

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**FACULDADE DE MEDICINA**  
**DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA**  
**MESTRADO EM FARMACOLOGIA CLÍNICA**

**HEBERT LIMA BATISTA**

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS VEGETAIS DE**  
**PLANTAS DO ESTADO DO TOCANTINS**

**FORTALEZA**  
**2008**

# **Livros Grátis**

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

Milhares de livros grátis para download.

**HEBERT LIMA BATISTA**

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS VEGETAIS DE PLANTAS DO  
ESTADO DO TOCANTINS**

*Dissertação submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, do Departamento de Fisiologia e Farmacologia, da Faculdade de Medicina, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Farmacologia Clínica.*

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Elisabete Amaral de Moraes

FORTALEZA  
2008

**HEBERT LIMA BATISTA**

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS VEGETAIS DE PLANTAS DO  
ESTADO DO TOCANTINS**

Dissertação submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, do Departamento de Fisiologia e Farmacologia, da Faculdade de Medicina, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Farmacologia Clínica

Data de Aprovação: 07/11/2008

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Maria Elisabete Amaral de Moraes (Orientadora)  
Universidade Federal do Ceará

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Francisca Cléa Florenço de Sousa  
Universidade Federal do Ceará

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Gisela Costa Camarão  
Universidade Federal do Ceará



*Dedico esta dissertação a todas as preciosidades  
que Deus me deu, meu pai, minha mãe,  
meus irmãos, minha esposa, meu filho,  
por todo amor e incentivo em  
todas as etapas importantes da minha vida.*

## AGRADECIMENTOS

Dirijo meus especiais agradecimentos àqueles que tornaram possível à realização deste trabalho:

A Deus, por estar sempre ao meu lado, dando-me forças para enfrentar todos os momentos dessa caminhada.

A Minha Mãe Maria do Carmo e Meu Pai Paulo, pelo carinho, apoio imensurável em cada situação difícil de nossas vidas, e pelo entusiasmo em cada conquista.

Aos meus amores, minha esposa Shirley “Amorzinho” e o nosso filho Heitor que motivou nos momentos difíceis desse trabalho me apoiando em tudo que fosse necessário.

Dra. Maria Elisabete Amaral de Moraes, minha orientadora, que apoiou-me na construção do saber científico e com muita paciência, por me atender pelo telefone e e-mails, devido à distância de Araguaína-To e Fortaleza-Ce.

Dr. Manoel Odorico de Moraes, pesquisador e pescador, por colaborar com seus ensinamentos enriquecedores, a sua alegria e as brincadeiras, sempre motivando e fazendo mostrar que o ambiente de trabalho deve ser de satisfação e prazeroso.

Dra. Gisela Costa Camarão, por sempre mostrar disponível para uma palavra de amizade e incentivo, colaborando com meu crescimento científico através do seu vasto conhecimento, de seu carisma e carinhos.

Professores do Curso de Pós-Graduação, por terem transmitido com muita sapiência seus conhecimentos.

Dr. Adriano Nunes Cunha, pela grande colaboração no desenvolvimento da metodologia de preparação dos extratos e análise química.

Dr. Osdimir Aparecido Bertolin, por ter cedido o seu laboratório de Microbiologia em Porto Nacional, ajudando na metodologia e experimentos, além de sermos colegas e idealizadores de um sonho que hoje já é realidade, a nossa Fundação de Medicina Tropical do Tocantins - FMT.

Ao Dr. Joenes Mucci Peluzo, pelo grande apoio na etapa de análises estatísticas e principalmente por desvendarmos os programas de estatística que nos não dominávamos completamente.

A Dra. Edeltrudes Lima, do Laboratório de Micologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade da Paraíba / João Pessoa por ter disponibilizado as cepas utilizadas nos experimentos.

Amigos da Unidade de Farmacologia Clínica, meu agradecimento a todos vocês por terem colaborado na minha pesquisa científica.

Colegas de Pós-Graduação, por termos, juntos, vencidos tantas disciplinas e provas com um saldo maravilhoso, que é nossa amizade.

Aos estagiários da Fundação de Medicina Tropical do Tocantins e da Universidade Federal do Tocantins, que nos auxiliaram no desenvolvimento das etapas de preparação dos materiais e coletas.

Ao Governo do Estado do Tocantins, que apoiou imensamente o sonho de uma instituição pública de pesquisa e ensino em saúde no Tocantins, visando o desenvolvimento técnico-científico da região, com o propósito de auxílio na resolução dos problemas de saúde do estado, hoje chamada Fundação de Medicina Tropical do Tocantins. Por ter viabilizado também a participação minha neste mestrado e no desenvolvimento desta pesquisa.

À FINEP, MCT, MS, CNPq, CAPES e Instituto Claude Bernard (InCB), pelo incentivo no desenvolvimento da pesquisa nacional.

*“A Pesquisa é como uma pescaria,  
onde você nunca pode garantir  
que vai pegar o peixe.  
Entretanto, se você não for pescar,  
nunca poderá pega-lo.”*

**Prof. Dr. Manoel Odorico de Moraes**

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

|        |   |
|--------|---|
| %      | Porcentagem   |
| ±      | mais ou menos   |
| µg/mL  | micrograma por mililitro  |
| mL     | Microlitro  |
| µm     | Micrômetro  |
| <      | Menor   |
| ≤      | Menor ou igual  |
| >      | Maior   |
| ≥      | Maior ou igual  |
| °C     | Grau Celsius  |
| °GL    | Grau Alcoólico Gay Lussac   |
| ANOVA  | Análise de Variância  |
| art.   | Artigo  |
| ATCC   | American Type Culture Collection  |
| CDC    | Centers for Disease Control and Prevention of United State of American  |
| CLAE   | Cromatografia Líquida de Alta Eficiência  |
| Cm     | Centímetro  |
| CIM    | Concentração Inibitória Mínima  |
| CV     | Coeficiente de Variação   |
| DMS    | Diferença Média Significativa   |
| DNA    | Ácido Desoxiribonucléico  |
| DP     | Desvio padrão   |
| EUA    | Estados Unidos da América   |
| EUCAST | European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases<br>Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing |
| FDA    | Food and Drug Administration  |
| FMT/TO | Fundação de Medicina Tropical do Tocantins  |
| g      | Grama   |
| g/mL   | Grama por mililitro   |

|        |   |
|--------|---|
| H      | Hora  |
| HPLC   | High-Performance Liquid Chromatographic                     |
| IDSA   | Infectious Disease Society of America'                      |
| Kg     | Kilograma   |
| L      | Litro   |
| Mbar   | milibar (unidade de pressão)                                |
| Mg     | Miligrama   |
| mg/mL  | miligrama por mililitro                                     |
| mL     | Mililitro   |
| Mm     | Milímetro   |
| MS     | Ministério da Saúde   |
| NCCLS  | US National Committee for Clinical and Laboratory Standards |
| nº     | Número  |
| OMS    | Organização Mundial de Saúde                                |
| Rf     | Fator de retenção   |
| TLC    | Cromatografia em Camada Delgada                             |
| UFC    | Universidade Federal do Ceará                               |
| UNIFAC | Unidade de Farmacologia Clínica                             |
| USP    | United States Pharmacopeia                                  |
| v/v    | volume por volume   |

## LISTA DE ESQUEMAS

1. Seqüência de partições Líquido-Líquido utilizado para obtenção das frações a partir do extrato seco alcoólico 70% do Mesocarpo do Babaçu, *Orbignya ssp*..... 68
2. Fracionamento do Extrato de *Orbignya ssp* 70°GL porção Hexânica da partição Líquido-Líquido. .... 70
3. Fracionamento do Extrato de *Orbignya ssp* 70°GL porção Clorofórmica da partição Líquido-Líquido..... 70

## LISTA DE FIGURAS

1. Indivíduos adultos de *Orbignya ssp*, Babaçu..... 34
2. Corte transversal do fruto do Babaçu, *Orbignya ssp*, e componentes..... 35
3. Imagem de espécime adulto e detalhe de órgãos de *Lafoensia pacari*..... 40
4. Detalhes da parte aérea *Alternanthera brasiliana* cultivada no horto da Fundação de Medicina Tropical do Tocantins – FMT/TO..... 43
5. Canteiro de *Alternanthera brasiliana* cultivada no horto da Fundação de Medicina Tropical do Tocantins – FMT/TO..... 43
6. Imagens de espécime adulto e partes de *Genipa americana* L..... 46
7. Detalhes da parte aérea de *Bryophyllum pinnatum* cultivada no horto da Fundação de Medicina Tropical do Tocantins – FMT/TO..... 48
8. Detalhe da reprodução por propagação direta (brotamento lateral) das folhas de *Bryophyllum pinnatum* cultivadas no horto da Fundação de Medicina Tropical do Tocantins – FMT/TO..... 48
9. Indivíduo adulto do Bacuri, *Attaleia phalerata* Mart., com cachos de frutos imaturos em destaque..... 52
10. Frutos e corte transversal do fruto do Bacuri, *Attalea phalerata* Mart..... 52
11. Imagem de uma Floresta de Babaçu, *Orbignya ssp*, Babaçual; e diagrama de localização de área de exploração de recursos naturais para extração do Babaçu, segundo TOBASA BIOINDUSTRIAL S.A.; com indicação de áreas de ocorrência do Babaçu no Brasil..... 61

|     |   |     |
|-----|---|-----|
| 12  | Imagem do ensaio microbiológico.....  | 64  |
| 13. | Imagem de uma placa de Petri 150X15mm com meio de cultura Agar Mueller-Hinton com inóculo de <i>Staphylococcus aureus</i> após 24h de incubação durante análise microbiológica com extrato em álcool 70% de <i>Lafoensia pacari</i> L.....  | 75  |
| 14. | Bioautografia do extrato alcoólico 70% do mesocarpo do Babaçu, <i>Orbignya spp</i> , frente à bactéria <i>Staphylococcus Aureus</i> ATCC6538.....   | 124 |
| 15. | Bioautografia das frações obtidas da cromatografia líquida em coluna aplicadas sobre cromatofolha eluição metanol:clorofórmio (20:80) da partição hexânica do extrato alcoólico 70% do mesocarpo do Babaçu, <i>Orbignya spp</i> , frente a bactéria <i>Staphylococcus Aureus</i> ATCC6538.....    | 126 |
| 16. | Bioautografia das frações obtidas da cromatografia líquida em coluna aplicada sobre cromatofolha eluição metanol:clorofórmio (20:80) da partição clorofórmica do extrato alcoólico 70% do mesocarpo do Babaçu, <i>Orbignya spp</i> , frente a bactéria <i>Staphylococcus Aureus</i> ATCC6538..... | 128 |

### LISTA DE QUADROS

|    |  |     |
|----|--|-----|
| 1. | Análise de Variância dos extratos das plantas frente a bactéria <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC6538, segundo o tipo de solvente utilizado para extração e concentração.....                | 84  |
| 2. | Análise de Variância dos extratos das plantas frente a bactéria <i>Staphylococcus epidermides</i> ATCC12228, segundo o tipo de solvente utilizado para extração e concentração.....          | 90  |
| 3. | Análise de Variância dos extratos das plantas frente a bactéria <i>Staphylococcus aureus*</i> , segundo o tipo de solvente utilizado para extração e concentração.....                       | 95  |
| 4. | Análise de Variância dos extratos das plantas frente a bactéria <i>Streptococcus <math>\beta</math>-Hemolítico*</i> , segundo o tipo de solvente utilizado para extração e concentração..... | 99  |
| 5. | Análise de Variância dos extratos das plantas frente a bactéria <i>Streptococcus ssp*</i> , segundo o tipo de solvente utilizado para extração e concentração.....                           | 104 |



|  |     |
|--|-----|
| 6. Análise de Variância dos extratos das plantas frente a bactéria <i>Escherichia coli</i> B4, segundo o tipo de solvente utilizado para extração e concentração....           | 109 |
| 7. Análise de Variância dos extratos das das plantas frente a bactéria <i>Pseudomonas aeruginosa</i> *, segundo o tipo de solvente utilizado para extração e concentração..... | 114 |
| 8. Análise de Variância dos extratos das plantas frente a bactéria <i>Klebsiella ssp</i> *, segundo o tipo de solvente utilizado para extração e concentração.....             | 119 |

### LISTA DE TABELAS

|   |    |
|---|----|
| 1. Concentração de antibióticos detectados em águas superficiais em estudos nos Estados Unidos até 2004.....  | 31 |
| 2. Análise Bromatológica do Mesocarpo (farinha fina) do Babaçu, <i>Orbignya speciosa</i> .....  | 37 |
| 3. Identificação das plantas analisadas, relacionando nomenclatura botânica e popular, partes usadas nos experimentos e índices estatísticos facilitadores de seleção por indicações encontrados no levantamento etnofarmacológico..... | 58 |
| 4. Dados da coleta, localização de cada espécime estudada.....  | 59 |
| 5. Classificação segundo critérios de gram para as bactérias testadas, indicando o antibiótico utilizado como parâmetro de controle positivo das análises microbiológicas.....  | 66 |
| 6. Descrição dos equipamentos utilizados nos ensaios.....   | 72 |
| 7. Descrição de reagentes utilizados nos ensaios.....   | 73 |
| 8. Resultado da avaliação de resistência e sensibilidade de extratos vegetais do Estado do Tocantins selecionados etnofarmacologicamente frente a bactérias patogênicas.....  | 77 |
| 9. Determinação do melhor solvente para produção de extratos, utilizando análise estatística da média de inibição, frente à bactéria <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC6538.....   | 85 |

|  |     |
|--|-----|
| 10. Comportamento das médias dos halos de inibição em relação à concentração dos extratos estudados, frente à bactéria <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC6538.....                                      | 86  |
| 11. Análise de Variância (ANOVA) das médias dos halos de inibição dos extratos das plantas frente à bactéria <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC6538, relacionado por solvente e concentração.....       | 88  |
| 12. Determinação do melhor solvente para produção de extratos, utilizando análise estatística da média de inibição, frente à bactéria <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC12228.....                 | 91  |
| 13. Comportamento das médias dos halos de inibição em relação à concentração dos extratos estudados, frente à bactéria <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC12228.....                                | 92  |
| 14. Análise de Variância (ANOVA) das médias dos halos de inibição dos extratos das plantas frente à bactéria <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC12228, relacionado por solvente e concentração..... | 94  |
| 15. Determinação do melhor solvente para produção de extratos, utilizando análise estatística da média de inibição, frente à bactéria <i>Staphylococcus aureus</i> *.....                              | 96  |
| 16. Comportamento das médias dos halos de inibição em relação à concentração dos extratos estudados, frente à bactéria <i>Staphylococcus aureus</i> *.....   | 97  |
| 17. Análise de Variância (ANOVA) das média dos halos de de inibição dos extratos das plantas frente à bactéria <i>Staphylococcus aureus</i> *, relacionado por solvente e concentração.....            | 98  |
| 18. Determinação do melhor solvente para produção de extratos, utilizando análise estatística da média de inibição, frente à bactéria <i>Streptococcus <math>\beta</math>-Hemolítico</i> *.....        | 100 |
| 19. Comportamento das médias dos halos de inibição em relação à concentração dos extratos estudados, frente à bactéria <i>Streptococcus <math>\beta</math>-Hemolítico</i> *.....                       | 102 |

|   |     |
|---|-----|
| 20. Análise de Variância (ANOVA) das médias dos halos de inibição dos extratos das plantas frente à bactéria <i>Streptococcus <math>\beta</math>-Hemolítico*</i> , relacionado por solvente e concentração..... | 103 |
| 21. Determinação do melhor solvente para produção de extratos, utilizando análise estatística da média de inibição, frente à bactéria <i>Streptococcus ssp*</i> .....   | 105 |
| 22. Comportamento das médias dos halos de inibição em relação à concentração dos extratos estudados, frente à bactéria <i>Streptococcus ssp*</i> .....  | 106 |
| 23. Análise de Variância (ANOVA) das médias dos halos de inibição dos extratos das plantas frente à bactéria <i>Streptococcus ssp*</i> , relacionado por solvente e concentração.....                           | 108 |
| 24. Determinação do melhor solvente para produção de extrato, utilizando análise estatística da média dos halos de inibição, frente à bactéria <i>Escherichia coli</i> B4.....                                  | 110 |
| 25. Comportamento das médias dos halos de inibição em relação à concentração dos extratos estudados, frente à bactéria <i>Escherichia coli</i> B4.....  | 111 |
| 26. Análise de Variância (ANOVA) das médias dos halos de inibição dos extratos das plantas frente à bactéria <i>Escherichia coli</i> B4, relacionado por solvente e concentração.....                           | 113 |
| 27. Determinação do melhor solvente para produção de extrato, utilizando análise estatística da média dos halos de inibição, frente à bactéria <i>Pseudomonas aeruginosa*</i> .....                             | 115 |
| 28. Comportamento das médias dos halos de inibição em relação à concentração dos extratos estudados, frente à bactéria <i>Pseudomonas aeruginosa*</i> .....   | 116 |
| 29. Análise de Variância (ANOVA) das médias dos halos de inibição dos extratos das plantas frente à bactéria <i>Pseudomonas aeruginosa*</i> , relacionado por solvente e concentração.....                      | 118 |

|   |     |
|---|-----|
| 30. Determinação do melhor solvente para produção de extrato, utilizando análise estatística da média dos halos de inibição, frente à bactéria <i>Klebsiella spp*</i> .....   | 120 |
| 31. Comportamento das médias dos halos de inibição em relação à concentração dos extratos estudados, frente à bactéria <i>Klebsiella spp*</i> .....   | 121 |
| 32. Análise de Variância (ANOVA) das médias dos halos de inibição dos extratos das plantas frente à bactéria <i>Klebsiella ssp*</i> , relacionado por solvente e concentração .....   | 123 |
| 33. Descrição da interpretação dos dados da Bioautografia das partições do extrato alcoólico 70% do mesocarpo do Babaçu, <i>Orbignya ssp</i> , frente à <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538, representativa da figura 14.....  | 125 |
| 34. Descrição da interpretação dos dados da Bioautografia das frações obtidas da cromatografia líquida em coluna aplicada sobre cromatofolha eluição metanol:clorofórmio (20:80) da partição hexânica do extrato alcoólico 70% do Mesocarpo do Babaçu, <i>Orbignya ssp</i> , frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538, representativa da figura 15 .....     | 127 |
| 35. Descrição da interpretação dos dados da Bioautografia das frações obtidas da cromatografia líquida em coluna aplicada sobre cromatofolha eluição metanol:clorofórmio (20:80) da partição clorofórmica do extrato alcoólico 70% do mesocarpo do Babaçu, <i>Orbignya ssp</i> , frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538, representativa da figura 16 ..... | 129 |
| 36. Avaliação de Sensibilidade e ou Resistência de bactérias patogênicas utilizadas neste estudo referente a Antibióticos de uso convencional na terapêutica segundo a NCCLS – M2-A8 e M100-S15.....  | 150 |

## RESUMO

**Atividade Antimicrobiana de Extratos Vegetais de Plantas do Estado do Tocantins.** Hebert Lima Batista. Orientadora: Maria Elisabete Amaral de Moraes. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Farmacologia. Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal do Ceará, 2008.

A busca de novos medicamentos eficazes para o combate das infecções por bactérias multiresistentes é uma das grandes preocupações da área científica mundial, desde o relato de existência de cepas resistentes a penicilina observada por Kirby em 1966. A preocupação é crescente devido à disseminação destas estirpes resistentes, tanto em âmbito ambulatorial quanto hospitalar e a diminuição de registro nos últimos anos de novas drogas com potencial de controle das infecções. No intuito de contribuir com o desenvolvimento de novos fármacos através de isolamento de moléculas provenientes de plantas com potencial antimicrobiano, foi proposto o *screening* dos extratos hexânicos, alcoólicos 95°GL e a 70% de seis plantas - Jenipapo (*Genipa americana* L.), - Folha da Fortuna (*Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken), - Meracilina (*Alternanthera cf. brasiliana* (L.) Kuntze), - Mangabeira (*Lafoensia pacari* St. Hil), - Mesocarpo do Babaçu (*Orbignya spp.*), - Bacuri (*Attalea phalerata* Mart.); contra oito estirpes de bactérias, cinco Gram-positivas e três Gram-negativas. Os referidos extratos secos de cada planta foram obtidos por maceração, seguido de evaporação do solvente e liofilização. Estes extratos foram solubilizados em DMSO:H<sub>2</sub>O – 1:1 até concentrações que variaram de 1000 a 1mg/mL para avaliação microbiológica, pela técnica de difusão em agar, com depósito de 50µL do extrato em poços de 6x8mm. As bactérias ensaiadas demonstraram-se resistentes a todos os extratos hexânicos das plantas experimentadas, além dos extratos alcoólicos das folhas de *A. brasiliana*. Os extratos alcoólicos 95°GL e 70% de folhas de *L. pacari* e folhas de *B. pinnatum* inibiram o crescimento de todas as espécies de bactérias apresentando halos de inibição superiores a 15mm e concentração mínima inibitória - CMI entre 250 a 1mg/mL. Os extratos alcoólicos 95°GL e 70% Mesocarpo de *Orbignya spp* inibiu o crescimento de bactérias Gram-positivas, com halos de inibição maiores que 10 mm e menores de 20 mm e CMI entre 250 a 100mg/mL. Já o fruto de *G. americana* e o mesocarpo e epicarpo de *A. phalerata* inibiram tanto bactérias Gram-positivas como Gram-negativas, mas com resistência a várias estirpes para os extratos alcoólicos 95°GL e 70% com halos de inibição superior a 10mm e inferior a 20mm e CMI de 1000 a 500mg/mL. Os resultados da entrecasca da *G. americana* obtiveram halos de inibição entre 10 e 15mm com CMI variando entre 1000 a 250 mg/mL. Posteriormente, o extrato alcoólico 70% do Mesocarpo de *Orbignya spp* foi submetido fracionamento bioguiado por técnicas químicas, cromatográficas e Bioautografia, obtendo 24 frações com potencial para atividade antimicrobiana. Assim, a maioria dos extratos ensaiados mostrou-se eficazes contra microrganismos patogênicos, compreendendo ser uma fonte promissora de fármacos antimicrobianos.

Palavras chaves: *Genipa americana* L. - *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken - *Lafoensia pacari* St. Hil. - *Alternanthera cf. brasiliana* (L.) Kuntze – *Orbignya spp.* - Atividade Antimicrobiana.

## ABSTRACT

**Antimicrobial Activity of Plant Extracts of the Tocantins State - Brazil.** Hebert Lima Batista. Advisor: Maria Elisabete Amaral de Moraes. Master's Dissertation. Post-Graduate Program in Pharmacology. Department of Physiology and Pharmacology, Federal University of Ceara, 2008.

The research for new drugs efficient to combat multiresistant bacteria infections is a great concern of the scientific world, since account to existence of resistant strains to penicillin noticed by Kirby in 1966. The concern is growing due to spread of these resistant strains at hospital and outpatient department, and the lower record new drugs with potential for control of infections in recent years. Aiming to contribute to the development of new drugs through the isolation of molecules from plants with potential antimicrobial, we evaluated the hexane extract, 95°GL alcohol and 70% of six plants - Jenipapo (*Genipa americana* L.), -Folha da Fortuna (*Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken), -Meracilina (*Alternanthera* cf. *brasiliiana* (L.) Kuntze ), - Mangabeira (*Lafoensia pacari* St. Hil), - Mesocarpo do Babaçu (*Orbignya* spp.), - Bacuri (*Attalea phalerata* Mart.); against eight bacteria strains, five Gram-positive and three Gram-negative strains. The dried extracts of each plant were obtained by maceration, followed by solvent evaporation and lyophilization. These extracts were solubilized in DMSO:H<sub>2</sub>O solution (1:1) to concentrations ranging from 1 to 1000mg/mL for microbiological evaluation by technique of diffusion in agar with 50µL of extract for well of 6x8mm. The bacteria tested showed resistance to all hexane extracts evaluated, besides the alcoholic extracts of *A. brasiliiana* leaves. The leaves 95°GL and 70% extracts alcoholic of *L. pacari* and *B. pinnatum* inhibited growth of all bacterias species, and showing inhibition halos upper to 15mm and minimum inhibitory concentration (MIC) ranging from 1 to 250mg/ml. The mesocarp *Orbignya* spp 95°GL and 70% alcoholic extracts inhibited the Gram positive bacteria growth with inhibition halos ranging from 10 to 20mm and MIC from 100 to 250mg/mL. The *G. americana* fruit, the *A. phalerata* mesocarp and epicarp 95°GL and 70% alcohol extracts inhibited Gram positive and Gram negative bacteria, with halos of inhibition ranging from 10 to 20mm and MIC from 500 to 1000mg/mL, already the 95°GL and 70% alcoholic extracts these plants showed resistance to bacterial strains evaluated. The *Orbignya* spp mesocarp 70% alcoholic extract was fractionated by chemical techniques guided by biological activity, followed by chromatography and bioautography, were obtained 24 fractions with antimicrobial activity potential. Thus, the most of extracts tested showed to be effective against pathogenic microorganisms, comprising a promising source of antimicrobial agents.

Keywords: *Genipa americana* L. - *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken - *Lafoensia pacari* St. Hil. - *Alternanthera* cf. *brasiliiana* (L.) Kuntze – *Orbignya* spp. - Antimicrobial activity.

## SUMÁRIO

|   |    |
|---|----|
| <b>1 INTRODUÇÃO</b> .....   | 20 |
| <b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....  | 26 |
| <b>2.1 Antimicrobianos</b> .....  | 26 |
| <b>2.2 Resistência aos antimicrobianos</b> .....  | 27 |
| <b>2.3 Novos antimicrobianos de origem natural</b> .....  | 33 |
| <b>2.4 Plantas</b> .....  | 34 |
| 2.4.1 Mesocarpo do Babaçu.....  | 34 |
| 2.4.2 Mangabeira.....   | 39 |
| 2.4.3 Meracilina.....   | 42 |
| 2.4.4 Jenipapo.....   | 45 |
| 2.4.5 Folha Santa.....  | 47 |
| 2.4.6 Bacuri .....  | 51 |
| <b>3 JUSTIFICATIVA</b> .....  | 53 |
| <b>4 OBJETIVOS</b> .....  | 56 |
| <b>4.1 Objetivo geral</b> .....   | 56 |
| <b>4.2 Objetivos específicos</b> .....  | 56 |
| <b>5 MATERIAIS E MÉTODO</b> .....   | 57 |
| <b>5.1 Do material vegetal</b> .....  | 57 |
| 5.1.1 Seleção das plantas.....  | 57 |
| 5.1.2 Material botânico.....  | 57 |
| 5.1.3 Preparação de extratos para testes e análises.....  | 62 |
| <b>5.2 Da análise microbiológica</b> .....  | 63 |
| 5.2.1 Análise microbiológica dos extratos brutos.....   | 63 |
| 5.2.2 As espécies de microrganismos .....   | 65 |
| <b>5.3 Análise estatística dos resultados dos halos de inibição</b> .....                               | 66 |
| <b>5.4 Fracionamento do extrato alcoólico 70% do mesocarpo do Babaçu, Orbignya ssp, bioguiado</b> ..... | 67 |
| 5.4.1 Partição Líquido:líquido.....   | 67 |
| 5.4.2 Cromatografia líquida em coluna.....  | 68 |
| 5.4.3 Cromatografia em camada delgada.....  | 70 |

|   |            |
|---|------------|
| 5.4.4 Bioautografia.....  | 71         |
| <b>5.5 Equipamentos e reagentes.....</b>  | <b>72</b>  |
| <b>6 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>  | <b>74</b>  |
| <b>6.1 Etapa microbiológica.....</b>  | <b>74</b>  |
| <b>6.2 Classificação dos extratos das plantas, em relação a seus solventes e concentrações.....</b> | <b>83</b>  |
| 6.2.1 Staphylococcus aureus ATCC6538.....   | 84         |
| 6.2.2 Staphylococcus epidermidis ATCC12228.....   | 89         |
| 6.2.3 Staphylococcus aureus*.....   | 95         |
| 6.2.4 Streptococcus $\beta$ -Hemolítico*.....   | 99         |
| 6.2.5 Streptococcus ssp*.....   | 104        |
| 6.2.6 Escherichia coli B4*.....   | 109        |
| 6.2.7 Pseudomonas aeruginosa*.....  | 114        |
| 6.2.8 Klebsiella ssp*.....  | 119        |
| <b>6.3 Bioautografia.....</b>   | <b>124</b> |
| <b>7 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>  | <b>130</b> |
| <b>8 CONCLUSÃO.....</b>   | <b>131</b> |
| <b>9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>  | <b>132</b> |
| <b>9 GLOSSÁRIO.....</b>   | <b>146</b> |
| <b>10 ANEXO.....</b>  | <b>148</b> |



---

## **INTRODUÇÃO**

## 1 INTRODUÇÃO

O homem e os microrganismos partilham uma vida comum a bilhões de anos. Certamente, desde a pré-história os microrganismos causam doenças no homem. Doenças estas, que só começaram a serem estudadas efetivamente a partir de 1878, graças a trabalhos de Pasteur (1822-1895), do médico Robert Koch (1843-1910) e de seus contemporâneos, que além de demonstrar a origem infecciosa de várias enfermidades do homem e de animais, definiram ainda um “postulado”, que infere os procedimentos para que seja determinado a um microrganismo o seu envolvimento e a sua responsabilidade em uma patologia. Este postulado é válido até hoje, mesmo com o advento da genética molecular.

Embora, a natureza infecciosa de muitas doenças já se tenha definido, o homem sempre utilizou de substâncias para combater as infecções, como têm demonstrado a história da humanidade, desde 2500 a 3000 a.C.; quando os Chineses, Hindus, Babilônios, Sumérios e Egípcios já empregavam as plantas medicinais e seus derivados, além de produtos de origem animal e ou de origem mineral no combate das infecções (ROBBERS & col., 1997). Mas, somente a partir do século XVI, com o desenvolvimento da “Alquimia”, os medicamentos passaram a ser obtidas por métodos laboratoriais.

Diversos fármacos, em sua descoberta, tiveram seus princípios ativos isolados de plantas medicinais, como o Quinino, uma das primeiras substâncias antimicrobianas descoberta, obtido de uma árvore chamada Cinchona, existente em florestas tropicais sul-americanas, de ação notável na terapêutica da malária. Seu uso é conhecido desde 1633, empregada sob forma de pó de casca de Cinchona para tratamento da febre, tendo sua substância ativa, quinina, apenas sido isolada laboratorialmente em 1820. Outra substância também isolada de plantas foi a Emetina, utilizada contra amebíase e obtida da raiz da Ipecacuanha, um arbusto nativo do Brasil e usado pelos indígenas no tratamento de diarreias (Simões et al., 2002).

A demonstração, no século XIX, da origem infecciosa de várias doenças estimulou a pesquisa no sentido de se descobrir substâncias específicas no combate dos agentes infecciosos. Em resultado destas pesquisas, no início do século XX, surgiram os primeiros Quimioterápicos de ação sistêmica.

Os trabalhos pioneiros neste campo devem-se a Paul Ehrlich (1854-1915), que elaborou as teorias sobre a ação dos antimicrobianos e estabeleceu os princípios básicos da quimioterapia.

O próximo grande passo na história das drogas antimicrobianas ocorreu em 1928, quando Alexandre Fleming (1881-1955) estudando culturas de *Staphylococcus aureus*, verificou a inibição do seu crescimento. Uma ação causada pelo fungo *Penicillium notatum*. Mais tarde, juntos Fleming, Howard Florey (1898-1968) e Ernst Chain (1906-1979) isolaram a penicilina, que foi empregada como uma realidade da prática clínica a partir de 1943. Este farmaco se mostrou eficaz nos tratamentos de Pneumonias, Sífilis, Difterias, Amidalites, Septicemias, Endocardites bacterianas, Meningites entre outras infecções causadas por microrganismos gram positivos e negativos, inclusive as decorrentes de ferimentos ocorridos em soldados em luta na Guerra.

Naquele momento, houve necessidade de produção do farmaco em grande quantidade, o que obrigou os laboratórios farmacêuticos esforçarem-se na busca de novas técnicas para refinamento e controle da qualidade laboratorial, gerando assim, maior grau de pureza da droga. Nascia então, a “Era da Antibioticoterapia”, envolvendo novas técnicas, novos cientistas, novos equipamentos e materiais relacionados com a Química, Biologia, Farmacologia. Isso exigiu a montagem de estruturas de produção e comercialização de novos medicamentos, revolucionando não só a interface técnico-científica, mas também a comercial. Esta grande revolução acarretou na necessidade de descobertas de medicamentos e tratamentos, além da mudança da expectativa de inúmeras doenças infecciosas, elevando-se o índice de cura com pouquíssimas seqüelas (TAVARES, 1996).

A descoberta de antibióticos foi acompanhada pelo desenvolvimento de técnicas de laboratório que permitiram verificar “in vitro” seu espectro antimicrobiano. Esses métodos demonstram que determinados microrganismos da mesma espécie, porém, de linhagens diferentes, poderiam comportar-se de modo diversificado frente a um mesmo antimicrobiano, enquanto, uma linhagem era sensível, outra poderia ser resistente. A necessidade de conhecer quantitativamente o fenômeno, com obtenção de informações mais rápidas, associada ao interesse em tornar o antibiograma uma técnica utilizada para medir a sensibilidade de microrganismos a determinadas substâncias químicas mais práticas e econômicas, fizera que

desenvolvesse numerosas técnicas de execução dessa prova, mesmo de modo qualitativo (AMATO et al., 1994).

Dentre estas técnicas, os principais antibiogramas são:

- Método de diluição, que é a medida da sensibilidade através da Concentração Inibitória Mínima - CIM, menor concentração da droga que ainda inibe o crescimento dos microrganismos (RIBEIRO & SOARES, 2000);

- Método de difusão em agar, com depósito de substâncias em células de 3-8mm e/ou com discos impregnados com antibióticos; onde a medida de atividade é dada pelo halo de inibição formado ao redor do disco ou da cavidade (BAUER & cols., 1966);

- Método da microdiluição em microplacas de 96 wells com posterior revelação pelo teste de viabilidade celular com MMT, 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazolina bromida que além de determinar CIM, revela concentra que inibe 90% das bactérias, IC90, ou 50%, IC50 (MOSMANN, 1983; GABRIELSON, et al., 2002).

Partindo-se do pressuposto de que uma das etapas essenciais para escolha de um antimicrobiano de maneira correta na utilização clínica é, sem dúvida, o conhecimento da sensibilidade ou resistência desses microrganismos infectantes. Esta preocupação tem sido uma constante, desde a introdução dos antimicrobianos na prática médica, a partir da década de 40, quando Kirby em 1944, isolou cocos gram positivos resistentes à penicilina (TAVARES, 2000).

Com o auxílio destas técnicas, o perfil epidemiológico da resistência microbiana vem sendo traçado há décadas. Partindo de um percentual de 5% de resistência em *Staphylococcus aureus* em isolados de hospitais norte-americanos no ano de 1946, ultrapassando em 1959 a 80% de resistência. No Brasil não foi muito diferente. Os dados apresentam que 80% dos isolados em hospitais de estirpes de *Staphylococcus aureus* são resistentes, enquanto, na comunidade este número é de 70% de resistência à penicilina (TAVARES, 2000). Assim, estas técnicas são consideradas padrão para o controle de ambientes hospitalares e infecções nosocomiais, bem como servem para análise da epidemiologia da resistência microbiana e base metodológica para descobertas para novos fármacos (NCCLS, 2000).

Uma das observações encontradas nestes estudos é que alguns microrganismos conservam praticamente o mesmo padrão de sensibilidade através

de anos, independente da utilização maior ou menor de fármacos sobre eles, chamada resistência natural. Outros, em contrapartida, demonstraram habilidade extraordinária de desenvolver resistência a esses agentes com relativa rapidez, constituindo-se um difícil problema terapêutico e numa constante preocupação (LACAZ, 1975), conhecidos como resistência bacteriana adquirida. A resistência adquirida é comum a todas as bactérias, sendo conhecidos detalhes dos mecanismos moleculares (TAVARES, 2000), sugerindo assim, a existência de microrganismos resistentes ou multiresistentes em todas as espécies. Este fato tem dificultado a terapêutica clínica direcionada as infecções microbianas, que aumenta a morbidade, mortalidade e os custos dos tratamentos (INFECTIONS DISEASES SOCIETY OF AMERICAN, 2004; LEVY & MARSHAL, 2004; SHLAES et al., 1997; HUDSON, 2001; HAMBURGUER & HOSTETTMANN, 1991; MARTINEZ et al., 1996; RITCH-KRC et al., 1996; FINCH et al., 2003).

Com o passar dos anos, o avanço da tecnologia associado à problemática da resistência antimicrobiana e a própria necessidade da clínica terapêutica, fez com que a pesquisa de antimicrobianos buscasse novas substâncias, com eficácia superior ou igual aos da terapêutica usual, ou ainda que sejam não convencionais e que tenham ação sobre aos microrganismos multiresistentes (OESTERHELT et al., 2005).

Estes novos medicamentos devem trazer consigo alta resolubilidade, mas sem esquecer os preceitos da ética profissional da “não maleficência”, buscando medicamento menos tóxico que a usuais. Esta característica de menor toxicidade é necessária devido ao tipo dos pacientes usuários dos fármacos de ultima geração, que por sua vez, fazem uso de associações medicamentosas ou possuem uma deficiência orgânica momentânea ou permanente, como os pacientes submetidos a tratamentos de quimioterapia com fármacos imunossupressores, quadros patológicos de imunossupressão (SIDA), falência de órgãos. Junto a estes pacientes podemos observar a necessidade de novos antimicrobianos devido ao incremento do número de procedimentos cirúrgicos e técnicas invasivas (cateteres centrais e nutrição parenterais), que elevam a prescrição de antibióticos de largo espectro (FINCH et al., 2003).

Apesar desta constante busca pelas indústrias farmacêuticas e universidades, observa-se, segundo IDSA – Infections Diseases Society of American, que o número de novos medicamentos aprovados para atividade

antimicrobiana entre os anos de 1983 á 2004 vem diminuindo gradativamente, passando de 16 novos agentes no primeiro ano para apenas 3 agentes em 2004 (INFECTIOUS DISEASES SOCIETY OF AMERICAN, 2004).

Além da preocupação de desenvolvimento de novos fármacos antimicrobianos, observa-se que uma das fontes para descoberta é o uso de plantas. Esta fonte tem se tornado uma boa área de estudo, em virtude de plantas deterem um metabolismo diferenciado de substâncias (metabolismo secundário) e do uso popular como fonte de medicação e conseqüentemente seleção terapêutica empírica de seu uso (YUNES E CALIXTO, 2001; HAMBURGUER & HOSTETTMANN, 1991).

