3. Método de bioautografia

Esse teste é uma variação da metodologia de difusão em ágar e localiza a atividade antimicrobiana em placas de Cromatografia em Camada Delgada (CCD) (COS *et al.*, 2006; PAIVA *et al.*, 2003). O método da bioautografia combina CCD com

um ensaio *in situ* facilitando a localização e o isolamento direcionado dos constituintes ativos de uma mistura. Portanto, é amplamente utilizada para ensaios biomonitorados (FENNELL *et al.*, 2004; SHAHVERDI *et al.*, 2007).

Esse método pode ser executado de diferentes formas. Na bioautografia direta, por exemplo, os microrganismos são borrifados na placa de CCD e crescem diretamente sobre ela. Na bioautografia de contato, as amostras são transferidas da placa de CCD para um ágar inoculado por meio do contato direto. Na bioautografia de revestimento, as placas de CCD são colocadas em placas de Petri e um ágar semeado é adicionado nas placas (COS *et al.*, 2006). Essa última técnica pode sofrer variação, primeiro o ágar é dispensado sobre a placa de CCD e, após solidificação, os microrganismos são inoculados na superfície.

Indicadores de cor podem ser utilizados para visualizar as bandas no cromatograma contendo substâncias ativas. Os sais de tetrazolium são os mais empregados. Zonas claras sem nenhum crescimento são visualizadas no cromatograma e causadas por sais de tetrazolium como o p-INT (ELOFF *et al.*, 2005), o cloridrato de 2,3,5-trifeniltetrazolium (TZC) (RABE *et al.*, 2002; SILVA *et al.*, 1996) e o MTT que indicam a inibição do crescimento.

A fim de remover resíduos de solvente que podem interferir com o crescimento microbiano, as placas de CCD eluídas são colocadas para secar sob uma corrente de ar de um dia para o outro (ELOFF *et al.*, 2005). Alguns autores ainda sugerem que as placas de CCD revestidas com ágar sejam incubadas de um dia para o outro antes da inoculação do microrganismo a fim de facilitar a difusão das substâncias, aumentando a zona de detecção.

O método da bioautografia auxilia na busca rápida por novos agentes antimicrobianos por meio do isolamento biomonitorado. Entretanto, alguns compostos que mostram baixa difusão no ágar podem não ser detectados. Em tais casos, recomendam-se os métodos de diluição em caldo (FENNELL *et al.*, 2004).

1.6.4. Recomendações específicas

A maioria dos testes antimicrobianos padronizados está associada a falhas (RÍOS; RECIO, 2005). Trabalhos de revisões citam uma variedade de fatores que pode causar variação nos testes feitos com extratos de plantas. Esses fatores incluem o tipo do teste escolhido, o meio de cultura, a temperatura de incubação, a cepa do microrganismo usado, a fonte da planta, a presença de proteínas, amido ou lipídeos que podem se complexar ou neutralizar o agente antimicrobiano, entre outros (FENNELL *et al.*, 2004).

O tamanho do inóculo pode afetar o resultado tanto em meio sólido quanto em meio líquido e diferentes resultados podem ser obtidos para a mesma concentração do agente antimicrobiano. Um inóculo muito pequeno pode criar falsos positivos enquanto um inóculo muito grande pode aumentar as chances de falso negativo (COS *et al.*, 2006). A padronização do tamanho do inóculo pode minimizar esse problema. O CLSI determina que a turbidez da suspensão seja comparada com a escala 0,5 de McFarland, resultando em uma suspensão contendo 1 a 2×10^8 unidades formadoras de colônia (UFC)/mL (NCCLS, 2003).

A consistência do ágar também pode afetar os resultados interferindo diretamente com a difusão do composto. Além da concentração de cátions divalentes, o pH e o volume do ágar podem alterar os resultados. Como meio sólido recomenda-se Mueller-Hinton para bactérias e Saboraud para fungos. Como meio líquido recomenda-se caldo Mueller-Hinton para bactérias e RPMI 1640 para fungos (NCCLS, 2003).

A polaridade de substâncias antimicrobianas é outro fator importante, especialmente quando se testa substâncias apolares pelo método de difusão em ágar. Esse método não é tão aceitável uma vez que a substância não poderia se difundir apropriadamente através do ágar polar e, como resultado, o diâmetro da zona de inibição pode ser restrito.

A escolha do microrganismo depende da proposta da pesquisa. Isolados clínicos podem ser utilizados desde que a susceptibilidade a uma substância de referência seja relatada. No entanto, as cepas da *American Type Culture Collection* (ATCC) são preferíveis uma vez que são bem caracterizadas e amplamente utilizadas.

A cor da amostra testada também pode interferir com o resultado, especialmente quando o teste de diluição é utilizado. Em adição à cor, que pode interferir com a absorvância, o extrato pode precipitar e fazer as medidas espectrofotométricas não factíveis. A inclusão do controle apropriado em cada replicata do teste é necessária.

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1. Geral

Avaliar o potencial antifúngico de extratos de plantas medicinais do bioma Cerrado sobre fungos patogênicos aos seres humanos.

2.2. Específicos

- Realizar uma triagem inicial para determinar os extratos vegetais potencialmente ativos sobre a levedura *Candida albicans* e o dermatófito *Trichophyton rubrum*.
- Selecionar os extratos mais promissores e avaliar a atividade desses extratos em menores concentrações até determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM).

MATERIAIS E MÉTODOS

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Equipamentos para os testes biológicos

- Autoclave
- Balança semi-analítica
- Balança analítica
- Banho-maria
- Bico de Bunsen
- Bomba a vácuo
- Cabine de fluxo laminar
- Deonizador de água Milli-Q
- Estufa microbiológica
- Freezer – 20 °C
- Microondas
- Pipetador automático
- Potenciômetro
- Régua milimetrada
- Vórtex

3.2. Vidrarias para os testes biológicos

- Béquer
- Erlenmeyer
- Pipeta graduada 10 mL
- Placas de Petri média
- Pipeta Pasteur
- Proveta
- Sistema para filtração a vácuo
- Tubos de rosca chato

3.3. Materiais não descartáveis para os testes biológicos

- Caneta Pilot
- Colheres de pesagem
- Espátula de aço inoxidável
- Estante para tubos
- Garfo de platina
- Microtubo tipo *ependorf*
- Ponteiras azuis
- Ponteiras amarelas

- Recipientes de pesagem
- Solução padrão de Mc Farland 0,5

3.4. Materiais descartáveis para os testes biológicos

- Fita adesiva
- Filme de PVC
- Gaze
- Luvas
- Máscaras
- Membrana de filtração 0, 22 µm
- Microplacas estéreis com 96 poços, fundo em U, com tampa
- *Swabs*

3.5. Reagentes para os testes biológicos

- Ágar batata, Potato Dextrose Ágar HIMEDIA®
- Água deionizada
- Água destilada
- Álcool 70 °GL
- Anfotericina B, Sigma Chemical Co.
- Caldo BHI, Brain Heart Infusion Broth DIFCO®
- DMSO, Dimetilsulfóxido VETEC®
- Itraconazol, Sigma Chemical Co.
- Cloreto de sódio VETEC®
- MOPS, 3-[N-morpholino] propanesulfonic acid Sigma-Aldrich®
- RPMI 1640 com L-glutamina e sem bicarbonato de sódio GIBCO®

3.6. Identificação e Coleta

As plantas foram coletadas no bioma Cerrado, no entorno de Brasília/ Distrito Federal (Tabelas 10 e 11), juntamente com o botânico Prof. Dr. José Elias de Paula (Departamento de Botânica/UnB) responsável pela identificação das espécies e confecção das exsicatas. Estas foram depositadas no Herbário da Universidade de Brasília (UB) devidamente identificadas.

Tabela 10 – Espécies vegetais do Cerrado testadas em fungos patogênicos.

Família	Droga vegetal^a	Número de
<i>Nome científico</i>	(Solvente) ^b	Herbário
Anacardiaceae		
<i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi	F (h, d, sh), C (sh), CR (h), CC (h, d, sh), MR (sh), MC (d)	(UB) 3753
Annonaceae		
<i>Annona crassiflora</i> Mart.	F (h, e)	(UB) 3700
Apocynaceae		
<i>Himatanthus obovatus</i> (M. Arg.) Woodson	F (h, e)	(UB) 3678
Bignoniaceae		
<i>Arrabidaea florida</i> DC.	F (h, e)	(UB) 3714
<i>Cybistax antisiphilitica</i> (Mart.) Mart.	F (h, e)	(UB) 3696
<i>Tabebuia caraiba</i> Bureau	CC (h, e), MC (h, d, e)	(UB) 3701
Clusiaceae		
<i>Calophyllum brasiliense</i> Camb.	F (sh), MC (sh), R (sh),	(UB) 3754

	CC (h, sh), CR (h, d, sh)	
<i>Kielmeyera coriacea</i> Mart.	F (sh), CC (d, sh), CR (h, d), MC (h, d), MR (d), Fr (h, sh)	(UB) 3745
Flacourtiaceae		
<i>Casearia sylvestris</i> var. <i>lingua</i> (Camb.) Eichl	F (h, e)	(UB) 3693
Malpighiaceae		
<i>Byrsonima crassa</i> Nied	CC (h, d, sh), CR (h)	(UB) 3743
Mimosaceae		
<i>Stryphnodendron adstringens</i> Coville	CC (d, sh), CR (h), MC (sh), F (h, d, sh)	(UB) 3740
Sapindaceae		
<i>Serjania lethalis</i> St. Hil.	F (h, e)	(UB) 3716
Sapotaceae		
<i>Pouteria gardneri</i> (Mart. & Miq.) Baehni	Rz (h)	(UB) 3672
<i>Pouteria ramiflora</i> (Mart.) Radek.	MC (h)	(UB) 3671
<i>Pouteria torta</i> (Mart.) Radek.	F (d), MC (e), MR (h)	(UB) 3674
Zingiberaceae		
<i>Renealmia alpinia</i> (Rottb.) Maas.	Rz (h, d, sh), F (h, e)	(UB) 3719

^a Droga vegetal - F: Folha; C: Caule (Madeira + Casca); CR: Casca da raiz; CC: Casca do caule; MR: Madeira da raiz; MC: Madeira do caule; R: Raiz (Madeira + Casca); Fr: Fruto; Rz: Rizoma.

^b Solvente - h: hexano; d: diclorometano; e: etanol; sh: solução hidroalcoólica 90%.

Tabela 11 - Nome vulgar e uso tradicional das plantas estudadas.

Espécie	Nome vulgar	Parte utilizada* : uso tradicional
<i>Annona crassiflora</i>	Araticum, pinha-do-cerrado	Fr: iguarias regionais CC: bóia de redes de pescar S: inseticida, diarreia, menstruação, afecções parasitárias do couro cabeludo (ALMEIDA <i>et al.</i> , 1998; SILVA JUNIOR, 2005)
<i>Byrsonima crassa</i>	Murici-cascudo, murici-vermelho	C e F: antiemético, diurético, febrífugo, para tratar úlcera, gastrite e diarreia (SILVA <i>et al.</i> , 2001a)
<i>Calophyllum brasiliense</i>	Landi, bálsamo-jacareúba	Fr: alimentos MC: produção de álcool, coque, carvão, papel CC: anti-reumática e contra úlceras (ALMEIDA <i>et al.</i> , 1998).
<i>Casearia sylvestris</i> var. <i>lingua</i>	Guaçatonga, língua de tamandú	Re: adornos de algumas tribos indígenas MC: construção civil, carpintaria e marcenaria CC: febres inflamatórias, depurativo do sangue e cicatrizante. R: bronquite asmática, dores no peito e no corpo F: depurativo, anti-séptico, febrífugo, cicatrizante, anti-sifilítico, contra cólicas menstruais, mordida de cobras, aftas, feridas e

	úlcera (ALMEIDA <i>et al.</i> , 1998; FENNER <i>et al.</i> , 2006; SILVA JUNIOR, 2005)
<i>Cybistax antisiphilitica</i>	Ipê-verde CC e F: infecções urinárias, blenorragia, sífilis, dartros e úlceras (FENNER <i>et al.</i> , 2006; SILVA JUNIOR, 2005)
<i>Himatanthus obovatus</i>	Fr: alimentos CC: febre, cólicas menstruais, hipertensão e luxações L: vermífugo, úlceras estomacais e estimular lactação F: manchas na pele, coceiras, espinhas, depurativo e estômago (SILVA JUNIOR, 2005).
<i>Kielmeyera coriacea</i>	Pau-santo, pau-de-josé Fr: artesanato regional F: emolientes e tumores Re: tônico, dores de dente e infecções (ALMEIDA <i>et al.</i> , 1998; SILVA JUNIOR, 2005).
<i>Pouteria ramiflora</i>	Abiu-do-cerrado, pitomba-de-leite Fr: alimentos (SILVA JUNIOR, 2005)
<i>Pouteria torta</i>	Grão-de-galo Fr: alimentos (SILVA JUNIOR, 2005)
<i>Renealmia alpinia</i>	Pacoseroça R: feridas e úlceras malignas (FENNER <i>et al.</i> , 2006) L: febrífugo (ZHOU <i>et al.</i> , 1997)

Schinus terebinthifolius Aroeira, aroeira-da-praia, aroeira-pimenta

CC: Desordens urinárias, bronquite e outros problemas da via aérea superior, hemorragias e desordens menstruais com sangramento excessivo, inflamação

F e Fr: feridas e úlceras, anti-séptica contra úlceras (FENNER *et al.*, 2006; LORENZI; MATOS, 2002)

Serjania lethalis Timbó, Timbó do cerrado

L: piscicida, usada topicamente para tratamento da dor (LIMA *et al.*, 2006)

Stryphnodendron adstringens Barbatimão

C: hemorragias, feridas e diarreias

CC: antiinflamatório, adstringente, feridas e infecções vaginais (ISHIDA *et al.*, 2006; YOKOSUKA *et al.*, 2008)

Tabebuia caraiba Ipé-amarelo-do-cerrado, paratudo, pau-d'arco

CC: gripes, resfriados e inflamação

F: purgativas e antisifilíticas (LORENZI; MATOS, 2002)

*Parte da planta utilizada: Fr (fruto), CC (casca do caule), S (semente), C (caule), F (folha), MC (madeira do caule), Re (resina), R (raiz), L (látex).

3.7. Obtenção dos extratos brutos

As diferentes espécies coletadas tiveram seus órgãos vegetais separados e colocados para dessecar e estabilizar à temperatura ambiente, em local ventilado e protegido da luz solar. Em seguida, foram pulverizados em moinho de facas e submetidos a processo de extração por maceração por contatos múltiplos (4 x 1 semana). Os solventes utilizados para a maceração foram hexano, diclorometano e etanol ou solução hidroalcoólica 90% (4 x 2L). As soluções extrativas foram recuperadas por filtração e concentradas em rota-evaporador sob pressão reduzida a 40 °C. O solvente remanescente foi dessecado com auxílio de um soprador. Ao final desse processo, os extratos brutos foram mantidos em freezer à - 20 °C até serem utilizados (Figura 29).



(a)



(b)



(c)



(d)



(e)



(f)



(g)



Figura 29 - Seqüência de produção dos extratos (a) Identificação e coleta, (b) Separação dos órgãos, dessecação e estabilização, (c) Pulverização, (d) Maceração, (e) Filtração, (f) Concentração, (g) Dessecação, (h) Extrato bruto.

3.8. Testes de susceptibilidade à ação antimicrobiana dos extratos vegetais

3.8.1. Teste de difusão em ágar

3.8.1.1. Microrganismos e período de crescimento para o teste

Para o teste de difusão em ágar foram utilizados uma cepa de *Candida albicans* da *American Type Culture Collection* (ATCC 14053) e um isolado clínico de *Trichophyton rubrum* (CEMM 01-4-021) fornecidos pelo CEMM (Centro Especializado em Micologia Médica) da Universidade Federal do Ceará. Os microrganismos foram mantidos em Ágar Batata Dextrose inclinado à temperatura ambiente.

No período do teste foi realizada uma subcultura (repique) dos organismos para novo meio até alcançarem o período ideal para a realização dos testes (Tabela 12), ou seja, para obter estruturas jovens e em fase de crescimento consistindo de micélios e conídeos. Estes tubos foram mantidos à temperatura ambiente e identificados com data, nome do meio de cultura, nome do microrganismo e número da cepa.

Tabela 12 - Tempo aproximado de crescimento dos fungos para preparo do inóculo no teste de difusão em ágar.

Cepas	Tempo estimado de crescimento
<i>Candida albicans</i> ATCC 14053	48 horas
<i>Trichophyton rubrum</i> CEMM 01-4-021	10 dias

3.8.1.2. Diluição dos extratos

Foram pesados 40 mg de cada extrato em microtubos do tipo *eppendorfs* estéreis, diluídos em 2 mL de DMSO estéril para alcançar a concentração teste de 20 mg/mL na triagem inicial. Os extratos diluídos foram homogeneizados em vórtex até dissolução completa. Os extratos que não se dissolveram por agitação foram mantidos por alguns minutos em banho-maria (temperatura de 40 °C) e colocados novamente no vórtex. Depois de selecionados os extratos mais promissores, foram testadas as concentração de 20, 10 e 5 mg/mL.

3.8.1.3. Preparo dos controles

O controle positivo empregado no teste foi o antifúngico Itraconazol utilizando uma solução estoque preparada a partir do fármaco diluído em DMSO, filtrado com filtro Millipore de 0,22 µm e mantida em freezer a - 20 °C (concentração de 20 µg/mL). No teste foi utilizada uma concentração de 10 µg/mL dessa solução. Como controle negativo foi utilizado DMSO 100% e estéril.

3.8.1.4. Preparo do meio de cultura e das cavidades

O meio de cultura utilizado no teste foi o agar batata dextrose preparado a partir da base desidratada disponível comercialmente (11,7 g do meio para 300 mL de água destilada). O meio recém-preparado foi autoclavado (121 °C por 15 minutos) junto com o restante do material usado no teste. Após autoclavagem, o material foi deixado secando em estufa a 40 °C.

Após secagem das placas de Petri, o meio foi aquecido em microondas (potência média de 2 em 2 minutos), esperou-se o meio resfriar até 45-50 °C e, sob condições de assepsia, foi despejado 20 mL em placas de 100 x 10 mm.

Após solidificação do meio, foram feitas cavidades de 6 mm de diâmetro no ágar com auxílio de bico de *Bunsen* e uma pipeta Pasteur limpa em álcool e flambada na chama. As placas foram revestidas em filme de PVC e colocadas na geladeira até a realização do teste (Figura 30).



Figura 30 - Cavidades feitas no Ágar Batata-Dextrose.

3.8.1.5. Preparo do inóculo

Solução salina (0,9 g de NaCl para 100 mL de água destilada) esterilizada em autoclave foi utilizada para preparar os inóculos. No caso da levedura, o inóculo foi feito raspando-se a superfície da massa fúngica com uma alça de platina. Uma porção dessa massa celular foi transferida para um tubo com solução salina até a turbidez coincidir com a da solução padrão de Mc Farland 0,5.