A Organização Mundial de Saúde – OMS, desde 1977, recomenda o incentivo do uso de plantas como fonte terapêutica, além dos estudos da eficácia e toxicidade. Dados ainda da OMS estimam que 80% da população mundial já fizeram ou fazem uso de alguma planta como fonte terapêutica. Outro fator determinante em países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento é o uso de plantas medicinais como fonte para os “Primeiros Cuidados de Saúde”. Exemplos como Etiópia, Benin, Índia, Ruanda, Tanzânia e Uganda, onde se registra uma porcentagem de 60 a 90% da população aproximadamente utilizam esta forma de tratamento (OMS, 2002).

Associado a estes fatores podemos observar que a utilização de técnicas direcionadas para o isolamento de substâncias químicas ou frações de extratos de plantas através de *screening*, seguido de prospecção direcionada por Bioensaio, também conhecida como “estudo químico de plantas medicinais orientado para análise biológica” (CALIXTO: in YUNES, 2001B), são essenciais para obtenção de bons resultados com uma relação interessante de custo-benefício. Esta relação de benefício é visto através da redução do tempo e menor gasto de materiais, quando comparado a outros modelos descritos na literatura, pois, durante o isolamento e seleção dos compostos, estes são monitorados diretamente a atividade biológica de interesse (HAMBURGUER & HOSTETTMANN, 1991; MARTINEZ et al., 1996; RITCH-KRC et al., 1996).

Assim, este trabalho utilizou plantas pré-selecionadas como antimicrobianas por uma análise de dados secundários de um estudo etnobotânico, pertencente do Projeto Bosque da Biodiversidade UNITINS/MINISTÉRIO DA SAÚDE/ MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE DE 1998-2000, disponibilizado pelo convênio FMT/UNITINS, apontando as plantas: Meracilina, Alternathera cf. brasiliana

(L.) Kuntze; Bacuri, *Attalea phalerata* Mart.; Babaçu, *Orbignya ssp*; Mangabeira, *Lafoensia pacari* St. Hill.; Jenipapo, *Genipa americana* L. e Folha da Fortuna, *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken.

Para avaliar a propriedade antibacteriana a partir de plantas medicinais, foi selecionada a técnica de difusão em meio sólido por depósito do extrato diluído em cavidades de 5-8mm, observando-se a susceptibilidade ou resistência das bactérias selecionadas. Para isolamento de frações de extratos de planta foi utilizado técnicas químicas como partição líquido:líquido, cromatografia de adsorção em coluna, cromatografia em camada delgada (TLC) , e bioautografia por imprint de TLC (LIMA: in YUNIS, 2001; LIMA e col., 2004).

A parte da planta selecionada para o fracionamento foi o Mesocarpo do Babaçu, *Orbignya ssp* (Palmae), devido a fatores ecológicos, sociais, econômicos, tecnológicos, como: ser abundante na região norte do Estado do Tocantins formando florestas de babaçuais, processamento industrial e padronizado (fácil obtenção) e significativos resultados no “*screening*” para bactérias gram positivas. Outros pontos relevantes na produção do mesocarpo do babaçu é a preservação ambiental de grande área de extração, com possível impacto sócio-econômico em um eventual desenvolvimento de um fármaco proveniente deste produto, onde a atividade extrativista, hoje, beneficia aproximadamente 3000 famílias que vivem em comunidades impactadas, como assentamentos e ribeirinhos, nos estados do Tocantins, Pará, Maranhão.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Antimicrobianos

Antibiose, antibiótico, antimicrobiano são termos que evoluíram com a história para designar substâncias utilizadas em pequenas concentrações, que devem possuir dentre outras as seguintes propriedades: atividade letal ou inibitória contra muitas espécies microbianas, prevenir o desenvolvimento de microrganismos resistentes, ausência de efeitos indesejáveis ao hospedeiro e estabilidade química (LIMA: in YUNES et al., 2001).

“Atualmente, antibiótico e antimicrobiano são considerados como sinonímia, designando assim toda substância oriunda de seres vivos, microrganismos ou vegetais, como também aquelas sintetizadas em laboratório” (LIMA: in YUNES et al., 2001).

A base da quimioterapia antimicrobiana tem como alicerce o conceito de toxicidade seletiva. Esta seletividade é demonstrada nos alvos terapêuticos de substâncias que atinge a parede celular e ribossomos, enquanto, outras substâncias não são tão seletivas, apresentando toxicidade às células humanas, como os fármacos que atuam na síntese de ácidos nucleicos, síntese de folato e alteração da efetividade da membrana celular.

Os exemplos de drogas que atingem a parede celular são as Penicilinas e Celosporinas, interagindo com as transpeptidase, inibindo ou desorganizando-as. A isoniazida também tem como alvo terapêutico a parede celular sendo que este fármaco leva a desnaturação dos ácidos graxos da parede celular (KOCH, 2003). Outro exemplo clássico de alvo seletivo que inibem a síntese protéica são os Aminoglicosídeos, Tetraciclina e Cloranfenicol, que interagem com o ribossomo bacteriano. Os ribossomos bacterianos apresentam diferenciação dos animais por apresentarem um coeficiente de sedimentação 70S, composto por suas subunidades 30S e 50s, enquanto os ribossomos de células de animais da classe mamalia apresentam coeficiente de 80S, formados por subunidades 40S e 60S (FINCH et al., 2003).



Fármacos menos seletivos a alvos bacterianos podem inibir os sistemas do animal (homem) também, como as Quinolonas, que interage com a DNA-Girase-subunidade- $\alpha$  e Topoisomerase IV; a Novobiocina, que interage com DNA-Girase-subunidade- $\beta$ ; a Rifampicina ao se ligar a RNA-polimerase; os Nitrofuranos e Nitroimidazóis que se complexa com a fita de DNA, inibem a síntese de ácidos nucleicos bacteriano. Já as Sulfonamidas e Diaminopirimidinas inibem a síntese de folato, por interagir respectivamente com as enzimas piruvato sintetase e dihidrofolato redutase (FINCH et al., 2003).

Os farmacos que afetam a permeabilidade da membrana, também não são seletivos, como a Polymixina, que é um desestabilizador de membrana por agir como um “detergente catiônico” e a Gramicidina age como bloqueadores de canais transportadores da membrana celular (ionofórico) (FINCH et al., 2003).

## 2.2 Resistência aos antimicrobianos

Desde a descoberta da penicilina em 1929, evidencia-se a resistência aos antibióticos, independente o seu mecanismo de ação. Fleming foi o primeiro a observar a resistência natural de microrganismos aos antibióticos, descrevendo que as bactérias do grupo coli-tifóide e *Pseudomonas aeruginosas* (*Bacillus pyocyaneus*) não eram inibidas pelo antibiótico. A causa desta resistência natural foi depois descoberta por Abraham e Chain, em 1940, um ano antes da primeira publicação do uso clínico da penicilina, através do extrato de cultura de *E. coli* capaz de destruir a ação da penicilina, chamada de penicilinase. (FINCH et al., 2003).

A resistência a outros antibióticos e mesmo a penicilina pode ser observada em diversos microrganismos, sendo esta originalmente natural ou adquirida (FINCH et al., 2003).

A resistência a antimicrobianos é definida pelo NCCLS – *US National Committee for Clinical and Laboratory Standards* como: “bactérias que não são inibidas pelas concentrações sistêmicas normalmente administradas em doses e horários realizáveis do agente (substância antibiótica) e/ou observada sobre teste “in vitro”, ponderando a concentração mínima inibitória, não eficaz sobre um padrão universal, percorrendo mecanismos de resistência específicos, que

interpretavelmente seja clinicamente não seguro para o tratamento em estudo” (FINCH et al., 2003).

Entretanto, a EUCAST, European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing, separa a resistência a antibióticos em dois conceitos específicos, como sendo Resistência Clínica e Resistência Microbiológica.

“A Resistência Clínica é definida como sendo, a infecção que é altamente não respondente a uma máxima dosagem de um dado antibiótico”. Enquanto, Resistência Microbiológica é a bactéria que possui algum mecanismo de resistência demonstrado fenotipicamente ou genotipicamente.

A EUCAST também definiu uma outra classe não específica, a Susceptibilidade Intermediária, que é determinada pela existência de um ponto, que deixa dúvida interpretativa, entre a susceptibilidade e a resistência clínica, observada pela biodisponibilidade do antibiótico e a sua concentração mínima inibitória (FINCH et al., 2003).

A resistência aos antimicrobianos é um fenômeno genético, relacionado com a existência de genes contidos no microrganismo que codificam diferentes mecanismos bioquímicos que impedem a ação das drogas. A resistência pode ser oriunda de resistência intrínseca ou adquirida.

A resistência intrínseca ou natural pode ser exemplificada como em organismos produtores de um antibiótico, *Streptomyces erythraeus*, que é produtor de Eritromicina e assim, naturalmente resistente a esta droga. Também podem ser considerados microrganismos naturalmente resistentes aqueles que desenvolveram resistência devido a mutações. Estas mutações ocorrem no germe durante seu processo reprodutivo e resultam de erros de cópia na seqüência do DNA cromossômico (TAVARES, 2000).

Outra forma de aquisição de resistência é a adquirida, por meio de mecanismos de transferência e/ou importação de genes causadores de fenômenos, consistindo na resistência transferível. Este mecanismo faz-se por mecanismos de tradução, transformação e conjugação e, freqüentemente, envolve genes situados em plasmídios e transposons (TAVARES, 2000).

Sendo assim, Tavares em 2000, concluiu que devido mecanismos de autoproteção de produtores de antibióticos, mutações, transferência de material

genético entre microrganismos não patogênicos resistentes e patogênicos, possibilita a uma permeabilidade deste material genético resistente.

Mecanismos bioquímicos distintos de resistência são codificados por estes genes. Um destes mecanismos é a inativação de uma droga por enzimas específicas, anterior ou posterior à parede celular bacteriana, como a enzima penicilinase ( $\beta$ -lactamase) que quebra o anel lactâmico da Penicilina, inativando-a (FINCH et al., 2003).

A parede celular é um alvo em destaque para ação destes mecanismos, por ser morfológicamente inexistentes nas células animal. Mas, na parede celular pode surgir mecanismo que envolva a modificação do envelope da parede, que por sua alteração estrutural, torna-se menos permeável aos antibióticos. Exemplo, a síntese de cápsula de lipopolissacarídeos, tornando mais hidrofílica, diminuindo a permeabilidade de antibióticos mais hidrofóbicos. Ou ainda, sistemas de refluxo de drogas, que são proteínas transmembrânicas em formato de canal, que podem “expelir” as drogas antibióticas de dentro de seu citoplasma, exemplo dos canais (bombas) de refluxo da superfamília MFS Classe Nor-A em *Staphylococcus aureus*. Estes canais do *S. aureus* transportam Fluoroquinas e Cloranfenicol que permearam para o meio intracelular expelindo para o meio extracelular. Outras Bombas de refluxo podem estar atuantes em espécies de bactérias, expulsando uma diversidade maior de drogas, no caso das MATE Classe NorM, RND classe Acrb, MexA, MexC, MtrC, dentre outras. Estes canais relacionados anteriormente conduzem os microrganismos à resistência a drogas como Flouroquina, Aminoglicosídeos, Tetraciclina,  $\beta$ -lactâmicos, Macrolídeos e Cefalosporinas (FINCH et al., 2003).

A Modificação de alvos específicos de ligação dos antibióticos com perda da expressão e interação antibiótica é considerada mecanismos bioquímicos de resistências também. Estes mecanismos envolvem em situações que levam a alteração de peptídeos, promovendo um remodelamento da enzima, tornando-se ineficaz a ligação antibiótico–molécula alvo, como as expressadas pelas cepas de *Streptococcus pneumoniae* produtoras PBPs (PBP 1<sup>a</sup>, PBP 2x, PBP 2a), produzindo inúmeras codificações em vários níveis da  $\beta$ -Lactamase, reduzindo a habilidade da ligação Penicilina (FINCH et al., 2003).

Quanto ao padrão de expressão de resistência, pode-se observar que em *Staphylococcus aureus* Meticilina Resistente, MRSA, um mesmo espécime de uma

mesma cepa, demonstra um padrão de heterogeneidade na expressão da resistência. O que explica uma maior ou menor expressão, demonstrando, em algumas células, alto nível de resistência, enquanto outra mais baixa expressão de resistência (FINCH et al., 2003).

Mecanismos inusitados de resistência podem surgir em uma nova via metabólica, pois um determinado antibiótico pode perder sua efetividade em virtude do germe construir outra via metabólica na qual ele atua, garantindo a sua sobrevivência, mesmo com a interação da droga com seu alvo. Isto é observado quanto à resistência a Sulfonamidas e Trimetropim, ao produzirem uma enzima dihidrofolato sintetase modificada, que reduz afinidade a sulfonamidas. Este tipo de alteração pode ser espontânea ou envolver a síntese de codificação por gene plasmídial, que por sua vez pode ser transferida por plasmídios associados à transposons, tornando-se assim adquirida a outras bactérias (FINCH et al., 2003).

“Um mecanismo de resistência não existe isoladamente, dois ou mais distintos mecanismos podem interagir determinando o nível de resistência a uma droga. Assim, microrganismos multidrogas resistentes são isolados diariamente em ambientes hospitalares e ou em comunidades” (FINCH et al., 2003).

Como anteriormente revelado por FINCH, diversos genes que expressam esta resistência podem ser identificados através de biologia molecular, sendo uma alternativa para observação do padrão de resistência, mas tem um alto valor na implementação de rotina, principalmente no Brasil. O que agrava o quadro de controle das bactérias multiresistentes.

Associado ao quadro da inviabilidade econômica da utilização da biologia molecular para detecção destes tipos de bactérias corriqueiramente, observa-se que ainda a seleção de microrganismos resistente pela pressão positiva do uso de antibióticos. Sendo este um fator de seleção e não de resistência direta, pois facilita a disseminação de microrganismos resistentes. Esta pressão positiva deve-se ao emprego maciço de antibióticos em uso Clínico (humano e veterinário), industrial (conservação de alimentos), comercial (engorda de animais) e experimental.

O consumo dos antimicrobianos é elevado em todas as áreas, podendo ser detectado em níveis residuais em águas de rios, mananciais e reservatórios de cidades, tabela 1 (BOXALL, 2004). O uso indiscriminado de antibióticos pela

comunidade e o uso clínico hospitalar, segundo Tavares, exerce papel fundamental na seleção e disseminação destas estirpes resistentes (TAVARES, 2000).

**Tabela 1: Concentração de antibióticos detectados em águas superficiais em estudos nos Estados Unidos até 2004.**

| <b>Antibióticos detectados</b> | <b>Máxima concentração ng/l</b> |
|--------------------------------|---------------------------------|
| Cloranfenicol                  | 355                             |
| Clorotetraciclina              | 690                             |
| Ciprofloxacina                 | 30                              |
| Lincomicina                    | 730                             |
| Norfloxacina                   | 120                             |
| Oxytetraciclina                | 340                             |
| Roxithromicina                 | 180                             |
| Sulfadimetoxina                | 60                              |
| Sulfametazina                  | 220                             |
| Sulfametazol                   | 130                             |
| Sulfametoxazol                 | 1900                            |
| Tetraciclina                   | 110                             |
| Trimetropim                    | 710                             |
| Tilosin                        | 280                             |

FONTE: Adaptado de BOXALL, 2004, p. 1113.

A resistência antimicrobiana dos microrganismos a antibióticos na terapêutica é observada através de técnicas epidemiológicas, sendo possível até a observação dos mecanismos bioquímicos de resistência. Estudos feitos em 1946 nos Estados Unidos apresentavam 5% de cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes à penicilina, em 1949 já eram 29% resistentes, em 1950 era de 50% e por fim em 1959 era de 80% as cepas isoladas resistentes à penicilina. No Brasil, atualmente a proporção de resistência em isolados bacterianos para *Staphylococcus aureus* em ambientes hospitalares é de 80% e em comunidade 70%. O mesmo crescimento das taxas de resistência é observado para outras espécies de bactérias, sendo gram positiva ou gram negativa, como *Klebsiella sp*, *Pseudomonas aeruginosas*, *Acinetobacter sp*, *E. coli*, *Staphylococcus epidermides*, *Staphylococcus*

*saprophyticus*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Enterococcus faecalis* e *Enterococcus faecium* e *Streptococcus pneumoniae* (TAVARES, 2000).

Assim, propõe segundo Tavares:

“[...] uma reflexão sobre o caminho da humanidade, envolvida com problemas primários de saneamento básico, analfabetismo, desnutrição, mortalidade infantil, injúrias contra grupos minoritários, perseguições étnicas e religiosas, extermínio de povos e culturas, guerras, violência, agressão ao meio ambiente. E é aqui, neste ultimo contexto, que surgem os microrganismos resistentes... Estes microrganismos são frutos do uso, do mal uso e, sobretudo, do abuso das substâncias antimicrobianas, num desvario sem precedentes e com as mais intoleráveis justificativas” (Tavares, 2000; p.291).

A necessidade de novas drogas surge como fundamental meio para se conseguir controlar estes microrganismos altamente resistentes, associadas às medidas educativas, preventivas, de controle epidemiológico e ações padronizadas internacionalmente nas práticas clínicas e laboratoriais, como os “*Guidelines*”. Estes “*Guidelines*” são protocolos de estratégias de uma classe ou órgão, com considerações de aplicações em todos os países, referendadas por organizações especializadas no combate a resistência microbiana e estão descritas e disponibilizadas *on line*. Diversas sociedades e órgãos de controle desenvolvem estes protocolos como Centers for Disease Control and Prevention (CDC), Infectious Disease Society of America (IDSA) que são publicados pela NCCLS e a Organização Mundial de Saúde (INFECTIOUS DISEASE SOCIETY OF AMERICA, 2004; LEVY & MARSHAL, 2004).

Estes protocolos são válidos quando usado de maneira recomendada, como foi demonstrou Gilligan em 2004, quando aplicado as diretrizes padronizadas em práticas laboratoriais de microbiologia, este, têm impacto positivo no controle de infecções e epidemiologia da resistência antimicrobiana.

### 2.3 Novos antibacterianos de origem natural

O desenvolvimento de novas drogas antimicrobianas é realizado por diversos grupos de pesquisadores em todo mundo, não só para combate as infecções por bactérias resistentes e em uso clínico, mas também, para utilização em diversas atividades industriais e comerciais. São exemplos de utilização como conservantes em alimentos, na ração como fator de engorda e outras aplicações específicas.

Segundo Newman e colaboradores em 2003, em revisão de novas drogas desenvolvidas no período de 1981 a 2002; a “Droga Antibacteriana” é o principal grupo de drogas desenvolvidas, apresentado o maior número de descobertas. Representado mais de 10% de novas descobertas, com 90 novas substâncias. Destes 90 novas drogas, 71 eram isolados ou derivados de produtos naturais e ou modificados por semi-síntese. Apenas 19 eram derivados exclusivamente de síntese orgânica. Produtos naturais sejam eles plantas, microrganismos e animais devem estar relacionados às principais fontes de isolamento e ou desenvolvimento de novos antibacterianos.

Além de planta e microrganismos (fungos) com fonte natural de antimicrobianos devemos destacar os anfíbios, principalmente a classe dos peptídeos secretados por anuros. Dos peptídeos isolados, as Maganininas são os principais antimicrobianos com potencial terapêutico em estudo clínico (ROLLINS-SMITH et al., 2005).

Apesar desta constante busca observa-se que o número de novos medicamentos aprovados para atividade antimicrobiana entre os anos de 1983 á 2004 tem diminuindo gradativamente, passando de 16 novos agentes em 1983, para apenas 3 agentes em 2004. Reforçando a necessidade de novos estudos (INFECTIOUS DISEASES SOCIETY OF AMERICAN, 2004).

Ao falar em produtos naturais como fonte de antimicrobianos, milhares de trabalhos foram e/ou são realizados mundialmente com intuito de colaborar para desenvolvimentos de novas drogas.

No Brasil, estudos desta natureza com vegetais datam desde 1948, com Cardoso e Santos, que avaliaram extratos de 100 plantas usadas na terapêutica medicamentosa com cicatrizantes e antiinflamatórias. Somente 5 extratos apresentaram atividade inibitória para *S. aureus*, *E. coli* e *Proteus* X-19. Até meados

de 1970, os testes baseavam em extratos brutos ou totais, sendo posteriormente isoladas e testadas frações e compostos com atividade antimicrobiana, graças a técnicas de isolamento químico e identificação molecular. Os estudos de pesquisadores brasileiros até o momento revelam, um grande potencial dos produtos naturais obtidos de diversas espécies de vegetais, devendo estes, serem aprofundados para que possam ser aplicados na terapêutica (LIMA: in YUNES, 2001).

## 2.4 Plantas

### 2.4.1 Mesocarpo do Babaçu

O mesocarpo do Babaçu é uma parte do fruto abaixo da casca (epicarpo) e que envolve o endocarpo. O endocarpo é o local onde se encontra a amêndoa de características lenhosa. O mesocarpo apresenta uma estrutura composta de fibras e uma farinha. Esta farinha é a parte do fruto que é utilizado neste estudo, sendo fornecida pela TOBASA BIOINDUSTRIAL S.A.



Figura 1: Indivíduos adultos de *Orbignya ssp*, Babaçu.





**Figura 2: Corte transversal do fruto do Babaçu, *Orbignya ssp* e componentes.** A – epicarpo, B – mesocarpo, C – endocarpo, D – amêndoa. Fonte: Teixeira, 2000.

O Babaçu, palavra do tupi-guarani significa Ba = fruto e açu = grande, é dotado de frutos drupáceos com sementes oleaginosas e comestíveis, das quais se extrai um óleo empregado, sobretudo na alimentação. Apresenta inúmeras variações e sinônimos como: bauaçu, baguaçu, auaçu, aguaçu, guaguaçu, oauaçu, uauaçu, coco-de-macaco, coco-de-palmeira, coco-naiá, coco-pindoba, palha-branca (BALICK & PINHEIRO In: CLAY & CLEMENT, 1993; FERREIRA, 1999).

O Babaçu pertence à família das palmáceas do gênero *Orbignya*. Este gênero possui uma dificultosa identificação das espécies, sendo usados marcadores taxonômicos para identificação, como os marcadores Lupeol-metil-éter e  $\beta$ -metoxilupano (GARCIA et al., 1995).

Esta palmeira é encontrada em toda área da floresta semi-decídua equatorial. No Brasil a área de ocorrência dos babaçuais corresponde a 18,5 milhões de hectares, situados especialmente nos estados do Maranhão, Piauí, Pará, Minas Gerais, Bahia, Ceará, Mato Grosso, Matogrosso do Sul, Amazonas e Tocantins (TOCANTINS, 2004; TEIXEIRA, 2000).

O Babaçu, uma planta nativa brasileira importante no ciclo natural de conservação e melhoramento do solo, é de grande porte, podendo atingir 20 metros de altura, (dependendo da espécie), possui tronco cilíndrico e copa em formato de taça. O fruto é uma drupa composto por: epicarpo (camada externa, grossa e fibrosa, com espessura de 1-4 mm), mesocarpo (camada abaixo do epicarpo, constituída de uma farinha rica em amido, com espessura de 2-12 mm), e endocarpo (lenhoso com 35-75 mm de diâmetro, onde se alojam as amêndoas), com elevado número de frutos por cacho. As amêndoas são brancas, recobertas por uma película

de cor castanha, geralmente tem entre 03 a 04 amêndoas por fruto e rica em óleo (BALICK & PINHEIRO In: CLAY & CLEMENT, 1993; CORRÊA, 1978).

O uso do Babaçu pelas quebradeiras de coco e em comunidade rural é de grande importância para os indicadores sócio-econômicos regionais. Na região do norte do Tocantins, Sudoeste do Pará, Sul do Maranhão é um recurso de subsistência, beneficiando aproximadamente 30.000 famílias, que dependem desta atividade para sua sobrevivência econômica (BALICK & PINHEIRO In: CLAY & CLEMENT, 1993).

Os subprodutos deste fruto têm valor intrínseco, destinando-se a atividades como:

- casca do coco, utilizada pelas siderurgias como carvão, devido ao alto teor calórico (TEIXEIRA, 2005);
- endocarpo, lenhoso utilizado para confecção de carvão ativado e como carvão em siderúrgicas;
- palha das folhas, confecção de artesanatos;
- amêndoa, produção de óleo, biodiesel e ração animal (torta que sobra da prensagem da amêndoa), e
- mesocarpo, ração animal e alimentação humana como suplementação e dieta.

Existem leis de proteção ao corte, extração de palmito e uso indiscriminado deste fruto “in natura” em fornos industriais e em carvoarias. Somente, pode ser utilizado em industrialização a partir de uma planta de aproveitamento do fruto em fracionamento dos seus subprodutos (TOCANTINS, 2008).

A farinha fornecida pela TOBASA BIOINDUSTRIAL S.A. tem a possibilidade de ser composta pelas espécies *Orbignya oleífera*, *O. speciosa* e *O. pharelhata*. Conforme laudo da empresa TOBASA BIOINDUSTRIAL S.A. existe uma maior quantidade nos frutos recebidos da espécie *O. speciosa*, seguida pela *O. phalerata*. Assim, ao analisarmos descreveremos como análise do gênero e não da espécie.

O mesocarpo do fruto de *Orbignya ssp* é caracterizado por valores nutricionais de interesse nutricional com: 80,6% de carboidratos, 1,56% lipídeos, 2,2% proteínas, e 0,7% de fibras. Segundo Maciel em 2004, possui concentração

média superior ou pelo menos equivalente às fontes tradicionais de alimento, sendo considerado sob o ponto de vista nutricional um complemento alimentar.

**Tabela 2: Análise Bromatológica do Mesocarpo (farinha fina) do Babaçu, *Orbignya speciosa*.**

| ANÁLISE (UNIDADE)    | RESULTADO |
|----------------------|-----------|
| Umidade %            | 13,1      |
| Proteína Bruta %     | 5,2       |
| Extrato Etéreo %     | 0,5       |
| Fibra Bruta %        | 4,6       |
| Matéria Mineral %    | 1,9       |
| Cálcio %             | 0,10      |
| Fósforo %            | 0,06      |
| NDT Valor Estimado % | 72,9      |

NDT: Proteína Digestiva + Fibra Digestiva + Extrato Etéreo Digestivo + Extrato Etéreo Não Digestivo.  
DADOS: Lote 01158-06. Laudo SOLOCRIA LABORATÓRIO AGROPECUÁRIO LTDA de 24/12/2006.

Estes dados são confirmados na tabela 2, em análise bromatológica realizada por SOLOCRIA Laboratórios Agropecuários Ltda., a pedido da TOBASA BIOINDUSTRIAL S.A. com o interesse do uso do mesocarpo de *Orbignya speciosa* como ração animal.

GAITAN & cols. em 1994, questiona o uso do mesocarpo como alimento usual, correlacionando o alto índice de bócio endêmico em uma área do Maranhão com a ingestão de um preparado do fruto de *Orbignya ssp* com mandioca. Neste estudo, 38% das crianças em sala de aula em 1986 tinham bócio, mesmo com ingestão diária de iodo adequada. Foi observado que a principal fonte de alimentação destas crianças era o preparado do mesocarpo de *Orbignya ssp* com a mandioca. A avaliação das partes comestíveis do coco de *Orbignya ssp* para o efeito anti-tireóide “*in vivo*” e “*in vitro*”, apresentou resultados significantes, similar aos encontrados para drogas anti-tiroídicas como propiltiouracil e metilmazol.

Além de ser utilizado como alimentação humana, o mesocarpo de *Orbignya ssp* é empregado pela população para tratamento de dismenorreias, constipação, cólicas, obesidade, artrites, leucemia, reumatismo, úlceras, tumores e

inflamação. Algumas destas indicações sem estudo de comprovação da atividade (BALICK & PINHEIRO In: CLAY & CLEMENT, 1993).

Silva & Parente em 2001, isolou do mesocarpo de *Orbignya ssp* o MP1, um composto polissacarídeo, o  $\alpha$ -(1→4) D-glicopyranose residual com ramificação (3→4), (4→6), ou com (3→6). O MP1 estimula a fagocitose em camundongos balb, machos com 15 a 20g em doses de 100mg/kg, via oral, quando comparado a Salina e Zymozan. A atividade antiinflamatória do MP1 foi testada em modelo de permeabilidade vascular induzida por ácido acético intraperitoneal em dose de 100mg/kg, sendo o resultado significativo quando comparado com o padrão indometacina.

Nascimento et al., 2006; utilizando extrato aquoso da farinha do mesocarpo de *Orbignya ssp* promoveu a indução por ativação e migração de macrófagos, com um aumento significativo na produção de anticorpos auto-reativos (IGM especialmente) no baço, e ativação de macrófagos levando ao aumento na produção de TNF- $\alpha$ , peróxido e de óxido nítrico. A atividade inibidora em tumores experimentais obteve resultado positivo para o mesocarpo (MORAES, 1990). A avaliação antioxidante do endocarpo foi significativa, inclusive para parte mesocárpica do fruto (SILVA et al., 2005).

Estudos sobre cicatrização do mesocarpo de *Orbignya phalerata* foram feitas por diversos autores, demonstrando efeito protetor sobre as lesões gástricas induzidas por etanol e indometacina em camundongos (FREITAS & cols., 1998), e confirmado por Batista e col. em 2006, em estudo morfológico e tensiométrico em cicatrização de estômagos de ratos. No ano de 2006 vários outros estudos foram realizados na Universidade Federal do Maranhão apresentando resultados menos expressivos na cicatrização, mas importantes na regeneração dos tecidos lesionados, como os ensaios em bexiga de ratos (FERREIRA & col., 2006), cicatrização da pele (MARTINS et al., 2006) parâmetros de cicatrização da "linha alba (BRITO FILHO et al., 2006). Todos estes estudos na Universidade Federal do Maranhão foram feitos com ratos wistars macho adulto, em dosagem de 50mg/kg do extrato do mesocarpo aquoso.

As análises para atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico (1:1) do mesocarpo de *Orbignya ssp* foi realizado para *Staphylococcus aureus* e sua concentração mínima inibitória (CMI) foi de 30mg/mL com halos de inibição médio de 14-18 mm, destacando-se inclusive a atividade para cepas resistentes a metilicina

(MRSA), como o *S. aureus* AM189 e AM211. Neste experimento, foi relatado que a técnica de poço, difusão em agar, permite a difusão radial da substância e o tempo de perfusão à temperatura ambiente, favorecendo a expressão da ação antimicrobiana (CAETANO e cols., 2002).

Devido a este número de implicações científicas correlacionadas ao mesocarpo do Babaçu, *Orbignya ssp* e pouca informação sobre o comportamento do extrato frente a outras espécies de bactérias, tanto gram-positivas como gram-negativas, bem como de dados de extratos não aquosos, fizeram utilizá-la neste experimento. Entretanto, não se pode deixar de citar que essa planta destacou na análise de seleção para o estudo, como sendo um antimicrobiano.

#### 2.4.2 Mangabeira

*Lafoensia pacari* Jaume St. Hilaire é uma árvore do cerrado, mas encontrada em regiões de transição com a mata Amazônica, pertencente à família Lythraceae, conhecida como “dedaleira”, “mangava brava” (SOLON et al., 2000) e mangabeira (ANDRADE, SANTOS, BATISTA, 2003), descrita pelo botânico francês Auguste de Saint Hilaire, que passou pela Serra dos Cristais, em Goiás, no ano de 1818, sendo o nome uma homenagem ao Duque Dom Juan de Lafões (1719-1806), da casa de Bragança, membro da Academia de Lisboa (POTT E POTT, 1994 apud SANTOS, 2006; CARVALHO, 1994 apud SANTOS, 2006).

A *Lafoensia pacari* é uma árvore decídua, com 5 a 15 m de altura e 20 a 40 cm de diâmetro, podendo atingir até 25 m de altura e 60 cm de diâmetro na idade adulta, na floresta ombrófila mista. Apresenta tronco cilíndrico, reto ou levemente tortuoso com diâmetros de até 26 cm; ramificação cimosas, em forquilha com copa arredondada, umbeliforme, larga e densifoliada com ramos terminais jovens avermelhados. A casca com espessura de até 20 mm, sendo externa (ritidoma) é cinzenta, rugosa, com cicatrizes e sulcos rasos longitudinais. Quando a árvore é velha, a casca apresenta fendas longitudinais mais profundas. A casca interna é amarelada (SILVA JÚNIOR, 2005 apud SANTOS, 2006).

As folhas são simples, opostas, cruzadas, elípticas, oblongas ou obovadas, com 5 a 17 cm de comprimento e 2 a 9 cm de largura; ápices obtusos, retusos ou agudos, bases obtusas; margens inteiras e onduladas; nervuras salientes



na face inferior, nervuras secundárias quase paralelas; pecíolos de até 1 cm de comprimento; com estípulas diminutas e caducas; folhas coriáceas, glabras discolores, brilhantes na face superior (SILVA JÚNIOR, 2005 apud SANTOS, 2006) e com um calo apical conspícuo. As flores são grandes com receptáculo desenvolvido (JOLY, 1987 apud SANTOS, 2006), de até 8 cm de diâmetro; com até 16 pétalas livres; de cor branca ou amarelada. O fruto é seco, deiscente do tipo cápsula semi-lenhosa, semiglobosa, com 4 a 8 cm de comprimento por 2,3 a 5,3 cm de diâmetro, com ápice arredondado, terminando em cone, (SILVA JÚNIOR, 2005 apud SANTOS, 2006).



**Figura 3: Imagens de espécime adulto e detalhes de órgãos de *Lakoensia pacari*. A – *Lakoensia pacari* indivíduo adulto. B – Caule. C – Flores D – Folhas e galhas.**

Esta planta tem sido usada empiricamente nas regiões Sudeste, Centro-oeste e Norte do Brasil, inclusive no Estado do Tocantins, além do leste do Paraguai, no tratamento de inflamações sistêmicas e locais, úlceras gástricas, cicatrização de feridas, dermatomicoses e para o tratamento de câncer (ROGÉRIO, 2002; SOLON et al., 2000).

A ação antimicrobiana dos extratos das folhas de *L. pacari* sobre *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans* foi demonstrada, enquanto o extrato obtido a partir da casca, somente inibiu a *C. albicans*, com formação de halos de inibição de médias de 13 a 17mm para extrato metanólico, hidroalcoólico, aquoso e acetato de etila para *Cândida albicans* e a cepas de *Staphylococcus aureus*. (PIRES et al., 200?). Alves & col. (2000) também demonstrou atividade antimicrobiana para extrato metanólico, enquanto que para atividade antifúngica foi encontrada no extrato etanólico.

Em experimentos apresentados em 2006 por Lima & cols, demonstrou que extrato hidroalcoólico, acetato de etila e frações cromatográficas da entrecasca e extrato etanólico das folhas apresentaram atividade antimicrobiana frente à *Staphylococcus aureus* cepas ATCC25923 e cepas multidrogas resistentes com gene de bomba de efluxo. Neste estudo, verificou efetividade da atividade antimicrobiana do extrato etanólico das folhas de *L. pacari* contra bactérias álcool-ácido resistentes (*Mycobacterium spp*), *Proteus mirabilis*, *Micrococcus flavus* e *Staphylococcus aureus*. O extrato comportou-se com valores da CMI de 625 µg/mL para todos os *Staphylococcus aureus*, e halos de 10 a 12mm (LIMA et al., 2006).

Até o momento, somente o trabalho de Souza & col. (2002); indicou atividade antimicrobiana negativa.

Outras atividades biológicas foram evidenciadas para os extratos etanólico da casca do caule de *L. pacari*, como atividade antiinflamatória em modelo da peritonite aguda induzida em camundongos pela carragenina (ALBUQUERQUE et al., 1996). Rogério e cols. (2003), demonstraram atividade inibitória do extrato etanólico sobre a produção de Interleucina 5 e Solon et al. (2000) isolaram do extrato metanólico da casca do caule de *L. pacari* o ácido elágico, que demonstrou a atividade seqüestradora de espécies reativas de oxigênio. O ácido elágico exibe atividade anti-mutagênica, anti-carcinogênica e inibitória da arilamina N-acetiltransferase em *Helicobacter pylori* (CHUNG, 1998).

O estudo fitoquímico das folhas e flores de *Lafoensia densiflora* Pohl, *Lithraceae*, apresentou em seu fracionamento com métodos cromatográficos e identificação por métodos espectrométricos, a presença de compostos fenólicos glicosilados, além dos ácidos: betulínico, ursólico e derivados; saponinas como tetrahydroxioleanenoato de  $\beta$ -D-glucopiranosila, álcool tetrahydroxioleaneno; flavonóides como kaempferol glucopiranosil-kaempferol e quercetina; e a floracetofenona hidroxil-glucopiranosilmetoxi-acetofenona, sendo que estes compostos com atividade biológica. Já o estudo químico de *Lafoensia glyptocarpa*, *Lithraceae*, isolou e identificou saponinas glicopiranosil-sitosterol e arabinopiranosiloleanoato de glicopiranoíla e sitosterol (RODRIGUES, 2000).

Esta diversidade de atividades e o destaque para número de indicações como antimicrobiano em uso popular, levou-nos a curiosidade de observar se a *Lafoensia pacari* coletada em área de transição dos biomas (ecótono) Mata Amazônica e Cerrada do Estado do Tocantins, apresentava-se o mesmo comportamento de sensibilidade dos extratos apresentados anteriormente.

#### 2.4.3 Meracilina

A Meracilina, *Althernathera* cf. *brasiliiana* (L.) Kuntze é uma planta herbácea, perene, de base lenhosa, com ramos decumbentes ou semi-erectos, de 0,60 a 1,20 m de altura, nativa de áreas abertas de quase todo o Brasil com predominância de ocorrência em ecossistemas com fisionomias campestres e ou cultivadas com propósito ornamental devido à coloração de suas folhas de verde a violeta. Pertencente à família *Amarantaceae*, ordem *Centrospermae*, conhecida popularmente com “terramicina, penicilina, caaponga, cabeça branca, doril e acônito do mato” (LORENZI & MATOS, 2001).

O gênero *Althernathera* apresenta 170 espécies, sendo descritos por vários autores ações farmacológicas como analgésicas (DE SOUZA, 1998), antiinflamatória (BROCHADO, 2003) imunomodulatória (GUERRA, 2003), diuréticas (CALDERÓN et al., 1998), antiviral (YANG et al., 1989), muluscida (NDIFON & UKOLI, 1984) depurativas, digestivas e antidiarréica (ALONSO, 2004).

A *Althernathera* cf. *brasiliiana* (L) Kuntz, embora os estudos fitoquímicos específico desta espécie sejam raros, alguns autores têm demonstraram a presença



de terpenos, esteróides, compostos fenólicos (DE SOUZA et al., 1998) e flavonóides (BROCHADO et al., 2003



Figura 4: Detalhe da parte aérea *Alternanthera brasiliana* cultivada no horto da Fundação de Medicina Tropical do Estado do Tocantins - FMT/TO.



Figura 5: Canteiro de *Alternanthera brasiliana* cultivadas no horto da Fundação de Medicina Tropical do Estado do Tocantins - FMT/TO

Alguns estudos de outras espécies deste mesmo gênero apresentaram a presença de óleos essenciais composto principalmente por: acetato de bornilo, acetato de elemenol, alcanfor,  $\alpha$ -cimeno,  $\alpha$ -pineno,  $\alpha$ -terpineol, azuleno, canfeno, curcumeno, eudesmol, limoneno, linalol, mirceno, p-cimento, terpinoleno, turjona, 1,8-cineol, além de triterpenos do tipo esteroidal ( $\alpha$ - $\gamma$ - $\beta$ -espinasterol);  $\beta$ -sistosterol e estigmasterol, leucoantocianidinas, alcalóides, saponinas (ácido aleânico como aglicona, raminose e glicose como açúcar) cloreto de colina (ALONSO, 2004, MACEDO et al., 1999).

São relatados efeitos analgésicos de extratos hidroalcoólicos obtidos de partes aéreas da *A. brasiliiana* e as análises fitoquímicas preliminares indicam a presença de terpenos, esteróides e compostos fenólicos, sendo encontrado o  $\beta$ -sistosterol (SOUSA et al., 2004). Alguns estudos demonstraram que apresenta atividade “*in vitro*” contra vários vírus, incluindo o “*herpes simplex*”. Em outro ensaio foi demonstrado que o extrato extraído com solvente orgânico apresentou uma citotoxicidade em tumores, sendo esta toxicidade relacionada com a presença de turjona no óleo essencial (ALONSO, 2004).

A infusão das folhas apresentou caráter digestivo, depurativo. Já infusão da inflorescência é considerada béquicas. Suas folhas são usadas como adstringentes, enquanto que a planta inteira macerada é usada contra prisão de ventre (LORENZI & MATOS, 2004).

Salvador (2004) observou atividade antimicrobiana de *Alternanthera maritima* contra bactérias gram-positivas e gram-negativas. A concentração inibitória mínima variou de 25 a 500 ug/mL, sendo encontrado na análise cromatográfica: esteróides, ácidos orgânicos, saponinas e flavonóides agliconas, flavonóides glicosídeos. Já a *Alternanthera pungens* possui atividade farmacológica similar a furosemida, que tem como função diminuir a reabsorção do cloreto de sódio e aumentando a excreção de potássio no túbulo distal.

Assim, foi de interesse de nosso estudo, a observação da *A. brasiliiana* que foi considerada como antimicrobiana pela análise secundária dos dados etnobotânicos.

#### 2.4.4 Jenipapo

*Genipa americana* L. é o nome científico para o jenipapo. Árvore nativa da América do Sul e Central de áreas tropicais da família *Rubiaceae*. O Jenipapo (figura 6) demonstra formas elegantes, de caule reto, que atinge 14 metros de altura e 60 cm de largura, apresenta casca lisa, espessa, cinza esverdeada com manchas cor cinza mais claras; folhas decussadas, curto pecíolo opostas obovadas até oblongas, com frutos carnosos, de 8 a 10 cm de comprimento por 6 a 7 de diâmetro de casca mole e rugosa, amarelado-apardacenta ou castanho ferrugínea ou verde lavada de castanho, com popa aromática, vinosa, mole, com numerosas sementes (CORRÊA, 1978).

O efeito antimicrobiano da *G. americana* foi observado para substâncias isoladas no fruto, da folhas casca e entrecasca, como as substâncias monoterpênicas ciclopentanóidico, ácido genípico e ácido genipínico e seus derivados carboxilados (TALLENT, 1964).

O triterpeno  $2\alpha,3\beta$ -dihidroxiato cicloartane, conhecido como Genipatriol, foi isolado de *Genipa spruceana* (*Rubiaceae*) em 2003, por combinação de métodos cromatográficos com métodos espectrométricos (espectrometria de massa e ressonância magnética nuclear). Este composto reverte a multiresistência a compostos azólicos de *Cândida glabrata* identificada com sistemas de bomba de efluxo (HOSSAIN et al., 2003).

Os constituintes voláteis *G. americana* marcantes da fragrância do fruto foram determinados por GC-MS, apresentando como constituintes o ácido hexadecanóico, ácido octadecanóico, ácido tetradecanóico, linalol, lomoneno e ácidos carboxílicos (PINO, MARBOT, VAZQUEZ, 2005).

Atividade antitumoral “*in vitro*” foi avaliada para produtos isolados de frutos, folhas e indução de callus “*in vitro*” do jenipapo, como glicosídeos iridóides, sendo significativos os resultados para Tarenosídeo, Ácido Geniposídico, Geniposídeo, Genipino (UEDA & IWAHASHI, 1991).

Outros glicosídeos iridóides foram isolados do fruto do jenipapo, sendo que não foi reportado resultado ainda para atividade biológica, são os Genamesídeos A, Genamesídeos-B, Genamesídeos C e Genamesídeos D (ONO et al., 2005).





**Figura 6: Imagens de espécime adulto e partes de *Genipa americana* L.** A – Espécime adulto de Jenipapo. B – Casca. C – Flor. D – Fruto íntegro e corte transversal do fruto.

Análogos de cryptolepítinas, classe de alcalóides, isolados de uma mistura *Genipa americana* L. e *Microphilis guyanensis* (A. DC) Pierre (*Sapotaceae*) de plantas coletadas no Suriname, que tiveram atividade antifúngica expressiva, mas, não seletiva para leveduras mutantes 1138, 1140 e 1353 de *Saccharomyces cerevisiae*. Estas leveduras neste ensaio faziam parte de um modelo de *screening* para drogas anticancer, apresentando danos no DNA. Alguns destes isolados pelo

ensaio bioguiado, tiveram sua estrutura elucidada e foram significativamente ativos, com concentrações menores que 400 mg/mL para IC12 e citotoxicidade “*in vitro*” com linhagem de células M109, utilizando cloreto de Cryptolepina (Cloreto de 5-N-Metilquindolina), Cryptolepina, Quindolina e outros derivados de 5-N-Metilquindolina, de 5-N-Propylquindolina, de N-Acetilquindolina, de 5,10-N,N-Dimetilquindolina, além de carbamato. Os derivados de 5-N-Metilquindolina e 5-N-Metil-10-N-alilquindolina foram testados para outras 25 diferentes linhagens de células com observação de indução do ciclo celular dependente de distúrbios de crescimento, que caracteriza alterações típicas de agentes danificadores de DNA (YANG et al., 1999).

Uma curiosidade interessante é que a Vedic Hindus –Ind. Comercio e Importação e Exportação LTDA, desenvolveu um produto cosmético para tatuagem não permanente, patenteado sob o registro (WO2005105020-A2; BR200403011-A), que teve como fonte de “inspiração” a técnica de pintura dos índios para rituais religiosos e de guerra, de cor azul escuro, sendo um dos produtos possíveis para confecção de “tatuagem de Henna”.

O efeito repelente foi demonstrado em moscas antropofílicas do fruto de “Jenipapo” e do “Melão de São Caetano”, *Mormodica charantica*, (Família *Curcumbitaceae*). Neste experimento observou o efeito sobre 9 gerações sucessivas de *Lutzomyia gomezi* e *L. trapidoi* que no Panamá é vetor da Leishmaniose e propôs a inferência para as outras espécies do gênero *Lutzomyia* (DÁVILA, 1986).

#### 2.4.5 Folha Santa

Folha da Fortuna, Folha Santa, Sempre Viva, Saião, Planta de Ressurreição e Coirama são alguns nomes populares no Estado do Tocantins - Brasil, para *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken, sendo descrito na literatura outras 200 espécies (RAINTREE NUTRITION, 2006). São sinonímia científica *Kalanchoe brasiliensis*, *K. pinnatum*, *Bryophyllum calycinum*, *B. germinans*, *Cotyledon calycina*, *C. calyculata*, *C. pinnata*, *C. rhizophilla*, *Crassuvia floripendia*, *Crassula pinnata*, *Sedum madagascariense* e *Verea pinnata*.

Esta planta é da família *Crassulaceae*, sendo a espécie identificada e considerada neste trabalho do gênero *Bryophyllum* espécie *pinnatum*, conforme

identificação botânica realizada por Eduardo Ribeiro dos Santos do Herbário da UNITINS, onde amostras representativas estão depositadas.

*Bryophyllum pinnatum* é uma planta de regiões tropicais, perene, suculenta e que cresce de 90 á 150cm de altura. Apresentam flores em forma de sinos, talos ocos; suas folhas são verdes escuras e carnudas, com alto teor de água e capacidade de multiplicação por geminação ou brotamento nas bordas das folhas, gerando em diversos pontos um grande número de raizóides, que em contato com solo ou substrato desenvolve uma nova planta, por isso o nome de sempre viva e planta da ressurreição (figura 8).



**Figura 7: Detalhe da parte aérea de *Bryophyllum pinnatum* cultivada no horto da Fundação de Medicina Tropical do Estado do Tocantins - FMT/TO.**



**Figura 8: Detalhe da reprodução por propagação direta (geminação ou brotamento na borda lateral) das folhas de *Bryophyllum pinnatum* cultivadas no horto da Fundação de Medicina Tropical do Estado do Tocantins - FMT/TO. Evidencia-se a explicação do nome sempre viva**

Uma variedade de indicações populares foi apresentada para esta planta no Tocantins, pelo levantamento etnobotânico “Bosque da Biodiversidade”, dentre



estas como: antimicrobiano, antiinflamatório, cicatrizante, em diarreias, problemas estomacais, ulcera gástrica, depurativo do sangue, no tratamento de cânceres e sua prevenção, problemas de veia, má circulação, alívio nas pernas e inchaço nas pernas.

Outras citações relacionadas à medicina folclórica em outros estados do Brasil apresentam indicações como sedativa, diurética, no tratamento de asma, bronquites, dores de cabeça, pedra nos rins, em picadas de insetos. Em outros países apresentam a repetição de várias indicações observadas na medicina folclórica do Brasil, sendo que no México e Nicarágua esta planta é indicada para promoção da menstruação e auxiliar nos partos (RAINTREE NUTRITION, 2006).

A atividade antimicrobiana do extrato alcoólico 60% (4:6 de água em etanol) das folhas de *Bryophyllum pinnatum* foi demonstrada por Akinpelu (2000), em plantas coletadas na Obafemi Awolowo University, Ile-Ife – Nigéria; utilizando a técnica de difusão em agar com depósito do extrato em poços de 6mm de diâmetro em uma única diluição, 25mg/mL, obtendo o halo de inibição de crescimento para uma seleção de 7 bactérias e um fungo *Candida albicans* LIO (Organismo Isolado Localmente) usando como controle positivo Estreptomicina em 1 mg/mL. Obtiveram-se médias dos halos de inibição do ensaio entre 13,4 á 16,8mm e Concentração Mínima Inibitória (CIM) de 2,19 a 4,38 mg/mL. As bactérias utilizadas foram *Bacillus subtilis* (NCIB 3610), *Escherichia coli* (NBIC 86), *Klebsiella pneumoniae* (NCIB 418), *Proteus vulgaris* (NCIB 67), *Pseudomonas aeruginosa* (NCIB 950), *Shigella dysenteriae* (LIO) e *Staphylococcus aureus* (NICB 8588). O extrato etanólico 60% não foi sensível apenas para *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* e *C. albicans*. Foi determinada para este extrato a presença de alcalóides e flavonóides.

Para *Kalanchoe farinacea* foi determinado à atividade antimicrobiana dos extratos clorofórmico, metanólico e aquoso, pela técnica de difusão em agar utilizando os seguintes microrganismos: *Staphylococcus aureus* ATCC6538, *Bacillus subtilis* ATCC6059, *Micrococcus flavus* SBUG16, *Escherichia coli* ATCC11229, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Candida maltosa* SBUG, *Staphylococcus epidermidis* 847, *Staphylococcus haemolyticus* 535 e *Staphylococcus aureus* (isolada de paciente hospitalizado pelo Instituto de Higiene de Mecklenburg-Vorpommern, Greifswald, Alemanha). O extrato clorofórmico e aquoso não inibiram o crescimento das bactérias para uma concentração equivalente a 4 mg de extrato

seco, sendo demonstrado atividade para o extrato metanólico com halo de inibição variando de 12 a 17mm (MOTHANA & LINDEQUIST, 2005).

Além da atividade antimicrobiana a revisão literária para *Bryophyllum pinnatum* apresentou artigos com resultados significativos para o extrato aquoso de suas folhas, considerando a atividade antinocepitiva, antiinflamatória, antidiabético (OJEWOLE, 2002). A atividade neurosedativa e relaxante muscular do extrato aquoso das folhas frescas secas extraídas com solução salina foram reportadas por YEMITAN & SALAHDEEN em 2005. O efeito como anti-hipertensivo do extrato aquoso e metanólico das folhas de *Bryophyllum pinnatum* foi observado em ratos normotensos e hipertensos, usando técnicas invasivas e não invasivas (OJEWOLE, 2005). O efeito cicatrizante de extratos fluido de folhas de *Bryophyllum pinnatum* com 4,5% de sólidos totais foi testado em Cuba, demonstrando em ratos favorecer os processos fisiológicos da cicatrização (SUÁREZ, ULLOA, CUELLO, 2001).

Um estudo de farmacologia clínica sobre *Bryophyllum pinnatum* foi realizado envolvendo grávidas em trabalho de parto, e impactos nos seus neonatos, comparando o Beta-agonista com extrato isolado da planta, "Weleda AG, D-73525 Schwabsch Gmund" a 5% em ampolas de 10 mL de uso intravenoso como tocolíticos. Os resultados foram similares entre as duas drogas para ação tocolítica e observou uma diminuição da morbidade nos neonatos em síndrome respiratória, número de eventos adversos por recém nascido e prematuridade (<37semanas), além de diminuição dos efeitos colaterais nas parturientes (PLANGGER et al., 2006). Testes com tecido humano uterino biopsiado, demonstrou ser dose dependente para cronocidade e intensidade da contratibilidade uterina (GWEHENBERGER et al., 2004). Demonstrando ser "*in vitro*" como "*in vivo*" uma droga promissora como tocolítico.

O gênero *Bryophyllum* apresenta em sua composição uma grande gama de substâncias como terpenóide, alcalóides, taninos, flavonóides, esteróides e lipídeos. As folhas apresentam um grupo químico intrigante, os Bufadienolídeos (que apresentam estrutura e atividade semelhante aos glicosídeos cardíacos, como digoxina e digitoxina). Outras substâncias são encontradas nas *Bryophyllum* como o ácido araquidônico, astragalina,  $\beta$ -Amarina, benzenóides,  $\beta$ -sitosterol, bryopholenona, bryopholona, bryophylina, bryophylina A-OC, bryophylol, bryophynol, bryotoxina C, bufadienolídeos, ácido caféico, campesterol, cardenolídeos, ácido cinâmico, clerosterol, clionasterol, codisterol, ácido cumarínico, epigalocatequinas,



ácido ferrulico, friedelina, glutinol, hentriacontane, isofucoesterol, kaempferol, ácido oxálico, oxaloacetato, ácido palmítico, patuletina, peposterol, fosfoenolpiruvato, ácido protocatequínico, pseudotaraxasterol, piruvato, quercetina, estigmasterol, ácido succínico, ácido syringico, taraxerol, and triacontano (STEVENS et al., 1995; RAIN TREE NUTRITION, 2006).

#### 2.4.6 Bacuri

O Bacuri é uma planta da família *Palmae (Arecaceae)*, subtribo *Attaleeae* Drude, do gênero *maxiliana* Mart. ou *phalerata* Mart., seção *Scheelea*, segundo Flora Brasiliensis, 2006. Considera-se como nome científico da planta *Attalea phalerata* Mart., sendo depositada amostra representativa no Herbário da UNITINS. Outras sinônimas científicas são apontadas para esta planta como *Maximiliana insignis* Mart., *Maximiliana tetrasticha* Drude, *Scheelea phalerata* Mart.. Esta palmeira tem distribuição por quase todo o cerrado brasileiro em áreas férteis, principalmente no Tocantins, onde é conhecida popularmente também como acuri ou acurizeiro.

O fruto apresenta um tamanho variando entre 10 a 15 cm de comprimento por 5 de circunferência. O mesocarpo da *Attalea phalerata* é uma parte do fruto abaixo da casca (epicarpo) e que envolve o endocarpo (local onde se encontra a amêndoa). O mesocarpo apresenta uma estrutura composta de fibras e uma polpa amarela e de paladar apreciável, quando o fruto maduro. Do fruto para este estudo utilizada a polpa (mesocarpo) e a casca (epicarpo), figura 9 e 10.

A polpa do fruto que se considera o mesocarpo, apresenta característica fibrosa com uma massa (farinha) de cor amarelada à laranja, devido à presença de carotenóides principalmente os precursores de vitamina A. Apresentam valores aproximados de 17µg/g e 5µg/g de carotenóides pró-vitamina A, respectivamente à β-caroteno e β-zeacaroteno (HIANÊ, 2003). Observando-se a sua utilização para as doenças por déficit de vitamina A.



Figura 9: Indivíduo adulto de Bacuri, *Attalea phalerata* Mart.; com cachos de frutos imaturos em destaque.

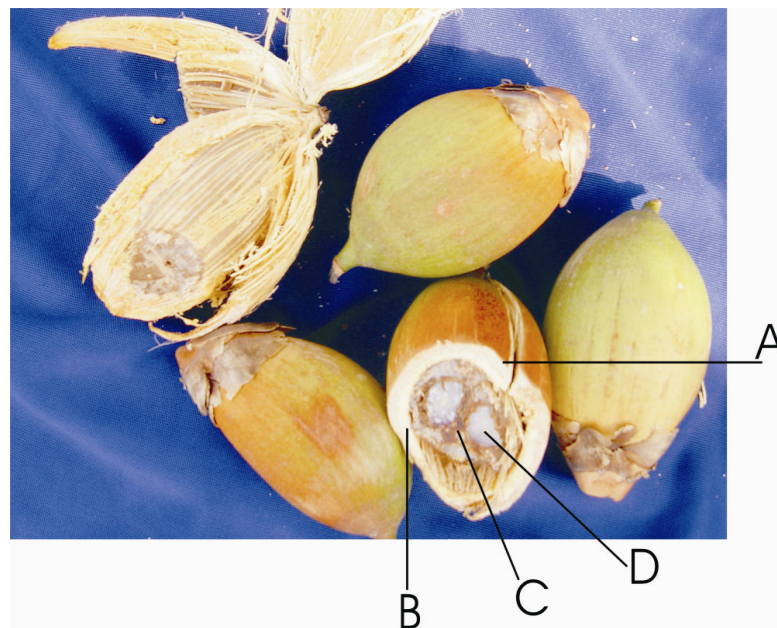


Figura 10: Frutos e corte transversal do fruto do Bacuri, *Attalea phalerata* Mart. A – Epicarpo (casca). B – Mesocarpo. C – Endocarpo (parte escura). D – Amendoa.

Do mesocarpo de *Attalea phalerata* foram isolados compostos polissacarídeos Hetroxylan, um ácido complexo heteroxylan com uma ligação (1 → 4)- $\beta$ -Xylp (SIMAS et al., 2004).

São encontrados diversos trabalhos ecológicos desta planta com associações a refúgio de artrópodes, devido sua grande quantidade de folhas e a forma de sua inserção ao caule, formando uma rede densa de difícil acesso a animais e a luz. Não foram encontrados trabalhos na literatura referentes à atividade antimicrobiana do fruto, nos motivando a inclusão nestes testes.

### **3 JUSTIFICATIVA**

As infecções bacterianas é uma das maiores preocupações na área da saúde, desde o postulado de médico Robert Koch (1843-1910) sobre a origem das patologias. Esta preocupação é crescente devido a resistência bacteriana frente aos antimicrobianos, causada por seleção positiva, mau uso desta classe de medicamentos, de mutações e outros processos genéticos que “burlão” as tentativas de eliminar uma bactéria do sitio de infecção em determinadas patologias (TAVARES, 2000; FINCH et al., 2003).

Observa-se que em países que possuem serviços de vigilância e controle de infecções, neste caso, o Brasil faz parte da SENTRY - Antimicrobial Surveillance Program, a “difusão” de resistencia microbiana é confirmada, causando morbidade e mortalidade elevada nas populações em ambiente hospitalar quanto comunitário. Os dados obtidos por levantamentos epidemiológicos de bactérias isoladas de infecções comunitárias e ou nosocomiais, demonstram elevada resistência aos antimicrobianos convencionais e mesmos os de última escolha (SADER, et al., 2004).

Em alguns países os casos de resistencia aproximam-se de 60 à 90% de isolados bacterianos resistentes, enquanto para os antibióticos de auto custos e exclusivos a ambiente hospitalar estes podem chegar a 30%. Observa-se também em estudo referenciados pelo SENTRY que as bactérias “superresistentes” podem chegar a 5% de isolados. A morbidade destas infecções causadas por estas bactérias resistentes é elevada, o que diminui a perspectivas dos infectados, as chaces de recuperação sem lesão (INFECTIONS DISEASES SOCIETY OF AMERICAN, 2004; SADER, et al., 2004).

Em decorrência da crescente resistência microbiana e da necessidade de munir a terapêutica médica com medicamentos eficazes para o tratamento de seus

pacientes, é sempre bem vindo o desenvolvimento e a descoberta de novas moléculas ativas, que possam interferir nos processos “biodinâmicos e homeostase” das infecções bacterianas (TAVARES, 2000; FINCH et al., 2003; OESTERHELT et al., 2005, INFECTIONS DISEASES SOCIETY OF AMERICAN, 2004; LEVY & MARSHAL, 2004).

Esta preocupação é relatada pela Organização Mundial da Saúde e praticamente de quase todos os autores da área Médica, Microbiológica e da própria Indústria Farmacêutica, que durante os últimos anos vem observando o decréscimo de registro de novos antibióticos com perspectivas de controle destas infecções (INFECTIONS DISEASES SOCIETY OF AMERICAN, 2004).

Assim, este trabalho propõe contribuir para o desenvolvimento de novos fármacos através do estudo de sensibilidade de extratos de 6 plantas do estado do Tocantins, que direciona para futuros trabalhos fitoquímicos de isolamento de substâncias potenciais para se tornarem antimicrobianos.

Para tanto, selecionou-se bactérias tipagem conhecidas internacionalmente e também isoladas localmente, que foram testadas contra os extratos utilizando técnicas padronizadas. As bactérias de coleções internacionais são sepas usadas para padronizar e realizar controle de qualidade de antibiogramas em centros de estudos e padronizações internacionais como NCCLS. (NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS, 2000 ; SADER, et al., 2004).

O estudo a partir de plantas é recomendado por diversos autores, devido ao metabolismo secundário dos vegetais serem fontes de substâncias químicas com estruturas não convencionais, além do aproveitamento da grande biodiversidade brasileira. (CALIXTO:YUNES, 2001; LEVY & MARSHAL, 2004; HAMBURGUER & HOSTETTMANN, 1991; OMS, 2002).

Diversos trabalhos fitoquímicos para antimicrobianos, bem como outras classes medicamentosas, tiveram seus estudos iniciais desenvolvidos a partir de origem natural, que culminaram em um protótipo ou mesmo um medicamento hoje empregado no mercado, caso este da artemisina, cloroquina, quinino, penicilina, outros antimicrobianos derivados de fungos, alcalóides da vinca (vincristina e vinblastina), codeína, reserpina, atropina, ergotamina, efedrina, terpenois (cariofileno, mentol e mirceno), fenilpropanois (eugenol), flavonóis (ginkgolídeos A, B,

C, J e M), glicosídeos (digitoxina e digoxina) e outras classes (CALIXTO:YUNES, 2001 e LEVY & MARSHAL, 2004).

Outro ponto favorável a utilização de plantas são os estudos etnofarmacológicos, que apontam para uma possível indicação de ação biológica, pois em alguns países em desenvolvimento até 80% da população têm como a única fonte de medicamento as plantas, assim selecionando empiricamente o seu uso (OMS, 2002).

Para isolamento de frações de uma das plantas testadas utilizamos a técnica de isolamento direcionada pela atividade biológica, observado sobre um extrato de uma parte da planta, para estudos futuros de isolamento e elucidação estrutural das substâncias ativas.

A planta selecionada foi o Babaçu, *Orbignya ssp* (Palmae), sendo a parte utilizada o seu mesocarpo, devido a atividade seletiva, atuando em bactérias gram positivas, além de características socio, ambientais, culturais e econômicas.

Pontua-se nestas características o processo de obtenção industrializada do mesocarpo de maneira padronizada e em quantidade significativa, em caso de desenvolvimento de um produto para utilização em grande escala. Portanto, economicamente viável, pois a sua extração independe da proposta única de obtenção do mesocarpo, onde hoje já se coleta para obtenção de produtos como óleo da amêndoa, o bagaço e o endocarpo. É ainda, ecologicamente sustentável, onde o extrativismo deste fruto propõe-se maior proteção a área de manejo, objetivando maior produção e conseqüentemente manutenção da flora e fauna associada, bem como os mananciais e nascentes destas regiões. Sob o aspecto socioeconômico regional, a operação extrativista deste fruto beneficia aproximadamente 3000 famílias em comunidades em situação de risco, dentre estes assentados rurais e ribeirinhos, onde um incremento de valor ao produto poderia ter impacto positivo.

Dentro desta perspectiva de descoberta de novas moléculas de ação antimicrobiana, buscamos estudar o potencial de cada planta relacionada.

## 4 OBJETIVOS

### 4.1 Geral

Avaliar a sensibilidade “*in vitro*” de extratos de plantas do Estado do Tocantins contra algumas bactérias patogênicas de coleções internacionais e de isolados de pacientes do Estado do Tocantins.

### 4.2 Específicos

Avaliar a atividade antibacteriana e a concentração mínima inibitória dos extratos hexânico, hidroalcoólico e etanólico de Jenipapo, Folha Santa, Meracilina, Mangabeira, Babaçu e Bacuri, sobre bactérias gram-positivas e gram-negativas.

Isolar frações com atividade antibacteriana do extrato do Mesocarpo do Babaçu, *Orbignya ssp (Palmae)*, por prospecção fitoquímica.

## 5 MATERIAIS E MÉTODOS

### 5.1 Do Material Vegetal

#### 5.1.1 Seleção das plantas

As plantas estudadas foram selecionadas a partir de análise retrospectiva de dados secundários, obtidos através do levantamento Etnofarmacológico do Projeto Bosque da Biodiversidade – 1999 da UNITINS, pertencentes ao banco de dados da Fundação de Medicina Tropical do Tocantins.

Foram usados critérios de seleção a partir do nome popular da planta como:

- 1 – porcentagem de indicação antimicrobiana
- 2 – facilidade de obtenção da planta
- 3 – revisão bibliográfica não consistente ou inexistente da parte da planta a ser experimentada
- 4 – tipo de extrato produzido.

#### 5.1.2 Material botânico

As amostras do vegetal pré-definido etnofarmacologicamente foram coletadas no Estado do Tocantins em região de confluência dos biomas (área ecotonal) Cerrado e Mata Amazônica, caracterizada por floresta ombrofita aberta de vegetação semi-decidual e do cerrado, antropisada, com exceção das plantas cultivadas no horto da Fundação de Medicina Tropical do Tocantins e do mesocarpo do babaçu que foi fornecido pela empresa TOBASA BIOINDUSTRIAL S.A.

Os espécimes foram separados por órgãos vegetais como folha, caule, casca, raiz e fruto na qual se obteve o respectivo extrato da planta, conforme a indicação popular.

Em conjunto com a coleta do material vegetal para os experimentos foram retiradas amostras representativas para herborização. As amostras foram tratadas adequadamente e encaminhadas em exsicatas na forma de quadruplicatas para identificação botânica, onde receberam guarda e catalogação do Herbário da

Universidade do Tocantins pelo Prof. Eduardo Ribeiro dos Santos. Em anexo ao material de identificação foram registadas imagens digitalizadas das espécies e dados da coleta, conforme ficha de coleta que se encontra no Anexo -1 (DI STASI et al., 1996; FIDALGO et al., 1989).

**Tabela 3: Identificação das plantas analisadas, relacionando nomenclatura botânica e popular, partes usadas nos experimentos e índices estatísticos facilitadores de seleção por indicações encontrados no levantamento etnofarmacológicos.**

| Nome Popular        | Nome Científico <sup>1</sup>                    | Família       | Parte testada      | Tombo Herbário UNITINS número | % indicações entre plantas antimicrobianas | % indicações entre todas as indicações |
|---------------------|---|---------------|--------------------|-------------------------------|--|--|
| Folha-santa         | <i>Bryophyllum pinnatum</i> (Lam.) Oken         | Crassulaceae  | Folhas             | 62                            | 28,1%                                      | 3,1% (216)                             |
| Jenipapo            | <i>Genipa americana</i> L.                      | Rubiaceae     | Casca, Fruto       | 52                            | 0,9%                                       | 0,1% (7)                               |
| Mangabeira          | <i>Lafoensia pacari</i> St. Hil.                | Lythraceae    | Folhas             | 24                            | 41,4%                                      | 4,5% (317)                             |
| Meracilina          | <i>Alternanthera cf. brasiliana</i> (L.) Kuntze | Amaranthaceae | Folhas             | 21                            | 4,0%                                       | 0,4% (31)                              |
| Bacuri              | <i>Attalea phalerata</i> Mart.                  | Palmae        | Fruto              | 30                            | 0,9%                                       | 0,1% (7)                               |
| Mesocarpo do Babaçu | <i>Orbignya ssp.</i>                            | Palmae        | Mesocarpo do Fruto | *                             | 0,5%                                       | 0,06% (4)                              |

\* Material fornecido pela TOBASA Bioindustrial de Babaçu S. A. 1- Identificação botânica realizado pelo Sistemata Dr. Eduardo Ribeiro dos Santos responsável pelo Herbário da Universidade do Tocantins. Dados de valores absolutos, relativos analisados são do total de 7028 indicações populares registradas na pesquisa etnofarmacológica do do Projeto Bosque da Biodiversidade – UNITINS/FMT.

As partes coletadas para posterior utilização na fase experimental passaram pelo processo de secagem a temperatura ambiente e sob ventilação



forçada com proteção da radiação solar. A temperatura média nos dias de secagem em Araguaína-To foi aproximadamente 26,3°C. Posteriormente, foram acondicionadas em frascos escuros ou caixas de papelão e armazenadas ao abrigo da luz em ambiente seco, com temperatura de 21 °C e umidade 60% (DI STASI, 1996; FIDALGO, 1989).

**Tabela 4: Dados da coleta, localização de cada espécime estudada.**

| Nome Científico <sup>1</sup>            | Data de Coleta | Localização, Região  | Altitude (m) | Posição Geográfica               | Tipo de vegetação        |
|---|----------------|--|--------------|----------------------------------|--------------------------|
| <i>Bryophyllum pinnatum</i> (Lam.) Oken | 10/04/2005     | Canteiro do Horto da FMT, Bairro de Fátima, Araguaína, To.                         | 221          | W:48°14'39.7"<br>S: 07°14'07.3"  | Cultivada                |
| <i>Genipa americana</i> L.              | 10/04/2005     | Horto da FMT, Bairro de Fátima, Araguaína, To.                                     | 238          | W: 48°14'43.1"<br>S: 07°14'03.8" | Ecótono Amazônia Cerrado |
| <i>Lafoensia pacari</i> St. Hil.        | 14/07/2005     | Loteamento Xavante, próximo JP em uma estrada que liga ao Bentinho, Araguaína, To. | 235          | W: 48°14'07.6"<br>S:07°18'07.9"  | Ecótono Amazônia Cerrado |

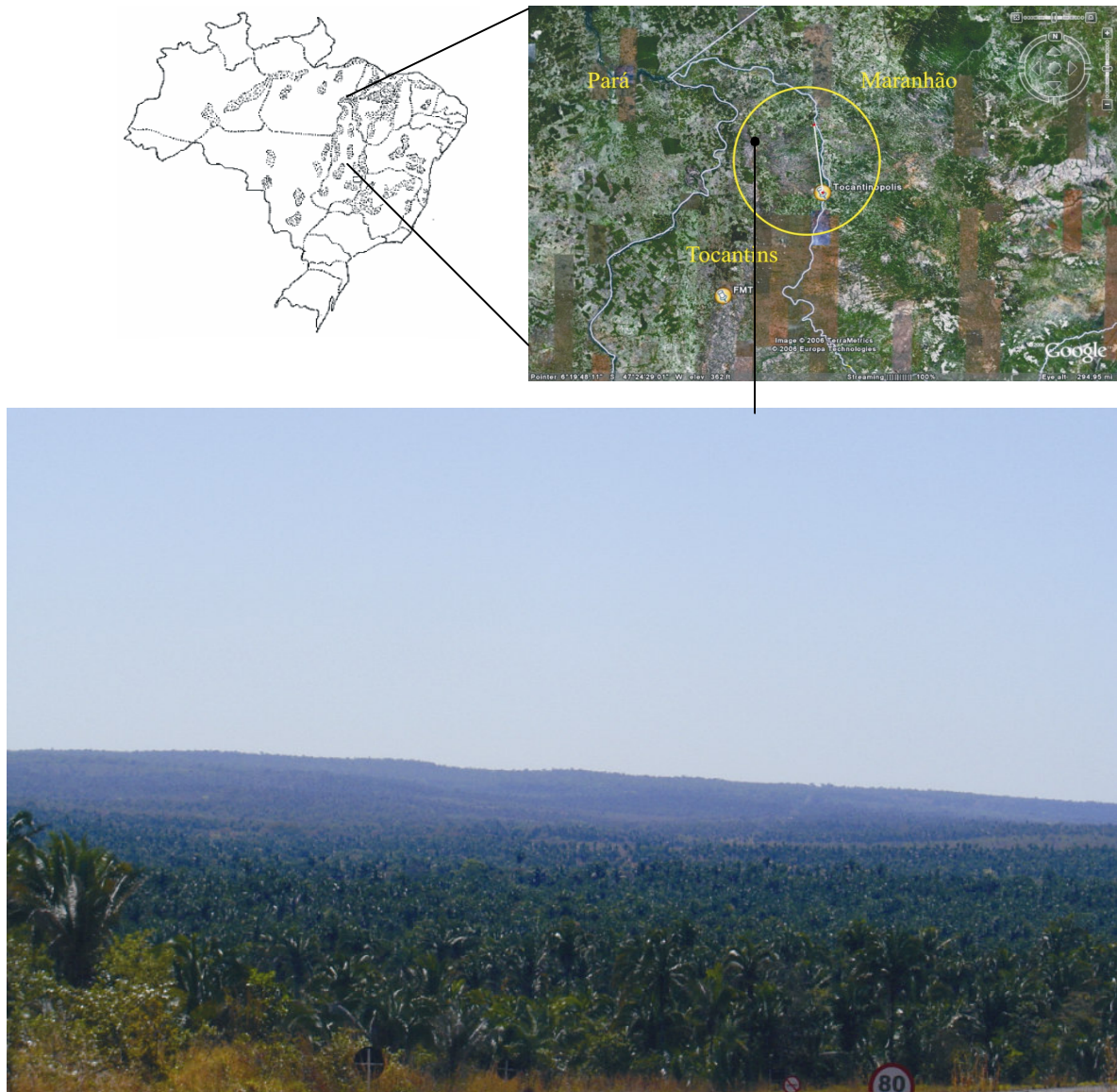
\* área de coleta com abrangência de 100 km da cidade de Tocantinópolis (ver figura 11).

| Nome Científico1  | Data de Coleta | Localização, Região   | Altitude (m) | Posição Geográfica               | Tipo de vegetação        |
|---|----------------|---|--------------|----------------------------------|--------------------------|
| <i>Alternanthera</i><br><i>cf. brasiliiana</i><br>(L.) Kuntze | 15/07/2005     | Canteiro do Horto da FMT, Bairro de Fátima, Araguaína, To.                          | 221          | W:48°14'39.9"<br>S: 07°14'07.5"  | Cultivada                |
| <i>Attalea phalerata</i><br><i>Mart.</i>                      | 24/10/2005     | BR – 153 – km 210, entrada lado direito da pista, antes da Ponte sentido norte-sul. | 239          | W: 48°22'11.3"<br>S: 07°26'90.4" | Ecótono Amazônia Cerrado |
| <i>Orbignya ssp.</i>  | 23/08/2005     | Produção dia 23/08/2005 às 16 h TOBASA BIOINDUSTRIAL S.A., Tocantinópolis, To.      | *            | *                                | Florestas de Babaçu      |

\* área de coleta com abrangência de 100 km da cidade de Tocantinópolis (ver figura 11).

O mesocarpo do babaçu fornecido pela TOBASA BIOINDUSTRIAL S.A. foi obtido por processo industrializado automatizado do fruto, em sua sede no Distrito Industrial de Tocantinópolis, Rua Tobasa, 900 – Estado do Tocantins, por tecnologia de descorticação, corte transversal do coco, separação da castanha, fibras e das farinhas do mesocarpo fina e grossa, patenteada no Instituto Nacional da Propriedade Industrial (Patentes n° PI8106829-8; PI8106828-0 e PI0005365-1). Considerando mesocarpo, o mesmo que a indústria chama de farinha fina separada por filtros com controle da porosidade (peneiras ou tamis). Foi fornecida uma

quantidade de 30 kg para a realização do experimento. A amostra é representativa da produção do dia 23 de agosto de 2005. Os frutos maduros utilizados no processo de industrialização são coletados de maneira extrativista por famílias em assentamentos, comunidades rurais e ribeirinhos dos estados do Tocantins e Maranhão, em florestas da palmeira *Orbignya ssp*, considerando que somente são coletados frutos caídos ao chão (TOBASA, 2006).



**Figura 11:** Imagem de uma Floresta de Babaçu, *Orbignya ssp*, Babaçual; e diagrama de localização de área de exploração de recursos naturais para extração do Babaçu, segundo TOBASA BIOINDUSTRIAL S.A.; com indicação de áreas de ocorrência do Babaçu no Brasil, segundo Teixeira, 2000. Local em destaque (circulo amarelo): região de abrangência de coleta de babaçu pela TOBASA BIOINDUSTRIAL S.A, Imagem de satélite utilizada do programa Google Earth versão 4.3.7204.0836 (beta).

### 5.1.3 Preparação de extratos para testes e análises

Depois de confirmada a classificação botânica do vegetal, entre 3 a 5 kg de cada espécie de suas respectivas partes selecionadas foram secas em ambiente ventilado sob proteção solar e posteriormente triturada com auxílio de um moinho de facas WILLI®. A exceção foi do mesocarpo do babaçu, em virtude de ser um produto manufaturado e entregue em estado adequado para o experimento.

O material triturado foi depositado em um recipiente tipo percolador de Aço Inox, modelo PE, ERLY MAQUINA® e tratado com um volume de solvente correspondente a 20% de peso da planta por volume, a temperatura ambiente por 15 (quinze) dias de maceração com agitação de 12 em 12 horas. Foram utilizados os solventes hexano, álcool 95°GL e álcool 70%, nesta respectiva ordem.