No caso do fungo filamentoso, a solução salina foi vertida para o tubo contendo o meio inoculado e uma suspensão, cuja turbidez coincide com a solução

padrão de McFarland 0,5, foi preparada mexendo delicadamente o micélio com uma alça de platina (Figura 31).



Figura 31 - Preparo do inóculo para fungos filamentosos.

3.8.1.6. Teste

Cada placa foi identificada com o nome do microrganismo e das amostras correspondentes às cavidades.

Mergulhou-se um *swab* estéril no inóculo recém preparado que foi esfregado cuidadosamente em toda a superfície da placa com ágar. Esse procedimento foi repetido mais duas vezes, girando a placa a 60 ° cada vez, a fim de assegurar uniformidade (Figura 32).



Figura 32 - Inoculação do microrganismo na placa de Petri.

Com auxílio de um pipetador automático, adicionou-se 50 μL da amostra diluída em uma cavidade (Figura 33). Ao final, as placas foram revestidas individualmente em filme de PVC e colocadas em superfície plana sem movimentação e deixadas à temperatura ambiente.



Figura 33 - Adição dos extratos na cavidade.

3.8.1.7. Leitura das placas e interpretação dos resultados

A leitura foi feita verificando a presença de uma zona de inibição de crescimento. A leitura ocorreu após 48 horas para a levedura e após cinco dias, para o fungo filamentosos. Os halos foram medidos em milímetros usando uma régua milimetrada. Os halos de inibição correspondem à área sem crescimento detectável a olho nu. No caso de crescimento discreto de colônias dentro do halo de inibição evidente, o teste foi repetido e para as pequenas colônias que continuaram crescendo, apenas o halo livre de colônias foi medido.

O teste de difusão em ágar foi feito pelo menos duas vezes em duplicata e os resultados foram apresentados como a média da medida dos halos.

3.8.2. Teste de microdiluição

Adotou-se a metodologia utilizada pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) para teste de diluição em caldo para fungos filamentosos (CLSI, M38-A) e para leveduras (CLSI, M27-A2).

3.8.2.1. Microrganismos e período de crescimento para o teste

Para o teste de microdiluição foi utilizada uma cepa de *Candida parapsilosis* da *American Type Culture Collection* (ATCC 22019) e oito isolados clínicos de *Trichophyton rubrum* (CEMM 01-1-010, 02-6-066, 01-1-085, 01-5-020, 01-1-016, 02-6-032, 01-5-030, 01-2-101) fornecidos pelo CEMM (Centro Especializado em Micologia Médica) da Universidade Federal do Ceará. Os microrganismos foram mantidos em agar batata dextrose inclinado à temperatura ambiente.

No período do teste foram realizadas subculturas (repique), mantidas em temperatura ambiente, dos organismos para novo meio até alcançarem o período

ideal para a realização dos testes (Tabela 13), ou seja, para obter estruturas jovens e em fase de crescimento consistindo de micélios e conídeos. Estes tubos foram mantidos à temperatura ambiente e identificados com o nome do responsável, data e nome do meio de cultura, nome do microrganismo e número da cepa.

Tabela 13 - Tempo aproximado de crescimento dos fungos para preparo do inóculo no teste de microdiluição

Cepas	Tempo estimado de crescimento
<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 22019	48 horas
<i>Trichophyton rubrum</i>	7 dias

3.8.2.2. Diluição dos extratos

Os extratos foram diluídos em DMSO e homogeneizados em vórtex até dissolução completa. Os extratos que não se dissolveram por agitação foram mantidos por alguns minutos em banho-maria (temperatura de 40 °C) e colocados novamente no vórtex. Em seguida, esses extratos foram novamente diluídos em meio RPMI até alcançarem uma concentração de 4000 µg/mL e DMSO < 5%.

3.8.2.3. Preparo dos controles

O controle positivo empregado no teste foi o antifúngico Itraconazol utilizando uma solução estoque preparada a partir de Itraconazol dissolvido em DMSO, filtrado em Millipore de 0,22 µm e mantida em freezer – 20 °C (concentração de 1600 µg/mL). A solução estoque foi, então, diluída em meio RPMI para alcançar uma concentração de 64 µg/mL.

Foi utilizada também a anfotericina B como controle positivo de *Candida parapsilosis*. Utilizou-se uma solução estoque preparada a partir de Anfotericina B diluída em água, filtrada com filtro Millipore de 0,22 µm e mantida em freezer – 20 °C (concentração de 1600 µg/mL). A solução estoque foi, então, diluída em meio RPMI para alcançar uma concentração de 64 µg/mL.. Como controle negativo foi utilizado DMSO diluído em RPMI em concentração menor que 5%.

3.8.2.4. Preparo do meio de cultura

O meio de cultura utilizado no teste foi o meio RPMI 1640, preparado a partir da base desidratada disponível comercialmente (4,16 g para 400 mL de água deionizada)



Figura 34 - Filtração do meio RPMI 1640 tamponado com MOPS.

Com auxílio de um potenciômetro previamente calibrado, o meio foi tamponado com ácido 3-[N-morfolino]-propoanossulfônico (MOPS) 0,165 M (6,9 g em 200 mL de água deionizada) até alcançar pH 7,0. O meio de cultura ajustado foi

esterilizado em cabine de fluxo laminar com auxílio de um sistema de filtração a vácuo com membrana em ester de celulose e 0,22 µm de poro. O meio foi mantido a 4 °C até o momento do uso (Figura 34).

Para controle de esterilidade do meio RPMI, foram retiradas duas alíquotas de aproximadamente 100 µL do meio recém-preparado, transferidas para tubo de ensaio contendo caldo BHI. Os tubos foram colocados em estufa a 35 °C por 48h. Após esse período, caso não se verificasse crescimento de microrganismo, o meio era liberado para uso.

3.8.2.5. Preparo do inóculo

Solução salina (0,9 mg de NaCl para 100 mL de água destilada) esterilizada em autoclave foi utilizada para preparar os inóculos. No caso da levedura, o inóculo foi feito raspando-se a superfície da massa fúngica com uma alça de platina. Uma porção dessa massa celular foi transferida para tubo com solução salina até a turbidez coincidir com a da solução padrão de McFarland 0,5. Em seguida esse inóculo foi diluído em meio RPMI em uma diluição 1:100, seguida de outra diluição de 1:20, resultando em uma concentração de $5,0 \times 10^2$ a $2,5 \times 10^3$ células/mL..

No caso dos fungos filamentosos, a solução salina foi vertida para o tubo contendo o meio inoculado, a superfície fúngica foi raspada até a turbidez coincidir com a solução padrão de McFarland 0,5 e o inóculo foi transferido para o tubo original. Esse inóculo é diluído em meio RPMI em uma diluição de 1:5, resultando em uma concentração de $1,0 \times 10^6$ a $5,0 \times 10^6$ células/mL.

3.8.2.6. Teste

Em cabine de fluxo laminar, foram distribuídos 100 μ L do meio RPMI em todos os poços de uma microplaca de 96-poços e fundo redondo. Em seguida, foram distribuídos 100 μ L das amostras (extratos e controle positivo) apenas nos primeiros poços da placa. Foram feitas diluições seriadas com auxílio de uma pipeta multicanal em escala 1:2 até o antepenúltimo poço de cada coluna. Os 100 μ L residuais foram descartados (Figura 35).

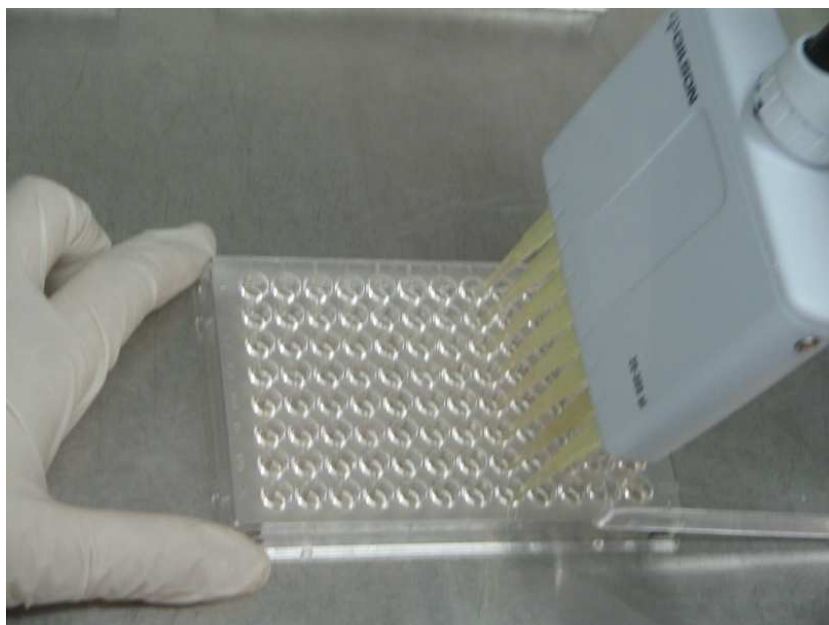


Figura 35 - Diluição seriada das amostras.

Por fim, 100 μ L da suspensão fúngica foram distribuídos em todos os poços, com exceção do último poço que continha apenas meio de cultura e foi destinado para o controle de esterilidade do meio RPMI. O antepenúltimo poço apenas com meio e microrganismo foi destinado para controle de crescimento fúngico. As placas foram tampadas, seladas com filme PVC e incubadas em estufa a 37 °C.

3.8.2.7. Leitura das placas e interpretação dos resultados

A leitura foi feita verificando a Concentração Inibitória Mínima (CIM) visualmente, ou seja, verificando a olho nu a menor concentração das amostras capaz de inibir o crescimento do microrganismo.

Essa leitura é feita após 48h para as leveduras e após 5 dias para os fungos filamentosos. No caso dos controles positivos azólicos, verificou-se a concentração do fármaco capaz de inibir 80% do crescimento fúngico. Já para a anfotericina B e para os extratos, verificou-se a menor concentração capaz de inibir 100% do crescimento fúngico. Os testes foram realizados pelo menos duas vezes em duplicata. Calculou-se, então, a média geométrica dos valores de CIM e determinou-se a CIM modal.

3.9. Análise estatística

Para comparar os diâmetros dos halos de cada concentração (20, 10 e 5 mg/mL) do extrato e ainda para comparar os diâmetros do halo formado por todos os extratos considerando cada concentração individualmente, foi utilizado ANOVA não paramétrica (Teste H de *Kruskal-Wallis*), pois as pressuposições da ANOVA não foram assumidas (Teste de Normalidade de *Shapiro-wilk* com $p < 0,05$). O *post hoc* teste escolhido foi o teste de *Dunn*. As análises foram feitas no programa SPSS versão 14.0.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 66 extratos obtidos a partir de 16 espécies, pertencentes a 11 famílias diferentes, 4 apresentaram atividade para *C. albicans* e 17 para *T. rubrum* na concentração de 20 mg/mL no teste de difusão em agar. O controle negativo, DMSO 100%, não interferiu no teste visto que não formou nenhum halo quando testado puro. E o controle positivo Itraconazol, na concentração de 10 µg/mL, formou halos de 17 e de 25 mm para *C. albicans* e *T. rubrum* respectivamente. Os extratos testados de oito plantas não apresentaram qualquer atividade sobre os dois fungos. São elas: *Annona crassiflora*, *Arrabidaea florida*, *Cybistax antisiphilitica*, *Himatanthus obovatus*, *Pouteria gardneri*, *Pouteria ramiflora*, *Pouteria torta* e *Serjania lethalis* (Tabela 14).

Dos quatro extratos ativos sobre *C. albicans*, apenas o extrato etanólico da casca do caule de *Tabebuia caraiba* não foi ativo também para *T. rubrum*. Os extratos hidroalcoólico da raiz de *Calophyllum brasiliense*, diclorometânico da madeira da raiz de *Kielmeyera coriacea* e hexânico da folha de *Renealmia alpinia* foram os únicos que apresentaram alguma atividade para ambos os fungos. Além disso, é possível perceber que os halos formados para *C. albicans* foram pequenos e bem menores do que aqueles formados para *T. rubrum*.

Alguns estudos já mostraram resultados semelhantes, pois extratos que apresentam atividade para dermatófitos mostram-se inativos ou com menor atividade para espécies de *Candida*. Inclusive, sugere-se que compostos antidermatófitos tenham mecanismo de ação diferente dos compostos anticandida (ALI-SHTAYEH; GHDEIB, 1999; FONTENELLE *et al.*, 2007).

Tabela 14 - Resultados do teste de difusão em cavidade para os 66 extratos.

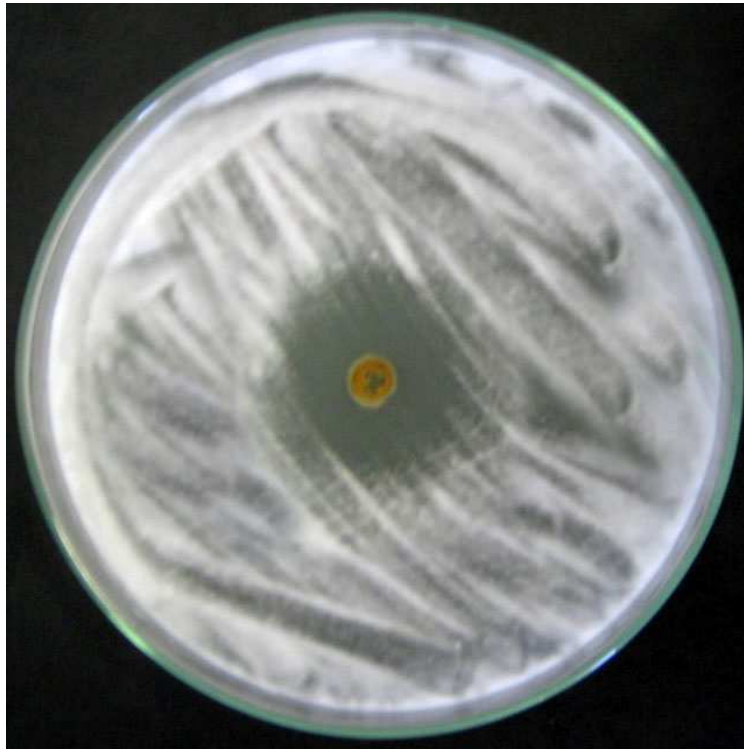
Extratos (20 mg/mL)	Diâmetro dos halos de inibição (mm)	
	<i>Candida albicans</i>	<i>Trichophyton rubrum</i>
<i>Annona crassiflora</i>		
F ^a , h ^b	- ^d	-
F, e	-	-
<i>Arrabidaea florida</i>		
F, h	-	-
F, e	-	-
<i>Byrsonima crassa</i>		
CC, sh	-	18
CC, d	-	-
CC, h	-	-
CR, h	-	-
<i>Calophyllum brasiliense</i>		
F, sh	-	-
CC, h	-	-
CC, sh	-	-
CR, h	-	-
CR, d	-	-
CR, sh	-	10
MC, sh	-	11
R, sh	10	17
<i>Casearia sylvestris</i> var. <i>lingua</i>		
F, h	-	14
F, e	-	-
<i>Cybistax antisiphilitica</i>		
F, h	-	-
F, e	-	-
<i>Himatanthus obovatus</i>		
F, h	-	-
F, e	-	-

<i>Kielmeyera coriacea</i>		
F, sh	-	-
Fr, h	-	-
Fr, sh	-	-
CC, d	-	-
CC, sh	-	16
CR, h	-	-
CR, d	-	-
MC, h	-	-
MC, d	-	23
MR, d	10	32
<i>Pouteria gardneri</i>		
Rz, h	-	-
<i>Pouteria ramiflora</i>		
MC, h	-	-
<i>Pouteria torta</i>		
F, d	-	-
MC, e	-	-
MR, h	-	-
<i>Renealmia alpinia</i>		
F, h	9	IT ^c
F, e	-	-
Rz, h	-	17
Rz, d	-	16
Rz, sh	-	11
<i>Schinus terebinthifolius</i>		
F, h	-	-
F, d	-	-
F, sh	-	-
C, sh	-	-
CR, h	-	-
CC, h	-	-
CC, d	-	-

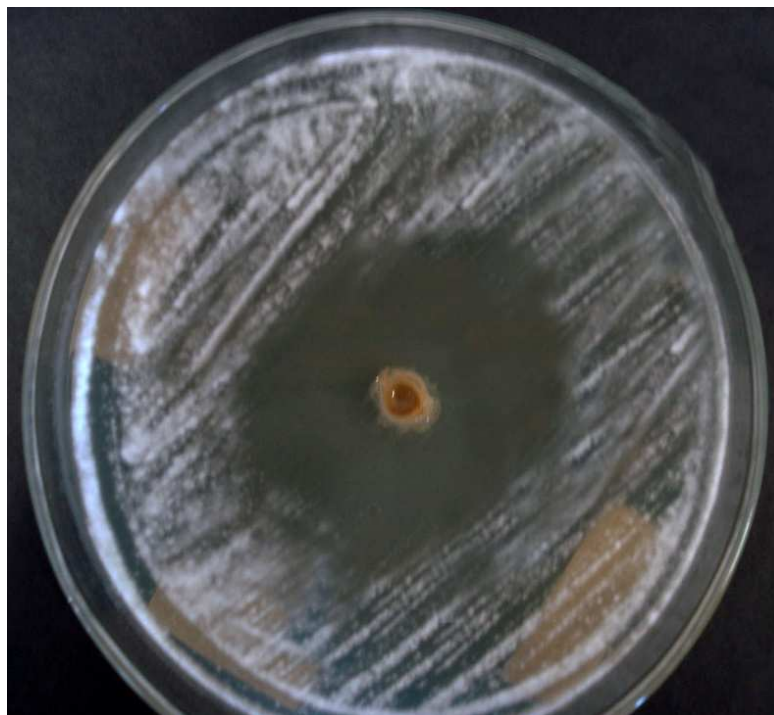
CC, sh	-	10
MC, d	-	-
MR, sh	-	-
<i>Serjania lethalis</i>		
F, h	-	-
F, e	-	-
<i>Stryphnodendron adstringens</i>		
F, h	-	30
F, d	-	-
F, sh	-	-
CC, d	-	-
CC, sh	-	8
CR, h	-	-
MC, sh	-	-
<i>Tabebuia caraiba</i>		
CC, E	8	-
CC, h	-	-
MC, h	-	10
MC, D	-	33
MC, e	-	-
Itraconazol	17	25
DMSO	-	-

^a F: Folha; CC: Casca do caule; CR: Casca da raiz; MC: Madeira do caule; R: Raiz (Madeira + Casca); Fr: Fruto; MR: Madeira da raiz; Rz: rizoma; C: Caule (Madeira + Casca). ^b h: hexano; d: diclorometano e: etanol; sh: solução hidroalcoólica 90%. ^c IT: Inibição total. ^d -: não inibiu o crescimento fúngico (halo de 0 mm).

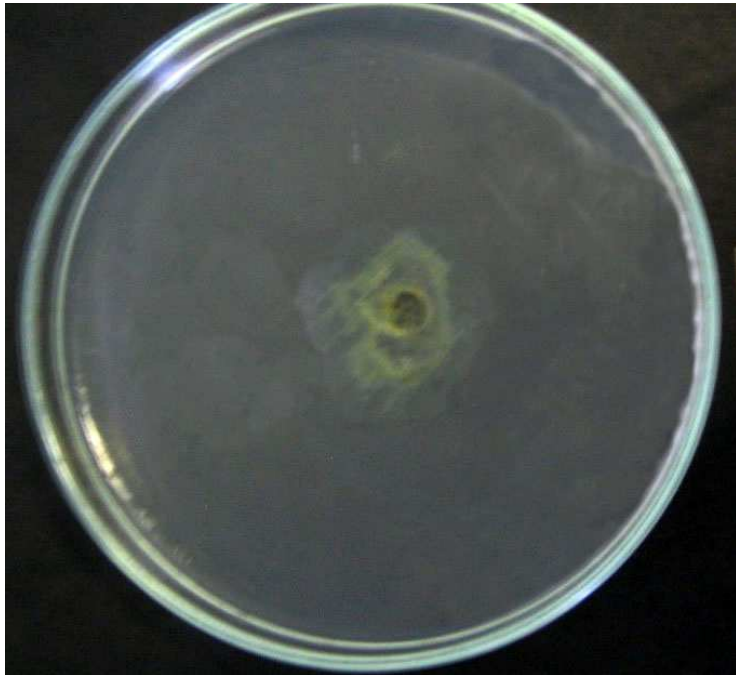
Dos 17 extratos ativos sobre *T. rubrum*, 5 apresentaram excelente atividade, mostrando halos próximos ou até maiores aos do controle positivo. Inclusive, o extrato hexânico das folhas de *Renealmia alpinia* foi capaz de inibir o crescimento do fungo na placa toda (Figura 36). Sendo assim, esses 5 extratos foram escolhidos para dar prosseguimento ao estudo com o *T. rubrum*.



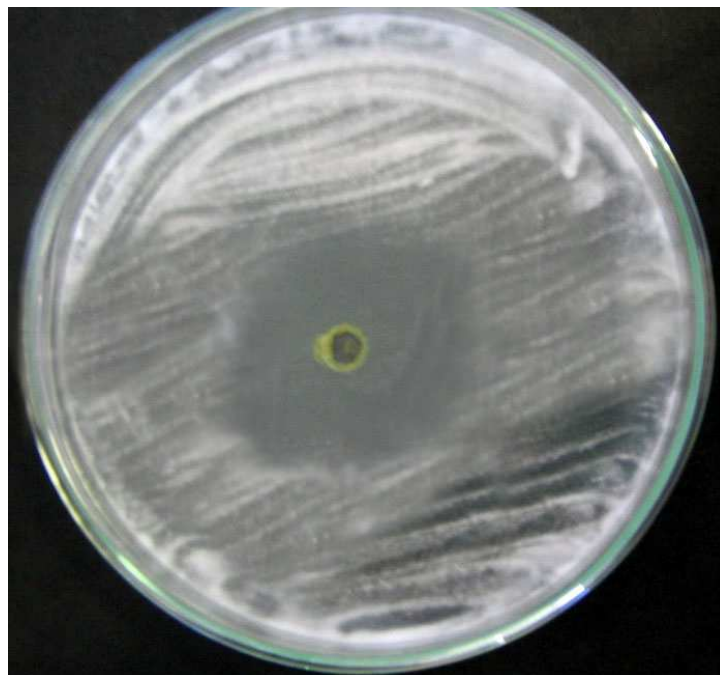
(a)



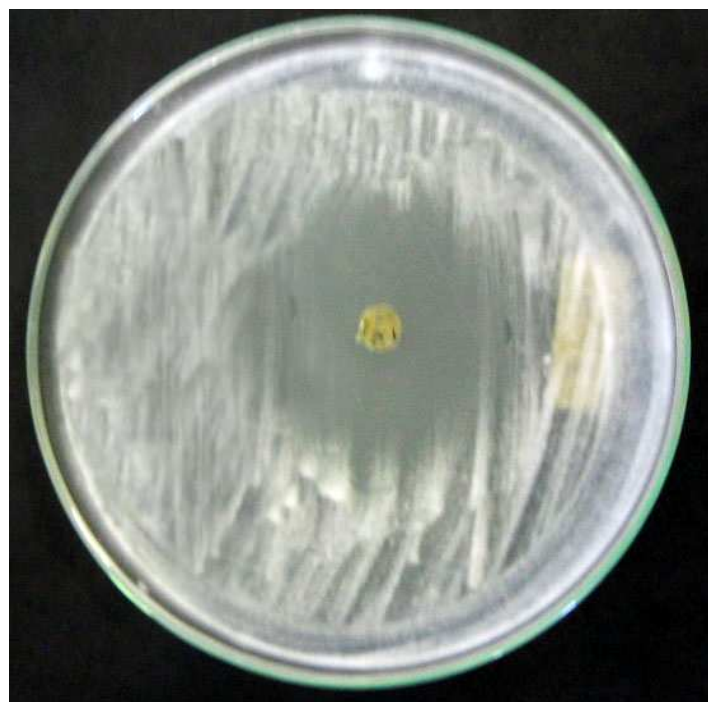
(b)



(c)



(d)



(e)

Figura 36 - Zonas de inibição de crescimento sobre *T. rubrum* (CEMM 01-4-021) formadas pelos extratos a 20 mg/mL (a) *Kielmeyera coriacea* MC, d; (b) *Kielmeyera coriacea* MR, d; (c) *Renealmia alpinia* F, h; (d) *Stryphnodendron adstringens* F, h; (e) *Tabebuia caraiba* MC, d (MC: madeira do caule, MR: madeira da raiz, F: folha, d: diclorometano, h: hexano).

Primeiramente, foi feita a diluição seriada em ágar a partir das concentrações de 20, 10 e 5 mg/mL dos extratos diclorometânicos da madeira do caule e da madeira da raiz de *Kielmeyera coriacea*, hexânico da folha de *Renealmia alpinia*, hexânico da folha de *Stryphnodendron adstringens* e diclorometânico da madeira do caule de *Tabebuia caraiba*. Em todas as concentrações avaliadas, houve a formação da zona de inibição de crescimento para todos os extratos testados, mostrando uma relação diretamente proporcional entre concentração e tamanho do halo, ou seja, quanto maior a concentração, maior o diâmetro do halo (Figura 37).

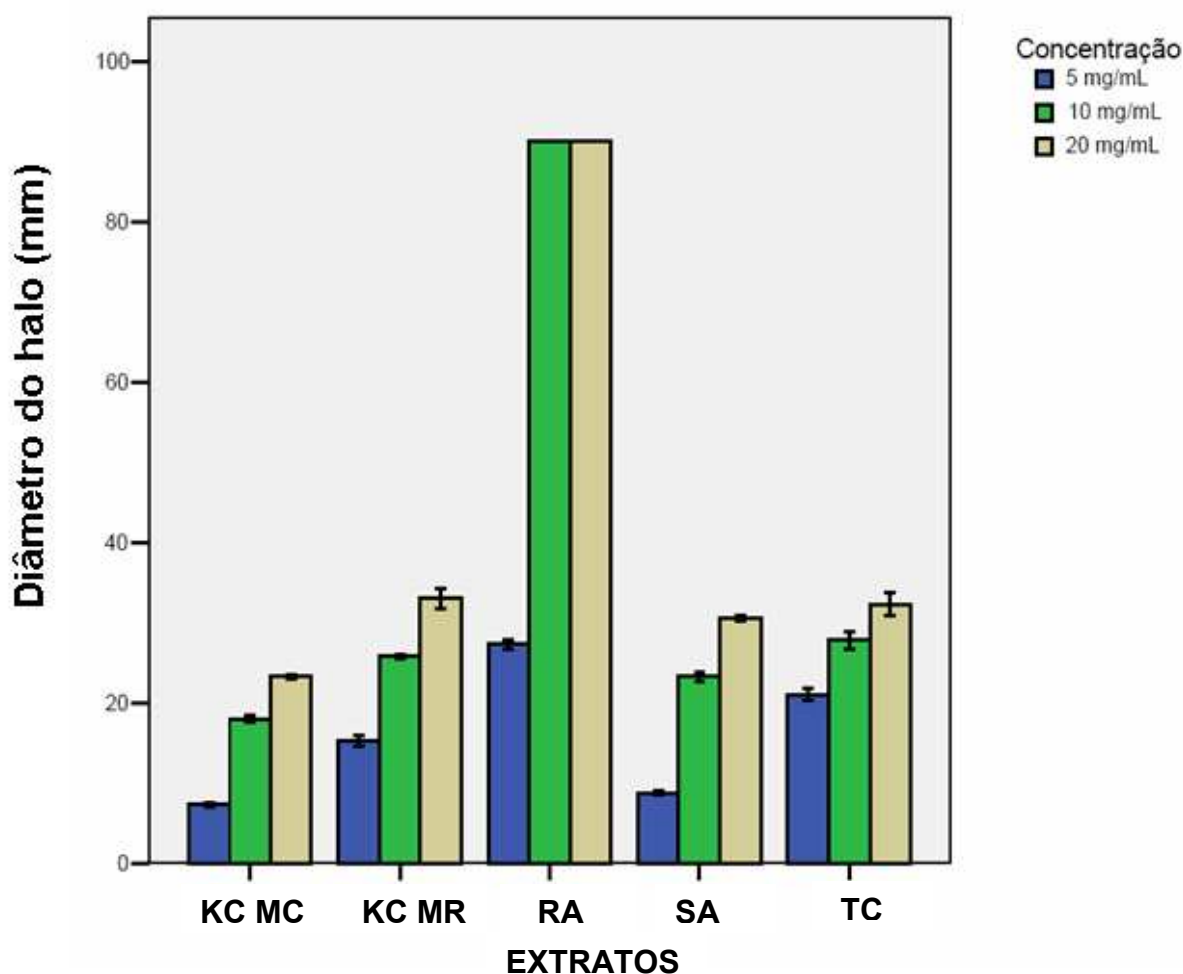


Figura 37 - Diâmetros dos halos formados pelos diferentes extratos nas concentrações de 5, 10 e 20 mg/mL sobre *T. rubrum* (CEMM 01-4-021) (KC MC: *Kielmeyera coriacea* madeira do caule diclorometano. KC MR: *Kielmeyera coriacea* madeira da raiz diclorometano. RA: *Renealmia alpinia* folha hexano. SA: *Stryphnodendron adstringens* folha hexano. TC: *Tabebuia caraiba* madeira do caule diclorometano).

Considerando cada extrato individualmente, as análises estatísticas (Tabela 15) mostram que, exceto as concentrações de 20 e 10 mg/mL de *R. alpinia* que foram iguais, inibindo completamente o crescimento fúngico, todas as concentrações foram estatisticamente diferentes entre si.

Em cada concentração testada, o extrato de *Renealmia alpinia* apresentou atividade significativamente superior aos demais extratos (Tabela 15). Nas concentrações de 20 e 10 mg/mL, os extratos de *T. caraiba*, *S. adstringens* e madeira da raiz de *K. coriacea* apresentaram o mesmo potencial de ação antifúngico, formando halos com diâmetros estatisticamente iguais. Apenas na concentração de 5 mg/mL que os halos formados por esses três extratos foram estatisticamente diferentes. Com o extrato de *T. caraiba* apresentando o maior halo e o de *S. adstringens* o menor (Tabela 15).

Tabela 15 - Diluição seriada de extratos ativos sobre *Trichophyton rubrum* (CEMM 01-4-021) pelo método de difusão em cavidade.

Extratos	Halos de inibição (mm) ± desvio padrão		
	Concentração dos extratos (mg/mL)		
	5	10	20
<i>Kielmeyera coriacea</i>	7,25 ± 0,5 ^a _A	18 ± 0,82 ^b _A	23,25 ± 0,5 ^c _A
MC ¹ , d ²			
<i>Kielmeyera coriacea</i>	15,25 ± 1,26 ^a _B	25,75 ± 0,5 ^b _B	33 ± 2,45 ^c _B
MR, d			
<i>Renealmia alpinia</i>	27,25 ± 1,26 ^a _C	IT ³ _b _C	IT ^b _C
F, h			
<i>Stryphnodendron adstringens</i>	8,75 ± 0,5 ^a _A	23,25 ± 1,26 ^b _B	30,5 ± 0,58 ^c _B
F, h			
<i>Tabebuia caraiba</i>	21 ± 1,41 ^a _D	27,75 ± 2,06 ^b _B	32,25 ± 2,87 ^c _B
MC, d			

¹ MC: madeira do caule, MR: madeira da raiz, F: folha. ² d: diclorometano, h: hexano. ³ IT: inibição total. Letras maiúsculas representam a diferença estatística entre os diferentes extratos em cada concentração testada (p < 0,05). Letras minúsculas representam diferença estatística de um mesmo extrato nas diferentes concentrações testadas (p < 0,05).

Em seguida esses mesmos extratos tiveram a CIM calculada por microdiluição partindo-se da concentração de 1 mg/mL no primeiro poço (Tabela 16). O controle de qualidade feito com a cepa ATCC de *C. parapsilosis* mostrou CIM de 0,5 µg/mL para anfotericina B em todas as repetições do teste, valor dentro da faixa recomendada pelo CLSI M27-A2 (1-0,25 µg/mL).

Tabela 16 - Concentração inibitória mínima (CIM) dos 5 extratos ativos sobre diferentes isolados clínicos de *T. rubrum* pelo método da microdiluição.

Isolados clínicos	CIM (µg/mL)					
	Extratos					
<i>Trichophyton rubrum</i>	KC MC	KC MR	RA	SA	TC	Itraconazol
CEMM 01-1-010	156,25	78,12	19,53	78,12	78,12	0,25
CEMM 02-6-066	156,25	78,12	19,53	78,12	78,12	0,25
CEMM 01-1-085	156,25	78,12	19,53	78,12	78,12	0,125
CEMM 01-5-020	78,12	39,06	19,53	78,12	78,12	0,125
CEMM 01-1-016	156,25	78,12	19,53	78,12	156,25	0,25
CEMM 02-6-032	156,25	156,25	19,53	78,12	78,12	0,125
CEMM 01-5-030	312,5	156,25	39,06	156,25	156,25	0,031
CEMM 01-2-101	312,5	78,12	39,06	156,25	156,25	0,50
Média Geométrica	170,39	85,19	23,23	92,90	101,31	0,16
CIM modal	156,25	78,12	19,53	78,12	78,12	0,25 e 0,125

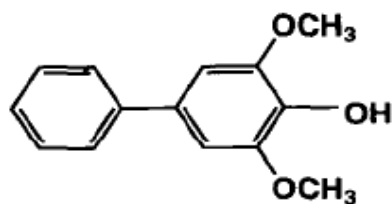
KC MC: *Kielmeyera coriacea* madeira do caule diclorometano. KC MR: *Kielmeyera coriacea* madeira da raiz diclorometano. RA: *Renealmia alpinia* folha hexano. SA: *Stryphnodendron adstringens* folha hexano. TC: *Tabebuia caraiba* madeira do caule diclorometano.

Considerando os diâmetros dos halos na concentração de 5 mg/mL, os valores de CIM e o diâmetro dos halos não mostraram uma relação inversamente proporcional, visto que os extratos que apresentaram maior halo nessa concentração não tiveram o menor CIM. O extrato de *T. caraiba*, por exemplo, apresentou o segundo maior halo, entretanto, sua média geométrica foi maior do que os extratos de *S. adstringens* e *K. coriacea* madeira da raiz. Tal fato pode ser explicado pela diferença na sensibilidade dos isolados de *T. rubrum* e ainda pela diferença na sensibilidade dos métodos de susceptibilidade antimicrobiana. Em geral, o teste de microdiluição é mais sensível do que o teste de difusão em cavidade (HADACEK; GREGER, 2000).

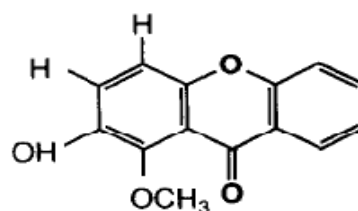
A *Kielmeyera coriacea* é uma planta bastante utilizada na medicina tradicional brasileira, inclusive para o tratamento de doenças infecciosas e oportunistas (AUDI *et al.*, 2002). Diferentes estudos já foram feitos com a raiz dessa planta, um deles demonstrou sua atividade anti-ulcerogênica e muitos outros indicaram atividade antidepressiva e ansiolítica, semelhante a outra planta da mesma família o *Hypericum perforatum*, comercializada para este fim. Além disso, uma análise *in vivo* feita com o extrato diclorometânico da raiz da planta, o mesmo extrato testado no presente trabalho, verificou que ela não apresenta toxicidade em doses agudas e administração contínua (GOULART *et al.*, 2007; OBICI *et al.*, 2008).

Análises fitoquímicas de extratos de *Kielmeyera coriacea* resultaram no isolamento de uma grande variedade de xantonas, além de triterpenos e compostos bifenílicos (CORTEZ *et al.*, 1999; OBICI *et al.*, 2008). Inclusive, várias xantonas e compostos bifenílicos isoladas de extratos diclorometânicos de folhas e raiz (Figura 43) apresentaram atividade antifúngica sobre *Cladosporium cucumerinum* e *Candida albicans* pelo método da bioautografia (10 µg), e antimicrobiana *Bacillus subtilis* e

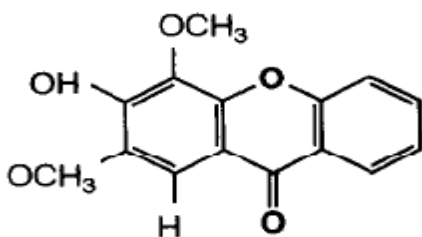
Staphylococcus aureus (CORTEZ *et al.*, 1998; CORTEZ *et al.*, 2002). Outro estudo verificou que o extrato hidroalcoólico da raiz da planta é capaz de agir no metabolismo energético de camundongos por meio de alterações na função mitocondrial. Essa ação poderia explicar a ação antiprotozoária e antifúngica da planta (ZAGOTO *et al.*, 2006).



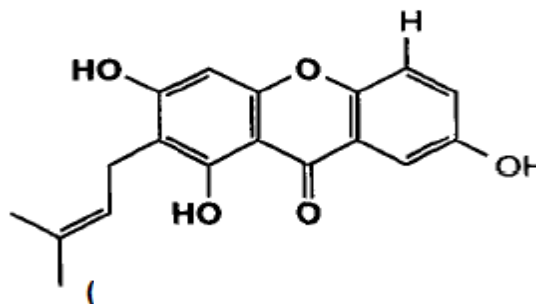
(1) Aucuparina



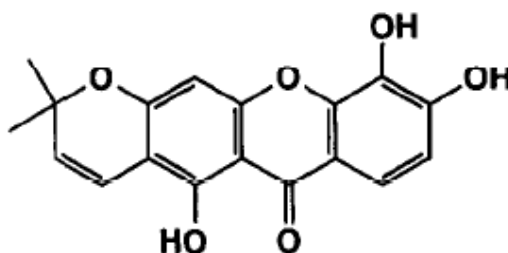
(2) 2-hidroxi-1-metoxixantona



(3) 3-hidroxi-2,4-dimetoxixantona



(4) 1,3,7-trihidroxi-2-(3-metilbutut-2-enil)xantona



(5) Jacareubina

Figura 38 – Xantonas (2 a 5) e composto bifenílico (1) isolados dos extratos diclorometânicos de folhas e raiz de *Kielmeyera coriacea* com atividade antifúngica.