O hexano, após este período de maceração foi filtrado e o solvente removido sob pressão controlada, em um gradiente decrescente de 280 a 230mbar por 30 minutos, para um volume de 500mL de extrato por ciclo; com auxílio de um rota evaporador (evaporador rotativo) modelo R-205 e controlador de vácuo V-805 BUCHI®, com banho à temperatura controlada de 40°C. O resíduo final de hexano foi removido por insuflação de “Ar Comprimido” seco, obtendo-se assim, o extrato hexano da respectiva parte da planta analisada.

Entre a maceração com hexano e o álcool 95°GL o material vegetal triturado foi removido do percolador para uma bandeja de Aço-inoxidável, aguardando a evaporação de resíduo de solvente hexano, diminuindo a contaminação posterior ao álcool, no procedimento de maceração seguinte.

Assim, o material livre de hexano, era novamente depositado ao percolador e o segundo solvente utilizado álcool P.A. (para análise) graduação alcoólica 95°GL (Merck) foi submetido novamente à maceração e agitação pelo mesmo período tempo, sendo mantida a proporção de massa/volume. O extrato alcoólico retirado foi filtrado e o álcool removido com auxílio do rotaevaporador com gradiente de pressão decrescente de 180 a 60mBar por um período de 60 minutos, para um volume de 500mL de extrato por ciclo e temperatura do banho controlada a 40°C.

O material líquido obtido deste extrato foi submetido a congelamento a -45°C e posterior a liofilização, no aparelho Liofilizador TERRONI® LS3000, tornando-se extrato alcoólico 95°GL da respectiva parte da planta analisada.

Por final, foi submetido à mesma metodologia de maceração da parte da planta com uma solução hidroalcoólica 70% (30:70, H<sub>2</sub>O:C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH), mantendo a proporção de 20% de peso por volume. A solução recolhida foi filtrada e submetida à evaporação do álcool com auxílio do rotaevaporador a um gradiente de pressão decrescente de 140 a 50mBar por um período de 60 minutos, para um volume de 400mL de extrato por ciclo. O volume obtido foi congelado e liofilizado, tornando-se extrato alcoólico 70% da respectiva parte da planta analisada.

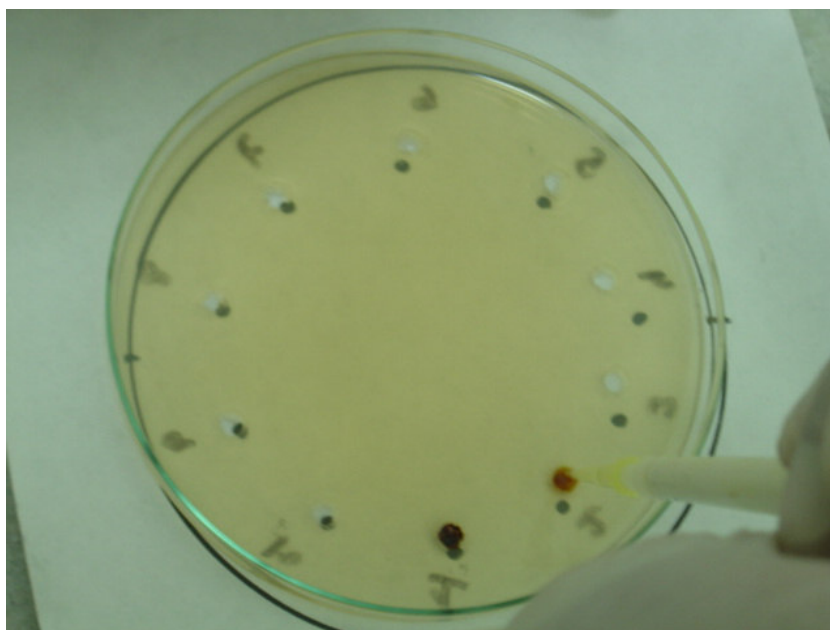
## 5.2 Da análise microbiológica

O uso dos testes de atividade antimicrobiana “in vitro” é uma prática usual, padroniza por Kirby e Bawer desde 1966, sendo revistas e modificadas por diversos autores. Atualmente são adotados métodos padronizados por diversos organismos como: NCCLS - National Committee for Clinical Laboratory Standards, como “Methods for Determining Bacterial Activity of Antimicrobial Agents; Approved Guideline”, norma M26-A, ISBN 1-56238-384-1 de James H. Jorgensen, 1999, que foi seguido realizando pequenas adaptações conforme discutidas abaixo.

### 5.2.1 Análise microbiológica dos extratos brutos

Uma alíquota do extrato do respectivo solvente da parte da planta analisada foi solubilizada em solução de Dimetil-Sulfoxido (DMSO) em água 1:1 e posteriormente diluída, obtendo respectivamente uma concentração de extrato brutos de 1000mg/mL, 500mg/mL, 250mg/mL, 100mg/mL, 50 mg/mL, 25 mg/mL, 10 mg/mL e 1 mg/mL. Estes estratos diluídos foram submetidos aos testes microbiológicos, em placas estéreis de 20x150mm onde era depositado 1mL de solução fisiológica, contendo microrganismo em suspensões (solução salina a 0,85%NaCl e Tween 80 0,05%), padronizada pelo tubo 0,5 na escala de Mac Farland, ajustada para 90%T (530nm). Em seguida, era adicionado por placa 50mL de meio sólido Agar Mueller Hinton, preparados segundo as normas do fabricante (Reagen), fundido a 50°C, utilizando a técnica “*Pour Plate*”, homogeneizadas pela técnica de “oito” (MC GINNIS, 1980; BAUER & cols., 1966).

Após a solidificação do meio, foram feitas cavidades com 6X8mm de diâmetro, através de auxílio de um tubo de Durhan, para depósito de 50µl de cada amostra de diluição do extrato. As placas sofreram pré-encubação em temperatura ambiente por 2 horas na posição normal, isto é, tampa para cima. Posteriormente a incubação foi colocada na mesma posição em uma estufa por um período de 6 horas. Este período de pré-incubação foi necessário para que o extrato fosse absorvido pelo agar, proporcionando assim, a formação de halos de inibição mais favoráveis a leitura. O restante do ciclo de incubação em estufa foi realizado na posição invertida, tampa para baixo, até completar as 24 – 48 horas, a uma temperatura de 37°C para todas as bactérias, sendo observada a leitura nestes respectivos momentos (Lima, 1997).



**Figura 12: Imagem do ensaio microbiológico.** Aplicação de extrato bruto de mesocarpo de Babaçu (*Orbignya ssp.*) 95 °GL em cavidade de 6X8mm no meio de cultura Agar Mueller Hinton em Placa de Petri 150x15mm, após solidificação do meio e inóculo de bactéria pela técnica de Pour Plate.

Os ensaios foram feitos em triplicata para cada linhagem selecionada. Os resultados finais foram determinados pela média aritmética dos halos de inibição com valores obtidos nos ensaios. Os Parâmetros de comparação de crescimento e formação dos halos de inibição foram realizados frente aos antibióticos convencionais utilizados pela terapêutica e comparados entre si por análise de variância - ANOVA, utilizando teste de Tukey.

A interpretação dos resultados foi feita segundo LIMA em 2004 e ALVES em 2000, onde bactérias sensíveis ao extrato obtiveram halo de inibição com diâmetro igual ou superior ( $\geq$ ) a 10mm. Para bactérias não sensíveis ao extrato testado, os halo de inibição eram de diâmetro menor ( $<$ ) a 10mm ou ausentes.

### 5.2.2 As espécies de microrganismos

Os microrganismos usados no trabalho foram isolados de amostras clínicas de pacientes com infecções patogênicas Hospital Regional de Porto Nacional-TO, pelo Laboratório de Microbiologia e Saúde Pública da UFT – Compôs de Porto Nacional e ou de coleções de cultura cedidos e registrados no Laboratório de Micologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade da Paraíba / João Pessoa (tabela 5).

O critério de seleção das cepas utilizadas foi da utilização de cepas de coleções internacionais, com padrão de fenotipagem e utilização como controle para testes antimicrobianos conhecidos internacionalmente. Enquanto para bactérias isoladas localmente de pacientes da região de estudos, foram utilizadas cepas resistentes a antibióticos convencionais. Os microrganismos isolados localmente são utilizados para confirmação ou não de uma real atividade microbiana, que poderiam justificar o uso da(s) planta(s) para tal indicação regional.

Os antibióticos utilizados como controle positivo de sensibilidade aos antimicrobianos foram selecionados a partir de uma prévia análise de sensibilidade. (Anexo, tabela 36).

A tabela 5 apresenta o resultado da escolha dos antimicrobianos para as respectivas cepas utilizadas neste trabalho.

**Tabela 5 - Classificação segundo critérios de gram para as bactérias testadas indicando o antibiótico utilizado como parâmetro de controle positivo das análises microbiológicas.**

| Classe da Bactéria,<br>segundo Gram: | Bactéria   | Antibiótico                           |
|--------------------------------------|--|---------------------------------------|
| Bactérias<br>Gram negativa:          | <i>Escherichia coli</i> (B4);<br><i>Pseudomonas aeruginosa</i> *<br><i>Klebsiella spp</i> *  | Sulfonamida                           |
| Bactérias<br>Gram positivas          | <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC6538<br><i>Staphylococcus epidermidis</i><br>ATCC12228<br><i>Staphylococcus spp</i> *<br><i>Streptococcus pyogenes</i> *<br><i>Streptococcus ssp</i> ** | Penicilina<br><br><br><br>Vancomicina |

\*Cepas isoladas clinicamente de pacientes com infecção do Hospital Regional de Porto Nacional-TO, pelo Laboratório de Microbiologia e Saúde Pública da UFT – Compôs de Porto Nacional. \*\* A cepa de *Streptococcus ssp* mesmo sendo Gram Positivo apresentou-se resistente à penicilina e outros antibióticos sendo selecionado a Vancomicina para utilização de controle positivo de inibição de crescimento.

### 5.3 Análise estatística dos resultados dos halos de inibição

Para os resultados obtidos foi realizada análise estatística descritiva dos ensaios microbiológicos, seguido de uma Análise de Variância (ANOVA) dos halos de inibição dos extratos testados em sua respectiva concentração e seu solvente, devido ao grande número de tratamento neste ensaio. Com o estudo de ANOVA foram possíveis a a comparação das médias dos resultados, objetivando identificar quais plantas, extratos e solventes eram significativamente diferentes entre si e qual tinha maior expressão do halo de inibição, através do teste de Tukey, com auxílio do software SISVAR® Versão 4.3.

Para análise comparativa dos halos de inibição dos extratos de concentrações positivas com o halo de inibição do antibiótico padrão, necessitou-se



Teste T de Student, com a utilização dos softwares Bioestat<sup>®</sup>, devido ao antibiótico padrão não sofrer tratamento para solvente, inviabilizando análise via ANOVA.

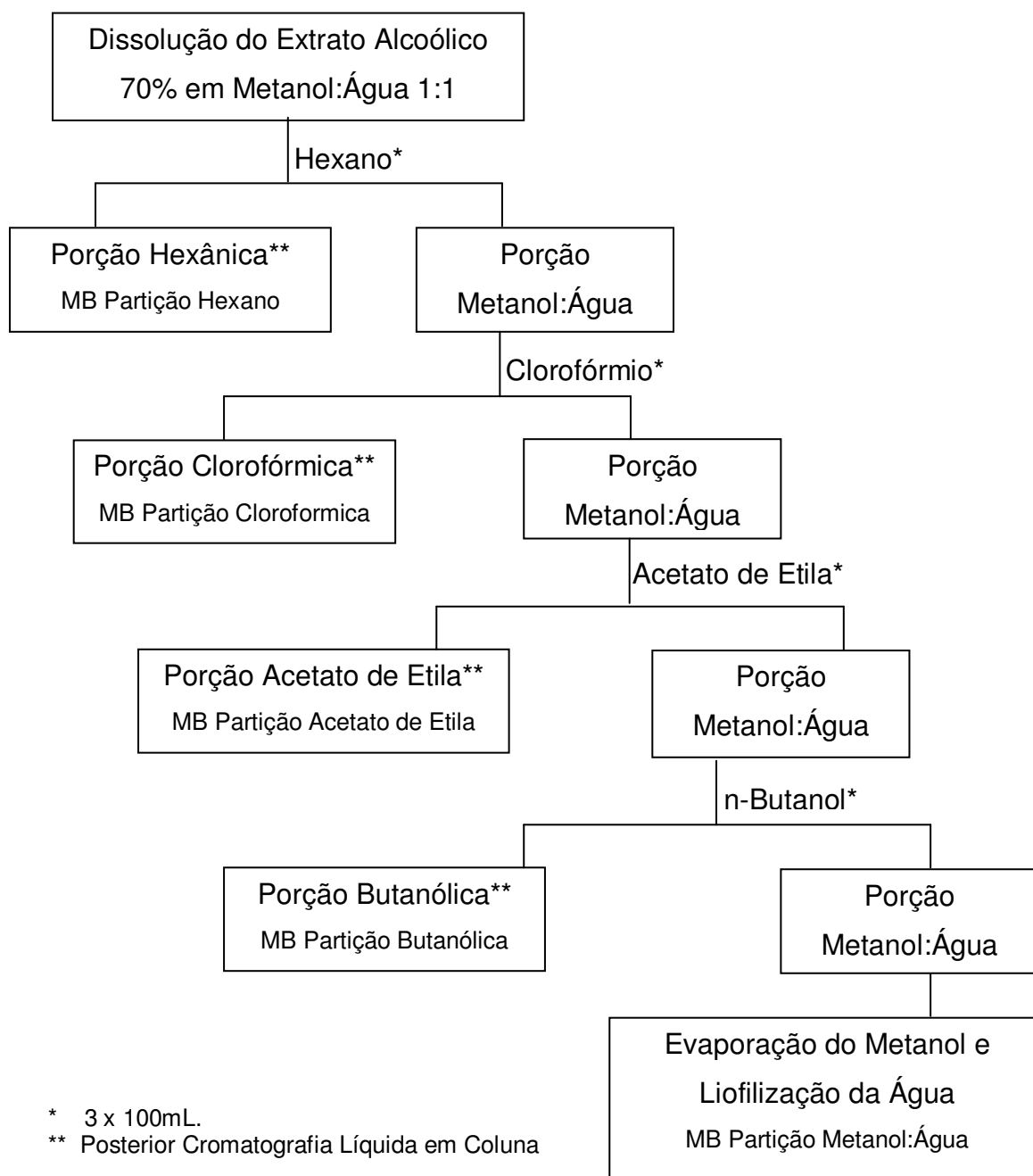
#### **5.4 Fracionamento bioguiado do extrato alcoólico 70% do mesocarpo do Babaçu, *Orbignya ssp.***

Para o fracionamento bioguiado de um extrato, objetivando isolamento de frações ativas, foi selecionado o extrato seco alcoólico 70% do mesocarpo do Babaçu, *Orbignya ssp.* A escolha deste extrato foi condicionada à seletividade da atividade antimicrobiana para bactérias gram positivas, além de não encontrar análise fitoquímica descrita na literatura, para atividade antimicrobiana. Assim, desenhou a seguinte seqüência de atividades para isolamento de frações ativas (WAGNER & BLADT, 1996).

##### **5.4.1 Partição líquido:líquido**

A partição líquido:líquido foi realizado a partir de 87,2821gr do extrato alcoólico 70% do mesocarpo do Babaçu - MB, *Orbignya ssp.*, solubilizando-o com 200mL de metanol:água 1:1.

Posteriormente, esta solução sofreu partição de 3 porções de 100mL de hexano, clorofórmio, acetato de etila e N-butanol, respectivamente. O resultando após evaporação do solvente com auxílio de rotaevaporador sob pressão reduzida obteve-se uma quantidade de 14,2119g de extrato MB particionado com hexano, 16,6623g de extrato MB particionado com clorofórmio, 12,72156g de extrato MB particionado com acetato de etila, 16,4504g de extrato MB particionado com N-butanol, 19,3012g de extrato metanol:água, conforme esquema 1.



**ESQUEMA 1 – Seqüência de partições Líquido-Líquido utilizado para obtenção das frações a partir do extrato seco alcoólico 70% do mesocarpo do Babaçu, *Orbignya ssp.***

#### 5.4.2 Cromatografia líquida em coluna

Para a etapa de cromatografia líquida em coluna por adsorção em sílica gel foram escolhidos as porções hexânica (MB porção hexano) e clorofórmica (MB porção clorofórmio), provenientes das partições líquido:líquido do mesocarpo do fruto de *Orbignya ssp.* Estas partições foram submetidas ao fracionamento por

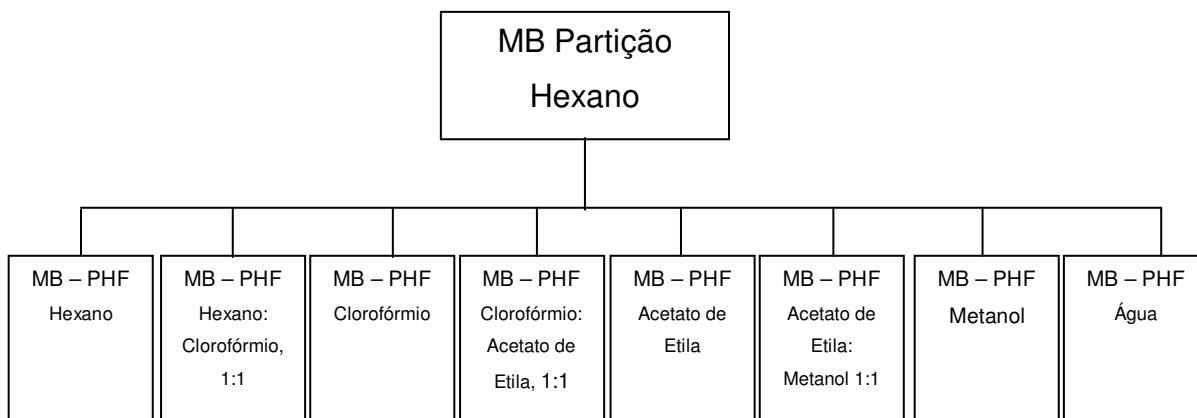
cromatografia líquida de adsorção com gradiente de eluidores, sendo utilizados solventes apolares à polares, na seguinte ordem: 1) hexano, 2) hexano:clorofórmio 1:1(v/v), 3) clorofórmio, 4) clorofórmio:acetato de etila 1:1(v/v), 5) acetato de etila, 6) acetato de etila:metanol 1:1(v/v), 7) metanol e 8) água.

A escolha das porções hexânica e clorofórmica está relacionada aos resultados da formação de halos de inibição no teste de autobiografia (Seção 6.3).

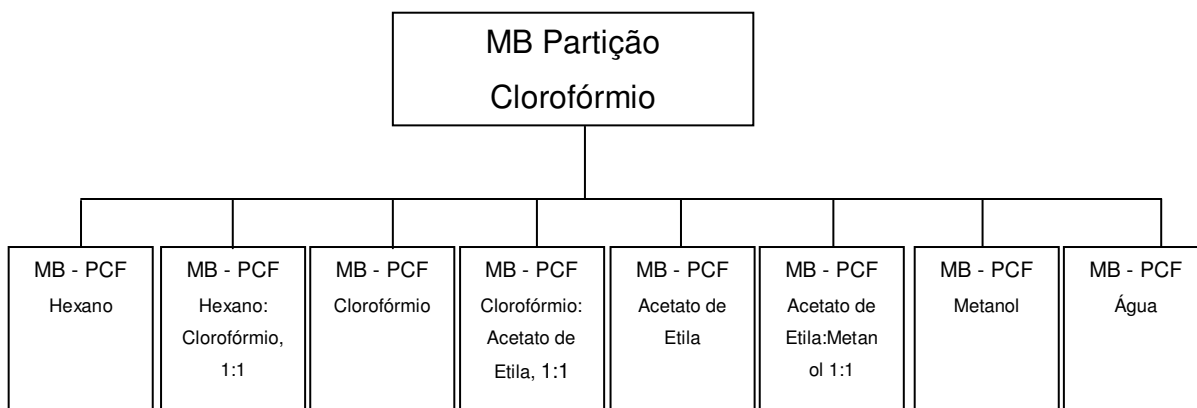
Na preparação da coluna foram utilizados 90g de Sílica Gel Mach 60 SORBAT<sup>®</sup> depositadas em uma coluna de vidro de 560x70mm. Para adsorção e introdução dos 14,2119g extrato MB porção hexano na coluna foram utilizados 31,3271g de Sílica. A eluição do extrato MB porção hexano foi feita utilizando 300mL dos solventes supracitados e recolhidos a mesma quantidade em volume, denominando o nome respectivo do extrato, que tiveram seus solventes removidos com auxílio do rotaevaporador sob pressão reduzida e secagem por insuflação de nitrogênio gasoso, com auxílio de um concentrador de amostra da TECHNE<sup>®</sup> (Sample Concentrator – TECHNE<sup>®</sup>) associado ao Dry Block – BD3 da TECHNE<sup>®</sup>, obtendo uma quantidade de: 1) 0,301g de MB partição hexano fração hexano, 2) 1,181g de MB partição hexano fração hexano:clorofórmio 1:1, 3) 1,220g de MB Partição hexano fração clorofórmio, 4) 3,205g de MB partição hexano fração clorofórmio: acetato de etila 1:1, 5) 2,805g de MB partição hexano fração acetato de etila, 6) 1,302g de MB partição hexano fração acetato de etila:metanol 1:1, 7) 1,204g de MB partição hexano e fração metanol e 8) 1,890g de MB partição hexano fração aquosa. Alíquotas destas frações foram submetidas à cromatografia em camada delgada e posterior autobiografia para seleção da fração do extrato de atividade microbiana, esquema 2.

Para preparação da coluna do extrato de MB porção clorofórmica usou-se 14,1970g de sílica para adsorção de 16,6623g extrato. Neste experimento foi adotado mesma medida de eluentes e seqüência da porção hexânica, obtendo após remoção do solvente: 1) 0,345g de MB partição clorofórmio fração hexano, 2) 0,890g de MB partição clorofórmio fração hexano:clorofórmio 1:1, 3) 3,254g de MB partição clorofórmio fração clorofórmio, 4) 3,047g de MB partição clorofórmio fração clorofórmio: acetato de etila 1:1, 5) 1,457g de MB partição clorofórmio fração acetato de etila, 6) 1,231g de MB partição clorofórmio fração acetato de etila:metanol 1:1, 7) 0,987g de MB partição clorofórmio fração metanol e 8) 0,994g de MB partição

clorofórmio fração metanol, que também foi submetido a cromatografia em camada delgada e posterior autobiografia, esquema 3.



**ESQUEMA 2: Fracionamento do extrato do mesocarpo do fruto de *Orbignia ssp* 70°GL porção hexânica da partição Líquido-Líquido.** MB – PHF: extrato do mesocarpo do fruto de *Orbignia ssp* 70°GL porção hexânica da fração do eluente



**ESQUEMA 3 – Fracionamento do extrato do mesocarpo do fruto de *Orbignia ssp* 70°GL porção clorofórmica da partição Líquido-Líquido.** MB – PCF: extrato do mesocarpo do fruto de *Orbignia ssp* 70°GL porção clorofórmica da fração do eluente

#### 5.4.3 Cromatografia em camada delgada

Após a partição líquido-líquido e o fracionamento por cromatografia líquida por adsorção em coluna, as frações foram posteriormente submetidas a uma cromatografia em camada delgada, depositando cuidadosamente em pequenas quantidades, para que os “spots” de amostragem das partições não superasse a 2mm de diâmetro até um volume final de 50µL de uma solução/suspensão em solvente clorofórmio ou metanol a uma concentração de 200mg/mL.

A placa utilizada para corrida foi de Sílica Gel TLC marca Merck® (placa W/UV-254nm aluminum backe, 200nm, 20x20cm, 25µK), sendo o experimento realizado em quadruplicata. Para eluição das cromatofolhas utilizou-se uma mistura de 20% de metanol e 80% de clorofórmio a temperatura ambiente, 24 °C.

Uma das cromatofolhas de cada partição sofreu revelação com Vanilina Sulfúrica (ativação da revelação a 80°C), enquanto as outras foram utilizadas no experimento de autobiografia.

#### 5.4.4 Bioautografia

A seleção das frações a serem analisadas para posterior isolamento das substâncias foi direcionada pela atividade antimicrobiana, segundo técnica de autobiografia (ROMEIRO, 2006; HADACEK & GREGER, 2000). Para esta técnica foi escolhido à bactéria *Staphylococcus aureus* ATCC6538.

Antes de realizar a autobiografia as cromatofolhas eram expostas por 12 horas em ambiente de fluxo de ar estéril, Câmara de Fluxo Laminar com exaustão, a temperatura ambiente, para evaporação total do eluente.

A preparação da placa de Petri com meio de cultura para o recebimento da cromatofolha foi realizado utilizando o mesmo procedimento para avaliação da atividade antimicrobiana (antibiograma), sessão 5.2.1, com exceção da perfuração do meio.

Após a solidificação do meio foi depositado a cromatofolha cuidadosamente, com inclinação suficiente, para que uma das bordas entrasse em contato com o meio anteriormente ao lado oposto, favorecendo a não formação de bolhas de ar que impeçam a formação do “imprint”.

As placas eram encubadas por 24 horas a 37°C com as cromatofolhas sobrepostas a superfície do meio, para que o contato proporcionasse uma difusão das substâncias que foram eluídas na cromatografia. Após, este período de incubação as cromatofolhas eram retiradas, imagengrafadas, medido os RF (fator de retenção) determinados pelos halos de inibição presentes no meio de cultura e comparadas com as manchas das cromatofolha revelada.

Uma posterior incubação por mais 24 horas, com placas na posição invertidas, foi necessário para melhor evidenciar os halos de inibição formados. As

placas foram novamente imagengrafadas e comparadas com a cromatofolhas reveladas para identificar as frações e posições em que tiveram atividade inibitória para o crescimento do *Staphylococcus aureus* ATCC6538.

## 5.5 Equipamentos e reagentes

**Tabela 6: Descrição dos equipamentos utilizados nos ensaios.**

| <b>Laboratório de Microbiologia e Saúde Pública – UFT</b>   |                               |                            |
|---|-------------------------------|----------------------------|
| <b>Descrição de Equipamento</b>   | <b>N° de Série</b>            | <b>Procedência</b>         |
| Autoclave Vertical PHENIX® AV75   | 6347                          | Araraquara/Brasil          |
| Balança de Analítica - BIOPRECISA®<br>Modelo FA 2104N. Ano 2003.  | SER/EQ/00108                  | Brasil                     |
| Bico de Meyer   | sn                            | Brasil                     |
| Destilador de água QUIMS® Modelo –<br>341-25. Ano 2003.   | Modelo – 341-25. Ano<br>2003. | Brasil                     |
| Estufa Microbiológica QUIMS® Modelo<br>– Q316-25 - Ano 2003.  | 980/245                       | Brasil                     |
| Estufa Microbiológica QUIMS® Modelo<br>– Q316M-4 - Ano 2003.  | Sn                            | Brasil                     |
| Geladeira BRASTEMP® – D440 litros<br>Frost Free. Ano 2003.  | Sn                            | Brasil                     |
| <b>Laboratório de Pesquisa – FMT-TO</b>   |                               |                            |
| <b>Descrição de Equipamento</b>   | <b>N° de Série</b>            | <b>Procedência</b>         |
| Banho Ultratermotizado MARCONI® –<br>Modelo Q304-2105 Ano 2003  | 909336                        | Brasil                     |
| Bomba de Vácuo – BUCHI® Vacuum<br>Line V-500 – Ano 2004.  | 0400020765                    | Switzerland                |
| Cabine de Segurança Biológica<br>PACHANE® Modelo 720 w 638 - Ano<br>2006. - Capela de Fluxo Laminar<br>Unidirecional _ ISO:14644-1 N°.<br>Certificação: 09-fev-2006 Mr Quality. | 008-06                        | Piracicaba. SP.<br>Brasil. |

| <b>Descrição de Equipamento</b>  | <b>N° de Série</b>                       | <b>Procedência</b> |
|--|--|--------------------|
| Coluna Cromatográfica Simples de Vidro 560x70mm, com torneira de PVC           | -  | VidroLabor, Brasil |
| Compressor de Ar PRESSURE®   | Compressor - 6473<br>Balão - 15/806/0605 | Brasil             |
| Cuba Cromatográfica com tampa esmerilhada, sem Ranhuras 300x300x100mm, PIREX®. | -  | Alemanha           |
| Liofilizado TERRONI® – Modelo LS3000   | SÉRIE 001LS3000-<br>H1605                | Brasil             |
| Percolador em Aço Inox - ERLY MAQUINA®, modelo PE.                             | -  | Brasil             |
| Rota evaporador BUCHI® R-205 com controlador de vácuo BUCHI® V-805 – Ano 2004. | 0400028936                               | Switzerland        |

**Tabela 7: Descrição de reagentes utilizados nos ensaios.**

| <b>Reagente</b>  | <b>Grau</b>           | <b>Produtor, País</b> |
|--|-----------------------|-----------------------|
| Acetato de Etila                                       | Analítico (HPLC)      | TEDIA®, USA.          |
| Agar Mulher Hinton                                     | Analítico (PA)        | REAGEN®, Brasil       |
| Água Deionizada  | Ultrapura – Tipo 1    | MILLIPORE®, Brasil    |
| Álcool etílico   | Analítico (PA) 95 °GL | MERCK®, Brasil.       |
| Algodão Hidrófilo                                      | -                     | S S PLUS®, Brasil     |
| Clorofórmio  | Analítico (HPLC)      | TEDIA®, USA.          |
| Cromatofolha-Alumínio CCF-C/25, Sílica Gel 60 20x20cm. | Analítico             | MERCK®, Alemanha.     |
| Diclorometano  | Analítico (HPLC)      | TEDIA®, USA.          |
| Gase Tipo Queijo, 8 dobras.                            | -                     | CREMER®, Brasil.      |
| Metanol  | Analítico (HPLC)      | TEDIA®, USA.          |
| N-Butanol  | Analítico (PA)        | TEDIA®, USA.          |
| N-Hexano   | Analítico (PA) 85%    | TEDIA®, USA.          |

| Reagente   | Grau                   | Produtor, País              |
|--|------------------------|-----------------------------|
| Papel de Filtro  | Analítico Quantitativo | J.PROLAB, Brasil.           |
| Sílica Gel Mach, SORBENT <sup>®</sup> . 60Å, 63-200µm (65-250mesh), 500-600m <sup>2</sup> /g, 0,5g/mL, pH 6.5-7.5. | Standard Grade         | SORBENT <sup>®</sup> , USA. |

## 6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

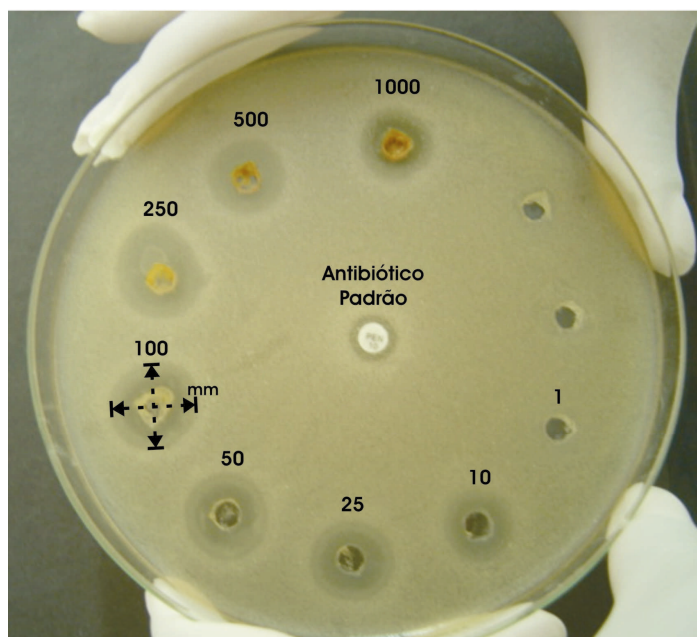
### 6.1 Etapa microbiológica

O desenho deste trabalho consistiu de uma avaliação de sensibilidade e/ou resistência dos extratos de 6 plantas, selecionadas conforme critérios etnofarmacológico, levando em consideração seus respectivos órgãos e partes, utilizando a técnica de difusão em agar; seguido de prospecção fitoquímica dirigida pela atividade biológica para o extrato do mesocarpo da fruta da planta Babaçu (*Orbignya ssp*). Foram utilizados neste ensaio extratos hexânico, alcoólico 95°GL° e alcoólico 70% de cada planta e sua respectiva parte analisadas em concentrações decrescente de 1000 mg/mL á 1mg/mL.

Os resultados da atividade antibacteriana das plantas, com os solventes para confecção de seu extrato, foram observados através da interpretação do halo de inibição de crescimento da bactéria testada “in vitro”, figura 13, demonstrada na tabela de resultados as suas respectivas concentrações mínimas inibitórias, tabela 8.

Para construção da tabela 8, observou-se o critério interpretativo do tamanho do halo de inibição do extrato da planta em relação a um solvente a uma concentração de 1000mg/mL para respectiva legenda de cruces, conforme critério adotado por Lima em 1997, que determina que o tamanho do halo de inibição seja dependente estatisticamente da concentração do extrato em mL do solvente (DMSO-H20,1:1) quando a bactéria apresentar sensibilidade (ANOVA – Tukey P<0,05 IC: 95%).





**Figura 13:** Imagen de uma placa de Petri 150X15mm com meio de cultura Agar Mueller-Hinton com inóculo de *Staphylococcus aureus* após 24h de incubação durante análise microbiológica com extrato em álcool 70% de *Lafoensia pacari*. Observa-se em tracejado a forma da tomada da medida do halo de inibição ao redor do poço com indicação das respectivas concentrações e no centro o antibiótico padrão.

Para tanto, o poder de expressão do halo de inibição será considerado pelo número de cruzes de positividade, conforme o significado:

+ (uma cruz) - significa que a expressão do halo de inibição da planta do respectivo extrato para a respectiva bactéria com valores maiores que 10 e menores que 15mm,

++ (duas cruzes) - valores superiores a 15mm e inferiores a 20mm,

+++ (três cruzes) - valores de halos superiores a 20mm e

– (negativo) para halos de inibição inexistente ou inferiores a 10mm.

Entretanto, não se pode dizer que, o número de cruz está diretamente ligado a potência de uma droga em relação à inibição do crescimento, mas na expressão da observação “in vitro” desta variável.

A potência de uma droga é considerada a mínima concentração que inibe o crescimento da bactéria – CIM<sup>1</sup> para ensaios de difusão em agar e diluição em tubos múltiplos (DRUSANO: in FINCH et al., 2003), ou a concentração que elimina 50% dos microrganismos - IC50 ou a IC90 que elimina 90% dos microrganismos em ensaios de microdiluição (HADACEK & GREGER, 2000).

<sup>1</sup> CIM – Concentração Inibitória Mínima.

Assim, a concentração mínima inibitória do respectivo extrato bruto em um determinado solvente será informada abaixo da expressão da variável halo, para a respectiva bactéria, tabela 8.

Os resultados observados para o extrato hexânico de todas as plantas para todas as bactérias, não apresentou atividade, o considerado ineficaz para inibição do crescimento bacteriano, confirmado estatisticamente (ANOVA – Tukey  $P < 0,05$  IC: 95%). Propondo-se não ser um solvente para preparação de extrato diretamente sobre a planta.

No entanto, este solvente é significativo quando utilizados nos experimentos de isolamento de compostos ou frações de extratos antimicrobianos ativos, em que seu solvente de extração inicial foi hidroalcoólico.

Para conclusões e extrapolações maiores sobre o solvente hexano, como os possíveis mecanismos da não atividade antimicrobiana dos extratos produzidos, sugere que seja realizado outros estudos. Entretanto, pressupõe-se que este efeito possa estar relacionado á ação mecânica de não rompimento da parede e membrana celular do vegetal quando usado solventes apolares, por menor, possuírem menor permeabilidade que solventes polares, como o etanol. Ou ainda pode ser devido a dificuldade das substâncias extraídas com solventes apolares difundirem no meio agar Mueller Hinton (meio aquoso, polar).

A planta *Alternanthera cf. brasiliiana* (L.) Kuntze não apresentou nenhuma atividade antimicrobiana em todos os solventes e concentrações testadas. Entretanto, foi observado pelo levantamento bibliográfico, que poucos trabalhos apresentaram resultados antimicrobianos para este gênero, com exceção da espécie *Alternanthera marítima* que existem relatos de atividade antimicrobiana e isolamento de compostos como: ácidos orgânicos, saponinas, flavonóides agliconas e glicosídicas, esteróides e compostos fenólicos (DE SOUZA et al., 1998; BROCHADO et al., 2003; ALONSO, 2004).