Fonte: Cortez *et al.*, 1998.

No estudo presente o extrato diclorometânico da madeira da raiz dessa planta, assim como indicado na literatura, apresentou atividade antifúngica sobre *Candida albicans* e também sobre o dermatófito *T. rubrum*. O halo formado para a levedura na maior concentração testada foi muito pequeno, de apenas 10 mm, diferente do halo formado para o fungo filamentosos, de 33 mm, maior até que o halo de 25 mm do controle positivo, o Itraconazol (Tabela 14). Além desse, o extrato diclorometânico da madeira do caule e o hidroalcoólico da casca do caule de *Kielmeyera coriacea* também apresentaram atividade sobre *T. rubrum*, mas não sobre *C. albicans*. Este apresentou uma atividade moderada, formando um halo de 16 mm. Aquele apresentou um halo maior de 23,25 mm, próximo ao tamanho do halo formado pelo Itraconazol (Tabelas 14 e 15).

Dessa forma, calculou-se a CIM para os dois extratos diclorometânicos citados acima. A média geométrica da CIM para o extrato da madeira raiz foi de 85,19 µg/mL, sendo a CIM modal de 78,12 µg/mL. Como era esperado, tendo em vista o resultado do teste de difusão, a média geométrica do extrato de madeira do caule foi maior do que a do extrato da madeira da raiz, com valor de 170,39 µg/mL e CIM modal de 156,25 µg/mL. Dos cinco extratos que tiveram a CIM calculada, o extrato diclorometânico da madeira do caule de *Kielmeyera coriacea* foi o menos ativo.

O gênero *Tabebuia* é utilizado pela medicina tradicional no Brasil, inclusive para o tratamento de sinais e sintomas relacionados a infecções fúngicas, bem como para outras enfermidades como laxativos, diuréticos, antiinflamatórios e antibacterianos (FENNER *et al.*, 2006; PARK *et al.*, 2003). Várias plantas do gênero *Tabebuia* já demonstraram atividade citotóxica e antitumoral, importante atividade

antioxidante, atividade inibitória na produção de óxido nítrico e atividade moluscicida (AWALE *et al.*, 2005; PARK *et al.*, 2003; SILVA *et al.*, 2007).

A *Tabebuia impetiginosa* e *T. avellanedae* são conhecidas pela atividade antibacteriana (MACHADO *et al.*, 2003; CORDEIRO *et al.*, 2006). Algumas naftoquinonas e derivados já foram isoladas dessas espécies e apresentaram atividade sobre *Helicobacter pylori* e bactérias resistentes aos antibióticos convencionais (PARK *et al.*, 2006; PEREIRA *et al.*, 2006). Do extrato da casca do caule de *T. aurea* foram identificados: β -sistosterol, metilcinamato, etil p-hidroxicinamato, ácido betulínico, ácido veratrico, 3,4',5-trihidroxi-7-metoxi flavona, que, com exceção do ácido betulínico, mostraram-se ativos sobre *S. aureus* e *E. faecalis*. Além disso, o composto etil p-hidroxicinamato foi ativo para a Gram-negativa *E. coli* e o fungo *C. albicans* (BARBOSA FILHO *et al.*, 2004).

Outros estudos avaliando a atividade antifúngica mostraram que extratos de *T. ochracea*, *T. obtusifolia*, *T. serratifolia* e da própria *T. caraiba* não foram ativos nas condições estudadas (AGRIPINO *et al.*, 2004, ALVES *et al.*, 2000). No entanto, o estudo feito com a *T. caraiba* foi realizado por meio da bioautografia com o fungo *C. sphaerospermum* e os extratos não foram especificados.

A família Bignoniaceae, na qual a *T. caraiba* se encontra, é muito conhecida pela variedade de flavonóides que apresenta, com predominância de flavonas em relação aos flavonóis. A *T. caraiba*, ao contrário, apresenta predominância de flavonóis (BLATT *et al.*, 1996; BLATT *et al.*, 1998). Análises fitoquímicas do gênero *Tabebuia* já identificaram também, principalmente no caule da planta, a presença de naftoquinonas, furanonaftoquinonas, quinonas, derivados benzaldeídos e ciclopenteno dialdeídos (PARK *et al.*, 2003). Além disso, triterpenos e iridóides já foram isolados da casca do caule de *Tabebuia caraiba* (SOARES *et al.*, 2006).

No presente estudo, três extratos de *Tabebuia caraiba* apresentaram alguma atividade. O extrato etanólico da casca do caule apresentou um halo de 8 mm sobre *C. albicans*. Enquanto os extratos diclorometânico e hexânico da madeira do caule foram ativos sobre *T. rubrum*. O primeiro apresentou um halo de 32, 25 mm, maior até que o halo do Itraconazol (25 mm), e o segundo um halo menor de 10 mm (Tabelas 14 e 15). O extrato diclorometânico da madeira do caule foi avaliado pelo método da microdiluição e apresentou como média geométrica da CIM sobre os diferentes isolados clínicos de *T. rubrum* 101,31 µg/mL e CIM modal de 78,12 µg/mL. (Tabela 16).

Membros da família Zingiberaceae são muito utilizados tradicionalmente no tratamento de infecções fúngicas, inclusive a *Renealmia alpinia* (FENNER *et al.*, 2006, FICKER *et al.*, 2003). As plantas *Alpinia galanga*, *Curcuma zedoaria* e *Zingiber purpureum*, pertencentes a essa família já foram avaliadas quanto ao seu potencial antifúngico e extratos etanólicos do rizoma dessas plantas mostraram pronunciada atividade sobre fungos filamentosos e leveduriformes, incluindo fungos resistentes (FICKER *et al.*, 2003).

A *Renealmia alpinia* é bastante estudada quanto aos seus constituintes químicos. Do óleo essencial das folhas dessa planta foram identificados 35 componentes, entre eles β-cariofileno, β-pineno e espatulenol (MAIA *et al.*, 2007). Já foram também identificados terpenos da oleoresina das sementes, entre eles monoterpenos e diterpenos labdanos (LOGNAY *et al.*, 1991). Não só da semente, mas também do extrato de acetato de etila das folhas foram isolados vários diterpenos labdanos (YANG *et al.*, 1999, ZHOU *et al.*, 1997).

Dos cinco extratos testados de *Renealmia alpinia* apenas o extrato etanólico da folha não apresentou nenhuma atividade. Os extratos hexânico, diclorometânico

e hidroalcoólico do rizoma formaram halos de 17, 16 e 11 mm, respectivamente, sobre *T. rubrum* e não foram ativos para *C. albicans*.

O extrato mais ativo sobre *T. rubrum*, inclusive quando comparado com todos os outros extratos testados, foi o hexânico da folha, que inibiu completamente o crescimento desse fungo tanto na concentração de 20 como na de 10 mg/mL (Tabela 15). Sua atividade para *C. albicans* foi incipiente, pois formou um pequeno halo de 9 mm (Tabela 14). A CIM desse extrato foi a menor de todos os outros testados, sendo capaz de inibir o crescimento do fungo filamentosos a uma concentração de 19,53 µg/mL (Tabela 16).

O *Stryphnondendron adstringens*, conhecido como barbatimão, é utilizado como planta medicinal no Brasil para o tratamento de feridas, diarreia e hemorragia. Existem também relatos na medicina tradicional de seu potencial antifúngico e antiviral (FENNER *et al.*, 2006; MUKHTAR *et al.*, 2008; YOKOSUKA *et al.*, 2008). Existem estudos mostrando que extratos da casca do caule dessa planta possuem atividade antibacteriana, anti-ulcerogênica e antiinflamatória (AUDI *et al.*, 2004; FALCÃO *et al.*, 2008; LIMA *et al.*, 1998).

O *Stryphnondendron adstringens* é conhecido pela variedade de taninos que possui (YOKOSUKA *et al.*, 2008), abrangendo prodelfinidinas, prorobinetidinas e outras proantocianidinas (MELLO *et al.*, 1996; MELLO *et al.*, 1999). Do extrato acetona/água (7:3) da casca do caule dessa planta, foi feita uma partição com acetato de etila e água para obter uma fração aquosa na qual se verificou a presença de taninos e ácido gálico. Essa fração apresentou uma importante atividade sobre *Candida albicans*, com média geométrica da CIM de 4,07 µg/mL. Esse estudo também mostrou que essa fração foi capaz de provocar alterações morfológicas nas células fúngicas, aumentar a capacidade de internalização dessas

células por macrófagos e também diminuir sua capacidade de aderência (ISHIDA *et al.*, 2006).

Entretanto, o mesmo extrato acetona/água (7:3) da casca do caule de *Stryphnondendron adstringens* apresentou toxicidade em camundongos quando administrado por um período prolongado (REBECCA *et al.*, 2002). O extrato metanólico das partes aéreas dessa planta, por sua vez, não foi ativo para *Cladosporium sphaerospermum* 100 µg em bioautografia (ALVES *et al.*, 2000).

Diferentemente do encontrado na literatura, os extratos da casca do caule de *Stryphnondendron adstringens* não foram ativos para *Candida albicans* e apenas o extrato hidroalcoólico formou um halo muito pequeno, de 8 mm, sobre *T. rubrum* (Tabela 14). Certamente, a atividade relatada na literatura relaciona-se aos compostos extremamente polares, presentes em extratos aquosos da casca do caule de *S. adstringens*. Nesse estudo, foi o extrato hexânico da folha que foi bastante ativo para o dermatófito. A CIM foi de 92,90 µg/mL, com CIM modal de 78,12 µg/mL (Tabela 16). Esse extrato foi o terceiro mais ativo dos cinco testados.

O extrato hidroalcoólico da raiz de *Calophyllum brasiliense* apresentou também uma boa atividade antifúngica, formando halos de 10 e 17 mm para *C. albicans* e *T. rubrum* respectivamente (Tabela 14). Essa planta é a mais estudada do gênero e várias substâncias já foram isoladas, mostrando que a composição química é distinta para cada parte da planta. Entre as substâncias isoladas incluem-se compostos aromáticos, flavonóides, taninos, xantonas e cumarinas (NOLDIN *et al.*, 2006). O *C. brasiliense*, assim como outras espécies desse gênero, já foi estudado quanto à atividade bacteriana (DHARMARATNE *et al.*, 1999; SAKAGAMI *et al.*, 2002). Seu extrato hexânico da folha, e metanol/ acetona da madeira do caule mostram atividade sobre *E. coli* e *S. aureus*, e a partir desses dois extratos foram

isoladas uma cumarina, um triterpenos e algumas xantonas que apresentaram excelente atividade sobre *S. aureus* resistente a meticilina (YASUNAKA *et al.*, 2005).

As plantas *Schinus terebinthifolius* e *Annona crassiflora* apresentam relatos na literatura de atividade antifúngica. No presente trabalho, entretanto, a atividade, quando houve, foi muito baixa. No caso da *Annona crassiflora*, um estudo com o extrato etanólico de suas folhas mostrou valores de CIM de 64 µg/mL para 90% das cepas de *C. albicans* testadas (SILVA *et al.*, 2001b). Um estudo feito com o extrato etanólico das folhas de *Schinus terebinthifolius* foi ativo sobre *Candida glabrata* e *Sporothrix schenckii* (JOHANN *et al.*, 2007) e outro, com esse mesmo extrato, verificou atividade sobre *C. albicans* e *C. neoformans* (BRAGA *et al.*, 2007b). O óleo essencial das partes aéreas desta planta exibiu atividade fungicida sobre *Trichophyton longifusus* (MOUSTAFA, 2007).

A maioria dos extratos testados apresenta uso popular sobre algum tipo de infecção fúngica, portanto, era esperado que um maior número de extratos fosse ativo e, principalmente, um maior número de extratos polares. Algumas explicações para essa variação podem ser mencionadas como a concentração dos extratos utilizada nos testes, os solventes empregados na extração, a idade da planta, o local de coleta, entre outros. Um estudo feito avaliando o potencial antifúngico da cera epicuticular da folha da planta *Caryocar brasiliensis* mostrou que a coleta da planta no mês de março gerava resultados diferentes quando comparado com a coleta no mês de outubro (PASSOS *et al.*, 2002). No presente estudo, como não foram feitos extratos de todas as partes das plantas, nem utilizando todas as polaridades de solventes, um resultado negativo não significa necessariamente ausência de atividade antifúngica das espécies estudadas. Além disso, assim como alguns

medicamentos, as plantas medicinais podem ter atividade mais potente *in vivo* do que *in vitro* (NDIP *et al.*, 2007).

Os melhores resultados encontrados nesse trabalho referem-se a extratos diclorometânico e hexânico. Apesar desses solventes não serem utilizados no preparo de “remédios” tradicionais, várias substâncias antifúngicas potentes já foram isoladas de extratos apolares (RAHMAN *et al.*, 2005; THOUVENEL *et al.*, 2003). Dessa forma, não se limita apenas a uma parte das substâncias químicas que a planta possui e explora-se toda a variedade de metabólitos secundários produzidos por ela.

Neste estudo, a triagem dos extratos foi feita na concentração de 20 mg/mL utilizando o método de difusão em ágar. Existem autores que questionam a utilização de concentrações altas (RIOS; RECIO, 2005). Entretanto, os resultados aqui citados e outros trabalhos mostram que extratos triados pelo método de difusão em ágar em altas concentrações, podem sim apresentar valores de CIM baixos. Esse fato pode ser explicado pela natureza apolar de muitos extratos que quando testados pelo método de difusão não se difundem bem no ágar polar, limitando a formação do halo (BRAGA *et al.*, 2007b; FONTENELLE *et al.*, 2007).

CONCLUSÃO

5. CONCLUSÃO

A triagem realizada com extratos do Banco de Extratos de Plantas do Bioma Cerrado (Laboratório de Farmacognosia/UnB) sobre os fungos patogênicos *Candida albicans* e *Trichophyton rubrum* permitiu selecionar os extratos diclorometânicos da madeira do caule e da madeira da raiz de *Kielmeyera coriacea*, hexânico da folha de *Renealmia alpinia*, hexânico da folha de *Stryphnodendron adstringens* e diclorometânico da madeira do caule de *Tabebuia caraiba*. Esses extratos não apresentaram atividade importante sobre *C. albicans*, entretanto, revelaram importante atividade sobre o dermatófito, sendo capaz de inibir esse fungo com concentrações que variam entre 170,39 e 23,23 µg/mL. Atividade essa considerada importante, visto que se trata de extratos ainda brutos, contendo inúmeras moléculas e, assim, provavelmente após o isolamento da substância ativa, a CIM será ainda menor. Esses resultados confirmam a importância dos metabólitos secundários de plantas terrestres na busca de moléculas ativas e abrem perspectivas para encontrar medicamentos de origem vegetal para o tratamento de infecções fúngicas.

Extratos de plantas do Cerrado, especialmente o extrato hexânico da folha de *Renealmia alpinia*, são de particular interesse como fonte de novos agentes para o tratamento de infecções dermatofíticas. Dessa forma, uma investigação mais profunda, com isolamento de substâncias e análise sobre outras espécies fúngicas, permitiria uma melhor investigação da susceptibilidade dos dermatófitos.

PERSPECTIVAS

6. PERSPECTIVAS

- Isolar e elucidar a estrutura química das substâncias dos extratos ativos sobre *T. rubrum*.
- Avaliar a atividade dos extratos ativos e das substâncias isoladas sobre outras espécies de dermatófitos.
- A partir da metodologia aprendida, verificar atividade antifúngica de substâncias isoladas de plantas do Nordeste fornecidas pelo Departamento de Química Orgânica da Universidade Federal do Ceará.
- Aperfeiçoar o trabalho com fungos no laboratório de Farmacognosia da Universidade de Brasília.
- Firmar novas colaborações.

REFERÊNCIAS

7. REFERÊNCIAS

- 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. **Biota Neotropica**, 4(2): 1-15, 2004.
- AL-BAKRI, A. G., AFIFI, F. U. Evaluation of antimicrobial activity of selected plant extracts by rapid XTT colorimetry and bacterial enumeration. **J. Microbiol. Methods**, 68: 19–25, 2007.
- ALCERITO, T., BARBO, F. E., NEGRI, F. G., SANTOS, D. Y. A. C., MEDA, C. I., YOUNG, M. C. M., CHÁVEZ, D., BLATT, C. T. T. Foliar epicuticular wax of *Arrabidaea brachypoda*: flavonoids and antifungal activity. **Biochem. Syst. Ecol.**, 30: 677–683, 2002.
- ALEVA, N. A., BIRMAN, E. G., AFONSO JR, W., CHAVASCO, J. K., PAULA, C. R., RIBEIRO, A., PEREIRA, L. J. Erythematous candidosis in patients with complete dentures and HIV+/AIDS. **Mycoses**, 50: 407–411, 2007.
- AL-FATIMI, M., WURSTER, M., SCHRODER, G., LINDEQUIST, U. Antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities of selected medicinal plants from Yemen. **J. Ethnopharmacol.**, 111: 657–666, 2007.
- ALI-SHTAYEH, M. S., ABU GHDEIB, S. I. Antifungal activity of plant extracts against dermatophytes. **Mycoses**, 42(11-12): 665-72, 1999.
- ALMEIDA, S. P., PROENÇA, C. E. B., SANO, S. M., RIBEIRO, J. F. Cerrado: espécies vegetais úteis. Planaltina-DF: **EMBRAPA-CPAC**, 1998. 464p.
- 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. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, 95(3): 367-373, 2000.
- ALVES, T. M. A., RIBEIRO, F. L., KLOOS, H., ZANI, C. L. Polygodial, the Fungitoxic Component from the Brazilian Medicinal Plant *Polygonum punctatum*. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, 96(6): 831-833, 2001.
- AMBROSIO, S. R., TIRAPELLI, C. R., COSTA, F. B., OLIVEIRA, A. M. Kaurane and pimarane-type diterpenes from the *Viguiera* species inhibit vascular smooth muscle contractility. **Life Sci.**, 79: 925–933, 2006.

- AMER, M. E., ABOU-SHOERA, M. I., ABDEL-KADER, M. S., EL-SHAIBANY, A. M. S., ABDEL-SALAM, N. A. Alkaloids and Flavone Acyl Glycosides from *Acanthus arboreus*. **J. Braz. Chem. Soc.**, 15(2): 262-266, 2004.
- ANDRADE-NETO, V. F., BRANDÃO, M. G. L., STEHMANN, J. R., OLIVEIRA, L. A., KRETTLI, A. U. Antimalarial activity of Cinchona-like plants used to treat fever and malaria in Brazil. **J. Ethnopharmacol.**, 87: 253–256, 2003.
- ANDRIOLE, V. T. Current and future antifungal therapy: new targets for antifungal therapy. **Int. J. Antimicrob. Agents**, 16: 317–321, 2000.
- ANGEH, J. E., HUANG, X., SATTLER, I., SWAN, G. E., DAHSE, H., HÄRTL, A., ELOFF, J. N. Antimicrobial and anti-inflammatory activity of four known and one new triterpenoid from *Combretum imberbe* (Combretaceae). **J. Ethnopharmacol.**, 110: 56–60, 2007.
- ARAÚJO, C. W. G., PEIXOTO NETO, P. A. S., CAMPOS, N. V. C., PORFÍRIO, Z., CAETANO, L. C. Antimicrobial activity of *Pithecolobium avaremotemo* bark. **Fitoterapia**, 73: 698–700, 2002.
- ARIAS, M. E., GOMEZ, J. D., CUDMANI, N. M., VATTUONE, M. A., ISLA, M. I. Antibacterial activity of ethanolic and aqueous extracts of *Acacia aroma* Gill. ex Hook et Arn. **Life Sci.**, 75: 191–202, 2004.
- AUDI, E. A., OTOBONE, F., MARTINS, J. V. C., CORTEZ, D. A. G. Preliminary evaluation of *Kielmeyera coriacea* leaves extract on the central nervous system. **Fitoterapia**, 73: 517–519, 2002.
- AUDI, E. A., MENDES DE TOLEDO, C. E., SOLERA DOS SANTOS, F., BELLANDA, P. R., ALVES-DO-PRADO, W., UEDA-NAKAMURA, T., NAKAMURA, C. V., SAKURAGUI, C. M., BERSANI-AMADO, C. A., PALAZZO DE MELLO, J. C. Biological activity and quality control of extract and stem bark from *Stryphnodendron adstringens*. **Acta Farm. Bonaer.**, 23(3): 328-333, 2004.
- AWALE, S., KAWAKAMI, T., TEZUKA, Y., UEDA, J., TANAKA, K., KADOTA, S. Nitric Oxide (NO) Production Inhibitory Constituents of *Tabebuia avellanedae* from Brazil. **Chem. Pharm. Bull.**, 53(6): 710-713, 2005.
- AZANZA, J. R., GARCÍA-QUETGLAS, E., SÁDABA, B. Farmacología de los azoles. **Rev. Iberoam. Micol.**, 24: 223-227, 2007.23

- BAIXENCH, M.-T., AOUN, N., DESNOS-OLLIVIER, M., GARCIA-HERMOSO, D., BRETAGNE, S., RAMIRES, S., PIKETTY, C., DANNAOUI, E. Acquired resistance to echinocandins in *Candida albicans*: case report and review. **J. Antimicrob. Chemother.**, 59: 1076–1083, 2007.
- BALUNAS, M. J., KINGHORN, A. D. Drug discovery from medicinal plants. **Life Sci.**, 78: 431–441, 2005.
- BARBOSA-FILHO, J. M., LIMA, C. S. A., AMORIM, E. L. C., DE SENA, K. X. F. R., ALMEIDA, J. R. G. S., DA-CUNHA, E. V. L., SILVA, M. S., AGRA, M. F., BRAZ-FILHO, R. Botanical study, phytochemistry and antimicrobial activity of *Tabebuia aurea*. **Phyton**, 53: 221-228, 2004.
- BATTAGLIA, F., MARIANI, L., ANGLANA, F., MILITE, V., QUATTRINI, M., PLOTTI, F., TOMAO, F., PLOTTI, G. Vulvovaginal candidiasis: a therapeutic approach. **Minerva Ginecol.**, 57(2): 131-139, 2005.
- BERGER, I., BARRIENTOS, A. C., CÁCERES, A., HERNÁNDEZ, M., RASTRELLI, L., PASSREITER, C. M., KUBELKA, W. Plants used in Guatemala for the treatment of protozoal Infections II. Activity of extracts and fractions of five Guatemalan plants against *Trypanosoma cruzi*. **J. Ethnopharmacol.**, 62: 107–115, 1998.
- BEZERRA, J. C. B., SILVA, I. A., FERREIRA, H. D., FERRI, P. H., SANTOS, S. C. Molluscicidal activity against *Biomphalaria glabrata* of Brazilian Cerrado medicinal plants. **Fitoterapia**, 73: 428-430, 2002.
- BLATT, C. T. T., SALATINO, A., SALATINO, M. L. F. Flavonoids of *Tabebuia caraiba* (Bignoniaceae). **Biochem. Syst. Ecol.**, 24(1): 89, 1996.
- BLATT, C. T. T., DOS SANTOS, M. D., SALATINO, A. Flavonoids of *Bignoniaceae* from the "cerrado" and their possible taxonomic significance. **Pl. Syst. Evol.**, 210:289-292, 1998.
- BOLETI, A. P. A., FREIRE, M. G. M., COELHO, M. B., SILVA, W., BALDASSO, P. A., GOMES, V. M., MARANGONI, S., NOVELLO, J. C., MACEDO, M. L. R. Insecticidal and Antifungal Activity of a Protein from *Pouteria torta* Seeds with Lectin-like Properties. **J. Agric. Food Chem.**, 55: 2653-2658, 2007.
- BRAGA, F. C., SERRA, C. P., VIANA JÚNIOR, N. S., OLIVEIRA, A. B., CÔRTEZ, S. F., LOMBARDI, J. A. Angiotensin-converting enzyme inhibition by Brazilian plants. **Fitoterapia**, 78: 353–358, 2007a.

- 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. **J. Ethnopharmacol.**, 111(2): 396-402, 2007b.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente dos Recursos Hídricos e da Amazônia Legal. Ações prioritárias para a conservação da biodiversidade do Cerrado e Pantanal. Brasília: 1999. 26p.
- BUSTAMANTE, C. I. Treatment of Candida infection: a view from the trenches! **Curr. Opin. Infect. Dis.**, 18: 490-495, 2005.
- BYLKA, W., SZAUFER-HAJDRYCH, M., MATŁAWSKA, I., GO`SLIN`SKA, O. Antimicrobial activity of isocytisoid and extracts of *Aquilegia vulgaris* L. **Lett. Appl. Microbiol.**, 39: 93-97, 2004.
- CANUTO, M. M., RODERO, F. G. Antifungal drug resistance to azoles and polyenes. **Lancet Infect. Dis.**, 2: 550-63, 2002.
- CARDOSO, C. R. P., CÓLUS, I. M. S., BERNARDI, C. C., SANNOMIYA, M., VILEGAS, W., VARANDA, E. A. Mutagenic activity promoted by amentoflavone and methanolic extract of *Byrsonima crassa* Niedenzu. **Toxicology**, 225: 55-63, 2006.
- CARRILLO-MUÑOZ, A. J., GIUSIANO, G., EZKURRA, P. A., Quindós, G. Antifungal agents: Mode of action in yeast cells. **Rev. Esp. Quimioterap.**, 19(2): 130-139, 2006.
- CATALÁN, M., MONTEJO, J. C. Antifúngicos sistémicos. Farmacodinamia y farmacocinética. **Rev. Iberoam. Micol.**, 23: 39-49, 2006.
- CESCHINI, L., CAMPOS, E. G. Cytotoxic effects of *Cochlospermum regium* (Mart & Schrank) Pilger aqueous root extract on mammalian cells. **J. Ethnopharmacol.**, 103: 302-305, 2006.
- CHACHA, M., BOJASE-MOLETA, G., MAJINDA, R. R. T. Antimicrobial and radical scavenging flavonoids from the stem wood of *Erythrina latissima*. **Phytochemistry**, 66: 99-104, 2005.
- CHAMILOS, G., KONTOYIANNIS, D. P. Update on antifungal drug resistance mechanisms of *Aspergillus fumigatus*. **Drug Resist. Updat.**, 8: 344-358, 2005.

- CHANG, J., CASE, R. Phenolic glycosides and ionone glycoside from the stem of *Sargentodoxa cuneata*. **Phytochemistry**, 66: 2752–2758, 2005.
- CHEN, S. C., SORRELL, T. C. Antifungal agents. **Med. J. Aust.**, 187(7): 404-409, 2007.
- CHICARO, P., PINTO, E., COLEPICOLO, P., LOPES, J. L. C., LOPES, N. P. Flavonoids from *Lychnophora passerina* (Asteraceae): potential antioxidants and UV-protectants. **Biochem. Syst. Ecol.**, 32: 239–243, 2004.
- CHIN, Y.-W., BALUNAS, M. J., CHAI, H. B., KINGHORN, D. Drug Discovery From Natural Sources. **AAPS J.**, 8(2): 239-253, 2006.
- CHINELLI, P. A. V., SOFIATTI, A. A., NUNES, R. S., MARTINS, J. E.C. Dermatophyte agents in the city of São Paulo, from 1992 to 2002. **Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo**, 45(5): 259-263, 2003.
- CHUANG, P.-H., LEE, C.-W., CHOU, J.-Y., MURUGAN, M., SHIEH, B.-J., CHEN, H.-M. Anti-fungal activity of crude extracts and essential oil of *Moringa oleifera* Lam. **Bioresour. Technol.**, 98: 232–236, 2007.
- CIMANGA, K., KAMBU, K., TONA, L., APERS, S., DE BRUYNE, T., HERMANS, N., TOTTE, J., PIETERS, L., VLIETINCK, A. J. Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. **J. Ethnopharmacol.**, 79: 213–220, 2002.
- CLSI, M38-A. Método de Referência para Testes de Diluição em Caldo para a Determinação da Sensibilidade a Terapia Antifúngica dos Fungos Filamentosos: Norma Aprovada.
- CLSI, M27-A2. Método de Referência para Testes de Diluição em Caldo para Determinação da Sensibilidade de Leveduras à Terapia Antifúngica: Norma Aprovada – Segunda Edição.
- COELHO, A. A. M., DE PAULA, J. E., ESPINDOLA, L. S. Insecticidal activity of Cerrado plant extracts on *Rhodnius milesi* Carcavallo, Rocha, Galvão & Jurberg (Hemiptera: Reduviidae), under laboratory conditions. **Neotrop. Entomol.**, 35(1): 133-138, 2006.

- COLOMBO, A. L., NUCCI, M., PARK, B. J., NOUÉR, S. A., ARTHINGTON-SKAGGS, B., MATTA, D. M., WARNOCK, D., MORGAN, J. Epidemiology of Candidemia in Brazil: a Nationwide Sentinel Surveillance of Candidemia in Eleven Medical Centers. **J. Clin. Microbiol.**, 44(8): 2816–2823, 2006.
- CONSOLARO, M. E. L., GASPARETTO, A., SVIDZINSKI, T. I. E., PERALTA, R. M. Effect of pepstatin A on the virulence factors of *Candida albicans* strains isolated from vaginal environment of patients in three different clinical conditions. **Mycopathologia**, 162: 75–82, 2006.
- CORDEIRO, C. H. G., SACRAMENTO, L. V. S. DO, CORRÊA, M. A., PIZZOLITTO, A. C., BAUAB, T. A. Análise farmacognóstica e atividade antibacteriana de extratos vegetais empregados em formulação para a higiene bucal. **Braz. J. Pharm. Sci.**, 42(3): 395-404, 2006.
- CORTEZ, D. A. G., YOUNG, M. C. M., MARSTON, A., WOLFENDER, J.-L. HOSTETTMANN, K. Xanthonenes, triterpenes and a biphenyl from *Kielmeyera coriacea*. **Phytochemistry**, 47(7): 1367-1374, 1998.
- CORTEZ, D. A. G., MARSTON, A., HOSTETTMANN, K. Separation of xanthonenes and a biphenyl from *Kielmeyera coriacea* by centrifugal partition chromatography. **Chromatographia**, 50(1-2): 7-10, 1999.
- CORTEZ, D. A. G., ABREU FILHO, B. A., NAKAMURA, C. V., DIAS FILHO, B. P., MARSTON, A., HOSTETTMANN, K. Antibacterial Activity of a Biphenyl and Xanthonenes from *Kielmeyera coriacea*. **Pharm. Biol.**, 40(7): 485-489, 2002.
- COS, P., VLIETINCK, A. J., BERGHE, D. V., MAESA, L. Anti-infective potential of natural products: How to develop a stronger in vitro 'proof-of-concept'. **J. Ethnopharmacol.**, 106: 290–302, 2006.
- COSTA, T. R., FERNANDES, O. F. L., SANTOS, S. C., OLIVEIRA, C. M. A., LIÃO, L. M., FERRI, P. H., PAULA, J. R., FERREIRA, H. D., SALES, B. H. N., SILVA, M. R. R. Antifungal activity of volatile constituents of *Eugenia dysenterica* leaf oil. **J. Ethnopharmacol.**, 72: 111–117, 2000.
- CRUZ, M. C. S., SANTOS, P.O., BARBOSA JR., A. M., MÉLO, D. L. F. M., ALVIANO, C. S., ANTONIOLLI, A. R., ALVIANO, D. S., TRINDADE, R. C. Antifungal activity of Brazilian medicinal plants involved in popular treatment of mycoses. **J. Ethnopharmacol.**, 111(2): 409-12, 2007.

- DEVELOUX, M., BRETAGNE, S. Candidiasis and yeast infections. **EMC-Maladies Infectieuses**, 2: 119-139, 2005.
- DHARMARATNE, H. R. W., WIJESINGHE, W. M. N. M., THEVANASEM, V. Antimicrobial activity of xanthenes from *Calophyllum* species, against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). **J. Ethnopharmacol.**, 66: 339–342, 1999.
- DICKSON, R. A., HOUGHTON, P. J., HYLANDS, P. J. Antibacterial and antioxidant cassane diterpenoids from *Caesalpinia benthamiana*. **Phytochemistry**, 68: 1436–1441, 2007.
- DIXON, R. A. Natural products and plant disease resistance. **Nature**, 411 (6839): 843-847, 2001.
- DOLENC-VOLJC, M. Dermatophyte infections in the Ljubljana region, Slovenia, 1995–2002. **Mycoses**, 48: 181–186, 2005.
- DORDEVIC, S., PETROVIC, S., DOBRIC, S., MILENKOVIC, M., VUCICEVIC, D., ZIZIC, S., KUKIC, J. Antimicrobial, anti-inflammatory, anti-ulcer and antioxidant activities of *Carlina acanthifolia* root essential oil. **J. Ethnopharmacol.**, 109: 458–463, 2007.
- DREWES, S. E., KHAN, F., VAN VUUREN, S. F., VILJOEN, A. M. Simple 1,4-benzoquinones with antibacterial activity from stems and leaves of *Gunnera perpensa*. **Phytochemistry**, 66: 1812–1816, 2005.
- DREWES, S. E., MUDAU, K. E., VAN VUUREN, S. F., VILJOEN, A. M. Antimicrobial monomeric and dimeric diterpenes from the leaves of *Helichrysum tenax* var *tenax*. **Phytochemistry**, 67: 716–722, 2006.
- DUARTE, M. C. T., FIGUEIRA, G. M., SARTORATTO, A., REHDER, V. L. G., DELARMELENA, C. Anti-Candida activity of Brazilian medicinal plants. **J. Ethnopharmacol.**, 97: 305–311, 2005.
- EGGIMANN, P., GARBINO, J., PITTET, D. Management of Candida species infections in critically ill patients. **Lancet Infect. Dis.**, 3(12): 772-785, 2003.
- ELLEPOLA, A. N. B., SAMARANAYAKEL, L. P. Oral candidal infections and antimycotics. **Crit. Rev. Oral. Biol. Med.**, 11(2): 172-198, 2000.

- ELOFF, J. N. A Sensitive and Quick Microplate Method to Determine the Minimal Inhibitory Concentration of Plant Extracts for Bacteria. **Planta Med.**, 64: 711—713, 1998.
- ELOFF, J. N., FAMA KIN, J. O., KATERERE, D. R. P. *Combretum woodii* (Combretaceae) leaf extracts have high activity against Gram-negative and Gram-positive bacteria. **Afr. J. Biotechnol.**, 4(10): 1161-1166, 2005.
- EL-SEEDI, H. R., OHARA, T., SATA, N., NISHIYAMA, S. Antimicrobial diterpenoids from *Eupatorium glutinosum* (Asteraceae). **J. Ethnopharmacol.**, 81: 293-296, 2002.
- EMBRAPA CERRADOS. Embrapa cerrados: conhecimento, tecnologia e compromisso ambiental. Planaltina, 1999, 34p.
- EPSTEIN, J. B., POLSKY, B. Oropharyngeal Candidiasis: A Review of Its Clinical Spectrum and Current Therapies. **Clin. Ther.**, 20(1): 40-57, 1998.
- ERASTO, P., BOJASE-MOLETA, G., MAJINDA, R. R. T. Antimicrobial and antioxidant flavonoids from the root wood of *Bolusanthus speciosus*. **Phytochemistry**, 65: 875–880, 2004.
- EVIDENTE, A., ANDOLFI, A., ABOU-DONIA, A. H., TOUEMA, S. M., HAMMODA, H. M., SHAWKY, E., MOTTA, A. (-)-Amarbellisine, a lycorine-type alkaloid from *Amaryllis belladonna* L. growing in Egypt. **Phytochemistry**, 65: 2113–2118, 2004.
- EYONG, K. O., FOLEFOC, G. N., KUETE, V., BENG, V. P., KROHN, K., HUSSAIN, H., NKENGFACK, A. E., SAEFTEL, M., SARITE, S. R., HOERAUF, A. Newbouldiaquinone A: A naphthoquinone–anthraquinone ether coupled pigment, as a potential antimicrobial and antimalarial agent from *Newbouldia laevis*. **Phytochemistry**, 67: 605–609, 2006.
- FALCÃO, H. S., MARIATH, I. R., DINIZ, M. F. F. M., BATISTA, L. M., BARBOSA-FILHO, J. M. Plants of the American continent with antiulcer activity. **Phytomedicine**, 15: 132–146, 2008.
- FAZELI, M. R., AMIN, G., ATTARI, M. M. A., ASHTIANI, H., JAMALIFAR, H., SAMADI, N. Antimicrobial activities of Iranian sumac and avishan-e shirazi (*Zataria multiflora*) against some food-borne bacteria. **Food Control**, 18: 646–649, 2007.