**Tabela 8: Resultados da avaliação de resistência e sensibilidade de bactérias patogênicas frente a extratos vegetais do Estado do Tocantins selecionados etnofarmacologicamente.**

| Planta                                  | Parte utilizada               | Solvente usado na Extração | <i>S. aureus</i> ATCC6538 | <i>S. epidermidis</i> ATCC12228 | <i>S. aureus</i> * | <i>Streptococcus</i> $\beta$ -Hemoliticus* | <i>Streptococcus</i> ssp.* | <i>E coli</i> B4  | <i>Klebsiella</i> ssp * | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> * |
|---|-------------------------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------------|--------------------|--|----------------------------|-------------------|-------------------------|---------------------------------|
| <i>Bryophyllum pinnatum</i> (Lam.) Oken | folhas                        | Álcool 95°GL               | ++<br>(100mg/mL)          | ++<br>(100mg/mL)                | ++<br>(50mg/mL)    | ++<br>(250mg/mL)                           | +<br>(50mg/mL)             | -                 | -                       | +<br>(100mg/mL)                 |
|   |                               | Álcool 70%                 | ++<br>(100mg/mL)          | ++<br>(100mg/mL)                | +<br>(100mg/mL)    | +<br>(250mg/mL)                            | ++<br>(100mg/mL)           | +++<br>(100mg/mL) | ++<br>(100mg/mL)        | +<br>(100mg/mL)                 |
| <i>Genipa americana</i> L.              | fruto : endocarpo e mesocarpo | Álcool 95°GL               | -                         | -                               | -                  | -  | -                          | -                 | -                       | -                               |
|   |                               | Álcool 70%                 | -                         | -                               | -                  | -  | +<br>(1000mg/mL)           | +<br>(1000mg/mL)  | -                       | -                               |
|   | casca do caule                | Álcool 95°GL               | +<br>(1000mg/mL)          | -                               | +<br>(1000mg/mL)   | -  | -                          | -                 | +<br>(1000mg/mL)        | +<br>(1000mg/mL)                |
|   |                               | Álcool 70%                 | ++<br>(250mg/mL)          | +<br>(250mg/mL)                 | +<br>(500mg/mL)    | +<br>(250mg/mL)                            | +<br>(1000mg/mL)           | +<br>(1000mg/mL)  | -                       | +<br>(1000mg/mL)                |
| <i>Lafoensia pacari</i> St. Hil.        | folhas                        | Álcool 95°GL               | +++<br>(10mg/mL)          | ++<br>(100mg/mL)                | +++<br>(50mg/mL)   | +++<br>(10mg/mL)                           | ++<br>(50mg/mL)            | +++<br>(10mg/mL)  | ++<br>(100mg/mL)        | +++<br>(100mg/mL)               |
|   |                               | Álcool 70%                 | +++<br>(10mg/mL)          | +++<br>(250mg/mL)               | +++<br>(10mg/mL)   | +++<br>(10mg/mL)                           | +++<br>(50mg/mL)           | +++<br>(1mg/mL)   | +++<br>(10mg/mL)        | +++<br>(100mg/mL)               |

| Planta  | Parte utilizada | Solvente usado na Extração | <i>S. aureus</i> ATCC6538 | <i>S. epidermides</i> ATCC 12228 | <i>S.aureus</i> * | <i>Streptococcus ssp</i> $\beta$ -Hemoliticus* | <i>Streptococcus ssp.</i> * | <i>E coli</i> B4 | <i>Klebsiella ssp</i> * | <i>Pseudomonas aeruginosas</i> * |
|---|-----------------|----------------------------|---------------------------|----------------------------------|-------------------|--|-----------------------------|------------------|-------------------------|----------------------------------|
| <i>Alternanthera cf. brasiliana</i> (L.) Kuntze | Folhas          | Álcool 95°GL               | -                         | -                                | -                 | -  | -                           | -                | -                       | -                                |
|   |                 | Álcool 70%                 | -                         | -                                | -                 | -  | -                           | -                | -                       | -                                |
| <i>Attalea phalerata</i> Mart.                  | Fruto epicarpo  | Álcool 95°GL               | -                         | +                                | +                 | -  | -                           | +                | -                       | +                                |
|   |                 | Álcool 70%                 | -                         | -                                | -                 | -  | -                           | -                | -                       | -                                |
|   | Fruto mesocarpo | Álcool 95°GL               | ++<br>(500mg/mL)          | +                                | -                 | -  | +                           | +                | +                       | +                                |
|   |                 | Álcool 70%                 | +                         | +                                | -                 | -  | +                           | +                | +                       | -                                |
| <i>Orbignya ssp</i>                             | Fruto Mesocarpo | Álcool 95°GL               | +                         | +                                | -                 | -  | -                           | -                | -                       | -                                |
|   |                 | Álcool 70%                 | ++<br>(100mg/mL)          | ++<br>(250mg/mL)                 | -                 | -  | ++<br>(100mg/mL)            | -                | -                       | -                                |
| Controle Positivo **                            | Quimioterápico  |                            | ++**1                     | +++**1                           | ++**2             | +++**1   | +++**2                      | +++**3           | +++**3                  | +++**3                           |

- Halo de inibição ausente ou inferior a 10mm. + Halo de inibição em 1000 mg/mL entre 10 e 15mm. ++ Halo de inibição em 1000 mg/mL maior que 15 e inferior a 20 mm. +++ Halo de inibição em 1000 mg/mL superior a 20 mm. \* Estirpes isoladas de pacientes do Hospital(N) Menor valor de concentração em mg/mL que obteve halo de inibição superior a 10 mm no experimento, CMI. \*\* Média aproximada em mm dos halos de inibição dos quimioterápicos utilizados com controle positivo. 1- Penicilina G 10UI. 2- Vancomicina 30 $\mu$ g. 3- Sulfonamidas 300 $\mu$ g. Todos os resultados positivos foram significativos quando utilizados o teste T em comparação com os seus respectivos antibióticos padrão, chamado de controle positivo, inclusive para as diluições. Extrato hexano para todas as plantas formaram halos de inibição menores que 10mm ou ausentes.

A planta *Alternanthera cf. brasiliiana* (L.) Kuntze apesar de não apresentar atividade antimicrobiana tem nome popular de Meracilina, Terramicina e Penicilina, que são nomes de antibióticos da terapêutica convencional. Demonstrando assim, uma necessidade real de investigações científica em plantas utilizada tradicionalmente por comunidades e posterior repasse de informações, desmistificando seu uso. Este tipo de associação de nomes a uma planta com possível atividade farmacológica é comum na medicina popular, o que pode acarretar em um malefício ao usuário, seja pela não recuperação, agravamento da sua enfermidade ou mesmo por intoxicação, em virtude de inúmeras plantas utilizadas pela população não terem sido estudadas toxicologia e farmacologicamente.

O fato da não confirmação desta atividade, apesar da população indicá-la como sendo antimicrobiana, pode estar relacionada à possibilidade de confusão do diagnóstico popular. Onde uma ação antiinflamatória, analgésica e antiviral, pode ter sido interpretada como sendo antimicrobiana, em virtude do uso do extrato da planta proporcionar uma diminuição de sinais e sintomas em patologias como, das vias aéreas superiores, cortes superficiais infectados ou outras infecções e ou afecções.

Assim, sugere-se que em novos estudos na área etnofarmacológica, com aplicação de questionários, devam ser realizados com a utilização de formas de abordagem mais explícitas que diminuam este viés, como:

- aprofundamento dos questionário nos sinais e sintomas (formação ou não de pus, aparecimento de mau cheiro, febre intensa e outros),
- pesquisa etnofarmacológica com número menor de pessoas e convivência com grupo selecionado de indivíduos da pesquisa,
- inteiração com o médico do Programa da Saúde da Família e o prontuário do paciente, para confirmação e ou recuperação de informações quanto a infecções.

O resultado negativo para *Alternanthera cf. brasiliiana* (L.) Kuntze corrobora com as considerações da OMS 2002, em relação ao uso de plantas medicinais e a necessidade de comprovações científicas de seu uso e de informações toxicológicas.

Para a planta *Lafoensia pacari*, mangabeira, o extrato alcoólico 95°GL e hidroalcoólico 70% apresentou um comportamento inibidor para todas as estirpes de bactérias testadas, fossem estas gram positivas ou gram negativas; sugerindo-se atuar como um modelo não seletivo, mas de amplo espectro.

Os resultados encontrados neste trabalho são compatíveis aos encontrados por Lima em 2006; que testou extratos hidroalcoólico, acetato de etila e frações cromatográficas da entrecasca e extrato etanólico das folhas de *Lafoensia pacari* em estirpes de *Staphylococcus aureus* ATCC25923 e cepas multidrogas resistentes com gene de bomba de efluxo.

A concentração inibitória mínima (CIM) dos extratos testados neste trabalho para *L. pacari* obtiveram valores inferiores a 100mg/mL. Não pode precisar o valor real da CIM para bactéria *E. coli* devido a resposta de inibição ser inferior a 1mg/mL, que era o valor máximo padronizado na metodologia utilizada.

A média dos halos de inibição encontrados para os dois extratos hidroalcoólicos de *L. pacari*, quando observados para as cepas de *Staphylococcus aureus* foram superiores a 20mm, sendo médias superiores as encontradas por Pires em 200?, que foi de 13 a 17mm.

O extrato alcoólico 70% de *Bryophyllum pinnatum*, Folha Santa, apresentou o mesmo comportamento de sensibilidade da planta *Lafoensia pacari* neste ensaio, inibindo o crescimento de todas as bactérias. Entretanto, as médias dos halos de inibição de *Bryophyllum pinnatum* obtiveram valores inferiores as encontradas pela *L. pacari*, com halos que variaram entre 10 a 15mm. A CIM revelou valores 250mg/mL a 1mg/mL.

O comportamento de inibição do extrato alcoólico 95°GL da *B. pinnatum* frente às estirpes de bactérias testadas apresentou-se parcialmente semelhante ao alcoólico 70%, inibindo todas bactérias gram positivas e uma espécie de bactéria gram negativa. Neste caso considera-se seu espectro de atuação não seletiva, isto é amplo espectro, inibindo os dois tipos de grams.

Akinpelu em 2000, utilizando a técnica de difusão em águar com aplicação de extrato em poços de 6mm, encontrou comportamento semelhante para atividade antimicrobiana, com resultados dos halos de inibição variando entre 13,4 a 16,8mm e a CIM de 2,19 a 4,38mg/mL. Entretanto, para este ensaio,

Akinpelu, utilizou extrato alcoólico a 60% e estirpes bacterianas diferentes, mas as espécies foram iguais.

O Jenipapo, *Genipa americana* L., apresentou resultados significativos para o extrato hidroalcoólico 70% da casca do caule (entrecasca), inibindo o crescimento de bactérias gram positivas e gram negativas, com exceção da espécie *Klebsiella ssp.* O extrato Alcoólico 95°GL apresentou atividade para as duas cepas de *S. aureus*, a ATCC6538 e isolado da comunidade, além de *K. ssp* e *P. aeruginosas*. Os halos de inibição formados para os extratos alcoólicos obtiveram valores entre 10 e 20mm e CIM entre 1000 mg/mL à 250mg/mL.

O fruto de *G. americana* apresentou atividade apenas para o extrato alcoólico 70%, inibindo as estirpes de *Streptococcus ssp* e *E. coli* B4, com valores dos halos de inibição entre 10 e 15mm, para uma CIM de 1000mg/mL.

Os resultados obtidos por este trabalho são compatíveis a diversos trabalhos encontrados na literatura, que avançaram até o isolamento e elucidação de substâncias com atividade antimicrobiana (YANG et al., 1999). Destaca-se para esta planta na literatura consultada, maior número de trabalhos para atividade antifúngica do que para atividade antibacteriana que foi objetivo deste trabalho (YANG et al., 1999; TALLENT, 1964; HOSSAIN et al., 2003 e PINO & col., 2005).

O Bacuri, *Attalea phalerata* Mart. apresentou resultados significativos para o extrato alcoólico 95°GL do epicarpo (casca) do fruto para duas cepas de bactérias gram positivas (*S. epidermides* ATCC12228 e *S. aureus*\*) e duas gram negativas (*E. coli* B4 e *P. aeruginosa*), com CIM de 1000mg/mL e halos de inibição que variaram entre 10 e 15mm.

A parte mesocárpica do extrato alcoólico 95°GL de *A. phalerata*, apresentou inibição para três das cinco bactérias gram positivas testadas (*S. aureus* ATCC6538, *S. epidermides* ATCC12228 e *S. ssp*\*) e para todas as bactérias gram negativas (*E. coli* B4, *K. ssp*\* e *P. aeruginosa*\*), com halos de inibição entre 10 e 20mm. Destacando-se a estirpe *S. aureus* ATCC 6538 que comportou-se com halos de inibição superiores a 15mm com uma CMI de 500mg/mL para o extrato alcoolico 95°GL da parte mesocárpica de *A. phalerata*.

---

\* Cepas isoladas de pacientes no HRPN-TO.

O extrato alcoólico 70% da parte mesocarpica de *A. phalerata* Mart. evidenciou a mesma concentração para a CIM, 500mg/mL, com um halo de inibição entre 10 e 15mm. Inibindo três das cinco bactérias gram positivas testadas (*S. aureus* ATCC6538, *S. epidermidis* ATCC12228 e *S. ssp*\*) e duas das três espécies de bactérias gram positivas, com exceção da bactéria *Pseudomonas aeruginosa*\*.

Não foram encontrados na literatura analisada resultados anteriores referente a atividade antimicrobiana para o bacuri, *Attalea phalerata*, o que nos proporcionou uma análise de uma espécie ainda pouco estudada. Os trabalhos mais relevantes existentes estão relacionados a área de ecologia. O resultado obtido sugere ser esta planta uma nova opção para o estudo de prospecção fitoquímica de substâncias com atividade antimicrobiana.

O mesocarpo do Babaçu, *Orbignya phalerata* Mart. e Endl., apresentou para o extrato alcoólico 70% um comportamento seletivo para bactérias gram positivas, inibindo o crescimento de três das cinco testadas, *S. aureus* ATCC6538, *S. epidermidis* ATCC12228 e *Streptococcus ssp*, não inibindo bactérias gram negativas. A CMI do extrato alcoólico 70% do mesocarpo de *Orbignya phalerata* Mart. foi de 250 e 100mg/mL com formação de halos de inibição entre 15 e 20mm.

A característica de inibição seletiva sugeriu um aprofundamento dos estudos do extrato alcoólico 70% de *Orbignya phalerata* Mart. e Endl., com fracionamento de frações ativas e futuros estudos para elucidação das substâncias ativas.

Esta seletividade para bactérias gram positivas sugere que a atuação do extrato de *O. phalerata* poderá estar relacionado a mecanismos que envolvam a construção ou desestabilização da parede celular bacteriana, necessitando de estudos mais aprofundados para evidenciação e elaboração de um modelo de atuação. Devido o extrato alcoólico 70% do mesocarpo de *Orbignya phalerata* Mart. ser capaz de inibir o crescimento de *Streptococcus ssp*\*, resistente a penicilina, sugere-se que o modelo de atuação do extrato sobre as bactérias serem diferente ao mecanismo da penicilina.

Para o extrato alcoólico 95°GL do mesocarpo de *O. phalerata* o comportamento de seletividade para gram positivo também foi expresso, inibindo as bactérias *S. aureus* ATCC6538 e *S. epidermidis* ATCC12228. As outras



bactérias não demonstraram ser sensíveis a este extrato. A CMI foi de 100 e 250 mg/mL respectivamente para *S. aureus* ATCC6538 e *S. epidermidis* ATCC12228, com formação de halo de inibição de 10 a 15mm.

Estes resultados são compatíveis aos encontrados em outros estudos sobre atividade antimicrobiana dos extratos alcoólicos do mesocarpo de *O. phalerata*. CAETANO em 2002, encontrou para o extrato hidroalcoólico 50% (1:1) do mesocarpo de *O. phalerata*, resultados com expressão de halos de inibição de 14 á 18mm, utilizando apenas a espécie *Staphylococcus aureus*; inclusive cepas meticilina resistentes, como a *S. aureus* AM189 e AM211. Esta expressão de valores dos halos de inibição é próximo aos valores aqui encontrados, onde nos ensaios foram utilizados cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC6538 em solvente alcoólico 95 °GL e 70%.

Entretando, os valores obtidos de CIM por CAETANO são inferiores. Esta diferença entre os resultados podem estar relacionado ao tipo de solvente utilizado na dissolução do extrato liofilizado, ou na proporção do solvente para extração do extrato bruto, na própria matéria prima coletada e na expressão das cepas utilizadas pelo ensaio.

## **6.2 Classificação dos extratos das plantas, em relação a seus solventes e concentrações.**

A ordem de classificação dos extratos das plantas ensaiadas foi obtida através da análise de variância das médias dos halos de inibição de crescimento dos extratos vegetais em relação às estirpes de bactérias, considerando as variáveis solventes utilizadas no preparo do extrato e sua concentração.

Esta análise apresentou-se significativa para todas as possíveis variáveis empregadas. Demonstrando assim, existir médias com comportamentos idênticos ou aproximados dentro dos eventos, sugerindo-se que os extratos e suas variáveis devem ser analisadas de duas a duas, utilizado o Teste de Tukey, chamado também de Teste de Amplitude Estudantizadas (MOTTA, 2006).

Para tanto, as variáveis foram separadas em tabelas e quadros, que para facilidade de observação das análises, foram empregados caracteres

alfabéticos maiúsculos e minúsculos na identificação de médias estatisticamente idênticas e ou diferentes.

### 6.2.1 *Staphylococcus aureus* ATCC6538

Para a bactéria *Staphylococcus aureus* ATCC6538 os extratos das plantas com suas variáveis solventes e concentrações, obtiveram um padrão significativo de variância para a média do tamanho do halo de inibição de crescimento (ANOVA, Tukey,  $P < 0,05$ , IC:95%), conforme quadro 1, determinando que sua discussão fosse realizada independentemente as suas relações.

Para tanto, foram construídas as tabelas 9, 10 e 11, que determinam as classificações dos extratos segundo as variáveis: 1) solvente, 2) concentração e 3) solvente x concentração, respectivamente; e as suas relações.

| Fatores de Variância             | GL  | SQ      | QM       | Fc     | Pr>Fc  |
|----------------------------------|-----|---------|----------|--------|--------|
| Plantas                          | 7   | 9802,9  | 1400,39* | 1084.9 | <0,001 |
| Solventes                        | 2   | 3697,0  | 1848,49* | 1432.0 | <0,001 |
| Concentrações                    | 7   | 3944,1  | 563,43*  | 436.5  | <0,001 |
| Plantas x Solvente               | 14  | 5182.9  | 370,20*  | 370.2  | <0,001 |
| Planta x Concentração            | 49  | 3462.5  | 70,66*   | 70.7   | <0,001 |
| Concentração x Solvente          | 14  | 1647.1  | 117,65*  | 117.7  | <0,001 |
| Planta x Concentração x Solvente | 98  | 2264.2  | 23,10*   | 23.1   | <0,001 |
| Erro                             | 382 | 493.1   | 1.29     |        |        |
| Total Corrigido                  | 575 | 30496.5 |          |        |        |

**QUADRO 1: Análise de Variância dos extratos das plantas frente a bactéria *Staphylococcus aureus* ATCC6538, segundo o tipo de solvente utilizado para extração e concentração.** (ANOVA, Tukey,  $P < 0,05$ , IC:95%). Se \* significativo a 5%. GL: Grau de Liberdade, QM : Quadrado Médio, Fc: Fator de correção, Pr>Fc: Fcalculado menor que o valor crítico tabelado, não haverá diferença significativa entre os tratamentos. CV: 30,12%; Média Geral: 3,7716; Número de observações: 576.

Os solventes alcoólicos 95°GL e 70% para *Staphylococcus aureus* ATCC6538 apresentaram comportamento estatisticamente idêntico (ativos), enquanto, o solvente hexano apresentou ser diferente, quando relacionamos ao conjunto de plantas estudadas, confirmado pela falta de atividade dos extratos produzidos com solvente hexano.

**Tabela 9 – Determinação do melhor solvente para produção de extratos, utilizando análise estatística da média dos halos de inibição, frente à bactéria *Staphylococcus aureus* ATCC6538.**

| Plantas   | Solvente                       |                 |               | Média      |
|---|--------------------------------|-----------------|---------------|------------|
|   | média dos halos de inibição mm |                 |               |            |
|   | Hexano                         | Alcool<br>95°GL | Alcool<br>70% |            |
| Mesocarpo de <i>Orbignya</i><br><i>ssp.</i>                             | 0,42<br>a b A                  | 9,70<br>e C     | 7,54<br>d B   | 5,89<br>c  |
| Folha de <i>Bryophyllum</i><br><i>pinnatum</i> (Lam.) Oken              | 0<br>a A                       | 7,96<br>d B     | 8,10<br>d B   | 5,35<br>c  |
| Folhas de <i>Lafoensia</i><br><i>pacari</i> St. Hil.                    | 0<br>a A                       | 18,66<br>f B    | 20,32<br>e C  | 12,99<br>d |
| Epicarpo de <i>Attalea</i><br><i>phalerata</i> Mart.                    | 0<br>a A                       | 0<br>a A        | 0<br>a A      | 0,00<br>a  |
| Mesocarpo de <i>Attalea</i><br><i>phalerata</i> Mart                    | 0<br>a A                       | 5,45<br>c C     | 2,87<br>b B   | 2,77<br>b  |
| Folhas de <i>Alternanthera</i><br><i>cf. brasiliiana</i> (L.)<br>Kuntze | 0<br>a A                       | 0<br>a A        | 0<br>a A      | 0,00<br>a  |
| Fruto do <i>Genipa</i><br><i>americana</i> L.                           | 0<br>a A                       | 0<br>a A        | 0<br>a A      | 0,00<br>a  |
| Casca e Entrecasca do<br><i>Genipa americana</i> L.                     | 1,08<br>b A                    | 2,81<br>b B     | 5,55<br>c C   | 3,14<br>b  |
| Média   | 0.18<br>A                      | 5,57<br>B       | 5,54<br>B     | 3,76       |

Médias seguidas de uma mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não se diferem estatisticamente, a um nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. As Médias dos Halos de Inibição é referente a média nas concentrações de 1000mg/mL à 1 mg/mL. Diferença Média Significativa – DMS: 0,577251838757062 (ANOVA, Tukey, P<0,05, IC:95%).

A planta que apresentou maior inibição para a bactéria *Staphylococcus aureus* ATCC6538 foi o extrato produzido pelas folhas de *Lafoensia pacari*, seguido pelos extratos de médias estatisticamente semelhantes do mesocarpo de *Orbignya ssp* e folha de *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken e, posteriormente, por outro grupo formado pelos extratos preparados a partir da casca e entrecasca de *Genipa americana* L. e mesocarpo de *Attalea phalerata* Mart.

**Tabela 10 – Comportamento das médias dos halos de inibição em relação à concentração dos extratos estudados, frente à bactéria *Staphylococcus aureus* ATCC6538.**

| Planta | Concentração (mg/mL) |                |                |                |              |              |             |             | Média      |
|--------|----------------------|----------------|----------------|----------------|--------------|--------------|-------------|-------------|------------|
|        | 1000                 | 500            | 250            | 100            | 50           | 25           | 10          | 1           |            |
| 1      | 11,33<br>b c D       | 10,2<br>c C D  | 9,05<br>c C    | 8,66<br>c C    | 3,72<br>b B  | 4,11<br>b B  | 0<br>a A    | 0<br>aA     | 5,89<br>c  |
| 2      | 12,05<br>c C D       | 12,58<br>d D   | 10,58<br>c C   | 7,63<br>c B    | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A    | 0<br>a A    | 5,35<br>c  |
| 3      | 18,2<br>D G          | 17,11<br>e F G | 16,27<br>d E F | 15,15<br>d D E | 13,66<br>c D | 11,91<br>c C | 8,75<br>b B | 2,86<br>b A | 12,99<br>d |
| 4      | 0<br>A A             | 0<br>a A       | 0<br>a A       | 0<br>a A       | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A    | 0<br>a A    | 0,00<br>a  |
| 5      | 9,89<br>B D          | 7,44<br>b C    | 3,11<br>b B    | 1,77<br>b B    | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A    | 0<br>a A    | 2,77<br>b  |
| 6      | 0<br>A A             | 0<br>a A       | 0<br>a A       | 0<br>a A       | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A    | 0<br>a A    | 0,00<br>a  |
| 7      | 0<br>A A             | 0<br>a A       | 0<br>a A       | 0<br>a A       | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A    | 0<br>a A    | 0,00<br>a  |
| 8      | 11,88<br>C D         | 8,50<br>b C    | 3,58<br>b B    | 1,22<br>a b A  | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A    | 0<br>a A    | 3,14<br>b  |
| Média  | 7,90<br>G            | 6,98<br>F      | 5,32<br>E      | 4,30<br>D      | 2,17<br>C    | 2,0<br>C     | 1,09<br>B   | 0,35<br>A   | 3,76       |

Médias seguidas de uma mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não se diferem estatisticamente, a um nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. 1) mesocarpo de *Orbignya ssp* Mart. ex Endl.; 2) Folha de *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken; 3) Folhas de *Lafoensia pacari* St. Hil.; 4) Epicarpo de *Attalea phalerata* Mart.; 5) Mesocarpo de *Attalea phalerata* Mart.; 6) Folhas de *Alternanthera* cf. *brasiliiana* (L.) Kuntze; 7) Fruto do *Genipa americana* L; 8) Casca e Entrecasca do *Genipa americana* L. DMS: 0,577251838757062. (ANOVA, Tukey, P<0,05, IC:95%).

As outras plantas, epicarpo de *Attalea phalerata* (bacuri), *Alternanthera brasiliensis* (meracilina) e fruto de *Genipa americana* (jenipapo) não apresentaram atividade inibitória.

A concentração de extrato que apresentou maior inibição nos referidos solventes testados foi o de maior concentração. Sendo, demonstrado proporcionalidade entre concentração e atividade, isto é, quanto maior concentração maior expressão do halo de inibição, tabela 10. Este dado foi importante para construção da tabela 8, que contém os resultados interpretativos dos halos de inibição por uma escala da cruz, que foi determinado pela expressão dos halos formados em cada extrato na concentração de 1000mg/mL.

A análise da tabela 11, revelou que o comportamento do extrato do mesocarpo de *Orbignya ssp* frente a *S. aureus* ATCC6538 apresentou maior expressão dos halos de inibição para extrato álcool 70% na concentração de 1000mg/mL. Enquanto, as concentrações de 500 mg/mL à 100 mg/mL do extrato de babaçu, *Orbignya ssp*, em álcool 70% e, as concentrações de 1000mg/mL a 25mg/mL do alcoólico 95°GL, são estatisticamente idênticas e ativas.

Para as demais concentrações menores dos solventes alcoólicos e todas as concentrações do solvente hexano formam outro grupo de médias, só que são ineficazes, por considerar o valor de referência para positividade halos iguais e ou superiores a 10mm.

Para a planta *B. pinnatum* o comportamento do solvente álcool 95°GL e a 70% para as concentrações entre 1000mg/mL e 100mg/mL são idênticos e considerados ativos, enquanto a menores concentrações ineficientes, assim, como para o extrato hexânico.

A *L. pacari*, apresentou ser para os extratos alcoólico 70% e 95°GL nas concentrações de 1000mg/mL à 10mg/mL eficiente e estatisticamente idênticas. Enquanto, a concentração de 1mg/mL dos extratos alcoólicos apresentou ser ineficazes, resultado idêntico ao seu extrato hexânico.

O mesocarpo do *A. phalerata* obteve resultados estatisticamente idênticos para concentração de 1000mg/mL e 500mg/mL dos extratos preparados com solvente álcool 95°GL. As concentrações de 250mg/mL e 100mg/mL do extrato alcoólico 95°GL, são estatisticamente idênticas, mas ineficiente, por apresentarem halos menores que 10mm, bem como as concentrações inferiores.

**Tabela 11: Análise de Variância (ANOVA) das média dos halos de inibição dos extratos das plantas frente à bactéria *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, relacionado por solvente e concentração.**

| Planta    | Hexano (mg/mL) |            |         |         |         |         |         |         | Alcool 95°GL (mg/mL) |             |             |             |             |             |             |         | Alcool 70% (mg/mL) |             |             |             |            |             |             |            | $\bar{X}$ |
|-----------|----------------|------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|----------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|---------|--------------------|-------------|-------------|-------------|------------|-------------|-------------|------------|-----------|
|           | 1000           | 500        | 250     | 100     | 50      | 25      | 10      | 1       | 1000                 | 500         | 250         | 100         | 50          | 25          | 10          | 1       | 1000               | 500         | 250         | 100         | 50         | 25          | 10          | 1          |           |
| 1         | 3,41<br>bA     | 0<br>Aa    | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 13,16<br>bB          | 15,0<br>cB  | 12,5<br>cB  | 13,5<br>cB  | 11,16<br>bB | 12,33<br>bB | 0<br>aA     | 0<br>aA | 17,44<br>cC        | 15,75<br>cB | 14,66<br>cB | 12,5<br>cB  | 0<br>aA    | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA    | 5,89 c    |
| 2         | 0<br>aA        | 0<br>aA    | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 17,66<br>cB          | 18,75<br>dB | 15,75<br>dB | 11,58<br>cB | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA | 18,50<br>cB        | 19,0<br>dB  | 16,0<br>cB  | 11,33<br>cB | 0<br>aA    | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA    | 5,35 c    |
| 3         | 0<br>aA        | 0<br>aA    | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 28,23<br>dB          | 26,25<br>eB | 24,5<br>eB  | 21,5<br>dB  | 19,5<br>cB  | 17,5<br>cB  | 11,83<br>bB | 0<br>aA | 26,41<br>dB        | 25,08<br>eB | 24,3<br>dB  | 24,0<br>dC  | 21,5<br>bB | 18,25<br>bB | 14,41<br>bC | 8,58<br>bB | 12,99 d   |
| 4         | 0<br>aA        | 0<br>aA    | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA              | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA | 0<br>aA            | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA    | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA    | 0,00 a    |
| 5         | 0<br>aA        | 0<br>aA    | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 16,66<br>cC          | 12,33<br>cC | 9,33<br>bB  | 5,33<br>bB  | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA | 13,0<br>bB         | 10,0<br>bB  | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA    | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA    | 2,77 b    |
| 6         | 0<br>aA        | 0<br>aA    | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA              | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA | 0<br>aA            | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA    | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA    | 0,00 a    |
| 7         | 0<br>aA        | 0<br>aA    | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA              | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA | 0<br>aA            | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA    | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA    | 0,00 a    |
| 8         | 6,0<br>bA      | 2,66<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 13,5<br>bB           | 9,0<br>bB   | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA | 16,16<br>cC        | 13,83<br>cC | 10,75<br>bB | 3,66<br>bB  | 0<br>aA    | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA    | 3,14 b    |
| $\bar{X}$ | 1.18           | 0.33       | 0.00    | 0.00    | 0.00    | 0.00    | 0.00    | 0.00    | 11.15                | 10.17       | 7.76        | 6.49        | 3.83        | 3.73        | 1.48        | 0.00    | 11.44              | 10.46       | 8.21        | 6.44        | 2.69       | 2.28        | 1.80        | 1.07       | 3,77      |

Médias seguidas de uma mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não se diferem estatisticamente, a um nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. 1) Mesocarpo de *Orbignyia ssp* Mart. ex Endl.; 2) Folha de *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken; 3) Folhas de *Lafoensia pacari* St. Hil.; 4) Epicarpo de *Attalea phalerata* Mart.; 5) Mesocarpo de *Attalea phalerata* Mart; 6) Folhas de *Alternanthera cf. brasiliana* (L.) Kuntze; 7) Fruto do *Genipa americana* L.; 8) Casca e Entrecasca do *Genipa americana* L. DMS: 1,63271475855009. (ANOVA, Tukey, P<0,05, IC:95%).

O extrato alcoólico 70% do mesocarpo do *A. phalerata* apresentou atividade para as concentrações de 1000mg/mL e 500mg/mL tendo as médias dos halos de inibições estatisticamente idênticas. Enquanto, as concentrações menores dos extratos alcoólicos e do extrato hexano desta planta, não são eficientes.

O extrato produzido pela casca e entrecasca de *G. americana* foi significativo nas concentrações de 1000mg/mL em álcool 95°GL e 1000mg/mL a 250mg/mL do extrato alcoólico 70%. A concentração do extrato a 250mg/mL em álcool 70% é idêntica a média dos halos de inibição do extrato alcoólico 95°GL na concentração de 1000 mg/mL e considerada inibidora de crescimento para bactéria *S. aureus* ATCC6538. Para as demais concentrações destes extratos e para o solvente hexano foram ineficientes.

Para as plantas *A. brasiliiana*, fruto de *G. americana* e epicarpo do *A. phalerata*, não apresentou significância, por apresentarem halos de inibição menores que 10mm.

#### 6.2.2 *Staphylococcus epidermidis* ATCC12228

Para a bactéria *Staphylococcus epidermidis* ATCC12228 os extratos das plantas com suas variáveis solventes e concentrações, obtiveram um padrão significativo de variância para a media do tamanho do halo de inibição de crescimento (ANOVA, Tukey,  $P < 0,05$ , IC:95%), conforme quadro 2, determinando que sua discussão fosse realizada independentemente as suas relações.

Para tanto, foram construídas as tabelas 12, 13 e 14, que determinam as classificações dos extratos segundo as variáveis: 1) solvente, 2) concentração e 3) solvente x concentração, respectivamente; e as suas relações.

Os solventes alcoólicos 95°GL e 70% e o hexânico para esta bactéria apresentaram comportamento de formação de halos de inibição estatisticamente diferentes, tabela 12, sendo o álcool 70% de maior eficiência, seguido do extrato alcoólico 95°GL, enquanto os extratos produzidos por hexano são ineficientes.

As concentrações para todos os solventes testados obtiveram um comportamento de proporcionalidade entre sua concentração e média dos halos de

inibição. Quanto maior a concentração maior o tamanho médio do halo de inibição para a bactéria *Staphylococcus epidermidis* ATCC12228, tabela 13.

| Fatores de Variância             | GL  | SQ     | QM     | Fc     | Pr>Fc  |
|----------------------------------|-----|--------|--------|--------|--------|
| Plantas                          | 7   | 1701.6 | 243,1* | 363.5  | <0,001 |
| Solventes                        | 2   | 1612.0 | 806,0* | 1205.3 | <0,001 |
| Concentrações                    | 7   | 4207.2 | 601,0* | 898.8  | <0,001 |
| Plantas x Solvente               | 14  | 1257.6 | 89,8*  | 134.3  | <0,001 |
| Planta x Concentração            | 49  | 1977.6 | 40,4*  | 60.3   | <0,001 |
| Concentração x Solvente          | 14  | 1974.7 | 141,0* | 210.9  | <0,001 |
| Planta x Concentração x Solvente | 98  | 1776.2 | 18,1*  | 27.1   | <0,001 |
| Erro                             | 382 | 255.5  | 0,67   |        |        |
| Total Corrigido                  | 575 | 14762  |        |        |        |

**Quadro 2: Análise de Variância dos extratos das plantas frente a bactéria *Staphylococcus epidermidis* ATCC12228, segundo o tipo de solvente utilizado para extração e concentração.** (ANOVA, Tukey,  $P < 0,05$ , IC:95%). Se \* significativo a 5%. GL: Grau de Liberdade, QM : Quadrado Médio, Fc: Fator de correção, Pr>Fc: Fcalculado menor que o valor crítico tabelado, não haverá diferença significativa entre os tratamentos. CV: 30,07%; Média Geral: 2,4726; Número de observações: 576, (ANOVA, Tukey;  $P < 0,05$ ; IC:95%).

O resultado da análise estatística aplicada às plantas, em ordem decrescente de atividade segundo média do halo de inibição para bactéria *S. epidermidis* ATCC12228 foram: *B. pinnatum* e *L. pacari* com comportamento idêntico, posteriormente o mesocarpo de *Orbignya ssp* seguido do mesocarpo do *A. phalerata*, casca e entrecasca do *G. americana*, epicarpo do *A. phalerata*, fruto do *G. americana* e *A. brasiliiana* que diferenciaram entre si, tabela 12.

O mesocarpo do Babaçu, *Orbignya ssp*, quando comparadas às médias dos halos de inibição individualmente, apresentaram maior expressão para a concentração de 1000mg/mL do extrato alcoólico 70%. As concentrações de 1000mg/mL à 250mg/mL do extrato alcoólico 95°GL e de 500mg/mL à 250mg/mL do extrato alcoólico 70% tiveram comportamento idêntico estatisticamente, mas de menor eficácia do que a concentração de 1000mg/mL do extrato alcoólico 70%.



Para as demais concentrações e para o solvente hexano foram ineficazes, tabela 14.

**Tabela 12: Determinação do melhor solvente para produção de extrato, utilizando análise estatística da média dos halos de inibição, frente à bactéria *Staphylococcus epidermidis* ATCC12228.**

| Plantas   | Solvente                       |                 |               | Média     |
|---|--------------------------------|-----------------|---------------|-----------|
|   | média dos halos de inibição mm |                 |               |           |
|   | Hexano                         | Álcool<br>95°GL | Álcool<br>70% |           |
| Mesocarpo de <i>Orbignya</i><br><i>ssp</i> Mart. ex Endl.           | 0<br>a A                       | 5,35<br>c B     | 5,85<br>f B   | 3,73<br>f |
| Folha de <i>Bryophyllum</i><br><i>pinnatum</i> (Lam.) Oken          | 0<br>a A                       | 6,70<br>d B     | 7,69<br>h C   | 4,79<br>g |
| Folhas de <i>Lafoensia</i><br><i>pacari</i> St. Hil.                | 0<br>a A                       | 7,15<br>d B     | 6,88<br>g B   | 4,68<br>g |
| Epicarpo de <i>Attalea</i><br><i>phalerata</i> Mart.                | 0<br>a A                       | 2,16<br>b C     | 1,13<br>b B   | 1,10<br>c |
| Mesocarpo de <i>Attalea</i><br><i>phalerata</i> Mart                | 0<br>a A                       | 5,20<br>c C     | 3,51<br>d B   | 2,90<br>e |
| Folhas de <i>Alternanthera</i><br>cf. <i>brasiliana</i> (L.) Kuntze | 0<br>a A                       | 0<br>a A        | 0<br>a A      | 0<br>a    |
| Fruto do <i>Genipa</i><br><i>americana</i> L.                       | 0<br>a A                       | 0<br>a A        | 2,02<br>c B   | 0,67<br>b |
| Casca e Entrecasca do<br><i>Genipa americana</i> L.                 | 1,08<br>b B                    | 0<br>a A        | 4,56<br>e C   | 1,88<br>d |
| Média   | 0,13<br>A                      | 3,32<br>B       | 3,95<br>C     | 2,47      |

Médias seguidas de uma mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não se diferem estatisticamente, a um nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.  $\bar{X}$  - Média dos Halos de Inibição nas concentrações de 1000mg/mL à 1 mg/mL. Diferença Média Significativa – DMS: 0,196429000469203. (ANOVA, Tukey; P<0,05; IC:95%).

**Tabela 13: Comportamento das médias dos halos de inibição em relação à concentração dos extratos estudados, frente à bactéria *Staphylococcus epidermidis* ATCC12228.**

| Planta | Concentração (mg/mL) |               |               |             |          |          |          |          | Média     |
|--------|----------------------|---------------|---------------|-------------|----------|----------|----------|----------|-----------|
|        | 1000                 | 500           | 250           | 100         | 50       | 25       | 10       | 1        |           |
| 1      | 8,94<br>d D          | 8,33<br>d D C | 7,61<br>c C   | 5,0<br>c B  | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 3,73<br>f |
| 2      | 10,60<br>e C         | 9,71<br>e B C | 9,55<br>d B C | 8,61<br>e B | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 4,79<br>g |
| 3      | 12,50<br>f E         | 9,97<br>e D   | 8,36<br>c C   | 6,61<br>d B | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 4,68<br>g |
| 4      | 6,52<br>c C          | 2,27<br>b B   | 0<br>a A      | 0<br>a A    | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 1,10<br>c |
| 5      | 8,38<br>d D          | 7,27<br>d D   | 4,91<br>b C   | 2,66<br>b B | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 2,90<br>e |
| 6      | 0<br>a A             | 0<br>a A      | 0<br>a A      | 0<br>a A    | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0 a       |
| 7      | 3,05<br>b B          | 2,35<br>b B   | 0<br>a A      | 0<br>a A    | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0,67<br>b |
| 8      | 6,18<br>C C          | 5,07<br>c C   | 3,80<br>b B   | 0<br>a A    | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 1,88<br>d |
| Média  | 7,01<br>E            | 5,62<br>D     | 4,28<br>C     | 2,86<br>B   | 0<br>A   | 0<br>A   | 0<br>A   | 0<br>A   | 2,47      |

Médias seguidas de uma mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não se diferem estatisticamente, a um nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. 1) Mesocarpo de *Orbignya ssp* Mart. ex Endl.; 2) Folha de *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken; 3) Folhas de *Lafoensia pacari* St. Hil.; 4) Epicarpo de *Attalea phalerata* Mart.; 5) Mesocarpo de *Attalea phalerata* Mart.; 6) Folhas de *Alternanthera cf. brasiliiana* (L.) Kuntze; 7) Fruto do *Genipa americana* L.; 8) Casca e Entrecasca do *Genipa americana* L. DMS: 0,415477463944808. (ANOVA, Tukey; P<0,05; IC:95%).

O comportamento para Folha Santa, *Bryophyllum pinnatum*, demonstrou ser estatisticamente idênticas para as concentrações de 1000mg/mL à 100mg/mL em álcool 95°GL e para o extrato alcoólico 70% em concentrações de 1000 mg/mL e 250 mg/mL. Entretanto, outro grupo é formado pelas concentrações de 500mg/mL e 100mg/mL do extrato alcoólico 70%, considerando-o ainda eficazes. As demais

concentrações dos solventes alcoólicos e todas as concentrações do solvente hexano foram ineficazes.

Para a *Lafoensia pacari*, Mangabeira, foi observado que as concentrações de 1000mg/mL à 100mg/mL do extrato alcoólico 95°GL e 1000mg do extrato alcoólico a 70% demonstraram ser estatisticamente idênticas e eficazes, seguidamente, pela concentrações de 500mg/mL e 250 mg/mL do extrato alcoólico 70% e alcoólico 95°GL consideradas de menor expressão dos halos de inibição, mas equivalentes entre si. As demais concentrações dos extratos alcoólicos e hexânico de *L. pacari* são ineficazes.

O epicarpo do Bacuri, *Attalea phalerata* Mart, apresentou para *S. epidermides* ATCC12228 médias de halos de inibição estatisticamente idênticas para o solvente álcool 95°GL em concentrações de 1000mg/mL e 500mg/mL e álcool 70% a concentração de 1000mg/mL. Porém, apenas a concentração de 1000mg/mL do extrato alcoólico a 95°GL é considerada eficaz, pois sua média foi superior a 10mm na formação do halo de inibição. As demais concentrações e solventes foram ineficientes.

O mesocarpo do Bacuri, *A. phalerata*, obteve medias idênticas para o álcool 95°GL e álcool 70% sendo em concentrações representativamente eficazes de 1000mg/mL a 500mg/mL, enquanto as demais concentrações não são eficazes.

A Meracilina, *Alternanthera* cf. *brasiliiana* e o fruto do Jenipapo, *Genipa americana* L., apresentaram médias de halos de inibição ineficazes.

Entretanto, a casca do Jenipapo apresentou ter halos de inibição significativos e eficientes nas concentrações de 1000mg/mL e 500 mg/mL do extrato alcoólico a 70%, enquanto as demais concentrações deste extrato e demais solventes de preparação do extrato foram ineficazes.

**Tabela 14: Análise de Variância (ANOVA) das médias dos halos de inibição dos extratos das plantas frente a bactéria *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, relacionado por solvente e concentração.**

| Planta    | Hexano (mg/mL) |            |          |          |          |          |          |          | Alcool 95°GL (mg/mL) |             |               |             |          |          |          |          | Alcool 70% (mg/mL) |               |             |             |          |          |          |          | $\bar{X}$ |
|-----------|----------------|------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------------------|-------------|---------------|-------------|----------|----------|----------|----------|--------------------|---------------|-------------|-------------|----------|----------|----------|----------|-----------|
|           | 1000           | 500        | 250      | 100      | 50       | 25       | 10       | 1        | 1000                 | 500         | 250           | 100         | 50       | 25       | 10       | 1        | 1000               | 500           | 250         | 100         | 50       | 25       | 10       | 1        |           |
| 1         | 0<br>a A       | 0<br>a A   | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 11,2<br>bc B         | 12<br>c B   | 11,8<br>c B   | 7,83<br>b B | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 15,6<br>d C        | 13<br>d B     | 11<br>c B   | 7,16<br>b B | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 3,73<br>f |
| 2         | 0<br>a A       | 0<br>a A   | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 15,3<br>d B          | 12,7<br>c B | 14<br>d B     | 11,5<br>c B | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 16,2<br>d B        | 16,3<br>e C   | 14,6<br>d B | 14,3<br>c C | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 4,79<br>g |
| 3         | 0<br>a A       | 0<br>a A   | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 16,8<br>d C          | 15,9<br>d C | 13,7<br>c d C | 10,7<br>c C | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 20,6<br>e C        | 14<br>d B     | 11,3<br>c B | 9,08<br>b B | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 4,68<br>g |
| 4         | 0<br>a A       | 0<br>a A   | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 10,5<br>b B          | 6,83<br>b B | 0<br>a A      | 0<br>a A    | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 9,08<br>b B        | 0<br>a A      | 0<br>a A    | 0<br>a A    | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 1,10<br>c |
| 5         | 0<br>a A       | 0<br>a A   | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 13<br>c B            | 11<br>c B   | 9,66<br>b C   | 8<br>b B    | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 12,2<br>c B        | 10,9<br>c B   | 5,03<br>b B | 0<br>a A    | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 2,90<br>e |
| 6         | 0<br>a A       | 0<br>a A   | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A             | 0<br>a A    | 0<br>a A      | 0<br>a A    | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A           | 0<br>a A      | 0<br>a A    | 0<br>a A    | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a    |
| 7         | 0<br>a A       | 0<br>a A   | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A             | 0<br>a A    | 0<br>a A      | 0<br>a A    | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 9,16<br>b B        | 7,06<br>b B   | 0<br>a A    | 0<br>a A    | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0,67<br>b |
| 8         | 6<br>b B       | 2,6<br>b B | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A             | 0<br>a A    | 0<br>a A      | 0<br>a A    | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 12,6<br>c C        | 12,5<br>c d C | 11,4<br>c B | 0<br>a A    | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 1,88<br>d |
| $\bar{X}$ | 0.75           | 0.33       | 0.00     | 0.00     | 0.00     | 0.00     | 0.00     | 0.00     | 8.35                 | 7.31        | 6.16          | 4.76        | 0.00     | 0.00     | 0.00     | 0.00     | 11.9               | 9.23          | 6.68        | 3.82        | 0.00     | 0.00     | 0.00     | 0.00     | 2.47      |

Médias seguidas de uma mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não se diferem estatisticamente, a um nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. 1) Mesocarpo de *Orbignya ssp* Mart. ex Endl.; 2) Folha de *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken; 3) Folhas de *Lafoensia pacari* St. Hil.; 4) Epicarpo de *Attalea phalerata* Mart.; 5) Mesocarpo de *Attalea phalerata* Mart; 6) Folhas de *Alternanthera cf. brasiliana* (L.) Kuntze; 7) Fruto do *Genipa americana* L.; 8) Casca e Entrecasca do *Genipa americana* L. DMS: 1,17514772874225. (ANOVA, Tukey; P<0,05; IC:95%).

### 6.2.3 *Staphylococcus aureus*\*

O comportamento do extrato das plantas para a bactéria *Staphylococcus aureus*\* apresentou ter um comportamento aproximado ao comportamento das outras bactérias analisadas.

Assim, para todos possíveis estudos de variância para bactéria *Staphylococcus aureus*\* são significativos, em relação a média dos halos de inibição dos extratos das plantas, solventes utilizados na confecção dos extratos e suas concentrações (quadro 3) e, serão discutidas independentemente as suas relações. Para tanto, foram construídas as tabelas 15, 16 e 17, que determinam as classificações dos extratos segundo as variáveis: 1) solvente, 2) concentração e 3) solvente x concentração, respectivamente.

| Fatores de Variância             | GL  | SQ      | QM     | Fc     | Pr>Fc  |
|----------------------------------|-----|---------|--------|--------|--------|
| Plantas                          | 7   | 5592,2  | 798,9* | 364,35 | <0,001 |
| Solventes                        | 2   | 1526,5  | 763,2* | 348,1  | <0,001 |
| Concentrações                    | 7   | 1743,7  | 249,1* | 113,61 | <0,001 |
| Plantas x Solvente               | 14  | 2972,4  | 96,8*  | 96,83  | <0,001 |
| Planta x Concentração            | 49  | 2294,3  | 21,3*  | 21,35  | <0,001 |
| Concentração x Solvente          | 14  | 943,4   | 30,7*  | 30,73  | <0,001 |
| Planta x Concentração x Solvente | 98  | 1842,3  | 8,6*   | 8,57   | <0,001 |
| Erro                             | 382 | 837,6   | 2,2    |        |        |
| Total Corrigido                  | 575 | 17759,7 |        |        |        |

**Quadro 3: Análise de Variância dos extratos das plantas frente a bactéria *Staphylococcus aureus*\* comunidade, segundo o tipo de solvente utilizado para extração e concentração.** (ANOVA, Tukey, P<0,05, IC:95%). Se \* significativo a 5%. GL: Grau de Liberdade, QM : Quadrado Médio, Fc: Fator de correção, Pr>Fc: Fcalculado menor que o valor crítico tabelado, não haverá diferença significativa entre os tratamentos. CV: 63,07%; Média Geral: 2,3476563; Número de observações: 576.

Analisando os solventes referente ao comportamento frente à bactéria *Staphylococcus ssp*\* os extratos hexânicos não apresentaram eficácia, enquanto, os solventes alcoólicos foram idênticos estatisticamente (tabela 15).

Em relação à concentração de cada extrato, o comportamento demonstrou ser novamente de proporcionalidade entre, o tamanho do halo de inibição e a concentração utilizada no estudo (tabela 16).

**Tabela 15: Determinação do melhor solvente para produção de extrato, utilizando análise estatística da média dos halos de inibição, frente à bactéria *Staphylococcus aureus*\*.**

| Plantas   | Solvente                       |                 |               | Média     |
|---|--------------------------------|-----------------|---------------|-----------|
|   | média dos halos de inibição mm |                 |               |           |
|   | Hexano                         | Alcool<br>95°GL | Alcool<br>70% |           |
| Mesocarpo de <i>Orbignya ssp</i> Mart. ex Endl.           | 0<br>a A                       | 0<br>a A        | 0<br>a A      | 0<br>a    |
| Folha de <i>Bryophyllum pinnatum</i> (Lam.) Oken          | 0<br>a A                       | 9,97<br>d C     | 7,5<br>c B    | 5,82<br>c |
| Folhas de <i>Lafoensia pacari</i> St. Hil.                | 0<br>a A                       | 13,23<br>e B    | 14,06<br>d B  | 9,10<br>d |
| Epicarpo de <i>Attalea phalerata</i> Mart.                | 0,41<br>a A                    | 2,62<br>c B     | 1,05<br>a A   | 1,36<br>b |
| Mesocarpo de <i>Attalea phalerata</i> Mart                | 0<br>a A                       | 2,08<br>b c B   | 1,28<br>a B   | 1,12<br>b |
| Folhas de <i>Alternanthera cf. brasiliana</i> (L.) Kuntze | 0<br>a A                       | 0<br>a A        | 0<br>a A      | 0<br>a    |
| Fruto do <i>Genipa americana</i> L.                       | 0<br>a A                       | 0<br>a A        | 0<br>a A      | 0<br>a    |
| Casca e Entrecasca do <i>Genipa americana</i> L.          | 0<br>a A                       | 1,25<br>a b B   | 2,85<br>b C   | 1,36<br>b |
| Média   | 0,05<br>A                      | 3,64<br>B       | 3,34<br>B     | 2,35      |

Médias seguidas de uma mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não se diferem estatisticamente, a um nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.  $\bar{X}$  - Média dos Halos de Inibição nas concentrações de 1000mg/mL à 1 mg/mL. Diferença Média Significativa – DMS: 1,0060353135844; (ANOVA, Tukey; P<0,05; IC:95%).

A relação das médias de inibição proporcionadas pelos extratos das plantas considera-se que Mangabeira, *Lafoensia pacari* apresentou uma

superioridade de expressão; seguido da Folha santa, *Bryophyllum pinnatum*; e um grupo de menor expressão formado pela entrecasca do Jenipapo, *Genipa americana* e epicarpo do Bacuri, *Attalea phalerata* e mesocarpo de *A. phalerata*, enquanto, as demais plantas foram ineficientes para inibir o crescimento da bactéria *Staphylococcus aureus*\* (tabela 17).

**Tabela 16: Comportamento das médias dos halos de inibição em relação a concentração dos extratos estudados, frente à bactéria *Staphylococcus aureus*\***

| Planta | Concentração (mg/mL) |       |       |       |      |       |      |     | Média |
|--------|----------------------|-------|-------|-------|------|-------|------|-----|-------|
|        | 1000                 | 500   | 250   | 100   | 50   | 25    | 10   | 1   |       |
| 1      | 0                    | 0     | 0     | 0     | 0    | 0     | 0    | 0   | 0     |
|        | a A                  | a A   | a A   | a A   | a A  | a A   | a A  | a A | a     |
| 2      | 10,83                | 11,13 | 10,02 | 9,16  | 5,44 | 0     | 0    | 0   | 5,82  |
|        | d C                  | c C   | b C   | b C   | b B  | a A   | a A  | a A | c     |
| 3      | 15                   | 13,25 | 12,16 | 9,11  | 9,36 | 7,05  | 6,86 | 0   | 9,10  |
|        | e F                  | c E F | c E   | b C D | c D  | b B C | b B  | a A | d     |
| 4      | 6,41                 | 2,83  | 1,66  | 0     | 0    | 0     | 0    | 0   | 1,36  |
|        | c C                  | b B   | a A B | a A   | a A  | a A   | a A  | a A | b     |
| 5      | 3,88                 | 3,52  | 1,55  | 0     | 0    | 0     | 0    | 0   | 1,12  |
|        | b C                  | b B C | a A B | a A   | a A  | a A   | a A  | a A | b     |
| 6      | 0                    | 0     | 0     | 0     | 0    | 0     | 0    | 0   | 0     |
|        | a A                  | a A   | a A   | a A   | a A  | a A   | a A  | a A | a     |
| 7      | 0                    | 0     | 0     | 0     | 0    | 0     | 0    | 0   | 0     |
|        | a A                  | a A   | a A   | a A   | a A  | a A   | a A  | a A | a     |
| 8      | 7,61                 | 3,33  | 0     | 0     | 0    | 0     | 0    | 0   | 1,36  |
|        | c C                  | b B   | a A   | a A   | a A  | a A   | a A  | a A | b     |
| Média  | 5,46                 | 4,26  | 3,17  | 2,28  | 1,85 | 0,88  | 0,85 | 0   | 2,35  |
|        | F                    | E     | D     | C     | C    | B     | B    | A   |       |

Médias seguidas de uma mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não se diferem estatisticamente, a um nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. 1) Mesocarpo de *Orbignya ssp* Mart. ex Endl.; 2) Folha de *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken; 3) Folhas de *Lafoensia pacari* St. Hil.; 4) Epicarpo de *Attalea phalerata* Mart.; 5) Mesocarpo de *Attalea phalerata* Mart.; 6) Folhas de *Alternanthera cf. brasiliiana* (L.) Kuntze; 7) Fruto do *Genipa americana* L.; 8) Casca e Entrecasca do *Genipa americana* L. DMS: 0,752332974617622; (ANOVA, Tukey; P<0,05; IC:95%).

**Tabela 17: Análise de Variância (ANOVA) das médias dos halos de inibição dos extratos das plantas frente à bactéria *Staphylococcus aureus*\*, relacionado por solvente e concentração.**

| Planta    | Hexano (mg/mL) |            |          |          |          |          |          |          | Álcool 95°GL (mg/mL) |              |              |           |              |          |             |          | Álcool 70% (mg/mL) |              |              |              |             |              |              |          | $\bar{X}$ |           |
|-----------|----------------|------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------------------|--------------|--------------|-----------|--------------|----------|-------------|----------|--------------------|--------------|--------------|--------------|-------------|--------------|--------------|----------|-----------|-----------|
|           | 1000           | 500        | 250      | 100      | 50       | 25       | 10       | 1        | 1000                 | 500          | 250          | 100       | 50           | 25       | 10          | 1        | 1000               | 500          | 250          | 100          | 50          | 25           | 10           | 1        |           |           |
| 1         | 0<br>a A       | 0<br>a A   | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A             | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A  | 0<br>a A     | 0<br>a A | 0<br>a A    | 0<br>a A | 0<br>a A           | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A    | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A | 0<br>a A  | 0<br>a    |
| 2         | 0<br>a A       | 0<br>a A   | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 17,66<br>d B         | 18,75<br>c C | 16,08<br>c B | 16<br>b B | 11,33<br>b B | 0<br>a A | 0<br>a A    | 0<br>a A | 14,83<br>c B       | 14,66<br>d B | 14<br>b B    | 11,5<br>b B  | 5<br>b B    | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A | 0<br>a A  | 5,82<br>c |
| 3         | 0<br>a A       | 0<br>a A   | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 22,83<br>e D         | 20,5<br>c D  | 19,83<br>d C | 17<br>b C | 16,58<br>c C | 5<br>b B | 4,16<br>b B | 0<br>a A | 22,16<br>d D       | 19,25<br>e C | 16,66<br>b C | 10,33<br>b B | 11,5<br>b B | 16,16<br>b C | 16,41<br>b C | 0<br>a A | 0<br>a A  | 9,10<br>d |
| 4         | 0,83<br>a A    | 2,5<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 10<br>c B            | 6<br>b B     | 5<br>b B     | 0<br>a A  | 0<br>a A     | 0<br>a A | 0<br>a A    | 0<br>a A | 8,41<br>b B        | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A    | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A | 0<br>a A  | 1,36<br>b |
| 5         | 0<br>a A       | 0<br>a A   | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 6<br>b B             | 6<br>b B     | 4,66<br>b B  | 0<br>a A  | 0<br>a A     | 0<br>a A | 0<br>a A    | 0<br>a A | 5,66<br>b B        | 4,53<br>B    | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A    | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A | 0<br>a A  | 1,12<br>b |
| 6         | 0<br>a A       | 0<br>a A   | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A             | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A  | 0<br>a A     | 0<br>a A | 0<br>a A    | 0<br>a A | 0<br>a A           | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A    | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A | 0<br>a A  | 0<br>a    |
| 7         | 0<br>a A       | 0<br>a A   | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A             | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A  | 0<br>a A     | 0<br>a A | 0<br>a A    | 0<br>a A | 0<br>a A           | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A    | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A | 0<br>a A  | 0<br>a    |
| 8         | 0<br>a A       | 0<br>a A   | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 10<br>c B            | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A  | 0<br>a A     | 0<br>a A | 0<br>a A    | 0<br>a A | 12,83<br>c B       | 10<br>c B    | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A    | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A | 0<br>a A  | 1,36<br>b |
| $\bar{X}$ | 0.1            | 0.31       | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 8.31                 | 6.41         | 5.70         | 4.13      | 3.49         | 0.63     | 0.52        | 0 A      | 7.99               | 6.06         | 3.83         | 2.73         | 2.06        | 2.02         | 2.05         | 0 A      | 2.35      |           |

Médias seguidas de uma mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não se diferem estatisticamente, a um nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. 1) Mesocarpo de *Orbignyia ssp* Mart. ex Endl.; 2) Folha de *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken; 3) Folhas de *Lafoensia pacari* St. Hil.; 4) Epicarpo de *Attalea phalerata* Mart.; 5) Mesocarpo de *Attalea phalerata* Mart; 6) Folhas de *Alternanthera cf. brasiliana* (L.) Kuntze; 7) Fruto do *Genipa americana* L.; 8) Casca e Entrecasca do *Genipa americana* L. DMS: 3,68566380896685; (ANOVA, Tukey; P<0,05; IC:95%).



A planta de maior atividade, *L. pacari*, obteve no extrato alcoólico 70% e 95°GL, maior expressão dos halos de inibição com concentração 1000mg/mL. Seguido das demais concentrações do extrato de *B. pinnatum* alcoólico 95°GL e 70% em concentração de 1000mg/mL a 100 mg/mL. Para os extratos hidroalcoólicos 70% e 95°GL da entrecasca de *G. americana* e *A. phalerata* foram ativas e suas médias estatisticamente idênticas, porém, com menor expressão dos halos de inibição que apresentaram *L. pacari* e *B. pinnatum*. As outras concentrações, extratos e plantas não apresentaram eficiência, por terem halos de inibição inferiores a 10mm.

#### 6.2.4 *Streptococcus* $\beta$ -Hemolítico\*

O comportamento do extrato das plantas para a bactéria *Streptococcus*  $\beta$ -Hemolítico\* apresentou um padrão significativo de variância quando utilizado o teste de Tukey, com IC: 95% e  $P < 0,05$ , quadro 4.

| Fatores de Variância             | GL  | SQ      | QM      | Fc      | Pr>Fc  |
|----------------------------------|-----|---------|---------|---------|--------|
| Plantas                          | 7   | 8116,3  | 1159,2* | 1559,22 | <0,001 |
| Solventes                        | 2   | 1560,4  | 780,2*  | 1049,17 | <0,001 |
| Concentrações                    | 7   | 1255,8  | 242,2*  | 241,24  | <0,001 |
| Plantas x Solvente               | 14  | 4206,1  | 404,0*  | 404,02  | <0,001 |
| Planta x Concentração            | 49  | 2456    | 67,5*   | 67,51   | <0,001 |
| Concentração x Solvente          | 14  | 669,2   | 64,5*   | 64,28   | <0,001 |
| Planta x Concentração x Solvente | 98  | 1516,5  | 20,8*   | 20,81   | <0,001 |
| Erro                             | 382 | 284,1   | 0,74    |         |        |
| Total Corrigido                  | 575 | 20073,7 |         |         |        |

**Quadro 4: Análise de Variância dos extratos das plantas frente a bactéria *Streptococcus*  $\beta$ -Hemolítico\*, segundo o tipo de solvente utilizado para extração e concentração.** (ANOVA, Tukey,  $P < 0,05$ , IC:95%). Se \* significativo a 1%. GL: Grau de Liberdade, QM : Quadrado Médio, Fc: Fator de correção, Pr>Fc: Fcalculado menor que o valor crítico tabelado, não haverá diferença significativa entre os tratamentos. C.V.: 37,33%; Média Geral: 2,3103299; Número de observações: 576.

Para os possíveis estudos de variância para bactéria *Streptococcus*  $\beta$ -*Hemolítico*\* em relação aos extratos das plantas, solventes utilizados na confecção dos extratos e suas concentrações são significativas; portanto, deverão ser discutidas independentemente as suas relações.

**Tabela 18 – Determinação do melhor solvente para produção de extrato, utilizando análise estatística da média dos halos de inibição, frente à bactéria *Streptococcus*  $\beta$ -*Hemolítico*\***

| Plantas  | Solvente                       |                 |               | Média      |
|--|--------------------------------|-----------------|---------------|------------|
|  | média dos halos de inibição mm |                 |               |            |
|  | Hexano                         | Álcool<br>95°GL | Álcool<br>70% |            |
| Mesocarpo de <i>Orbignya</i><br><i>ssp</i> Mart. ex Endl.            | 0<br>a A                       | 0<br>a A        | 0<br>a A      | 0<br>a     |
| Folha de <i>Bryophyllum</i><br><i>pinnatum</i> (Lam.) Oken           | 0<br>a A                       | 6,45<br>c B     | 6,37<br>d B   | 4,27<br>d  |
| Folhas de <i>Lafoensia</i><br><i>pacari</i> St. Hil.                 | 0<br>a A                       | 17,75<br>d C    | 16,77<br>e B  | 11,50<br>e |
| Epicarpo de <i>Attalea</i><br><i>phalerata</i> Mart.                 | 0<br>a A                       | 0<br>a A        | 0<br>a A      | 0<br>a     |
| Mesocarpo de <i>Attalea</i><br><i>phalerata</i> Mart                 | 0<br>a A                       | 0<br>a A        | 0<br>a A      | 0<br>a     |
| Folhas de <i>Alternanthera</i><br>cf. <i>brasiliiana</i> (L.) Kuntze | 0<br>a A                       | 0<br>a A        | 0<br>a A      | 0<br>a     |
| Fruto do <i>Genipa</i><br><i>americana</i> L.                        | 0<br>a A                       | 0<br>a A        | 1,84<br>b B   | 0,61<br>b  |
| Casca e Entrecasca do<br><i>Genipa americana</i> L.                  | 0<br>a A                       | 1,55<br>b B     | 4,69<br>c C   | 2,08<br>c  |
| Média  | 0<br>A                         | 3,22<br>B       | 3,71<br>C     | 2,31       |

Médias seguidas de uma mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não se diferem estatisticamente, a um nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.  $\bar{X}$  - Média dos Halos de Inibição nas concentrações de 1000mg/mL à 1 mg/mL. Diferença Média Significativa – DMS:0,585877962711491; (ANOVA, Tukey; P<0,05; IC:95%).

Analisando os solventes referentes ao comportamento frente à bactéria *Streptococcus  $\beta$ -Hemolítico\** os extratos hexânicos não apresentaram eficácia, enquanto o solvente alcoólico a 70% expressou maiores halos de inibição que o alcoólico 95°GL, não sendo idênticos estatisticamente (tabela 18). A relação da concentração de cada extrato revelou ser novamente de proporcionalidade entre o tamanho do halo de inibição e as concentrações utilizadas no estudo (tabela 19).

A planta Mangabeira, *Lafoensia pacari*, apresentou maior halo de inibição, seguido pela Folha Santa, *Bryophyllum pinnatum*; da entrecasca e do Jenipapo, *Genipa americana*. As demais plantas foram ineficientes para inibir o crescimento da bactéria *Streptococcus  $\beta$ -Hemolítico\**.

A Mangabeira, *Lafoencia pacari*, através dos extratos alcoólico 95°GL e 70 % nas concentrações de 1000mg/mL e 500mg/mL obteve maiores halos de inibição do crescimento de *Streptococcus  $\beta$ -Hemolítico\**. Posteriormente, formam grupos equivalentes as demais concentrações de *L. pacari* até 10mg/mL e as concentrações de 1000mg/mL a 250mg/mL de Folha Santa, *B. pinnatum*, para álcool 95°GL e 70%, seguido por outro grupo formado por extrato alcoólico 95°GL e 70% de entrecasca de jenipapo, *Genipa americana*, nas concentrações de 1000mg/mL a 500mg/mL.

Os demais extratos das plantas, com seus respectivos solventes e concentrações apresentaram ser ineficientes.

**Tabela 19 – Comportamento das médias dos halos de inibição em relação à concentração dos extratos estudados, frente à bactéria *Streptococcus β-Hemolítico\****

| Planta | Concentração (mg/mL) |       |       |       |       |      |      |     | Média |
|--------|----------------------|-------|-------|-------|-------|------|------|-----|-------|
|        | 1000                 | 500   | 250   | 100   | 50    | 25   | 10   | 1   |       |
| 1      | 0                    | 0     | 0     | 0     | 0     | 0    | 0    | 0   | 0     |
|        | a A                  | a A   | a A   | a A   | a A   | a A  | a A  | a A | a     |
| 2      | 9,75                 | 9,63  | 8,27  | 6,55  | 0     | 0    | 0    | 0   | 4,27  |
|        | d D                  | d D   | c C   | c B   | a A   | a A  | a A  | a A | d     |
| 3      | 16,38                | 16,22 | 14,94 | 13,16 | 12,16 | 9,88 | 9,27 | 0   | 11,50 |
|        | e E                  | e E   | d E   | d C   | b C   | b B  | b B  | a A | e     |
| 4      | 0                    | 0     | 0     | 0     | 0     | 0    | 0    | 0   | 0     |
|        | a A                  | a A   | a A   | a A   | a A   | a A  | a A  | a A | a     |
| 5      | 0                    | 0     | 0     | 0     | 0     | 0    | 0    | 0   | 0     |
|        | a A                  | a A   | a A   | a A   | a A   | a A  | a A  | a A | a     |
| 6      | 0                    | 0     | 0     | 0     | 0     | 0    | 0    | 0   | 0     |
|        | a A                  | a A   | a A   | a A   | a A   | a A  | a A  | a A | a     |
| 7      | 3,02                 | 1,88  | 0     | 0     | 0     | 0    | 0    | 0   | 0,61  |
|        | b B                  | b B   | a A   | a A   | a A   | a A  | a A  | a A | b     |
| 8      | 7,02                 | 4,36  | 3,47  | 1,8   | 0     | 0    | 0    | 0   | 2,08  |
|        | c D                  | c C   | b C   | b B   | a A   | a A  | a A  | a A | c     |
| Total  | 4,52                 | 4,01  | 3,33  | 2,69  | 1,52  | 1,23 | 1,15 | 0   | 2,31  |
|        | F                    | E     | D     | C     | B     | B    | B    | A   |       |

Médias seguidas de uma mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não se diferem estatisticamente, a um nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. 1) Mesocarpo de *Orbignya ssp Mart. ex Endl.*; 2) Folha de *Bryophyllum pinnatum (Lam.) Oken*; 3) Folhas de *Lafoensia pacari St. Hil.*; 4) Epicarpo de *Attalea phalerata Mart.*; 5) Mesocarpo de *Attalea phalerata Mart.*; 6) Folhas de *Alternanthera cf. brasiliana (L.) Kuntze*; 7) Fruto do *Genipa americana L.*; 8) Casca e Entrecasca do *Genipa americana L.* DMS: 1,23922175211947; (ANOVA, Tukey; P<0,05; IC:95%).

**Tabela 20 - Análise de Variância das médias dos halos de inibição dos extratos das plantas frente a bactéria *Streptococcus β-Hemolítico* relacionado por solvente e concentração.**

| Planta    | Hexano  |         |         |         |         |         |         |         | Alcool 95°GL |             |             |             |             |            |             |         | Alcool 70%  |             |             |             |             |             |             |         | Média   |            |
|-----------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|--------------|-------------|-------------|-------------|-------------|------------|-------------|---------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|---------|---------|------------|
|           | 1000    | 500     | 250     | 100     | 50      | 25      | 10      | 1       | 1000         | 500         | 250         | 100         | 50          | 25         | 10          | 1       | 1000        | 500         | 250         | 100         | 50          | 25          | 10          | 1       |         |            |
| 1         | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA      | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA    | 0<br>aA     | 0<br>aA | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>a     |
| 2         | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 15,41<br>cB  | 13,58<br>cB | 12,83<br>bB | 9,83<br>bB  | 0<br>aA     | 0<br>aA    | 0<br>aA     | 0<br>aA | 13,83<br>dB | 15,33<br>dC | 12<br>bB    | 9,83<br>cB  | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA | 0<br>aA | 4,27<br>d  |
| 3         | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 25,16<br>dB  | 25<br>dB    | 23,5<br>cC  | 19,66<br>cB | 19,33<br>bC | 15 b<br>bB | 14,33<br>bB | 0<br>aA | 24<br>eB    | 23,66<br>eB | 21,33<br>cB | 19,83<br>dB | 17,16<br>bB | 14,66<br>bB | 13,50<br>bB | 0<br>aA | 0<br>aA | 11,5<br>0e |
| 4         | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA      | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA    | 0<br>aA     | 0<br>aA | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>a     |
| 5         | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA      | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA    | 0<br>aA     | 0<br>aA | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>a     |
| 6         | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA      | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA    | 0<br>aA     | 0<br>aA | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>A     |
| 7         | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA      | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA    | 0<br>aA     | 0<br>aA | 9,08<br>bB  | 5,66<br>bB  | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA | 0<br>aA | 0,61<br>b  |
| 8         | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 9,66<br>bB   | 2,75<br>bB  | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA    | 0<br>aA     | 0<br>aA | 11,41<br>cC | 10,33<br>cC | 10,41<br>bB | 5,41<br>bB  | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA | 0<br>aA | 2,08<br>c  |
| $\bar{X}$ | 0       | 0       | 0       | 0       | 0       | 0       | 0       | 0       | 6.28         | 5.17        | 4.54        | 3.69        | 2.42        | 1.88       | 1.79        | 0       | 7.29        | 6.87        | 5.47        | 4.38        | 2.15        | 1.83        | 1.69        | 0       | 2.31    |            |

Médias seguidas de uma mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não se diferem estatisticamente, a um nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. 1) Mesocarpo de *Orbignya ssp* Mart. ex Endl.; 2) Folha de *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken; 3) Folhas de *Lafloensia pacari* St. Hil.; 4) Epicarpo de *Attalea phalerata* Mart.; 5) Mesocarpo de *Attalea phalerata* Mart; 6) Folhas de *Alternanthera cf. brasiliiana* (L.) Kuntze; 7) Fruto do *Genipa americana* L.; 8) Casca e Entrecasca do *Genipa americana* L. DMS: 0,585877962711491; (ANOVA, Tukey; P<0,05; IC:95%).

### 6.2.5 *Streptococcus ssp\**

O comportamento do extrato das plantas na formação de halos de inibição a bactéria *Streptococcus ssp\** em relação aos solvente, concentração foi estatisticamente significativo, para os possíveis estudos de ANOVA, sendo necessários a discussão individualizada das relações entre as variáveis, quadro 5 e tabelas 21, 22 e 23.

| Fatores de Variância             | GL  | SQ      | QM      | Fc     | Pr>Fc  |
|----------------------------------|-----|---------|---------|--------|--------|
| Plantas                          | 7   | 2670,9  | 381,6*  | 712,9  | <0,001 |
| Solventes                        | 2   | 2451,6  | 1225,8* | 2290,3 | <0,001 |
| Concentrações                    | 7   | 4026,8  | 575,2*  | 1074,8 | <0,001 |
| Plantas x Solvente               | 14  | 2139,2  | 152,8*  | 285,5  | <0,001 |
| Planta x Concentração            | 49  | 1510,6  | 30,8*   | 57,6   | <0,001 |
| Concentração x Solvente          | 14  | 1828,3  | 130,6*  | 244,0  | <0,001 |
| Planta x Concentração x Solvente | 98  | 1668,2  | 17,02*  | 31,8   | <0,001 |
| Erro                             | 382 | 204,45  | 0,69    |        |        |
| Total Corrigido                  | 575 | 16506,3 |         |        |        |

**Quadro 5: Análise de Variância dos extratos das plantas frente a bactéria *Streptococcus ssp* comunidade, segundo o tipo de solvente utilizado para extração e concentração.** (ANOVA, Tukey,  $P < 0,05$ , IC:95%). Se \* significativo a 1%. GL: Grau de Liberdade, QM : Quadrado Médio, Fc: Fator de correção, Pr>Fc: Fcalculado menor que o valor crítico tabelado, não haverá diferença significativa entre os tratamentos. C.V.: 24,34%; Média Geral: 3,0056424; Número de observações: 576.

Analisando o comportamento dos solventes frente à bactéria *Streptococcus ssp\** revelou que os extratos hexânicos não apresentaram eficácia, enquanto o solvente alcoólico 70% apresentou formar halos de inibição de tamanhos superiores ao extratos alcoólico 95°GL, (tabela 21). As concentrações

---

\* Estirpe isolada clinicamente no Hospital Regional de Porto Nacional-TO pelo Laboratório de Microbiologia e Saúde Pública da UFT – Campus de Porto Nacional.

dos extratos apresentaram padrão de proporcionalidade em relação ao tamanho dos halos produzidos, tabela 22.

**Tabela 21 – Determinação do melhor solvente para a produção de extrato, utilizando análise estatística da média dos halos de inibição, frente à bactéria *Streptococcus ssp\**.**

| Plantas   | Solvente                       |                 |               | Média     |
|---|--------------------------------|-----------------|---------------|-----------|
|   | média dos halos de inibição mm |                 |               |           |
|   | Hexano                         | Álcool<br>95°GL | Álcool<br>70% |           |
| Mesocarpo de <i>Orbignya ssp</i> Mart. ex Endl.           | 0<br>a A                       | 2,08<br>b B     | 8,13<br>e C   | 3,40<br>e |
| Folha de <i>Bryophyllum pinnatum</i> (Lam.) Oken          | 0<br>a A                       | 7,34<br>d B     | 7,66<br>e B   | 5<br>f    |
| Folhas de <i>Lafoensia pacari</i> St. Hil.                | 0<br>a A                       | 11,40<br>e C    | 10,81<br>f B  | 7,40<br>g |
| Epicarpo de <i>Attalea phalerata</i> Mart.                | 0<br>a A                       | 1,98<br>b B     | 2<br>b B      | 1,32<br>b |
| Mesocarpo de <i>Attalea phalerata</i> Mart                | 0<br>a A                       | 3,75<br>c B     | 3,40<br>c B   | 2,38<br>d |
| Folhas de <i>Alternanthera cf. brasiliana</i> (L.) Kuntze | 0<br>a A                       | 0<br>a A        | 0<br>a A      | 0<br>a    |
| Fruto do <i>Genipa americana</i> L.                       | 1,93<br>b B                    | 0<br>a A        | 3,81<br>c C   | 1,91<br>c |
| Casca e Entrecasca do <i>Genipa americana</i> L.          | 0<br>a A                       | 2,04<br>b B     | 5,75<br>d C   | 2,59<br>d |
| Média   | 0,24<br>A                      | 3,58<br>B       | 5,19<br>C     | 3.00      |

Médias seguidas de uma mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não se diferem estatisticamente, a um nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.  $\bar{X}$  - Média dos Halos de Inibição nas concentrações de 1000mg/mL à 1 mg/mL. Diferença Média Significativa – DMS: 0,719628076952273; (ANOVA, Tukey; P<0,05; IC:95%).

**Tabela 22 – Comportamento das médias dos halos de inibição em relação à concentração dos extratos estudados, frente à bactéria *Streptococcus ssp\**.**

| Planta | Concentração (mg/mL) |              |               |               |             |             |             |             | Média     |
|--------|----------------------|--------------|---------------|---------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-----------|
|        | 1000                 | 500          | 250           | 100           | 50          | 25          | 10          | 1           |           |
| 1      | 8,27<br>d e D        | 7,86<br>d D  | 4,33<br>c d C | 3,66<br>b B C | 3,11<br>c B | 0<br>a A    | 0<br>a A    | 0<br>a A    | 3,40<br>e |
| 2      | 9,11<br>E D          | 8,89<br>d D  | 8,33<br>e C D | 7,52<br>c C   | 6,16<br>d B | 0<br>a A    | 0<br>a A    | 0<br>a A    | 5<br>f    |
| 3      | 14,63<br>F G         | 11,72<br>e F | 10,47<br>f E  | 9,08<br>d D   | 7,33<br>e C | 4,72<br>b B | 0,89<br>a A | 0,39<br>a A | 7,40<br>g |
| 4      | 6,13<br>B C          | 3,83<br>b B  | 0,66<br>a A   | 0<br>a A      | 0<br>a A    | 0<br>a A    | 0<br>a A    | 0<br>a A    | 1,32<br>b |
| 5      | 7,58<br>c d C        | 6,66<br>c C  | 4,83<br>d B   | 0<br>a A      | 0<br>a A    | 0<br>a A    | 0<br>a A    | 0<br>a A    | 2,38<br>d |
| 6      | 0<br>A A             | 0<br>a A     | 0<br>a A      | 0<br>a A      | 0<br>a A    | 0<br>a A    | 0<br>a A    | 0<br>a A    | 0<br>a    |
| 7      | 7<br>b c D           | 5,80<br>c C  | 2,52<br>b B   | 0<br>a A      | 0<br>a A    | 0<br>a A    | 0<br>a A    | 0<br>a A    | 1,91<br>c |
| 8      | 6,77<br>b c E        | 5,69<br>c D  | 3,75<br>c C   | 2,95<br>b C   | 1,61<br>b B | 0<br>a A    | 0<br>a A    | 0<br>a A    | 2,59<br>d |
| Total  | 7,44<br>G            | 6,30<br>F    | 4,36<br>E     | 2,90<br>D     | 2,27<br>C   | 0,59<br>B   | 0,11<br>A   | 0,05<br>A   | 3,00      |

Médias seguidas de uma mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não se diferem estatisticamente, a um nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. 1) Mesocarpo de *Orbignya ssp* Mart. ex Endl.; 2) Folha de *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken; 3) Folhas de *Lafoensia pacari* St. Hil.; 4) Epicarpo de *Attalea phalerata* Mart.; 5) Mesocarpo de *Attalea phalerata* Mart.; 6) Folhas de *Alternanthera cf. brasíliana* (L.) Kuntze; 7) Fruto do *Genipa americana* L.; 8) Casca e Entrecasca do *Genipa americana* L. DMS: 1,175147728742(ANOVA, Tukey; P<0,05; IC:95%).