- FENNELL C. W., LINDSEY K. L., MCGAWB, L. J., SPARG, S. G., STAFFORD, G. I., ELGORASHI, E. E., GRACE, O. M., VAN STADEN, J. Assessing African medicinal plants for efficacy and safety: pharmacological screening and toxicology. **J. Ethnopharmacol.**, 94: 205–217, 2004.
- FENNER, R., SORTINO, M., KUZE RATES, S. M., DALL'AGNOLA, R., FERRAZA, A., BERNARDIA, A. P., ALBRINGA, D., NORA, C., VON POSER, G., SCHAPOVALA, E., ZACCHINO, S. Antifungal activity of some Brazilian *Hypericum* species. **Phytomedicine**, 12: 236–240, 2005.
- FENNER, R., BETTI, A. H., MENTZ, L. A., RATES, S. M. K. Plantas utilizadas na medicina popular brasileira com potencial atividade antifúngica. **Braz. J. Pharm. Sci.**, 42(3): 369-394, 2006.
- FERESIN, G. E., TAPIA, A., GIMENEZ, A., RAVELO, A. G., ZACCHINO, S., SORTINO, M., SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. Constituents of the Argentinian medicinal plant *Baccharis grisebachii* and their antimicrobial activity. **J. Ethnopharmacol.**, 89: 73–80, 2003a.
- FERESIN, G. E., TAPIA, A., SORTINO, M., ZACCHINO, S., ARIAS, A. R., INCHAUSTI, A., YALUFF, G., RODRIGUEZ, J., THEODULOZ, C., SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. Bioactive alkyl phenols and embelin from *Oxalis erythrorhiza*. **J. Ethnopharmacol.**, 88: 241–247, 2003b.
- FERREIRA, H. C., SERRA, C. P., LEMOS, V. S., BRAGA, F. C., CORTES, S. F. Nitric oxide-dependent vasodilatation by ethanolic extract of *Hancornia speciosa* via phosphatidyl-inositol 3-kinase. **J. Ethnopharmacol.**, 109: 161–164, 2007.
- FICKER, C. E., SMITH, M. L., SUSIARTI, S., LEAMANB, D. J., IRAWATI, Ç., ARNASON, J. T. Inhibition of human pathogenic fungi by members of Zingiberaceae used by the Kenyah (Indonesian Borneo). **J. Ethnopharmacol.**, 85: 289–293, 2003.
- FILIPPIN, F. B., SOUZA, L. C. Eficiência terapêutica das formulações lipídicas de anfotericina B. **Braz. J. Pharm. Sc.**, 42(2): 167-194, 2006.
- FISCHER, D. C. H., GUALDA, N C. A., BACHIEGA, D., CARVALHO, C. S., LUPO, F. N., BONOTTO, S. V., ALVES, M. O., YOGI, A., DI SANTI, S. M., AVILA, P. E., KIRCHGATTER, K., MORENO, P. R. H. *In vitro* screening for antiplasmodial activity of isoquinoline alkaloids from Brazilian plant species. **Acta Trop.**, 92: 261–266, 2004.

- FONTENELLE, R. O. S., MORAIS, S. M., BRITO, E. H. S., KERNTOPF, M. R., BRILHANTE, R. S. N., CORDEIRO, R. A., TOMÉ, A. R., QUEIROZ, M. G. R., NASCIMENTO, N. R. F., SIDRIM, J. J. C., ROCHA, M. F. G. Chemical composition, toxicological aspects and antifungal activity of essential oil from *Lippia sidoides* Cham. **J. Antimicrob. Chemother.**, 59: 934–940, 2007.
- FOXMAN, B., BARLOW, R., D'ARCY, H., GILLESPIE, B., SOBEL, J. D. Candida vaginitis: Self-Reported Incidence and Associated Costs. **Sex. Transm. Dis.**, 27(4): 230-235, 2000.
- FYHRQUIST, P., MWASUMBI, L., HÆGGSTROM, C.-A., VUORELA, H., HILTUNEN, R., VUORELA, P. Ethnobotanical and antimicrobial investigation on some species of *Terminalia* and *Combretum* (Combretaceae) growing in Tanzania. **J. Ethnopharmacol.**, 79: 169–177, 2002.
- GACHKAR, L., YADEGARI, D., REZAEI, M. B., TAGHIZADEH, M., ASTANEH, S. A., RASOOLI, I. Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. **Food Chem.**, 102: 898–904, 2007.
- GALVÁN, B., MARISCAL, F. Epidemiología de la candidemia en UCI. **Rev. Iberoam. Micol.**, 23: 12-15, 2006.
- GASPAR-MARQUES, C., RIJO, P., SIMÕES M. F., DUARTE, M. A., RODRIGUEZ, B. Abietanes from *Plectranthus grandidentatus* and *P. hereroensis* against methicillin- and vancomycin-resistant bacteria. **Phytomedicine**, 13: 267–271, 2006.
- GASPI, F. O. G., FOGLIO, M. A., CARVALHO, J. E., MORENO, R. A. Pharmacological activities investigation of crude extracts and fractions from *Qualea grandiflora* Mart. **J. Ethnopharmacol.**, 107: 19–24, 2006.
- GBAGUIDI, F., ACCROMBESSI, G., MOUDACHIROU, M., QUETIN-LECLERCQ, J. HPLC quantification of two isomeric triterpenic acids isolated from *Mitracarpus scaber* and antimicrobial activity on *Dermatophilus congolensis*. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, 39: 990–995, 2005.
- GERTSCH, J., GERTSCH-ROOST, K., NIOMAWË, STICHER, O. *Phyllanthus piscatorum*, ethnopharmacological studies on a women's medicinal plant of the Yanomami Amerindians. **J. Ethnopharmacol.**, 91: 181–188, 2004.
- GOULART, Y. C. F., MARTINS, J. V. C., SANTOS, A. R., MOREIRA, L. Y., CALIXTO, J. B., CORTEZ, D. A. G., AUDI, E. A. Involvement of Serotonin in the

- Antidepressant-like Effect of Extract from *Kielmeyera coriacea* Stems. **Pharm. Biol.**, 45(3): 169-175, 2007.
- GULLUCE, M., SAHIN, F., SOKMEN, M., OZER, H., DAFERERA, D., SOKMEN, A., POLISSIOU, M., ADIGUZEL, A., OZKAN, H. Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Mentha longifolia* L. ssp. *longifolia*. **Food Chem.**, 103(4): 1449-1456, 2007.
- GUPTA, A. K., RYDER, J. E., CHOW, M., COOPER, E. A. Dermatophytosis: The Management of Fungal Infections. **Skinmed.** 4(5): 305-310, 2005.
- GURGEL, L. A., SIDRIM, J. J. C., MARTINS, D. T., CECHINEL FILHO, V., RAO, V. S. In vitro antifungal activity of dragon's blood from *Croton urucurana* against dermatophytes. **J. Ethnopharmacol.**, 9: 409-412, 2005.
- GURIB-FAKIM, A. Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. **Mol. Asp. Med.**, 27: 1-93, 2006.
- GUTIÉRREZ, J., MORALES, P., GONZÁLEZ, M. A., Quindós, G. *Candida dubliniensis*, a new fungal pathogen. **J. Basic. Microbiol.**, 42(3): 207-227, 2002.
- HAC-WYDRO, K., KAPUSTA, J., JAGODA, A., WYDRO, P., DYNAROWICZ-ŁATKA, P. The influence of phospholipid structure on the interactions with nystatin, a polyene antifungal antibiotic A Langmuir monolayer study. **Chem. Phys. Lipids**, 150: 125-135, 2007.
- HADACEK, F., GREGER, H. Testing of Antifungal Natural Products: Methodologies, Comparability of Results and Assay Choice. **Phytochem. Anal.**, 11: 137-147, 2000.
- HAINER, B. L. Dermatophyte Infections. **Am. Fam. Physician**, 67(1): 101-108, 2003.
- HARRIES, M. J., LEAR, J. T. Occupational skin infections. **Occup. Med.**, 54: 441-449, 2004.
- HAY, R. J. The management of superficial candidiasis. **J. Am. Acad. Dermatol.**, 40: 35-42, 1999.
- HAY, R. J. Fungal infections. **Clin. Dermatol.**, 24: 201-212, 2006.

- HIRUMA-LIMA, C. A., SANTOS, L. C., KUSHIMA, H., PELLIZZON, C. H., SILVEIRA, G. G., VASCONCELOS, P. C. P., VILEGAS, W., SOUZA BRITO, A. R. M. *Qualea grandiflora*, a Brazilian "Cerrado" medicinal plant presents an important antiulcer activity. **J. Ethnopharmacol.**, 104: 207–214, 2006a.
- HIRUMA-LIMA, C. A., CALVO, T. R., RODRIGUES, C. M., ANDRADE, F. D. P., VILEGAS, W., SOUZA BRITO, A. R. M. Antiulcerogenic activity of *Alchornea castaneaefolia*: Effects on somatostatin, gastrin and prostaglandin. **J. Ethnopharmacol.**, 104: 215–224, 2006b.
- HOBSON, R. P. The global epidemiology of invasive *Candida* infections - is the tide turning? **J. Hosp. Infect.**, 55: 159–168, 2003.
- HOLETZ, F. B., PESSINI, G. L., SANCHES, N. R., CORTEZ, D. A. G., NAKAMURA, C. V., DIAS FILHO, B. P. Screening of Some Plants Used in the Brazilian Folk Medicine for the Treatment of Infectious Diseases. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, 97(7): 1027-1031, 2002.
- HOWARD, S. J., WEBSTER, I., MOORE, C. B., GARDINER, R. E., PARK, S., PERLIN, D. S., DENNING, D. W. Multi-azole resistance in *Aspergillus fumigatus*. **Int. J. Antimicrob. Agents**, 28: 450–453, 2006.
- IORIS, E. Plantas medicinais do Cerrado 1999. 1ª Ed. Editora FIMES. 1999
- IROBI, O. N., DARAMOLA, S. O. Antifungal activities of crude extracts of *Mitracarpus villosus* (Rubiaceae). **J. Ethnopharmacol.**, 40: 137-140, 1993.
- ISHIDA, K., MELLO, J. C. P., CORTEZ, D. A. G., DIAS FILHO, B. P., UEDA-NAKAMURA, T., NAKAMURA, C. V. Influence of tannins from *Stryphnodendron adstringens* on growth and virulence factors of *Candida albicans*. **J. Antimicrob. Chemother.**, 58(5): 942-949, 2006.
- JELLER, A. H., SILVA, D. H. S., LIÃO, L. M., BOLZANI, V. S., FURLAN, M. Antioxidant phenolic and quinonemethide triterpenes from *Cheiloclinium cognatum*. **Phytochemistry**, 65: 1977–1982, 2004.
- JOHANN, S., PIZZOLATTI, M. G., DONNICI, C. L., DE RESENDE, M. A. Antifungal properties of plants used in Brazilian traditional medicine against clinically relevant fungal pathogens. **Braz. J. Microbiol.**, 38(4): 632-637, 2007.

- JOVEL, E. M., CABANILLAS, J., TOWERS, G. H. N. An ethnobotanical study of the traditional medicine of the Mestizo people of Suni Mirafio, Loreto, Peru. **J. Ethnopharmacol.**, 53: 149-156, 1996.
- KARACA, N., KOÇ, A. N. In vitro susceptibility testing of dermatophytes: comparison of disk diffusion and reference broth dilution methods. **Diagn. Microbiol. Infect. Dis.**, 48: 259–264, 2004.
- KAUFFMAN, C. A. Fungal Infections. **Proc. Am. Thorac. Soc.**, 3: 35–40, 2006a.
- KAUFFMAN, C. A. Clinical efficacy of new antifungal agents. **Curr. Op. Microb.**, 9: 483–488, 2006b.
- KELMANSON, J. E., JAGER, A. K., VAN STADEN, J. Zulu medicinal plants with antibacterial activity. **J. Ethnopharmacol.**, 69: 241–246, 2000.
- KENMA, M. E., ELEWSKI, B. E. A. U.S. epidemiologic fungal diseases. **J. Am. Acad. Dermatol.**, 35: 539-42, 1996.
- KLINK, C.A., MACHADO, R.B. A conservação do Cerrado brasileiro. **Megadiversidade**, 1: 147-155, 2005.
- KOEHN, F. E., CARTER, G. T. The evolving role of natural products in drug Discovery. **Nat. Rev. Drug Discov.**, 4(3): 206-220, 2005.
- KONTOYIANNIS, D. P., LEWIS, R. E. Antifungal drug resistance of pathogenic fungi. **Lancet**, 359: 1135–44, 2002.
- KUÇUK, M., KOLAYLI, S., KARAOGLU, S., ULUSOY, E., BALTACI, C., CANDAN, F. Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. **Food Chem.**, 100: 526–534, 2007.
- KUETE, V., TANGMOUOB, J. G., PENLAP BENGA, V., NGOUNOUB, F. N., LONTSI, D. Antimicrobial activity of the methanolic extract from the stem bark of *Tridesmostemon omphalocarpoides* (Sapotaceae). **J. Ethnopharmacol.**, 104: 5–11, 2006.
- KUETE, V., KOMGUEM, J., BENG, V. P., MELI, A. L., TANGMOUO, J. G., ETOA, F.-X., LONTSI, D. Antimicrobial components of the methanolic extract from the

- stem bark of *Garcinia smeathmannii* Oliver (Clusiaceae). **S. Afr. J. Bot.**, 73(3): 347-354, 2007a.
- KUETE, V., SIMO, I. K., NGAMENIB, B., BIGOGA, J. D., WATCHUENG, J., KAPGUEPA, R. N., ETOA, F.-X., TCHALEU, B. N., PENLAP, V. Antimicrobial activity of the methanolic extract, fractions and four flavonoids from the twigs of *Dorstenia angusticornis* Engl. (Moraceae). **J. Ethnopharmacol.**, 112: 271–277, 2007b.
- KUETE, V., METUNO, R., NGAMENI, B., TSAFACK, A. M., NGANDEU, F., FOTSO, G.W., BEZABIH, M., ETOA, F. X., NGADJUI, B. T., ABEGAZ, B. M., BENG, V. P. Antimicrobial activity of the methanolic extracts and compounds from *Treculia obovoidea* (Moraceae). **J. Ethnopharmacol.**, 112(3): 531-536, 2007c.
- LANGFIELD, R. D., SCARANO, F. J., HEITZMAN, M. E., KONDO, M., HAMMOND, G. B., NETO, C. C. Use of a modified microplate bioassay method to investigate antibacterial activity in the Peruvian medicinal plant *Peperomia galioides*. **J. Ethnopharmacol.**, 94: 279–281, 2004.
- LEITE, S. P., VIEIRA, J. R. C., MEDEIROS, P. L., LEITE, R. M. P., LIMA, V. L. M., XAVIER, H. S., LIMA, E. O. Antimicrobial Activity of *Indigofera suffruticosa*. **Evid. Based Complement. Alternat. Med.**, 3(2): 261–265, 2006.
- LEMOS, J. A., PASSOS, X. S., FERNANDES, O. F. L., PAULA, J. R., FERRI, P. H., SOUZA, L. K., LEMOS, A. A., SILVA, M. R. R. Antifungal activity from *Ocimum gratissimum* L. towards *Cryptococcus neoformans*. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, 100(1): 55-58, 2005.
- LENTA, B. N., WENIGER, B., ANTHEAUME, C., NOUNGOUE, D. T., NGOUELA, S., ASSOBO, J. C. N., VONTHRON-SÉNÉCHEAU, C., FOKOU, P. A., DEVKOTA, K. P., TSAMO, E., SEWALD, N. Anthraquinones from the stem bark of *Stereospermum zenkeri* with antimicrobial activity. **Phytochemistry**, 68: 1595–1599, 2007.
- LIMA, J. C. S., MARTINS, D. T. O., DE SOUZA JR., P. T. Experimental evaluation of stem bark of *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville for antiinflammatory activity. **Phytother. Res.**, 12(3): 218 – 220, 1998.
- LIMA, M. F. R., LUNA, J. S., DOS SANTOS, A. F., DE 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. **J. Ethnopharmacol.**, 105(1-2): 137-147, 2006.

- LIU, X.-T., SHI, Y., YU, B., WILLIAMS, I. D., SUNG, H. H., ZHANG, Q., LIANG, J.-Y., IP, N. Y., MIN, Z.-D. Antibacterial Diterpenoids from *Sagittaria pygmaea*. **Planta Med.**, 73: 84-90, 2007.
- LIU, Q., HARRINGTON, D., KOHEN, J. L., VEMULPAD, S., JAMIE, J. F. Bactericidal and cyclooxygenase inhibitory diterpenes from *Eremophila sturtii*. **Phytochemistry**, 67: 1256–1261, 2006.
- LOGNAY, G., MARLIER, M., SEVERIN, M., HAUBRUGE, E., GIBON, V., TREVEJO, E. On the characterization of some terpenes from *Renalmia alpinia* Rott. (Maas) oleoresin. **Flavour Fragrance J.**, 6(1): 87-91, 1991.
- LOPEZ, A., HUDSON, J. B., TOWERS, G. H. N. Antiviral and antimicrobial activities of Colombian medicinal plants. **J. Ethnopharmacol.**, 77: 189–196, 2001.
- LORENZI, H., MATOS, F. J. A. Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2002. 530 p.
- LU, M., NICOLETTI, M., BATTINELLI, L., MAZZANTI, G. Isolation of praeruptorins A and B from *Peucedanum praeruptorum* Dunn. and their general pharmacological evaluation in comparison with extracts of the drug. **Farmaco**, 56: 417–420, 2001.
- MACHADO, T. B., LEAL, I. C. R., AMARAL, A. C. F., SANTOS, K. R. N. DOS, SILVA, M. G. DA, KUSTER, R. M. Antimicrobial Ellagitannin of *Punica granatum* Fruits. **J. Braz. Chem. Soc.**, 13(5): 606-610, 2002.
- MACHADO, T. B., PINTO, A. V., PINTO, M. C. F. R., LEAL, I. C. R., SILVA, M. G., AMARAL, A. C. F., KUSTER, R. M., NETTO-DOSSANTOS, K. R. In vitro activity of Brazilian medicinal plants, naturally occurring naphthoquinones and their analogues, against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Int. J. Antimicrob. Agents**, 21: 279-284, 2003.
- MAERTENS, J., BOOGAERTS, M. The place for itraconazol in treatment. **J. Antimicrob. Chemother.**, 56(1): 33-38, 2005.
- MAIA, J. G. S., ANDRADE, E. H. A., CARREIRA, L. M. M., DA SILVA, M. H. L. Essential oil composition of *Renalmia alpinia* (Rottb.) Maas. **J. Essent. Oil-Bearing Plants**, 10(1): 10-14, 2007.
- MAJHENIC, L., SKERGET, M., KNEZ, Z. Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. **Food Chem.**, 104: 1258–1268, 2007.

- MALHEIROS, A., CECHINEL FILHO, V., SCHMITT, C. B., YUNES, R. A., ESCALANTE, A., SVETAZ, L., ZACCHINO, S., DELLE MONACHE, F. Antifungal activity of drimane sesquiterpenes from *Drimys brasiliensis* using bioassay-guided fractionation. **J. Pharm. Pharmaceut. Sci.**, 8(2): 335-339, 2005.
- MARTÍNEZ-VÁZQUEZ, M., GONZÁLEZ-ESQUINCA, A. R., CAZARES LUNA, L., MORENO GUTIÉRREZ, M. N., GARCÍA-ARGÁEZ, A. N. Antimicrobial activity of *Byrsonima crassifolia* (L.) H.B.K. **J. Ethnopharmacol.**, 66: 79-82, 1999.
- MARTINI, N. D., KATERERE, D. R. P., ELOFF, J. N. Biological activity of five antibacterial flavonoids from *Combretum erythrophyllum* (Combretaceae). **J. Ethnopharmacol.**, 93: 207-212, 2004.
- MASCHMEYER, G., HAAS, A. The epidemiology and treatment of infections in cancer patients. **Int. J. Antimicrob. Agents**, 31: 193-197, 2008.
- MATTA, D. A., ALMEIDA, L. P., MACHADO, A. M., AZEVEDO, A. C., KUSANO, E. J. U., TRAVASSOS, N. F., SALOMÃO, R., COLOMBO, A. L. Antifungal susceptibility of 1000 *Candida* bloodstream isolates to 5 antifungal drugs: results of a multicenter study conducted in São Paulo, Brazil, 1995-2003. **Diagn. Microbiol. Infect. Dis.**, 57: 399-404, 2007.
- MATTHEWS, R., BURNIE, J. The epidemiology and pathogenesis of candidiasis: applications in prevention and treatment. **Bull. Inst. Pasteur**, 96: 249-256, 1998.
- MATTOS, W. M., FERREIRA, J., RICETTI, G. P., NIERO, R., YUNES, R. A., CALIXTO, J. B. Antinociceptive properties produced by the pregnane compound velutinol A isolated from *Mandevilla velutina*. **Neuropeptides**, 40: 125-132, 2006.
- MAURY, C. M. (Org). Biodiversidade brasileira: avaliação e identificação de áreas ações prioritárias para a conservação, utilização sustentável e repartição dos benefícios da biodiversidade nos biomas brasileiros. MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE - MMA, DF. 2002. 404 p.
- MAZARO, R., DI STASI, L. C., KEMPINAS, V. G. Effects of the hydromethanolic extract of *Austroplenckia populnea* (Celastraceae) on reproductive parameters of male rats. **Contraception**, 66: 205-209, 2002.
- MELLADO, E., CUENCA-ESTRELLA, M., RODRÍGUEZ-TUDELA, J. L. Importancia clínica de los mecanismos de resistência de los hongos filamentosos a los antifúngicos. **Enferm. Infec. Microbiol. Clin.**, 20(10): 523-530, 2002.