A Mangabeira, *Lafoensia pacari*; assim como as observações de ANOVA para as outras bactérias anteriormente analisados, obtiveram-se halos de inibição superiores as outras plantas, seguido da Folha Santa, *Bryophyllum pinnatum*; do mesocarpo do Babaçu, *Orbignya ssp*; da entrecasca do Jenipapo, *Genipa americana* e mesocarpo do Bacuri, *Attalea phalerata*, formando um grupo estatisticamente idêntico.



A única planta que não conseguiu inibir o crescimento da bactéria *Streptococcus spp\** foi a *Alternanthera brasiliana*, (tabela 21).

A Mangabeira, *L. pacari*, para o extrato alcoólico 70% na concentração de 1000mg/mL obteve maior expressão de halos de inibição, e estatisticamente diferente do GO grupo formado pelas concentrações de *L. pacari* de 500mg/mL a 50mg/mL em álcool 70% e 1000mg/mL a 50mg/mL em álcool 95°GL (tabela 23).

Outro grupo, de menor eficiência do que os dois anteriores, são formado por mesocarpo de babaçu, *Orbignya ssp* em álcool 70% nas concentrações de 1000mg/mL e 500mg/mL e a Folha Santa, *B. pinnatum*, em álcool 70% nas concentrações de 1000mg/mL e 500mg/mL. Um quarto grupo é formado pelas plantas *B. pinnatum* extrato alcoólico 95°GL nas concentrações de 1000mg/mL a 50mg/mL e, extrato alcoólico 70% nas concentrações de 250mg/mL e 100mg/mL e *Orbignya ssp* nas concentrações de 250mg/mL e 100mg/mL em álcool 70%.

O mesocarpo do Bacuri, *Attalea phalerata*, extrato alcoólico 95°GL - 1000mg/mL forma um grupo isolado. O fruto e entrecasca do Jenipapo, *Genipa americana*, no extrato alcoólico 70% e 95°GL concentração de 1000mg/mL e o mesocarpo de *A. phalerata* 500 mg/mL em álcool 70% e de 1000 a 500 mg/mL em álcool 95°GL formam outro grupo ativo também, mas com médias de expressão dos halos de inibição inferior as anteriormente citadas.

As demais concentrações não relacionadas anteriormente e as plantas não citadas nesta discussão não foram ativas (tabela 23).

**Tabela 23 – Análise de Variância (ANOVA) das médias dos halos de inibição dos extratos das plantas frente à bactéria *Streptococcus ssp*, relacionado por solvente e concentração.**

| Planta | Hexano   |            |          |          |          |          |          |          | Alcool 95°GL |              |              |              |              |             |             |             | Alcool 70%     |              |              |              |               |             |          |          | Média  |
|--------|----------|------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|-------------|-------------|-------------|----------------|--------------|--------------|--------------|---------------|-------------|----------|----------|--------|
|        | 1000     | 500        | 250      | 100      | 50       | 25       | 10       | 1        | 1000         | 500          | 250          | 100          | 50           | 25          | 10          | 1           | 1000           | 500          | 250          | 100          | 50            | 25          | 10       | 1        |        |
| 1      | 0<br>a A | 0<br>a A   | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 8,5<br>b B   | 8,17<br>b B  | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>A A     | 0<br>a A    | 0<br>a A    | 0<br>a A    | 16,33<br>e C   | 15,42<br>d C | 13<br>d B    | 11<br>c B    | 9,33<br>c d B | 0<br>a A    | 0<br>a A | 0<br>a A | 3,40 e |
| 2      | 0<br>a A | 0<br>a A   | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 12<br>c B    | 12,17<br>d B | 12<br>c B    | 11,75<br>b B | 10,83<br>b B | 0<br>a A    | 0<br>a A    | 0<br>a A    | 15,33<br>e C   | 14,5<br>d C  | 13<br>d B    | 10,83<br>c B | 7,67<br>c B   | 0<br>a A    | 0<br>a A | 0<br>a A | 5 f    |
| 3      | 0<br>a A | 0<br>a A   | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 20<br>d B    | 16,92<br>e B | 15,42<br>d B | 13,41<br>b B | 11,83<br>b C | 9,83<br>b C | 2,67<br>b B | 1,16<br>a A | 23,92<br>f C   | 18,25<br>e B | 16<br>e B    | 13,83<br>d B | 10,17<br>d B  | 4,33<br>b B | 0<br>a A | 0<br>a A | 7,40 g |
| 4      | 0<br>a A | 0<br>a A   | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 9,25<br>b B  | 6,66<br>b C  | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A    | 0<br>a A    | 0<br>a A    | 9,16<br>b B    | 4,83<br>b B  | 2<br>b B     | 0<br>a A     | 0<br>a A      | 0<br>a A    | 0<br>a A | 0<br>a A | 1,32 b |
| 5      | 0<br>a A | 0<br>a A   | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 12,66<br>c C | 10<br>c B    | 7,33<br>b B  | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A    | 0<br>a A    | 0<br>a A    | 10,08<br>b c B | 10<br>c B    | 7,17<br>c B  | 0<br>a A     | 0<br>a A      | 0<br>a A    | 0<br>a A | 0<br>a A | 2,38 d |
| 6      | 0<br>a A | 0<br>a A   | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A    | 0<br>a A    | 0<br>a A    | 0<br>a A       | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A      | 0<br>a A    | 0<br>a A | 0<br>a A | 0 a    |
| 7      | 8<br>b B | 7,5<br>b B | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A    | 0<br>a A    | 0<br>a A    | 13<br>d C      | 9,92<br>c C  | 7,58<br>c B  | 0<br>a A     | 0<br>a A      | 0<br>a A    | 0<br>a A | 0<br>a A | 1,91 c |
| 8      | 0<br>a A | 0<br>a A   | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 8,66<br>b B  | 7,66<br>b B  | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A    | 0<br>a A    | 0<br>a A    | 11,66<br>c d C | 9,41<br>c C  | 11,25<br>d B | 8,83<br>b B  | 4,83<br>b B   | 0<br>a A    | 0<br>a A | 0<br>a A | 2,59 d |
| Média  | 1,00     | 0,94       | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 8,88         | 7,70         | 4,34         | 3,15         | 2,83         | 1,23        | 0,33        | 0,15        | 12,44          | 10,29        | 8,75         | 5,56         | 4             | 0,54        | 0        | 0        | 3,00   |

Médias seguidas de uma mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não se diferem estatisticamente, a um nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. 1) Mesocarpo de *Orbignya ssp* Mart. ex Endl.; 2) Folha de *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken; 3) Folhas de *Lafoensia pacari* St. Hil.; 4) Epicarpo de *Attalea phalerata* Mart.; 5) Mesocarpo de *Attalea phalerata* Mart; 6) Folhas de *Alternanthera cf. brasiliana* (L.) Kuntze; 7) Fruto do *Genipa americana* L.; 8) Casca e Entrecasca do *Genipa americana* L. DMS:1,17514772874225; (ANOVA, Tukey; P<0,05; IC:95%).

### 6.2.6 *Escherichia coli* B4

Para a bactéria *E. coli* B4 os extratos das plantas com suas variáveis solventes e concentrações, obtiveram um padrão significativo de variância para a media do tamanho do halo de inibição de crescimento (ANOVA, Tukey,  $P < 0,05$ , IC:95%), conforme quadro 6, determinando que sua discussão fosse realizada independentemente as suas relações.

Para tanto, foram construídas as tabelas 24, 25 e 26, que determinam as classificações dos extratos segundo as variáveis: 1) solvente, 2) concentração e 3) solvente x concentração, respectivamente; e as suas relações.

| Fatores de Variância             | GL  | SQ      | QM      | Fc     | Pr>Fc  |
|----------------------------------|-----|---------|---------|--------|--------|
| Plantas                          | 7   | 9530,8  | 1361,5* | 3335,6 | <0,001 |
| Solventes                        | 2   | 2105,6  | 1052,8* | 2579,2 | <0,001 |
| Concentrações                    | 7   | 2024,5  | 289,2*  | 708,5  | <0,001 |
| Plantas x Solvente               | 14  | 5930    | 423,6*  | 1037,7 | <0,001 |
| Planta x Concentração            | 49  | 1491,2  | 30,4*   | 74,5   | <0,001 |
| Concentração x Solvente          | 14  | 1134,0  | 81,0*   | 198,4  | <0,001 |
| Planta x Concentração x Solvente | 98  | 2038    | 20,79*  | 50,9   | <0,001 |
| Erro                             | 382 | 155,9   | 0,41    |        |        |
| Total Corrigido                  | 575 | 24410,8 |         |        |        |

**Quadro 6: Análise de Variância dos extratos das plantas frente a bactéria *Escherichia coli* B4, segundo o tipo de solvente utilizado para extração e concentração.** (ANOVA, Tukey,  $P < 0,05$ , IC:95%). Se \* significativo a 5%. GL: Grau de Liberdade, QM : Quadrado Médio, Fc: Fator de correção, Pr>Fc: Fcalculado menor que o valor crítico tabelado, não haverá diferença significativa entre os tratamentos. C.V.: 23,79%; Média Geral: 2,6853299; Número de observações: 576.

O comportamento dos solventes referente à bactéria *Escherichia coli* B4 para os extratos hexânicos não apresentaram eficácia. Enquanto, os solventes alcoólicos foram diferentes entre si, tendo como solvente de maior expressão do halo de inibição o alcoólico a 70% (tabela 24).

**Tabela 24 – Determinação do melhor solvente para produção de extrato, utilizando análise estatística da média dos halos de inibição, frente à bactéria *Escherichia coli* B4.**

| Plantas   | Solvente                       |                  |               | Média      |
|---|--------------------------------|------------------|---------------|------------|
|   | média dos halos de inibição mm |                  |               |            |
|   | Hexano                         | Álcool<br>95 °GL | Álcool<br>70% |            |
| Mesocarpo de <i>Orbignya</i><br><i>ssp Mart. ex Endl.</i>               | 0<br>a A                       | 0<br>a A         | 0<br>a A      | 0<br>a     |
| Folha de <i>Bryophyllum</i><br><i>pinnatum</i> (Lam.) Oken              | 0<br>a A                       | 1,40<br>b B      | 9,08<br>c C   | 3,49<br>e  |
| Folhas de <i>Lafoensia</i><br><i>pacari</i> St. Hil.                    | 0<br>a A                       | 22,17<br>e C     | 17,02<br>d B  | 13,06<br>f |
| Epicarpo de <i>Attalea</i><br><i>phalerata</i> Mart.                    | 0<br>a A                       | 2,24<br>c B      | 0<br>a A      | 0,75<br>b  |
| Mesocarpo de <i>Attalea</i><br><i>phalerata</i> Mart                    | 0<br>a A                       | 3,08<br>d B      | 3,09<br>b B   | 2,06<br>d  |
| Folhas de <i>Alternanthera</i><br><i>cf. brasiliiana</i> (L.)<br>Kuntze | 0<br>a A                       | 0<br>a A         | 0<br>a A      | 0<br>a     |
| Fruto do <i>Genipa</i><br><i>americana</i> L.                           | 0<br>a A                       | 0<br>a A         | 2,56<br>b B   | 0,85<br>b  |
| Casca e Entrecasca do<br><i>Genipa americana</i> L.                     | 0<br>a A                       | 1,12<br>b B      | 2,65<br>b C   | 1,26<br>c  |
| Média   | 0<br>A                         | 3,75<br>B        | 4,3<br>C      | 2,68       |

Médias seguidas de uma mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não se diferem estatisticamente, a um nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.  $\bar{X}$  - Média dos Halos de Inibição nas concentrações de 1000mg/mL à 1 mg/mL. Diferença Média Significativa – DMS: 0,434070084842671; (ANOVA, Tukey; P<0,05; IC:95%).

A concentração de cada extrato demonstrou ser novamente proporcional entre o tamanho do halo de inibição e as concentrações utilizadas no estudo (tabela 25).

A planta Mangabeira, *Lafoensia pacari*, apresenta superioridade de expressão da formação de halo de inibição em relação às outras plantas, seguido da Folha Santa, *Bryophyllum pinnatum*; do mesocarpo do Bacuri, *Attalea phalerata*; da entrecasca do Jenipapo, *Genipa americana*; do epicarpo do Bacuri e fruto do Jenipapo. Enquanto, as demais plantas foram ineficientes para inibir o crescimento da bactéria *Escherichia coli* B4 (tabela 25).

**Tabela 25 – Comportamento das médias dos halos de inibição em relação à concentração dos extratos estudados, frente à bactéria *Escherichia coli* B4.**

| Planta | Concentração (mg/mL) |       |       |       |       |       |       |      | Média |
|--------|----------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------|-------|
|        | 1000                 | 500   | 250   | 100   | 50    | 25    | 10    | 1    |       |
| 1      | 0                    | 0     | 0     | 0     | 0     | 0     | 0     | 0    | 0     |
|        | a A                  | a A   | a A   | a A   | a A   | A A   | a A   | a A  | a     |
| 2      | 10,39                | 7,31  | 5,83  | 4,44  | 0     | 0     | 0     | 0    | 3,49  |
|        | e E                  | d D   | b C   | b B   | a A   | A A   | a A   | a A  | e     |
| 3      | 18,11                | 16,25 | 15,14 | 13,44 | 12,56 | 11,58 | 10,58 | 6,86 | 13,06 |
|        | f G                  | e F   | c E   | c D   | b D   | B C   | b B   | b A  | f     |
| 4      | 4,47                 | 1,05  | 0,44  | 0     | 0     | 0     | 0     | 0    | 0,75  |
|        | b C                  | b B   | a A B | a A   | a A   | A A   | a A   | a A  | b     |
| 5      | 9,36                 | 7,11  | 0     | 0     | 0     | 0     | 0     | 0    | 2,06  |
|        | d C                  | d B   | a A   | a A   | a A   | A A   | a A   | a A  | d     |
| 6      | 0                    | 0     | 0     | 0     | 0     | 0     | 0     | 0    | 0     |
|        | a A                  | a A   | a A   | a A   | a A   | A A   | a A   | a A  | a     |
| 7      | 3,86                 | 2,97  | 0     | 0     | 0     | 0     | 0     | 0    | 0,85  |
|        | b B                  | c B   | a A   | a A   | a A   | A A   | a A   | a A  | b     |
| 8      | 7,17                 | 2,92  | 0     | 0     | 0     | 0     | 0     | 0    | 1,26  |
|        | c C                  | c B   | a A   | a A   | a A   | A A   | a A   | a A  | c     |
| Média  | 6,67                 | 4,70  | 2,68  | 2,24  | 1,57  | 1,45  | 1,32  | 0,86 | 2,68  |
|        | F                    | E     | D     | C     | B     | B     | B     | A    |       |

Médias seguidas de uma mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não se diferem estatisticamente, a um nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. 1) Mesocarpo de *Orbignya ssp* Mart. ex Endl.; 2) Folha de *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken; 3) Folhas de *Lafoensia pacari* St. Hil.; 4) Epicarpo de *Attalea phalerata* Mart.; 5) Mesocarpo de *Attalea phalerata* Mart.; 6) Folhas de *Alternanthera cf. brasiliiana* (L.) Kuntze; 7) Fruto do *Genipa americana* L.; 8) Casca e Entrecasca do *Genipa americana* L. DMS:0,918124806387823; (ANOVA, Tukey; P<0,05; IC:95%).

Em relação à ANOVA, a Mangabeira, *Lafoensia pacari*, apresenta ser a planta com maior expressão de halos, em concentração de 1000mg/mL e o solvente extrator álcool 95°GL. Os extratos da Mangabeira em álcool 95°GL em concentrações de 500mg/mL a 10mg/mL e em álcool 70% de 1000mg/mL a 10mg/mL, formaram um grupo de expressões idênticas pela análise estatística, bem como a planta Folha Santa, *Bryophyllum pinnatum*, na concentração de 1000mg/mL e 500mg/mL em álcool 70% (tabela 26).

Um grupo de expressão menor, mas eficiente ainda, foi formado por: Folha Santa a 250mg/mL e 10mg/mL em álcool 70%; epicarpo de Bacuri, *Attalea phalerata*, a 1000mg/mL em álcool 95°GL; mesocarpo de Bacuri em concentrações de 1000mg/mL e 500mg/mL em solvente alcoólico 70% como 95°GL também, pelo Fruto de Jenipapo, *Genipa americana*, em concentração de 1000mg/mL do extrato alcoólico 70% e de sua entrecasca no extrato alcoólico 70% em concentração de 1000mg/mL. As demais concentrações e as outras plantas não citadas não foram eficientes.

**Tabela 26 - Análise de Variância (ANOVA) das médias dos halos de inibição dos extratos das plantas frente à bactéria *Escherichia coli* B4, relacionado por solvente e concentração.**

| Planta | Hexano |     |     |     |     |     |     |     | Álcool 95°GL |       |       |       |       |       |       |      | Álcool 70% |       |       |       |       |       |       |       | Média |
|--------|--------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------|------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
|        | 1000   | 500 | 250 | 100 | 50  | 25  | 10  | 1   | 1000         | 500   | 250   | 100   | 50    | 25    | 10    | 1    | 1000       | 500   | 250   | 100   | 50    | 25    | 10    | 1     |       |
| 1      | 0      | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0            | 0     | 0     | 0     | 0     | 0     | 0     | 0    | 0          | 0     | 0     | 0     | 0     | 0     | 0     | 0     | 0     |
|        | a A    | a A | a A | a A | a A | a A | a A | a A | a A          | a A   | a A   | a A   | a A   | a A   | a A   | a A  | a A        | a A   | a A   | a A   | a A   | a A   | a A   | a A   | 0 a   |
| 2      | 0      | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 8,50         | 2,75  | 0     | 0     | 0     | 0     | 0     | 0    | 22,67      | 19,16 | 17,5  | 13,33 | 0     | 0     | 0     | 0     | 3,49  |
|        | a A    | a A | a A | a A | a A | a A | a A | a A | b B          | b B   | a A   | a A   | a A   | a A   | a A   | a A  | d C        | d C   | b B   | b B   | a A   | a A   | a A   | a A   | e     |
| 3      | 0      | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 30,67        | 28,08 | 26,8  | 23,6  | 21,92 | 19,67 | 17,17 | 9,41 | 23,67      | 20,67 | 18,58 | 16,67 | 15,75 | 15,08 | 14,58 | 11,17 | 13,06 |
|        | a A    | a A | a A | a A | a A | a A | a A | a A | d C          | d C   | 3 b C | 7 b C | b C   | b C   | b C   | b B  | d B        | d B   | b B   | c B   | b B   | b B   | b B   | b C   | f     |
| 4      | 0      | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 13,42        | 3,17  | 1,33  | 0     | 0     | 0     | 0     | 0    | 0          | 0     | 0     | 0     | 0     | 0     | 0     | 0     | 0,75  |
|        | a A    | a A | a A | a A | a A | a A | a A | a A | c B          | b B   | a B   | a A   | a A   | a A   | a A   | a A  | a A        | a A   | a A   | a A   | a A   | a A   | a A   | a A   | b     |
| 5      | 0      | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 14           | 10,67 | 0     | 0     | 0     | 0     | 0     | 0    | 14,08      | 10,67 | 0     | 0     | 0     | 0     | 0     | 0     | 2,06  |
|        | a A    | a A | a A | a A | a A | a A | a A | a A | c B          | c B   | a A   | a A   | a A   | a A   | a A   | a A  | c B        | c B   | a A   | a A   | a A   | a A   | a A   | a A   | d     |
| 6      | 0      | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0            | 0     | 0     | 0     | 0     | 0     | 0     | 0    | 0          | 0     | 0     | 0     | 0     | 0     | 0     | 0     | 0     |
|        | a A    | a A | a A | a A | a A | a A | a A | a A | a A          | a A   | a A   | a A   | a A   | a A   | a A   | a A  | a A        | a A   | a A   | a A   | a A   | a A   | a A   | a A   | a     |
| 7      | 0      | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0            | 0     | 0     | 0     | 0     | 0     | 0     | 0    | 11,58      | 8,92  | 0     | 0     | 0     | 0     | 0     | 0     | 0,85  |
|        | a A    | a A | a A | a A | a A | a A | a A | a A | a A          | a A   | a A   | a A   | a A   | a A   | a A   | a A  | b B        | b B   | a A   | a A   | a A   | a A   | a A   | a A   | b     |
| 8      | 0      | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 9            | 0     | 0     | 0     | 0     | 0     | 0     | 0    | 12,50      | 8,75  | 0     | 0     | 0     | 0     | 0     | 0     | 1,26  |
|        | a A    | a A | a A | a A | a A | a A | a A | a A | b B          | a A   | a A   | a A   | a A   | a A   | a A   | a A  | b c C      | b B   | a A   | a A   | a A   | a A   | a A   | a A   | c     |
| Média  | 0      | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 9.45         | 5.58  | 3.52  | 2.96  | 2.74  | 2.46  | 2.15  | 1.18 | 10.56      | 8.52  | 4.51  | 3.75  | 1.97  | 1.89  | 1.82  | 1.40  | 2.68  |

Médias seguidas de uma mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não se diferem estatisticamente, a um nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. 1) Mesocarpo de *Orbignya ssp* Mart. ex Endl.; 2) Folha de *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken; 3) Folhas de *Lafloensia pacari* St. Hil.; 4) Epicarpo de *Attalea phalerata* Mart.; 5) Mesocarpo de *Attalea phalerata* Mart; 6) Folhas de *Alternanthera cf. brasiliiana* (L.) Kuntze; 7) Fruto do *Genipa americana* L.; 8) Casca e Entrecasca do *Genipa americana* L. DMS: 1,59023881235305; (ANOVA, Tukey; P<0,05; IC:95%).

### 6.2.7 *Pseudomonas aeruginosa*\*

Para a bactéria *Pseudomonas aeruginosa*\* os extratos das plantas com suas variáveis solventes e concentrações, obtiveram um padrão significativo de variância para a media do tamanho do halo de inibição de crescimento (ANOVA, Tukey,  $P < 0,05$ , IC:95%), conforme quadro 7, determinando que sua discussão fosse realizada independentemente as suas relações.

Para tanto, foram construídas as tabelas 27, 28 e 29, que determinam as classificações dos extratos segundo as variáveis: 1) solvente, 2) concentração e 3) solvente x concentração, respectivamente; e as suas relações.

| Fatores de Variância             | GL  | SQ      | QM     | Fc     | Pr>Fc  |
|----------------------------------|-----|---------|--------|--------|--------|
| Plantas                          | 7   | 4097,7  | 585,4* | 1738,4 | <0,001 |
| Solventes                        | 2   | 1201,4  | 600,7* | 1783,9 | <0,001 |
| Concentrações                    | 7   | 1811,8  | 258,8* | 768,7  | <0,001 |
| Plantas x Solvente               | 14  | 2370,5  | 169,3* | 502,8  | <0,001 |
| Planta x Concentração            | 49  | 1973,6  | 40,3*  | 119,6  | <0,001 |
| Concentração x Solvente          | 14  | 887,1   | 63,4*  | 188,2  | <0,001 |
| Planta x Concentração x Solvente | 98  | 1712,3  | 17,5*  | 51,9   | <0,001 |
| Erro                             | 382 | 128,6   | 0,34   |        |        |
| Total Corrigido                  | 575 | 14184,4 |        |        |        |

**Quadro 7: Análise de Variância dos extratos das plantas frente a bactéria *Pseudomonas aeruginosa*\*, segundo o tipo de solvente utilizado para extração e concentração.** (ANOVA, Tukey,  $P < 0,05$ , IC:95%). Se \* significativo a 5%. GL: Grau de Liberdade, QM : Quadrado Médio, Fc: Fator de correção, Pr>Fc: Fcalculado menor que o valor critico tabelado, não haverá diferença significativa entre os tratamentos. C.V.: 28,23%; Média Geral: 2,0552951; Número de observações: 576.

Observando os solventes, o comportamento dos extratos frente a bactéria *Pseudomonas aeruginosa*\*, apresentou ineficaz quando o liquido extrator foi o hexano. Entretanto, os solventes alcoólicos foram eficazes, sendo o alcoólico a 95°GL de maior expressão do halo de inibição (tabela 27).



O comportamento da concentração dos extratos demonstrou ser proporcional a formação do tamanho halo de inibição (tabela 28).

**Tabela 27 – Determinação do melhor solvente para produção de extrato, utilizando análise estatística da média dos halos de inibição, frente à bactéria *Pseudomonas aeruginosa*\*.**

| Plantas   | Solvente                       |                 |               | Média     |
|---|--------------------------------|-----------------|---------------|-----------|
|   | média dos halos de inibição mm |                 |               |           |
|   | Hexano                         | Álcool<br>95°GL | Álcool<br>70% |           |
| Mesocarpo de <i>Orbignya</i><br><i>ssp</i> Mart. ex Endl.             | 0,65<br>b B                    | 0<br>a A        | 0<br>a A      | 0,22<br>a |
| Folha de <i>Bryophyllum</i><br><i>pinnatum</i> (Lam.) Oken            | 0<br>a A                       | 6,84<br>e C     | 6,06<br>c B   | 4,30<br>d |
| Folhas de <i>Lafoensia</i><br><i>pacari</i> St. Hil.                  | 0<br>a A                       | 12,76<br>f C    | 11,72<br>d B  | 8,16<br>e |
| Epicarpo de <i>Attalea</i><br><i>phalerata</i> Mart.                  | 0<br>a A                       | 1,54<br>b B     | 0<br>a A      | 0,51<br>b |
| Mesocarpo de <i>Attalea</i><br><i>phalerata</i> Mart                  | 0<br>a A                       | 4,54<br>d B     | 0<br>a A      | 1,51<br>c |
| Folhas de <i>Alternanthera</i><br>cf. <i>brasiliensis</i> (L.) Kuntze | 0<br>a A                       | 0<br>a A        | 0<br>a A      | 0<br>a    |
| Fruto do <i>Genipa</i><br><i>americana</i> L.                         | 0<br>a A                       | 0<br>a A        | 0<br>a A      | 0<br>a    |
| Casca e Entrecasca do<br><i>Genipa americana</i> L.                   | 0<br>a A                       | 2,28<br>c B     | 2,92<br>b C   | 1,74<br>c |
| Média   | 0,08<br>A                      | 3,49<br>C       | 2,59<br>B     | 2,06      |

Médias seguidas de uma mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não se diferem estatisticamente, a um nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.  $\bar{X}$  - Média dos Halos de Inibição nas concentrações de 1000mg/mL à 1 mg/mL. Diferença Média Significativa – DMS:0,510650211265124; (ANOVA, Tukey; P<0,05; IC:95%).

Considerando ANOVA, usando teste de Tukey, para P<0,05 e IC: 95%, agrupando os resultados das médias estatisticamente semelhantes em relação a

um coeficiente de variância, revela-se uma superioridade de eficácia da planta Mangabeira, *Lafoensia pacari*; seguido da Folha Santa, *Bryophyllum pinnatum*; entrecasca do Jenipapo, *Genipa americana*; mesocarpo e epicarpo do Bacuri, *Attalea phalerata*. As demais plantas foram ineficientes para inibir o crescimento da bactéria *Pseudomonas aeruginosa*\* (tabela 28).

**Tabela 28 – Comportamento das médias dos halos de inibição em relação a concentração dos extratos estudados, frente à bactéria *Pseudomonas aeruginosa*\***

| Planta | Concentração (mg/mL) |       |       |      |      |      |      |      | Média |
|--------|----------------------|-------|-------|------|------|------|------|------|-------|
|        | 1000                 | 500   | 250   | 100  | 50   | 25   | 10   | 1    |       |
| 1      | 1,73                 | 0     | 0     | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 0,22  |
|        | b B                  | a A   | a A   | a A  | a A  | a A  | a A  | a A  | a     |
| 2      | 9,56                 | 8,81  | 8,11  | 7,94 | 0    | 0    | 0    | 0    | 4,30  |
|        | e D                  | d C D | c B C | b B  | a A  | a A  | a A  | a A  | d     |
| 3      | 16,78                | 12,44 | 10,22 | 7,75 | 4,5  | 4,97 | 5,31 | 3,31 | 8,16  |
|        | f F                  | e E   | d D   | b C  | b B  | b B  | b B  | b A  | e     |
| 4      | 4,11                 | 0     | 0     | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 0,51  |
|        | c B                  | a A   | a A   | a A  | a A  | a A  | a A  | a A  | b     |
| 5      | 4,67                 | 4     | 2,67  | 0,78 | 0    | 0    | 0    | 0    | 1,51  |
|        | c C                  | b C   | b B   | a A  | a A  | a A  | a A  | a A  | c     |
| 6      | 0                    | 0     | 0     | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 0     |
|        | a A                  | a A   | a A   | a A  | a A  | a A  | a A  | a A  | a     |
| 7      | 0                    | 0     | 0     | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 0     |
|        | a A                  | a A   | a A   | a A  | a A  | a A  | a A  | a A  | a     |
| 8      | 7,86                 | 6,03  | 0     | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 1,74  |
|        | d C                  | c B   | a A   | a A  | a A  | a A  | a A  | a A  | c     |
| Média  | 5,59                 | 3,91  | 2,62  | 2,06 | 0,56 | 0,62 | 0,66 | 0,41 | 2,06  |
|        | E                    | D     | C     | B    | A    | A    | A    | A    |       |

Médias seguidas de uma mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não se diferem estatisticamente, a um nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. 1) Mesocarpo de *Orbignya ssp* Mart. ex Endl.; 2) Folha de *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken; 3) Folhas de *Lafoensia pacari* St. Hil.; 4) Epicarpo de *Attalea phalerata* Mart.; 5) Mesocarpo de *Attalea phalerata* Mart.; 6) Folhas de *Alternanthera cf. brasiliiana* (L.) Kuntze; 7) Fruto do *Genipa americana* L.; 8) Casca e Entrecasca do *Genipa americana* L. DMS: 0,83388830309599; (ANOVA, Tukey; P<0,05; IC:95%).

A *L. pacari*, demonstrou ser para esta bactéria o extrato de maior expressão de halo de inibição, para uma concentração de 1000mg/mL do extrato que teve como solvente extrator o álcool 95°GL, sendo considerando um grupo isolado.

Foi considerado outro grupo formado pelo mesocarpo de *A. phalerata* quando utilizando o mesmo solvente a uma concentração de 1000mg/mL, seguido do seu epicarpo nesta mesma condição. Outro grupo de médias significativamente idênticas é formado pela concentração de 1000mg/mL em álcool 95°GL de *B. pinnatum* e *G. americana* (tabela 29).

Outros grupos de médias estatisticamente idênticas são formados por *L. pacari* de 500mg/mL a 100mg/mL e 1000mg/mL a 100mg/mL dos extratos alcoólicos a 95°GL e 70 % respectivamente. Seguido pelo *B. pinnatum* nas concentrações de 250mg/mL e 100mg/mL onde o líquido extrator foi álcool 95°GL e de 1000mg/mL a 100mg/mL em álcool 70%.

O mesocarpo de *A. phalerata* de 1000mg/mL e 500mg/mL em álcool 95% apresentam menor expressão das médias dos halos de inibição em relação aos grupos anteriores, mas ainda ativos.

Por fim, formam-se grupos distintos e de menor expressão os extratos alcoólicos 70% e 95°GL em concentração de 1000mg/mL da entrecasca de *G. americana*. Os demais resultados dos extratos das plantas, seus respectivos solventes e concentrações são considerados ineficazes.

**Tabela 29 – Análise de Variância (ANOVA) das médias dos halos de inibição dos extratos das plantas frente à bactéria *Pseudomonas aeruginosa*\*, relacionado por solvente e concentração.**

| Planta | Hexano     |         |         |         |         |         |         |         | Álcool 95°GL |             |             |             |            |            |            |            | Álcool 70%  |            |             |             |            |           |            |            | Média     |           |
|--------|------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|--------------|-------------|-------------|-------------|------------|------------|------------|------------|-------------|------------|-------------|-------------|------------|-----------|------------|------------|-----------|-----------|
|        | 1000       | 500     | 250     | 100     | 50      | 25      | 10      | 1       | 1000         | 500         | 250         | 100         | 50         | 25         | 10         | 1          | 1000        | 500        | 250         | 100         | 50         | 25        | 10         | 1          |           |           |
| 1      | 5,20<br>bB | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA      | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA    | 0<br>aA    | 0<br>aA    | 0<br>aA    | 0<br>aA     | 0<br>aA    | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA    | 0<br>aA   | 0<br>aA    | 0<br>aA    | 0<br>aA   | 0,22<br>a |
| 2      | 0<br>aA    | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 15<br>dC     | 12,92<br>cB | 13,33<br>cC | 13,5<br>cC  | 0<br>aA    | 0<br>aA    | 0<br>aA    | 0<br>aA    | 13,67<br>bB | 13,5<br>cB | 11<br>bB    | 10,33<br>bB | 0<br>aA    | 0<br>aA   | 0<br>aA    | 0<br>aA    | 0<br>aA   | 4,30<br>d |
| 3      | 0<br>aA    | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 25,83<br>eC  | 20,33<br>dC | 18<br>dC    | 12,75<br>cC | 6,83<br>bB | 6,42<br>bB | 7,08<br>bB | 4,83<br>bB | 24,5<br>cB  | 17<br>dB   | 12,67<br>cB | 10,5<br>bB  | 6,67<br>bB | 8,5<br>bC | 8,83<br>bC | 5,08<br>bB | 8,16<br>e |           |
| 4      | 0<br>aA    | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 12,33<br>cB  | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA    | 0<br>aA    | 0<br>aA    | 0<br>aA    | 0<br>aA     | 0<br>aA    | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA    | 0<br>aA   | 0<br>aA    | 0<br>aA    | 0<br>aA   | 0,51<br>b |
| 5      | 0<br>aA    | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 14<br>dB     | 12<br>cB    | 8<br>bB     | 2,33<br>bB  | 0<br>aA    | 0<br>aA    | 0<br>aA    | 0<br>aA    | 0<br>aA     | 0<br>aA    | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA    | 0<br>aA   | 0<br>aA    | 0<br>aA    | 0<br>aA   | 1,51<br>c |
| 6      | 0<br>aA    | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA      | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA    | 0<br>aA    | 0<br>aA    | 0<br>aA    | 0<br>aA     | 0<br>aA    | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA    | 0<br>aA   | 0<br>aA    | 0<br>aA    | 0<br>aA   | 0<br>a    |
| 7      | 0<br>aA    | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA      | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA    | 0<br>aA    | 0<br>aA    | 0<br>aA    | 0<br>aA     | 0<br>aA    | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA    | 0<br>aA   | 0<br>aA    | 0<br>aA    | 0<br>aA   | 0<br>a    |
| 8      | 0<br>aA    | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 0<br>aA | 10<br>bB     | 8,25<br>bB  | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA    | 0<br>aA    | 0<br>aA    | 0<br>aA    | 13,58<br>bC | 9,83<br>bC | 0<br>aA     | 0<br>aA     | 0<br>aA    | 0<br>aA   | 0<br>aA    | 0<br>aA    | 0<br>aA   | 1,74<br>c |
| Média  | 0,65       | 0       | 0       | 0       | 0       | 0       | 0       | 0       | 9,65         | 6,69        | 4,92        | 3,57        | 0,85       | 0,80       | 0,89       | 0,60       | 6,47        | 5,04       | 2,96        | 2,60        | 0,83       | 1,06      | 1,10       | 0,64       | 2,06      |           |

Médias seguidas de uma mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não se diferem estatisticamente, a um nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. 1) Mesocarpo de *Orbignya ssp* Mart. ex Endl.; 2) Folha de *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken; 3) Folhas de *Lafoensia pacari* St. Hil.; 4) Epicarpo de *Attalea phalerata* Mart.; 5) Mesocarpo de *Attalea phalerata* Mart; 6) Folhas de *Alternanthera cf. brasiliana* (L.) Kuntze; 7) Fruto do *Genipa americana* L.; 8) Casca e Entrecasca do *Genipa americana* L. DMS: 1,44433690879965; (ANOVA, Tukey; P<0,05; IC:95%).

### 6.2.8 *Klebsiella ssp\**

O comportamento do extrato das plantas para a bactéria *Klebsiella ssp\** apresentou também padrão significativo de Variância (quadro 8)., portanto, foram discutidos independentemente as suas relações.

Para tanto, foram construídas as tabelas 30, 31 e 32, que determinam as classificações dos extratos segundo as variáveis: 1) solvente, 2) concentração e 3) solvente x concentração, respectivamente.

| Fatores de Variância             | GL  | SQ      | QM     | Fc    | Pr>Fc  |
|----------------------------------|-----|---------|--------|-------|--------|
| Plantas                          | 7   | 4353,8  | 622*   | 499,5 | <0,001 |
| Solventes                        | 2   | 1422,2  | 711,1* | 571   | <0,001 |
| Concentrações                    | 7   | 1591,2  | 227,3* | 182,5 | <0,001 |
| Plantas x Solvente               | 14  | 3599,8  | 257,1* | 206,5 | <0,001 |
| Planta x Concentração            | 49  | 1664    | 33,9*  | 27,3  | <0,001 |
| Concentração x Solvente          | 14  | 855,4   | 61,1*  | 49,1  | <0,001 |
| Planta x Concentração x Solvente | 98  | 2227,1  | 22,7*  | 18,2  | <0,001 |
| Erro                             | 382 | 475,7   | 1,24*  |       |        |
| Total Corrigido                  | 575 | 16205,7 |        |       |        |

**Quadro 8: Análise de Variância dos extratos das plantas frente a bactéria *Klebsiella ssp\**, segundo o tipo de solvente utilizado para extração e concentração.** (ANOVA, Tukey, P<0,05, IC:95%). Se \*\* significativo a 5%. GL: Grau de Liberdade, QM : Quadrado Médio, Fc: Fator de correção, Pr>Fc: Fcalculado menor que o valor crítico tabelado, não haverá diferença significativa entre os tratamentos. C.V.: 54,83%; Média Geral: 2.0351563; Número de observações: 576.