- MELLO, J. P. DE, PETEREIT, F., NAHRSTEDT, A. Flavan-3-ols and prodelphinidins from *Stryphnodendron adstringens*. **Phytochemistry**, 41(3): 807-813, 1996.
- MELLO, J. P. DE, PETEREIT, F., NAHRSTEDT, A. A dimeric proanthocyanidin from *Stryphnodendron adstringens*. **Phytochemistry**, 51: 1105-1107, 1999.
- MENDONÇA, R. C., FELFILI, J. M., WALTER, B. M. T., SILVA JÚNIOR, M. C., REZENDE, A. V., FILGUEIRAS, T. S., NOGUEIRA, P. E. Flora vascular do Cerrado. p. 289-556. In: SANO, S.M., ALMEIDA, S.P. Cerrado, Ambiente e Flora. EMBRAPA CPAC, Planaltina-DF. Brasil. 1998.
- MENG, J. C., ZHU, Q. X., TAN, R. X. New antimicrobial mono- and sesquiterpenes from *Soro-seris hookeriana* subsp. *erysimoides*. **Planta Med.**, 66: 541-544, 2000.
- MESQUITA, M. L., DESRIVOT, J., BORRIES, C., FOURNET, A., DE PAULA, J. E., GRELLIER, P., ESPINDOLA, L. S. Antileishmanial and trypanocidal activity of Brazilian Cerrado plants. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, 100(7): 783-787, 2005a.
- MESQUITA, M. L., GRELLIER, P., BLOND, A., BROUARD, J.-P., DE PAULA, J. E., ESPINDOLA, L. S., MAMBU, L. New ether diglycosides from *Matayba guianensis* with antiplasmodial activity. **Bioorg. Med. Chem.**, 13: 4499-4506, 2005b.
- MESQUITA, M. L., GRELLIER, P., MAMBU, L., DE PAULA, J. E., ESPINDOLA, L. S. *In vitro* antiplasmodial activity of Brazilian Cerrado plants used as traditional remedies. **J. Ethnopharmacol.**, 110: 165-170, 2007.
- MISTRY, J. Fire in the cerrado (savannas) of Brazil: an ecological review. **Progr. Phys. Geogr.**, 22(4): 425-448, 1998.
- MORENO, M. I. N., ISLA, M. I., CUDMANI, N. G., VATTUONE, M. A., SAMPIETRO, A. R. Screening of antibacterial activity of *Amaicha del Valle* (Tucumán, Argentina) propolis. **J. Ethnopharmacol.**, 68: 97-102, 1999.
- MOUSTAFA, A. M. Y. Chemical composition and antifungal activity of the essential oil of *Schinus terebenthifolius* of Egyptian origin. **Int. J. Essent. Oil Therapeutics**, 1(2): 91-95, 2007.
- MUHAMMAD, I., CHUCK DUNBAR, D., TAKAMATSU, S., WALKER, L. A., CLARK, A. M. Antimalarial, cytotoxic, and antifungal alkaloids from *Duguetia hadrantha*. **J. Nat. Prod.**, 64: 559-562, 2001.

- MUKHTAR, M., ARSHAD, M., AHMAD, M., POMERANTZ, R. J., WIGDAHL, B., PARVEEN, Z. Antiviral potentials of medicinal plants. **Virus Res.**, 131: 111–120, 2008.
- MURTHY, M. M., SUBRAMANYAMA, M., M., BINDUB, M. H., ANNAPURNA, J. Antimicrobial activity of clerodane diterpenoids from *Polyalthia longifolia* seeds. **Fitoterapia**, 76: 336–339, 2005.
- MURTHY, M. M., SUBRAMANYAMA, M., GIRIDHAR, K. V., ANNAPURNA, J. Antimicrobial activities of bharangin from *Premna herbaceae* Roxb. and bharangin monoacetate. **J. Ethnopharmacol.**, 104: 290–292, 2006.
- MYERS, N., MITTERMEIER, R. A., MITTERMEIER, C. G., FONSECA, G. A. B., KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, 403: 853-858, 2000.
- NAGLIK, J., ALBRECHT, A., BADER, O., HUBE, B. *Candida albicans* proteinases and host/pathogen interactions. **Cell. Microbiol.**, 6(10): 915–926, 2004.
- NAPOLITANO, D. R., MINEO, J. R., DE SOUZA, M. A., DE PAULA, J. E., ESPINDOLA, L.S., ESPINDOLA, F. S. Down-modulation of nitric oxide production in murine macrophages treated with crude plant extracts from the Brazilian Cerrado – **J. Ethnopharmacol.**, 99: 37–41, 2005.
- NAVICKIENE, H. M. D., MORANDIM, A. A., ALÉCIO, A. C., REGASINI, L. O., BERGAMO, D. C. B., TELASCREA, M., CAVALHEIRO, A. J., LOPES, M. N., BOLZANI, V. S., FURLAN, M., MARQUES, M. O. M., YOUNG, M. C. M., KATO, M. J. Composition and antifungal activity of essential oils from *Piper aduncum*, *Piper arboreum* and *Piper tuberculatum*. **Quim. Nova**, 29(3): 467-470, 2006.
- NCCLS. Performed Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. Approved Standard – 8 ed. NCCLS document M2-A8, Wayne, PA, 2003.
- NDIP, R. N., TARKANG, A. E. M., MBULLAH, S. M., LUMAB, H. N., MALONGUE, A., NDIP, L. M., NYONGBELA, K., WIRMUMD, C., EFANGE, S. M. N. *In vitro* anti-*Helicobacter pylori* activity of extracts of selected medicinal plants from North West Cameroon. **J. Ethnopharmacol.**, 114: 452–457, 2007.
- NEWMAN, D. J., CRGG, G. M., SNADER, K. M., Natural Products as Sources of New Drugs over the Period 1981-2002. **J. Nat. Prod.**, 66: 1022-1037, 2003.

- NOLDIN, V. F., ISAIAS, D. B., CECHINEL FILHO, V. Gênero *calophyllum*: importância química e farmacológica. **Quim. Nova**, 29(3): 549-554, 2006.
- OBERLIES, N. H., KROLL, D. J. Camptothecin and Taxol: Historic Achievements in Natural Products Research. **J. Nat. Prod.**, 67(2): 129-135, 2004.
- OBICI, S., OTOBONE, F. J., SELA, V. R. S., ISHIDA, K., SILVA, J. C. DA, NAKAMURA, C. V., CORTEZ, D. A. G., AUDI, E. A. Preliminary toxicity study of dichloromethane extract of *Kielmeyera coriacea* stems in mice and rats. **J. Ethnopharmacol.**, 115: 131–139, 2008.
- ODDS, F. C. Antifungal agents: their diversity and increasing sophistication. **Mycologist**, 17(2): 51-55, 2003.
- OGUNDIPE, O. O., MOODY, J. O., HOUGHTON, P. J., ODELOLA, H. A. Bioactive chemical constituents from *Alchornea laxiflora* (Benth) Pax and Hoffman. **J. Ethnopharmacol.**, 74: 275–280, 2001.
- OLIVEIRA, P. S., MARQUIS, R. J. The Cerrados of Brazil: ecology and natural history of a neotropical savanna. Nova Iorque: Columbia University Press, 2002. 398 p.
- OLIVEIRA, D. R., LEITÃO, G. G., SANTOS, S. S., BIZZO, H. R., LOPES, D., ALVIANO, C. S., ALVIANO, D. S., LEITÃO, S. G. Ethnopharmacological study of two *Lippia* species from Oriximiná, Brazil. **J. Ethnopharmacol.**, 108: 103–108, 2006.
- OLIVEIRA, D. R., LEITÃO, G. G., BIZZO, H. R., LOPES, D., ALVIANO, D. S., ALVIANO, C. S., LEITÃO, S. G. Chemical and antimicrobial analyses of essential oil of *Lippia origanoides* H.B.K. **Food Chem.**, 101: 236–240, 2007.
- OLIVEIRA, H.C., DOS SANTOS, M.P., GRIGULO, R., LIMA, L. L., MARTINS, D. T., LIMA, J. C., STOPPIGLIA, L. F., LOPES, C. F., KAWASHITA, N.H. Antidiabetic activity of *Vatairea macrocarpa* extract in rats. **J. Ethnopharmacol.**, 115(3): 515-519, 2008.
- OLIVEIRA-FILHO, E. C., LIMA, J. E. F. W. Impacto da agricultura sobre os recursos hídricos na região do cerrado. Planaltina, DF: Embrapa cerrados, 2002.
- OMAR, S., LEMONNIER, B., JONES, N., FICKER, C., SMITH, M. L., NEEMA, C., TOWERS, G. H. N., GOEL, K., ARNASON, J. T. Antimicrobial activity of extracts

- of eastern North American hardwood trees and relation to traditional medicine. **J. Ethnopharmacol.**, 73: 161–170, 2000.
- ORABI, K. Y., AL-QASOUMI, S. I., EL-OLEMY, M. M., MOSSA, J. S., MUHAMMAD, I. Dihydroagarofuran alkaloid and triterpenes from *Maytenus heterophylla* and *Maytenus arbutifolia*. **Phytochemistry**, 58: 475–480, 2001.
- OTSHUDI, A. L., APERS, S., PIETERS, L., CLAEYS, M., PANNECOUQUE, C., DE CLERCQ, E., VAN ZEEBROECK, A., LAUWERS, S., FRÉDÉRICH, M., FORIERS, A. Biologically active bisbenzylisoquinoline alkaloids from the root bark of *Epinetrum villosum*. **J. Ethnopharmacol.**, 102: 89–94, 2005.
- OWEN, R. J., PALOMBO, E. A. Anti-listerial activity of ethanolic extracts of medicinal plants, *Eremophila alternifolia* and *Eremophila duttonii*, in food homogenates and milk. **Food Control**, 18: 387–390, 2007.
- OZKUTUK, A., ERGON, C., YULUG, N. Species distribution and antifungal susceptibilities of dermatophytes during a one year period at a university hospital in Turkey. **Mycoses**, 50: 125–129, 2007.
- PAIVA, S. R., FIGUEIREDO, M. R., ARAGÃO, T. V., KAPLAN, M A. C. Antimicrobial Activity in Vitro of Plumbagin Isolated from *Plumbago* Species. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, 98(7): 959-961, 2003.
- PANASITI, V., DEVIRGILIIS, V., BORRONI, R. G., MANCINI, M., CURZIO, M., ROSSI, M., BOTTONI, U., CALVIERI, S. Epidemiology of dermatophytic infections in Rome, Italy: a retrospective study from 2002 to 2004. **Med. Mycol.**, 45(1): 57-60, 2007.
- PANG, K. P., WU, J. J., HUANG, D. B., TYRING, S. K. Subcutaneous fungal infections. **Dermatol. Ther.**, 17: 523 –531, 2004.
- PARK, B.-S., LEE, K.-G., SHIBAMOTO, T., LEE, S.-U., TAKEOKA, G. R. Antioxidant Activity and Characterization of Volatile Constituents of Taheebo (*Tabebuia impetiginosa* Martius ex DC). **J. Agric. Food Chem.**, 51: 295-300, 2003.
- PARK, B.-S., LEE, H.-K., LEE, S.-U., PIAO, X.-L. TAKEOKA, G. R., WONG, R. Y., AHNA, Y.-J., KIMA, J.-H. Antibacterial activity of *Tabebuia impetiginosa* Martius ex DC (Taheebo) against *Helicobacter pylori*. **J. Ethnopharmacol.**, 105: 255–262, 2006.

- PASSOS, X. S., SANTOS, S. C., FERRI, P. H., FERNANDES, O. F. L., PAULA, T. F., GARCIA, A. C. F., SILVA, M. R. R. Antifungal activity of *Caryocar brasiliensis* (Caryocaraceae) against *Cryptococcus neoformans*. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, 35(6): 623-627, 2002.
- PATERSON, I., ANDERSON, E. A. The Renaissance of Natural Products as Drug Candidates. **Science**, 310(5747): 451-453, 2005.
- PAULETTI, P. M., ARAÚJO, A. R., YOUNG, M. C. M., GIESBRECHT, A. M., BOLZANI, V. S. nor-Lignans from the leaves of *Styrax ferrugineus* (Styracaceae) with antibacterial and antifungal activity. **Phytochemistry**, 55: 597-601, 2000.
- PAULI, A. Anticandidal Low Molecular Compounds from Higher Plants with Special Reference to Compounds from Essential Oils. **Med. Res. Rev.**, 26(2): 223-268, 2006.
- PAULO, M. Q., BARBOSA-FILHO, J. M., LIMA, E. O., MAIA, R. F., BARBOSA, R. C. B. B. C., KAPLAN, M. A. C. Antimicrobial activity of benzyloisoquinoline alkaloids from *Annona salzmanii* D.C. **J. Ethnopharmacol.**, 36: 39-41, 1992.
- PAUW, B. E. New antifungal agents and preparations. **Int. J. Antimicrob. Agents**, 16: 147-150, 2000.
- PEGNYEMB, D. E., MBING, J. N., ATCHADÉ, A. T., TIH, R. G., SONDEGAM, B. L., BLOND, A., BODO, B. Antimicrobial biflavonoids from the aerial parts of *Ouratea sulcata*. **Phytochemistry**, 66: 1922-1926, 2005.
- PEREIRA, E. M., MACHADO, T. B., LEAL, I. C. R., JESUS, D. M., DAMASO, C. R. A., PINTO, A. V., GIAMBIAGI-DEMARVAL, M., KUSTER, R. M., DOS SANTOS, K. R. N. *Tabebuia avellanedae* naphthoquinones: activity against methicillin-resistant staphylococcal strains, cytotoxic activity and *in vivo* dermal irritability analysis. **Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.**, 5: 5, 2006.
- PESSINI, G. L., DIAS FILHO, B. P., NAKAMURAB, C. V., CORTEZ, D. A. G. Antifungal activity of the extracts and neolignans from *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. var. *pallescens* (C. DC.) Yunck. **J. Braz. Chem. Soc.**, 16 (6A): 1130-1133, 2005.
- PETRIKKOS, G., SKIADA, A. Recent advances in antifungal chemotherapy. **Int. J. Antimicrob. Agents**, 30: 108-117, 2007.

- PFALLER, M. A., SUTTON, D. A. Review of in vitro activity of sertaconazole nitrate in the treatment of superficial fungal infections. **Diagn. Microbiol. Infect. Dis.**, 56: 147–152, 2006.
- PIETERS, L., VLIETINCK, A. J. Bioguided isolation of pharmacologically active plant components, still a valuable strategy for the finding of new lead compounds? **J. Ethnopharmacol.**, 100: 57–60, 2005.
- PINHEIRO, L., CORTEZ, D. A. G. Estudo fitoquímico e avaliação da atividade moluscicida da *Kielmeyera variabilis* Mart. (Clusiaceae). **Quim. Nova**, 26(2): 157–160, 2003.
- PINTO, N. (Org.). Cerrado: caracterização, ocupação e perspectivas. 2 ed. Brasília, DF, Brasil: Editora Universidade de Brasília / SEMATEC, 1994, v. 1, p. 405-431.
- PROESTOS, C., BOZIARIS, I. S., NYCHAS, G.-J. E., KOMAITIS, M. Analysis of flavonoids and phenolic acids in Greek aromatic plants: Investigation of their antioxidant capacity and antimicrobial activity. **Food Chem.**, 95: 664–671, 2006.
- RABE, T., STADEN, J. Isolation of an antibacterial sesquiterpenoid from *Warburgia salutaris*. **J. Ethnopharmacol.**, 73: 171–174, 2000.
- RABE, T., MULLHOLLAND, D., VAN STADEN, J. Isolation and identification of antibacterial compounds from *Vernonia colorata* leaves. **J. Ethnopharmacol.**, 80: 91-94, 2002.
- RADULOVIC, N., STANKOV-JOVANOVIC, V., STOJANOVIC, G., SMELCEROVIC, A., SPITELLER, M., ASAKAWA, Y. Screening of in vitro antimicrobial and antioxidant activity of nine Hypericum species from the Balkans. **Food Chem.**, 103(1): 15-21, 2007.
- RAHMAN, M. M., GRAY, A. I. Antimicrobial constituents from the stem bark of *Feronia limonia*. **Phytochemistry**, 59: 73–77, 2002.
- RAHMAN, M. M., GRAY, A. I. A benzoisofuranone derivative and carbazole alkaloids from *Murraya koenigii* and their antimicrobial activity. **Phytochemistry**, 66: 1601–1606, 2005.
- RATTER, J. A., RIBEIRO, J. F, BRIDGEWATER, S. The brazilian Cerrado vegetation and threats to its biodiversity. **Ann. Bot.**, 80: 223-230, 1997.

- REBECCA, M. A., ISHII-IWAMOTO, E. L., GRESPAN, R., CUMAN, R. K. N., CAPARROZ-ASSEF, S. M., PALAZZO DE MELLO, J. C., BERSANI-AMADO, C. A. Toxicological studies on *Stryphnodendron adstringens*. **J. Ethnopharmacol.**, 83: 101-104, 2002.
- RIBEIRO, J.F.; WALTER, B.M.T. Fitofisionomias do Bioma Cerrado. In Cerrado: Ambiente e Flora. Planaltina: EMPRAPA-CPAC, 1998. pp. 89-166.
- RICHARDSON, M. D. Changing patterns and trends in systemic fungal infections. **J. Antimicrob. Chemother.**, 56(1): 5-11, 2005.
- RIOS, J. L., RECIO, M. C. Medicinal plants and antimicrobial activity. **J. Ethnopharmacol.**, 100: 80-84, 2005.
- RODRÍGUEZ, F. M., LÓPEZ, M. R., JIMÉNEZ, I. A., MOUJIR, L., RAVELO, A. G., BAZZOCCHI, I. L. New phenolic triterpenes from *Maytenus blepharodes*. Semisynthesis of 6-deoxoblepharodol from pristimerin. **Tetrahedron**, 61: 2513–2519, 2005.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Assessment of the provitamin A contents of foods – the Brazilian experience. **J. Food Compos. Anal.**, 9: 196-230, 1996.
- ROESLER, R., CATHARINO, R. R., MALTA, L. G., EBERLIN, M. N., PASTORE, G. Antioxidant activity of *Annona crassiflora*: Characterization of major components by electrospray ionization mass spectrometry. **Food Chem.**, 104: 1048–1054, 2007a.
- ROESLER, R., MALTA, L. G., CARRASCO, L. C., HOLANDA, R. B., SOUSA, C. A. S., PASTORE, G. M. Antioxidant activity of cerrado fruits. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, 27(1): 53-60, 2007b.
- RUIZ, L. R. B., ZAITZ, C. Dermatophytes and dermatophytosis in the city of São Paulo, from August 1996 to July 1998. **An. Bras. Dermatol.**, 76(4): 391-401, 2001.
- RUKACHAISIRIKUL, T., INNOK, P., AROONRERK, N., BOONAMNUAYLAP, W., LIMRANGSUN, S., BOONYON, C., WOONJINA, U., SUKSAMRARN, A. Antibacterial Pterocarpanes from *Erythrina subumbrans*. **J. Ethnopharmacol.**, 110: 171–175, 2007.

- SABLE, C. A., STROHMAIER, K. M., CHODAKEWITZ, J. A. Advances in Antifungal Therapy. **Annu. Rev. Med.**, 59: 361–79, 2008.
- SAIDANA, D., MAHJOUR, M. A., BOUSSAADA, O., CHIRIAA, J., CHERAIF, I., DAAMI, M., MIGHRI, Z., HELAL, A. N. Chemical composition and antimicrobial activity of volatile compounds of *Tamarix boveana* (Tamaricaceae). **Microbiol. Res.**, 2007. [Epub ahead of print]
- SAKAGAMI, Y., KAJIMURA, K., WIJESINGHE, W. M. N. M., DHARMARATNE, H. R. W. Antibacterial activity of calozeyloxanthone isolated from *Calophyllum* species against Vancomycin-Resistant *Enterococci* (VRE) and synergism with antibiotics. **Planta Med.**, 68: 541-543, 2002.
- SANCHES, A. C. C., LOPES, G. C., NAKAMURA, C. V., DIAS FILHO, B. P., MELLO, J. C. P. Antioxidant and antifungal activities of extracts and condensed tannins from *Stryphnodendron obovatum* Benth. **Rev. Bras. Cien. Farm.**, 41(1): 101-107, 2005.
- SANNOMIYA, M., Fonseca, V. B., da Silva, M. A., Rocha, L. R. M., dos Santos, L. C., Hiruma-Lima, C. A., Souza Brito, A.R.M., Vilegas, W. Flavonoids and antiulcerogenic activity from *Byrsonima crassa* leaves extracts **J. Ethnopharmacol.**, 97: 1–6, 2007a.
- SANNOMIYA, M., CARDOSO, C. R. P., FIGUEIREDO, M. E., RODRIGUES, C. M., DOS SANTOS, L. C., DOS SANTOS, F. V., SERPELONI, J. M., CÓLUS, I. M. S., VILEGAS, W., VARANDA, E. A. Mutagenic evaluation and chemical investigation of *Byrsonima intermédia* A. Juss. leaf extracts **J. Ethnopharmacol.**, 112: 319–326, 2007b.
- SANO, E. E., BEZERRA, H. S., BARCELLOS, A. O., ROSA R. Metodologias para mapeamento de pastagens degradadas no cerrado. Planaltina, DF: Embrapa cerrados, 2002.
- SANTOS, J. I. dos, NEGRI, C. M., WAGNER, D. C., PHILIPI, R., NAPPI, B. P., COELHO, M. P. Some aspects of dermatophytoses seen at University Hospital in Florianópolis, Santa Catarina, Brazil. **Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo**, 39 (3), 1997.
- SANTOS, J. I. DOS, COELHO, M. P. P., NAPPI, B. P. Dermatophytosis' laboratorial diagnosis. **Rev. Bras. Anál. Clín.**, 34(1): 3-6, 2002.

- SANTOS, M. D., GOBBO-NETO, L., ALBARELLA, L., SOUZA, G. E. P., LOPES, N. P. Analgesic activity of di-caffeoylquinic acids from roots of *Lychnophora ericoides* (Arnica da serra). **J. Ethnopharmacol.**, 96: 545–549, 2005.
- SANTOS, F. V., COLUS, I. M. S., SILVA, M. A., VILEGAS, W., VARANDA, E.A. Assessment of DNA damage by extracts and fractions of *Strychnos pseudoquina*, a Brazilian medicinal plant with antiulcerogenic activity. **Food Chem. Toxicol.**, 44: 1585–1589, 2006.
- SATHIAMOORTHY, B., GUPTA, P., KUMAR, M., CHATURVEDI, A. K., SHUKLAB, P. K., MAURYA, R. New antifungal flavonoid glycoside from *Vitex negundo*. **Bioorg. Med. Chem. Lett.**, 17: 239–242, 2007.
- SATO, Y., SUZAKI, S., NISHIKAWA, T., KIHARA, M., SHIBATA, H., HIGUTI, T. Phytochemical flavones isolated from *Scutellaria barbata* and antibacterial activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **J. Ethnopharmacol.**, 72: 483–488, 2000.
- SCHALLER, M., BORELLI, C., KORTING, H. C., HUBE, B. Hydrolytic enzymes as virulence factors of *Candida albicans*. **Mycoses**, 48: 365–377, 2005.
- SCHORR, K., GARCÍA-PINERES, A. J., SIEDLE, B., MERFORT, I., DA COSTA, F. B. Guaianolides from *Viguiera gardneri* inhibit the transcription factor NF-κB. **Phytochemistry**, 60: 733–740, 2002.
- SEGAL, E. *Candida*, still number one – what do we know and where are we going from there? **Mycoses**, 48: 3-11, 2005.
- SEITO, L. N., MAZARO, R., DI STASI, L. C. Antiulcerogenic and analgesic effects of the *Austroplenckia populnea* extracts in mice. **Phytother. Res.**, 16(2): 193-196, 2002.
- SERRA, C. P., CÔRTEZ, S. F., LOMBARDI, J. A., BRAGA DE OLIVEIRA, A., BRAGA, F. C. Validation of a colorimetric assay for the in vitro screening of inhibitors of angiotensin-converting enzyme (ACE) from plant extracts. **Phytomedicine**, 12(6-7): 424-32, 2005.
- SHAHVERDI, A. R., ABDOLPOUR, F., MONSEF-ESFAHANI, H. R., FARSAM, H. A TLC bioautographic assay for the detection of nitrofurantoin resistance reversal compound. **J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.**, 850(1-2): 528-530, 2007.

- SIDRIM, J. J. C., MOREIRA, J. L. B. Fundamentos clínicos e laboratoriais da micologia médica. 1. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. v. 1. 287 p.
- SILVA, O., DUARTE, A., CABRITA, J., PIMENTEL, M., DINIZ, A., GOMES, E. Antimicrobial activity of Guinea-Bissau traditional remedies. **J. Ethnopharmacol.**, 50: 55-59, 1996.
- SILVA, S. R., SILVA, A. P., MUNHOZ, C. B., SILVA JR., M. C., MEDEIROS, M. B. (Eds.). Guia de Plantas do Cerrado utilizadas na Chapada dos Veadeiros. Prática Gráfica e Editora Ltda. WWF, Brasil, 2001a. 132p.
- SILVA, M. V., COSTA, T. R., COSTA, M. R., FERREIRA, E. C., FERNANDES, O. F. L., SANTOS, S. C., LIÃO, L. M., FERRI, P. H., PAULA, J. R., FERREIRA, H. D., SILVA, M. R. R. Growth Inhibition Effect of Brazilian Cerrado Plant Extracts on *Candida* Species. **Pharm. Biol.**, 39(2): 138 - 141, 2001b.
- SILVA, M. R. R., OLIVEIRA JR, J. G., FERNANDES, O. F. L., PASSOS, X. S., COSTA, C. R., SOUZA, L. K. H., LEMOS, J. A., PAULA, J. R. Antifungal activity of *Ocimum gratissimum* towards dermatophytes. **Mycoses**, 48: 172–175, 2005.
- SILVA, T. M. S., DA SILVA, T. G., MARTINS, R. M., MAIA, G. L. A., CABRAL, A. G. S., CAMARA, C. A., AGRA, M. F., BARBOSA-FILHO, J. M. Molluscicidal activities of six species of Bignoniaceae from north-eastern Brazil, as measured against *Biomphalaria glabrata* under laboratory conditions. **Ann. Trop. Med. Parasit.**, 101(4): 359-365, 2007.
- SILVA JÚNIOR, M. C. 100 árvores do cerrado: guia de campo. Brasília: Rede de Sementes do Cerrado, 2005. 278p.
- SIQUEIRA, E. R., FERREIRA, J. C., MAFFEI, C. M. L., CANDIDO, R. C. Occurrence of dermatophyte, in nails, feet and hands of university students. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, 39(3): 269-271, 2006.
- SOARES, A. O., TIEPPO, C., GARCEZ, W. S., GARCEZ, F. R. IRIDÓIDES e triterpenos das cascas do caule de *Tabebuia caraiba* Bignoniaceae. 29 a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química - SBQ - 19 a 22 de maio de 2006.
- SOBEL, J. D., WIESENFELD, H. C., MARTENS, N. Maintenance fluconazole therapy for recurrent vulvovaginal candidiasis. **N. Engl. J. Med.**, 351: 876–883, 2004.

- SOBEL, J. D. Vulvovaginal candidosis. **Lancet**, 369: 1961–1971, 2007.
- 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. **Braz. J. Microbiol.**, 33: 247-249, 2002.
- SOUZA, L. K. H., OLIVEIRA, C. M. A., FERRI, P. H., OLIVEIRA JÚNIOR, J. G., SOUZA JÚNIOR, A. H., FERNANDES, O. F. L., SILVA, M. R. R. Antimicrobial activity of *Hyptis ovalifolia* towards dermatophytes. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, 98(7): 963-965, 2003.
- SOYSA, N. S., SAMARANAYAKE, L. P., ELLEPOLA, A. N. B. Cytotoxic drugs, radiotherapy and oral candidiasis. **Oral Oncol.**, 40: 971–978, 2004.
- STAVRI, M., MATHEW, K. T., GIBBONS, S. Antimicrobial constituents of *Scrophularia deserti*. **Phytochemistry**, 67: 1530–1533, 2006.
- STEIN, A. C., SORTINO, M., AVANCINI, C., ZACCHINO, S., VON POSER, G. Ethnoveterinary medicine in the search for antimicrobial agents: Antifungal activity of some species of *Pterocaulon* (Asteraceae). **J. Ethnopharmacol.**, 99: 211–214, 2005.
- STEIN, A. C., ÁLVAREZ, S., AVANCINI, C., ZACCHINO, S., VON POSER, G. Antifungal activity of some coumarins obtained from species of *Pterocaulon* (Asteraceae). **J. Ethnopharmacol.**, 107: 95–98, 2006.
- SULLIVAN D., COLEMAN, D. *Candida dubliniensis*: an emerging opportunistic pathogen. **Curr. Top. Med. Mycol.**, 8(1-2): 15-25, 1997.
- TADA, Y., SHIKISHIMA, Y., TAKAISHI, Y., SHIBATA, H., HIGUTI, T., HONDA, G., ITO, M., TAKEDA, Y., KODZHIMATOV, O. K., ASHURMETOV, O., OHMOTO, Y. Coumarins and g-pyrone derivatives from *Prangos pabularia*: antibacterial activity and inhibition of cytokine release. **Phytochemistry**, 59: 649–654, 2002.
- TANI, K., ADACHI, M., NAKAMURA, Y., KANO, R., MAKIMURA, K., HASEGAWA, A., KANDA, N., WATANABE, S. The effect of dermatophytes on cytokine production by human keratinocytes. **Arch. Dermatol. Res.**, 299(8): 381-387, 2007.

- THEVISSSEN, K., KRISTENSEN, H.-H., THOMMA, B. P. H. J., CAMMUE, B. P. A., FRANCOIS, I. E. J. A. Therapeutic potential of antifungal plant and insect defensins. **Drug Discov. Today**, 12(21-22): 966-971, 2007.
- THOUVENEL, C., GANTIER, J.-C., DURET, P., FOURNEAU, C., HOCQUEMILLER, R., FERREIRA, M.-E., ARIAS, A. R., FOURNET, A. Antifungal Compounds from *Zanthoxylum chiloperone* var. *angustifolium*. **Phytother. Res.**, 17: 678–680, 2003.
- TIRAPELLI, C. R., AMBROSIO, S. R., DA COSTA, F. B., DE OLIVEIRA, A. M. Inhibitory action of kaurenoic acid from *Viguiera robusta* (Asteraceae) on phenylephrine-induced rat carotid contraction. **Fitoterapia**, 73: 56-62, 2002.
- TSUKIYAMA, R.-I., KATSURA, H., TOKURIKI, N., KOBAYASHI, M. Antibacterial activity of Licochalcone A against spore-forming bacteria. **Antimicrob. Agents Chemother.**, 46(5): 1226–1230, 2002.
- TURCHIN, I., BARANKIN, B., ALANEN, K.W., SAXINGER, L. Dermacase: Edema, erythema, and a cutaneous lesion on the hand. **Canadian Family Physician**, 51: 499-501, 2005.
- TURKOGLU, A., DURU, M. E., MERCAN, N., KIVRAK, I., GEZER, K. Antioxidant and antimicrobial activities of *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill. **Food Chem.**, 101: 267–273, 2007.
- VENKATESAN, P., PERFECT, J. R., MYERS, S. Evaluation and management of Fungal infections in Immunocompromised patients. **Dermatol. Ther.**, 18: 44–57, 2005.
- VIEIRA, C. R., MARQUES, M. F., SOARES, P. R., MATUDA, L., DE OLIVEIRA, C. M. A., KATO, L., DA SILVA, C. C., GUILLO, L. A. Antiproliferative activity of *Pterodon pubescens* Benth. seed oil and its active principle on human melanoma cells. **Phytomedicine**, 2007. [Epub ahead of print]
- VUORELA, P., LEINONEN, M., SAIKKU, P., TAMMELA, P., RAUHA, J. P., WENNBERG, T., VUORELA, H. Natural products in the process of finding new drug candidates. **Curr. Med. Chem.**, 11(11): 1375-89, 2004.
- WAFFO, A. K., AZEBAZE, G. A., NKENGFACK, A. E., FOMUM, Z. T., MEYER, M., BODO, B., HEERDEN, F. R. Indicanines B and C, two isoflavonoid derivatives from the root bark of *Erythrina indica*. **Phytochemistry**, 53: 981-985, 2000.

- WARNOCK, D. W. Trends in the epidemiology of invasive fungal infections. **Jpn. J. Med. Mycol.**, 48: 1-12, 2007.
- WATSON, C., CALABRETTO, H. Management of recurrent vulvovaginal candidiasis: Comprehensive review of conventional and non-conventional methods of management of recurrent vulvovaginal candidiasis. **Aust. N. Z. J. Obstet. Gynaecol.**, 47: 262–272, 2007.
- WELLSOW, J., GRAYER, R. J., VEITCH, N. C., KOKUBUN, T., LELLI, R., KITE, G. C., SIMMONDS, M. S. J. Insect-antifeedant and antibacterial activity of diterpenoids from species of *Plectranthus*. **Phytochemistry**, 67: 1818–1825, 2006.
- WELSH, O., WELSH, E., OCAMPO-CANDIANI, J., GOMEZ, M., VERA-CABRERA, L. Dermatophytoses in Monterrey, México. **Mycoses**, 49: 119–123, 2006.
- WHITE, T. C., MARR, K. A., BOWDEN, R. A. Clinical, Cellular, and Molecular Factors That Contribute to Antifungal Drug Resistance. **Clin. Microbiol. Rev.**, 11(2): 382–402, 1998.
- WINGARD, J. R., LEATHER, H. A New Era of Antifungal Therapy. **Biol. Blood Marrow Transplant.**, 10: 73-90, 2004.
- WISPLINGHOFF, H., BISCHOFF, T., TALLENT, S. M., SEIFERT, H., WENZEL, R. P., EDMOND, M. B. Nosocomial Bloodstream Infections in US Hospitals: Analysis of 24,179 Cases from a Prospective Nationwide Surveillance Study. **Clin. Infect. Dis.**, 39: 309–17, 2004.
- WOODFOLK, J. A. Allergy and Dermatophytes. **Clin. Microbiol. Rev.**, 18(1): 30–43, 2005.
- YADEGARINIA, D., GACHKAR, L., REZAEI, M. B., TAGHIZADEH, M., ASTANEH, S. A., RASOOLI, I. Biochemical activities of Iranian *Mentha piperita* L. and *Myrtus communis* L. essential oils. **Phytochemistry**, 67: 1249–1255, 2006.
- YANG, S. W., ZHOU, B.-N., MALONE, S., WERKHOVEN, M. C. M., VAN TROON, F., WISSE, J. H., KINGSTON, D. G. I. A New Labdane Diterpenoid from *Renalmia alpinia* Collected in the Suriname Rainforest. **J. Nat. Prod.**, 62: 1173-1174, 1999.

- YASUNAKA, K., ABE, F., NAGAYAMA, A., OKABE, H., LOZADA-PÉREZ, L., LÓPEZ-VILLAFRANCO, E., MUNIZE, E. E., AGUILAR, A., REYES-CHILPA, R. Antibacterial activity of crude extracts from Mexican medicinal plants and purified coumarins and xanthenes. **J. Ethnopharmacol.**, 97: 293–299, 2005.
- YOKOSUKA, A., KAWAKAMI, S., HARAGUCHI, M., MIMAKI, Y. Stryphnosides A e F, six new triterpene glycosides from the pericarps of *Stryphnodendron fissuratum*. **Tetrahedron**, 64: 1474-1481, 2008.
- YU, J. Q., LIAO, Z. X., CAI, X. Q., LEI, J. C., ZOU, G. L. Composition, antimicrobial activity and cytotoxicity of essential oils from *Aristolochia mollissima*. **Environ. Toxicol. Pharmacol.**, 23: 162–167, 2007.
- ZAGOTO, J. N., BRACHT, A., PAGADIGORRIA, C. L. S., ISHII-IWAMOTO, E. L., CORTEZ, D. A. G., YAMAMOTO, N. S. Effects of the *Kielmeyera coriacea* extract on energy metabolism in the rat liver. **J. Ethnopharmacol.**, 105: 47–54, 2006.
- ZHOU, B.-N., BAJ, N. J., GLASS, T. E., MALONE, S., WERKHOVEN, M. C. C., VAN TROON, F., WISSE, J. H., KINGSTON, D. G. I. Bioactive Labdane Diterpenoids from *Renalmia alpinia* Collected in the Suriname Rainforest. **J. Nat. Prod.**, 60: 1287-1293, 1997.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)