Em relação ao comportamento dos solventes frente a bactéria *Klebsiella ssp\**, os extratos hexânicos não apresentaram eficácia, enquanto os solventes alcoólicos foram eficazes apresentando grupos distintos estatisticamente, sendo o extrato em que o líquido extrator foi álcool 70% obteve uma expressão de média superior que o extrato alcoólico 95 °GL (tabela 30).

**Tabela 30 – Determinação do melhor solvente para produção de extrato, utilizando análise estatística da média dos halos de inibição, frente à bactéria *Klebsiella spp\**.**

| Plantas  | Solvente                       |                  |               | Média     |
|--|--------------------------------|------------------|---------------|-----------|
|  | média dos halos de inibição mm |                  |               |           |
|  | Hexano                         | Álcool<br>95 °GL | Álcool<br>70% |           |
| Mesocarpo de <i>Orbignya</i><br><i>ssp</i> Mart. ex Endl.            | 0<br>a A                       | 0<br>a A         | 0<br>a A      | 0<br>a    |
| Folha de <i>Bryophyllum</i><br><i>pinnatum</i> (Lam.) Oken           | 0<br>a A                       | 0,75<br>a A      | 7,65<br>d B   | 2,79<br>d |
| Folhas de <i>Lafoensia</i><br><i>pacari</i> St. Hil.                 | 0<br>a A                       | 8,62<br>d B      | 17,73<br>e C  | 8,78<br>e |
| Epicarpo de <i>Attalea</i><br><i>phalerata</i> Mart.                 | 0<br>a A                       | 2,54<br>b B      | 0<br>a A      | 0,84<br>b |
| Mesocarpo de <i>Attalea</i><br><i>phalerata</i> Mart                 | 0<br>a A                       | 4,04<br>c C      | 3,19<br>c B   | 2,41<br>d |
| Folhas de <i>Alternanthera</i><br><i>cf. brasiliiana</i> (L.) Kuntze | 0<br>a A                       | 0<br>a A         | 0<br>a A      | 0<br>a    |
| Fruto do <i>Genipa</i><br><i>americana</i> L.                        | 0<br>a A                       | 0<br>a A         | 0<br>a A      | 0<br>a    |
| Casca e Entrecasca do<br><i>Genipa americana</i> L.                  | 0<br>a A                       | 2,28<br>b B      | 2,04<br>b B   | 1,44<br>c |
| Média  | 0<br>A                         | 2,28<br>B        | 3,82<br>C     | 2,03      |

Médias seguidas de uma mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não se diferem estatisticamente, a um nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.  $\bar{X}$  - Média dos Halos de Inibição nas concentrações de 1000mg/mL à 1 mg/mL. Diferença Média Significativa – DMS: 0,982040366918472; (ANOVA, Tukey; P<0,05; IC:95%).

Quando comparado as concentração de cada extrato, o comportamento demonstrou ser novamente proporcional entre, o tamanho do halo de inibição e a concentração utilizada no estudo (tabela 31).

Considerando o agrupamento de médias estatisticamente semelhantes em relação a um coeficiente de variância, apresenta uma superioridade de

expressão da formação do halo de inibição a planta Mangabeira, *Lafoensia pacari*; seguido da Folha Santa, *Bryophyllum pinnatum*; do mesocarpo do Bacuri *Attalea phalerata* e da entrecasca do Jenipapo, *Genipa americana*, enquanto, as demais plantas foram ineficientes para inibir o crescimento da bactéria *Klebsiella ssp\** (tabela 31).

**Tabela 31 – Comportamento das médias dos halos de inibição em relação a concentração do extratos estudados, frente à bactéria *Klebsiella ssp\****

| Planta | Concentração (mg/mL) |         |       |      |      |      |      |      | Média |
|--------|----------------------|---------|-------|------|------|------|------|------|-------|
|        | 1000                 | 500     | 250   | 100  | 50   | 25   | 10   | 1    |       |
| 1      | 0                    | 0       | 0     | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 0     |
|        | a A                  | a A     | a A   | a A  | a A  | a A  | a A  | a A  | a     |
| 2      | 6,78                 | 5,94    | 5,17  | 3,72 | 0,78 | 0    | 0    | 0    | 2,79  |
|        | c D                  | c d C D | c B C | b B  | a A  | a A  | a A  | a A  | d     |
| 3      | 13,11                | 14,56   | 13,22 | 9,17 | 5,78 | 6,22 | 6,56 | 1,67 | 8,78  |
|        | e D                  | e D     | d D   | c C  | b B  | b B  | b B  | b A  | e     |
| 4      | 3,11                 | 2,72    | 0,94  | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 0,84  |
|        | c B                  | b B     | a A   | a A  | a A  | a A  | a A  | a A  | b     |
| 5      | 8,94                 | 7,33    | 3     | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 2,41  |
|        | d D                  | d C     | b B   | a A  | a A  | a A  | a A  | a A  | d     |
| 6      | 0                    | 0       | 0     | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 0     |
|        | a A                  | a A     | a A   | a A  | a A  | a A  | a A  | a A  | a     |
| 7      | 0                    | 0       | 0     | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 0     |
|        | a A                  | a A     | a A   | a A  | a A  | a A  | a A  | a A  | a     |
| 8      | 6,22                 | 5,30    | 0     | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    | 1,44  |
|        | c B                  | c B     | a A   | a A  | a A  | a A  | a A  | a A  | c     |
| Total  | 4,77                 | 4,48    | 2,79  | 1,61 | 0,82 | 0,78 | 0,82 | 0,21 | 2,03  |
|        | E                    | E       | D     | C    | B    | B    | B    | A    |       |

Médias seguidas de uma mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não se diferem estatisticamente, a um nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. 1) Mesocarpo de *Orbignya ssp* Mart. ex Endl.; 2) Folha de *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken; 3) Folhas de *Lafoensia pacari* St. Hil.; 4) Epicarpo de *Attalea phalerata* Mart.; 5) Mesocarpo de *Attalea phalerata* Mart.; 6) Folhas de *Alternanthera cf. brasiliana* (L.) Kuntze; 7) Fruto do *Genipa americana* L.; 8) Casca e Entrecasca do *Genipa americana* L. DMS:1,60366520384388; (ANOVA, Tukey; P<0,05; IC:95%).

A análise estatística dos resultados das médias de inibição (tabela 32) promovido pelos extratos em seus respectivos solventes e concentrações, a bactéria *Klebsiella ssp* revelou que: o mesocarpo de *Lafoensia pacari* apresentou-se maior expressão e para concentra de 500mg/mL a 100 mg/mL em alcoólico 70%, seguido do grupo formado pelas concentrações de 1000mg/mL e de 50 mg/mL a 10mg/mL em álcool 70% e de 1000mg/mL a 100mg/mL em álcool 95°GL.

Outro grupo foi formado pelas concentrações do extrato de alcoólico 70% de *B. pinnatum* de 1000mg/mL e 500mg/mL, seguido por 250mg/mL e 100mg/mL do mesmo extrato.

O mesocarpo de *A. phalerata* nas concentrações de 1000mg/mL e 500mg/mL em álcool 95°GL e 70% com o extrato alcoólico 95°GL da entrecasca de *G. americana* na concentração de 1000mg/mL formaram outro grupo.

Para as demais concentrações das plantas citadas e as plantas *Alternanthera brasiliana*, o mesocarpo de *Orbignya phalerata*, epicarpo de *A. phalerata* e fruto de *G. americana* não apresentaram eficiência,



**Tabela 32 – Análise de Variância (ANOVA) das médias dos halos de inibição dos extratos das plantas frente à bactéria *Klebsiella ssp\**, relacionado por solvente e concentração.**

| Planta | Hexano   |          |          |          |          |          |          |          | Álcool 95°GL |              |             |             |          |          |          |          | Álcool 70%   |              |              |              |              |              |              |          | Média     |        |
|--------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|--------------|--------------|-------------|-------------|----------|----------|----------|----------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|----------|-----------|--------|
|        | 1000     | 500      | 250      | 100      | 50       | 25       | 10       | 1        | 1000         | 500          | 250         | 100         | 50       | 25       | 10       | 1        | 1000         | 500          | 250          | 100          | 50           | 25           | 10           | 1        |           |        |
| 1      | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A    | 0<br>a A    | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A | 0<br>a A  | 0<br>a |
| 2      | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 3,33<br>b B  | 2,67<br>a B  | 0<br>a A    | 0<br>a A    | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 17<br>d C    | 15,17<br>d C | 15,5<br>b B  | 11,17<br>b B | 2,33<br>a B  | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A | 2,79<br>d |        |
| 3      | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 18,67<br>e B | 19,33<br>c B | 19,5<br>d B | 11,5<br>b B | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 20,67<br>e B | 24,33<br>e C | 20,17<br>c B | 16<br>c C    | 17,33<br>b B | 18,67<br>b B | 19,67<br>b B | 5<br>b B | 8,78<br>e |        |
| 4      | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 9,33<br>c B  | 8,17<br>b B  | 2,83<br>b B | 0<br>a A    | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A | 0,84<br>b |        |
| 5      | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 12,67<br>d B | 10,67<br>b B | 9<br>c B    | 0<br>a A    | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 14,17<br>c B | 11,33<br>c B | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A | 2,41<br>d |        |
| 6      | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A    | 0<br>a A    | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A | 0<br>a    |        |
| 7      | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A    | 0<br>a A    | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A | 0<br>a    |        |
| 8      | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 10<br>c d B  | 8,25<br>b B  | 0<br>a A    | 0<br>a A    | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 0<br>a A | 8,67<br>b B  | 7,67<br>b B  | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A     | 0<br>a A | 1,44<br>c |        |
| Média  | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 6,75         | 6,14         | 3,92        | 1,44        | 0        | 0        | 0        | 0        | 7,56         | 7,31         | 4,46         | 3,40         | 2,46         | 2,33         | 2,46         | 0,63     | 2,03      |        |

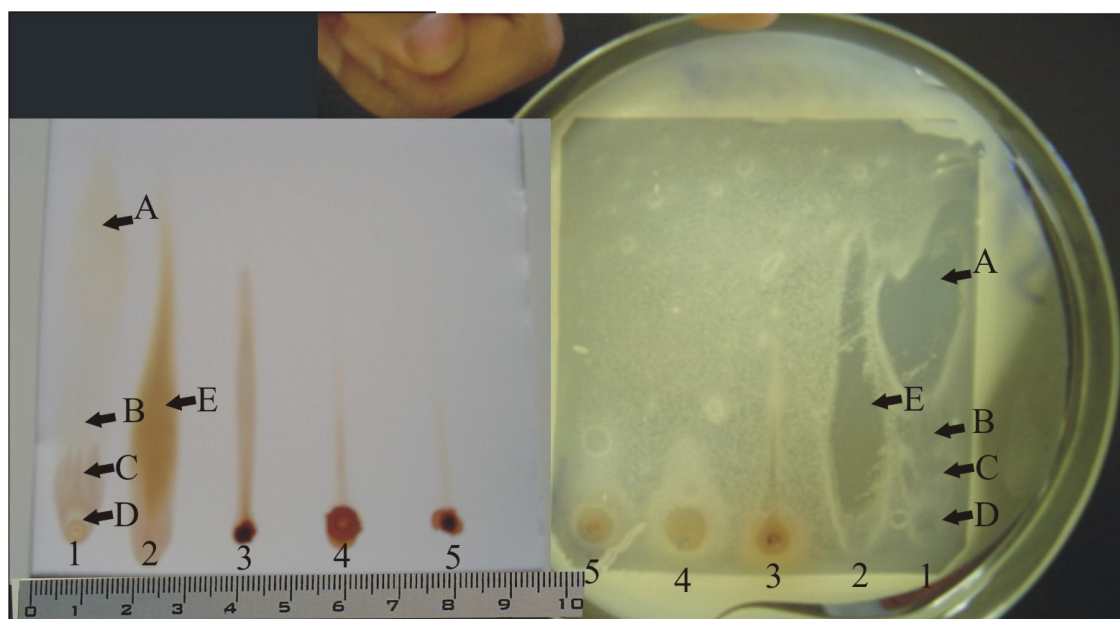
Médias seguidas de uma mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não se diferem estatisticamente, a um nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. 1) Mesocarpo de *Orbignya ssp* Mart. ex Endl.; 2) Folha de *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken; 3) Folhas de *Lafoensia pacari* St. Hil.; 4) Epicarpo de *Attalea phalerata* Mart.; 5) Mesocarpo de *Attalea phalerata* Mart; 6) Folhas de *Alternanthera cf. brasiliana* (L.) Kuntze; 7) Fruto do *Genipa americana* L.; 8) Casca e Entrecasca do *Genipa americana* L. DMS: 2,77762961138791; (ANOVA, Tukey; P<0,05; IC:95%).

### 6.3 Bioautografia

Para isolamento de frações ativas visando um futuro isolamento de compostos que apresentarem atividade antimicrobiana e conseqüente elucidação estrutural, foi realizado a “Bioautografia” do extrato alcoólico 70% do mesocarpo do Babaçu, *Orbignya ssp.*, utilizando como microrganismo guia a bactéria *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

Os resultados da Bioautografia demonstraram promissores em virtude de encontrarmos regiões de algumas frações com significativa inibição de crescimento da bactéria *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

Apresentamos a seguir imagem das placas de sílica gel TLC e respectiva placa de petri do ensaio microbiológico para cultura, Os resultados foram apresentados em forma de tabelas que forneceram os dados observados no ensaio, com seu respectivo cálculo de fator de retenção das frações ativas.



**Figura 14 – Bioautografia do Extrato Alcoólico 70% do mesocarpo do Babaçu, *Orbignya ssp.*, frente a bactéria *Staphylococcus aureus* ATCC6538. 1- partição Hexânica, 2- partição Cloroformica, 3- partição Acetato de Etila, 4- partição N-Butanol, 5- partição Metanol:H2O. Frações: A, B, C, D e E. Revelação de Cromatofolha por Vanilina Sulfúrica. Imagen: Hebert Lima Batista, 2006.**

**Tabela 33 – Descrição da interpretação dos dados da Bioautografia das partições do Extrato Alcoólico 70% do mesocarpo do Babaçu, *Orbignya ssp*, frente a bactéria *Staphylococcus aureus* ATCC6538, representativa da figura 14.**

| Partição | Fração | Valor de corrida da fração (cm) | Valor de RF* |
|----------|--------|---------------------------------|--------------|
| 1        | A      | 0,2                             | 0.0230       |
| 1        | B      | 1,8                             | 0.2069       |
| 1        | C      | 2,3                             | 0.2644       |
| 1        | D      | 6,9                             | 0.7931       |
| 2        | E      | 5,1                             | 0.5862       |

\* Valor de corrida do solvente para cálculo de RF: 8,7cm. 1- Partição Hexânica, 2- Partição Clorofórmica.

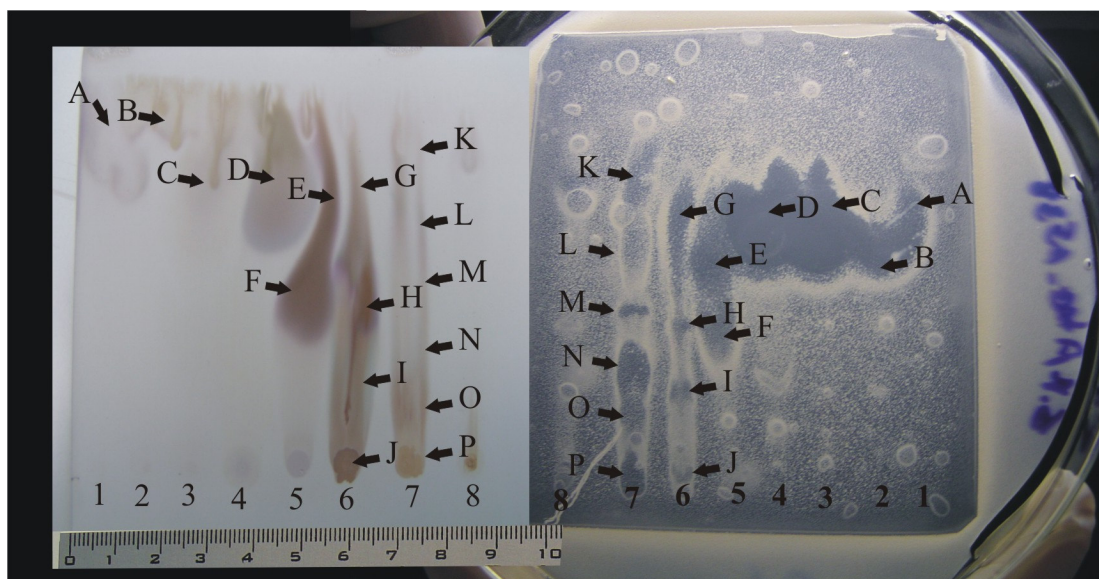
Foi definido, apesar de ter originadas frações, que as partições testadas seriam tratadas como uma amostra única para cada solvente, mesmo obtendo em sua corrida, posições com halos de inibição de crescimento para bactéria *S. aureus* ATCC 6538. Esta medida foi adotada para facilitar a seleção de qual partição era ativa, direcionando para a realização da técnica cromatográfica em coluna. O registro dos resultados foi apresentado, obtendo os RF da tabela 33.

Assim, as frações ativas 1 e 2, sofreram conforme técnica descrita no capítulo 5.4, tratamento por Cromatografia Líquida em Coluna, obtendo frações coletadas por gradiente de polaridade.

Foram obtidas 8 frações, que tiveram seus solventes extraídos a pressão reduzida. Estes extratos foram depositadas na placa Sílica gel TLC marca Merck (placa W/UV-254nm aluminum backe, 200nm, 20x20cm, 25µK), após eluição de uma mistura de 20% de Metanol e 80% de clorofórmio a temperatura ambiente, 24°C, com resolução em conformidade a figura 15 e tabela 34 para porção hexano e figura 16 tabela 35 porção clorofórmica.

Para a porção hexânica do mesocarpo do babaçu após Cromatografia líquida em coluna apresentou 8 frações de eluidores que pela técnica de bioautografia resultou em 7 frações ativas, figura 15.

As frações de 1 à 5 não obtiveram boa resolução de separação, sugerindo necessitar para posterior isolamento, eluição de uma mistura com força de polaridade maior. A fração 8 foi considerada não ativa por não apresentar na revelação por imprint zonas de inibição de crescimento. A tabela 34 expressa às interpretações para posterior isolamento e elucidação dos compostos ativos.



**Figura 15 - Bioautografia das frações obtidas da cromatografia líquida em coluna aplicadas sobre cromatofolha eluição Metanol:Clorofórmio (20:80) da partição hexânica do Extrato Alcoólico 70% do Mesocarpo do Babaçu, *Orbignya spp*, frente a bactéria *Staphylococcus Aureus* ATCC6538.** \*Cromatofolha após corrida da porção hexânica de *Orbignya ssp* com eluição Metanol:Clorofórmio (20:80) revelada com Vanilina sulfúrica. \*\* Imprint da cromatofolha após eluição, não revelada, em agar Mueller-Hinton em placa de petri 150x15mm com *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. 1- Fração Hexânica, 2- Fração Hexano:Clorofórmio 1:1, 3- Fração Clorofórmio, 4- Fração Clorofórmio:Acetato de Etila(1:1), 5- Fração Acetato de Etila, 6- Fração Acetato de Etila:Metanol (1:1), 7- Metanol, 8- H<sub>2</sub>O. Dados: Valor de corrida do solvente para cálculo de RF: 8,5cm

Observar-se que na Fração 7, a existência de 6 novas frações (P, O, N, M, K e L) com boa resolução, sendo um indicativo que para a fração existam diversas substâncias com potencial antimicrobiano a ser elucidadas. A mesma referência pode ser extrapolada para a fração 6 com 4 frações com atividade (J, I, H e G).

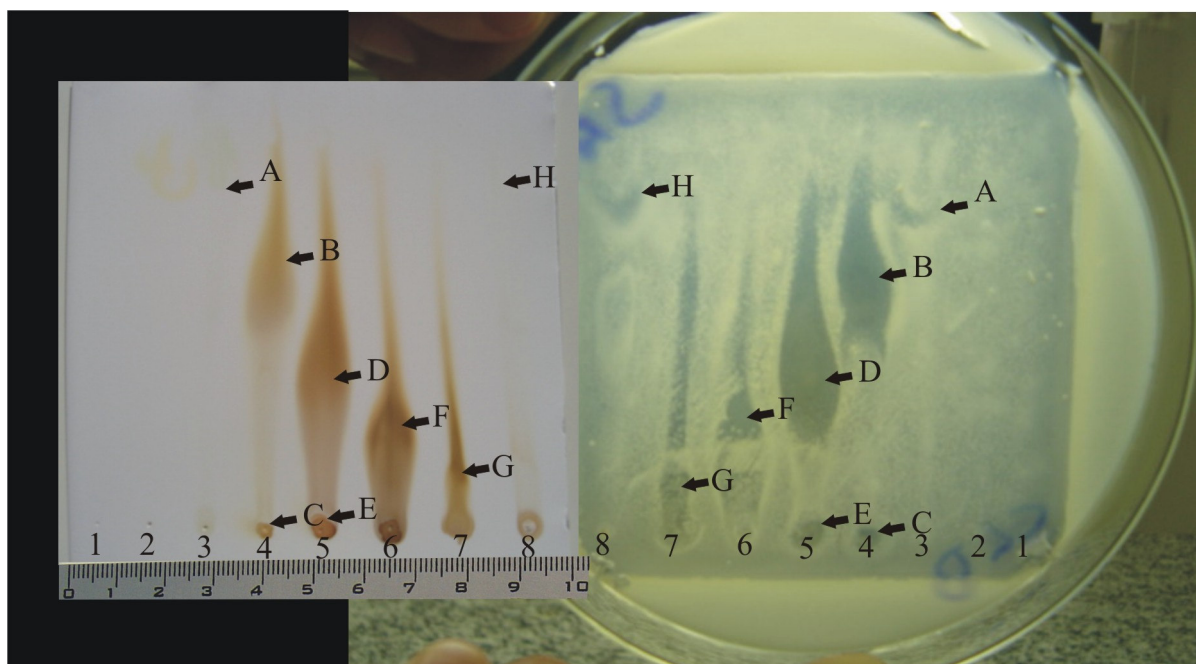
Para as frações 1, 2, 3, 4 e 5 não foi possível o detalhamento de frações isoladas pela técnica selecionada, necessitando utilização de outra mistura de eluente para se obter resolução suficiente de separação em novas tentativas de isolamento. Mas, estas frações apresentaram efetividade antimicrobiana, proporcionando uma expectativa promissora para isolamento químico, desde que adotado outro gradiente de solventes na eluição.

**Tabela 34 - Descrição da interpretação dos dados da Bioautografia das frações obtidas da cromatografia líquida em coluna aplicadas sobre cromatofolha eluição Metanol:Clorofórmio (20:80) da partição hexânica do Extrato Alcoólico 70% do Mesocarpo do Babaçu, *Orbignya ssp*, frente a bactéria *Staphylococcus aureus* ATCC6538, representativa da figura 15.**

| Partição | Fração | Valor de corrida da fração (cm) | Valor de RF* |
|----------|--------|---------------------------------|--------------|
| 1        | A      | 8.0                             | 0.9412       |
| 2        | B      | 7.5                             | 0.8824       |
| 3        | C      | 7.5                             | 0.8824       |
| 4        | D      | 6.5                             | 0.7647       |
| 5        | E      | 6.0                             | 0.7059       |
| 5        | F      | 5.0                             | 0.5882       |
| 6        | G      | 6.5                             | 0.7647       |
| 6        | H      | 3.8                             | 0.4471       |
| 6        | I      | 2.1                             | 0.2471       |
| 6        | J      | 0.2                             | 0.0235       |
| 7        | K      | 8.2                             | 0.9647       |
| 7        | L      | 6.1                             | 0.7176       |
| 7        | M      | 4.2                             | 0.4941       |
| 7        | N      | 2.8                             | 0.3294       |
| 7        | O      | 1.5                             | 0.1765       |
| 7        | P      | 0.2                             | 0.0235       |

\* Valor de corrida do solvente para cálculo de RF: 8,5cm. Revelação de Cromatofolha por Vanilina Sulfúrica. 1- Partição Hexânica, 2- Partição Clorofórmica. 1- Fração Hexânica, 2- Fração Hexano:Clorofórmio 1:1, 3- Fração Clorofórmio, 4- Fração Clorofórmio:Acetato de Etila(1:1), 5- Fração Acetato de Etila, 6- Fração Acetato de Etila:Metanol (1:1), 7- Metanol.

Para a realização da Bioautografia da Partição Clorofórmica foi seguido o mesmo procedimento realizado para partição Hexânica, que após cromatografia líquida em coluna com eluição em gradiente de polaridade foi realizada o ensaio microbiológico que o resultado é observado na figura 16, obtendo as seguintes frações ativas descritas na tabela 35.



**Figura 16 - Bioautografia das frações obtidas da cromatografia líquida em coluna aplicadas sobre cromatofolha eluição Metanol:Clorofórmio (20:80) da partição Clorofórmica do Extrato Alcoólico 70% do Mesocarpo do Babaçu, *Orbignya spp*, frente a bactéria *Staphylococcus Aureus* ATCC6538.** \*Cromatofolha pós corrida da porção clorofórmica de *Orbignya ssp* com eluição Metanol:Clorofórmio (20:80) revelada com Vanilina sulfúrica. \*\* Imprint da cromatofolha após eluição, não revelada, em agar Mueller-Hinton em placa de petri 150x15mm com *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. 1- Fração Hexânica, 2- Fração Hexano:Clorofórmio 1:1, 3- Fração Clorofórmio, 4- Fração Clorofórmio:Acetato de Etila(1:1), 5- Fração Acetato de Etila, 6- Fração Acetato de Etila:Metanol (1:1), 7- Metanol, 8- H<sub>2</sub>O. Dados: Valor de corrida do solvente para cálculo de RF: 8,6cm.

**Tabela 35 - Descrição da interpretação dos dados da Bioautografia das frações obtidas da cromatografia líquida em coluna aplicadas sobre cromatofolha eluição Metanol:Clorofórmio (20:80) da partição Clorofórmica do Extrato Alcoólico 70% do Mesocarpo do Babaçu, *Orbignya ssp*, frente a bactéria *Staphylococcus aureus* ATCC6538, representativa da figura 16.**

| Partição | Fração | Valor de corrida da fração (cm) | Valor de RF* |
|----------|--------|---------------------------------|--------------|
| 3        | A      | 7.2                             | 0.8372       |
| 4        | B      | 5.5                             | 0.6395       |
| 4        | C      | 4.2                             | 0.4884       |
| 5        | D      | 3.2                             | 0.3721       |
| 5        | E      | 0.2                             | 0.0233       |
| 6        | F      | 2.5                             | 0.2907       |
| 7        | G      | 1.5                             | 0.1744       |
| 8        | H      | 7.3                             | 0.8488       |

\* Valor de corrida do solvente para cálculo de RF: 8,5cm. Revelação de Cromatofolha por Vanilina Sulfúrica. 1- Partição Hexânica, 2- Partição Clorofórmica. 1- Fração Hexânica, 2- Fração Hexano:Clorofórmio 1:1, 3- Fração Clorofórmio, 4- Fração Clorofórmio:Acetato de Etila (1:1), 5- Fração Acetato de Etila, 6- Fração Acetato de Etila:Metanol (1:1), 7- Metanol, 8- H<sub>2</sub>O.

A porção clorofórmica evidenciou atividade antimicrobiana, mas sem a formação de halos com resolução suficientes para separação, o que representariam frações isoladas, auxiliando para um futuro isolamento e elucidação estrutural. Porém, como não se conseguiu tamanha resolução, sugere que para os próximos trabalhos os ensaios deveram prosseguir com novos eluentes que proporcione melhor resolução.

Assim, consideramos promissores os extratos 3, 4,5, 6, 7 e 8, com uma ressalva para as frações H e A, que apresentaram halos mais uniformes e de melhor resolução. As frações 1 e 2 não apresentaram halos de inibição.

Para tanto, com os resultados obtidos nesta pesquisa, abre um leque de possibilidades de trabalhos futuros com a *Orbignya ssp*, que evidenciamos seus

resultados de seu fracionamento, mas também com as demais plantas avaliadas que apresentaram ativas para as bactérias testadas.

## 7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os extratos hexânicos das plantas testadas são inativos, compreendendo não ser uma alternativa de solvente para preparação direta de extratos com pretensão de atividade antimicrobiana.

Os extratos obtidos da planta *Althernanthera brasiliiana*, testada e coletada no estado do Tocantins, não foi eficaz na inibição das cepas testadas; abrindo uma possibilidade de pesquisa, para verificação deste biótipo, em virtude de que outros autores em estudos desta espécie e outras deste gênero, obtiveram resultados positivos para atividade antimicrobiana.

O extrato alcoólico 70% do mesocarpo do Babaçu, *Orbignya ssp*, demonstrou-se promissor para isolamento de substâncias antimicrobianas, necessitando de novos ensaios químicos para o isolamento e identificação das frações obtidas nos experimentos de Autobiografia.

Os extratos alcoólicos mesocarpo do fruto de *Orbignya ssp* são seletivos para bactérias gram positivas, necessitando de novos ensaios para comprovação de especificidade e seu mecanismo de ação envolvendo a inibição do metabolismo de construção da parede celular.



## 8 CONCLUSÃO

Os extratos hidroalcoólicos (95 e 70%) das folhas de *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Oken, da casca de *Genipa americana* L., folhas de *Lafoensia pacari* St. Hil., do fruto parte mesocárpica de *Attalea phalerata* Mart. e o mesocarpo do fruto de *Orbignya ssp* mostraram-se eficazes contra microrganismos patogênicos, compreendendo uma promissora fonte de fármacos antimicrobianos.

## 9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKINPELU, DAVID A. Antimicrobial activity of *Bryophyllum pinnatum* leaves. **Fitoterapia**. Vol. 71, p. 193-194, 2000.

ALBUQUERQUE, D. A.; JULIANI, J. M.; SANTOS, J. A.; HOSIDA, P. Y.; BORGES, S.; BORRALHO, C. T. Efeito do extrato etanólico de *Lafoensia pacari* sobre a peritonite aguda em camundongos. Programa e Anais. **3ª Reunião Especial da SBPC “Ecossistemas Costeiros - Do Conhecimento a Gestão”**, Florianópolis, SC, UFSC, 1-4 Maio, 1996.

ALONSO, JORGE. **Tratado de Fitofarmacos y Nutracêuticos**. Argentina, Rosario: Editora Corpus Libros, p.1001, 2004.

ALVES, T. M. A. et al. Biological Screening of Brazilian Medicinal Plants. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro. Vol. 95(3): 367-373, May/Jun. 2000. [citado 02 Abril 2006] Disponível na Word Web: <<http://www.scielo.br/pdf/mioc/v95n3/3884.pdf>>

AMATO, N. V. et al. Antibióticos na Prática Médica. 4ª edição. São Paulo: Editora Roca Ltda, 1994.

ANDRADE, ADRIANE; SANTOS, WLISSES KENNET; BATISTA, HEBERT LIMA. Levantamento das plantas de uso medicinal mais usadas no Tocantins para o tratamento de doenças tropicais. **Anais do Congresso Saúde Pública Araguaia-Tocantins**. 2003.

BALICK, M. J. & PINHEIRO, C. U. B., Babassu. In: CLAY, J. W. & CLEMENT, C. R. **Selected species and strategies to enhance income generation from Amazonian forests**. 1993. Acesso disponível: <[http://www.fao.org/documents/show\\_cdr.asp?url\\_file=/docrep/v0784e/v0784e0u.htm](http://www.fao.org/documents/show_cdr.asp?url_file=/docrep/v0784e/v0784e0u.htm)>. Acesso em: 25 de Janeiro de 2006.

BATISTA, C. P. et al. Efeito do extrato aquoso de *Orbignya phalerata* (babaçu) na cicatrização do estômago em ratos: estudo morfológico e tensiométrico. **Acta Cir**

**Bras.** vol. 21, suplem 2, p.26-32, 2006.

BAUER, A.W.; KIRBY, W. M.; SHERRIS, J. C.; TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **American Journal Clinical Pathology**. Vol. 45, n.4, p. 493-496, 1966.

BOXALL, A. B. A. The environmental side effects of medication. **European Molecular Biology Organization Reports**. Vol 5, N 12, p. 1110-1116, 2004. Available from: < <http://www.nature.com/embor/journal/v5/n12/full/7400307.html> >. Access on: 12 Aug 2006.

BRITO FILHO, S.B. et al. Análise da cicatrização na linha alba com uso de extrato aquoso de *Orbignya phalerata* (babaçu). Estudo controlado em ratos. **Acta Cir Bras.** vol. 21, suplem 2, p. 76-88, 2006.

BROCHADO, C. O. et al. Flavonol Robinobiosides and Rutinosides from *Alternanthera brasiliana* (Amaranthaceae) and their effects on lymphocyte Proliferation In Vitro. **Journal of the Brazilian Chemical Society**. V.14, n.3, p.449-451, 2003.

CAETANO, N.; SARAIVA, A.; PEREIRA, R.; CARVALHO, D.; PIMENTEL, M.C.B.; MAIA, M.B.S. Determinação de atividade antimicrobiana de extratos de plantas de uso popular como antiinflamatório. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. Vol. 12, supl., p.132-135, 2002.

CALDERON, C.P.; GARCIA, S.B.; FUENTES, L.B. Evaluation of diuretic activity of *Alternanthera pungens* extract in rats. **Phytoterapy Research**. Vol. 11, n.8, p.606-608, 1998.

CALIXTO, J. B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). **Brasilia Journal of Medical and Biological Research**. Vol. 33, p. 179-189, 2000.

CALIXTO, J. B. Estudos farmacológicos Pré-clínicos de Plantas Medicinais. In: YUNES, R. A. & CALIXTO, J. B. **Plantas Medicinais sob a Ótica da Química Medicinal Moderna**. Chapecó: Ed. Argos. 2001A, p. 77-100.

CALIXTO, J. B. Medicamentos Fitoterápicos. In: YUNES, R. A. & CALIXTO, J. B. **Plantas Medicinais sob a Ótica da Química Medicinal Moderna**. Chapecó: Ed. Argos. 2001B, p. 297-315.

CHUNG, J. G. Inhibitory actions of ellagic acid on growth and arylamine N-acetyltransferase activity in strains of *Helicobacter pylori* from peptic ulcer patients. **Microbios**, v. 93, n. 375, p. 115-27, 1998.

CORRÊA, MANUEL PIO. **Dicionário das plantas úteis do Brasil**. Rio de Janeiro: Editora Imprensa Nacional – Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, 1978, Vol.IV, p. 515-519.

COX, P. A. & BALICK, M. J. The ethnobotanical approach to drug discovery. **Scientific American**, june, p. 60-6, 1994.

DÁVILA, GLORIA. **Colonización de *L. gomezi* : (Diptera : *Psychodidae*) y su capacidad de picada frente a extractos de plantas *Momordica charantica* y *Genipa americana* como repelentes**. Dissertação de Mestrado: Universidad de Panamá, 1986, 1v, p 98.

DE SOUZA, M. M.; KERN, P.; FLORIANI, A.E.O.; CECHINEL-FILHO, V. Analgesic Properties of a Hydroalcoholic Extract obtained from *Alternanthera brasiliana*. **Phytotherapy Research**. V.12, n. 4, p. 279-81, 1998.

DI STASI, L.C.; et al.,. **Plantas medicinais: arte e ciências. Um guia de estudos interdisciplinar**. São Paulo: Ed. da UNESP. 1996, p. 15-80 .

FERREIRA ECF, MATIAS JEF, CAMPOS ACL, FILHO RT, ROCHA LCA, TIMI JRR, SADO HN, SAKAMOTO DG, TOLAZZI ARD, SOARES- FILHO MP. Análise da cicatrização da bexiga com o uso do extrato aquoso da *Orbignya phalerata* (babaçu). Estudo controlado em ratos. **Acta Cir Bras**. vol. 21, suplemento 2, p.33-39, 2006.

FERREIRA, A. B. H. **Novo Aurélio Século XXI: O dicionário da língua portuguesa**. 3.ed. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 1999.

FREITAS, E.L.S.; MOURA, A.C.A.; FONTES, S.G.F.; MAIA, M.B.S. Estudo do efeito de *Orbignya phalerata* Mart (babaçu) sobre as lesões gástricas induzidas por etanol ou indometacina. **XV Simpósio de Plantas Mediciniais do Brasil**. Águas de Lindóia, 01.210 p.94, outubro 1998.

FIDALGO, O. et al. **Técnicas de coleta, preservação e herborização de material botânico**. Governo de Estado de São Paulo, Secretaria do Meio Ambiente, Instituto de Botânica, São Paulo, 1989.

FINCH, R.G. et al. **Antibiotic and Chemotherapy: Anti-infective agents and use in therapy**. 8ed. New York: Churchill Livingstone, 2003, p. 3-47.

Flora Brasiliensis 2006. Available from: < <http://florabrasiliensis.cria.org.br/opus> >. Access on: 12 Aug 2006.

GABRIELSON, J.; HART, M.; JARELOV, A.; KUHN, I.; MCKENZIE, D.; MOLLBY, R. Evaluation of redox indicators and the use of digital scanners and spectrophotometer for quantification of microbial growth in microplates. **J. Microbiol. Methods**. v. 50, p. 63-73, 2002.

GAITAN, E. et al. Antithyroid effects in vivo and in vitro of babassu and mandioca: a staple food in goiter areas of brazil. **European Journal of Endocrinology**. Vol. 131(2), p.138-144, 1994.

GARCIA, S. et al. Triterpene methyl ether from *Palmae* epicuticular waxes. **Phytochemistry**. Vol. 39, n. 6, p. 1381-1382, 1995.

GILLIGAN, PETER H. Impact of Clinical Practice Guidelines on the Clinical Microbiology Laboratory. **Journal of Clinical Microbiology**. Vol. 42, n. 4, p. 1391-1395, 2004.

GUERRA, R.N.M. et al . Immunomodulatory properties of *Alternanthera tenella* Colla aqueous extracts in mice. **Braz J Med Biol Res** , Ribeirão Preto, v. 36, n. 9, 2003. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-879X2003000900011&lng=&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-879X2003000900011&lng=&nrm=iso)>. Acesso em: 27 maio 2005. doi: 10.1590/S0100-879X2003000900011.

GWEHENBERGER, B. et al. Effect of *Bryophyllum pinnatum* versus fenoterol on uterine contractility. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**. Vol. 113, p.164-171, 2004.

HAMBURGER, M. & HOSTETTMANN, K. Bioactivity in plants: The link between phytochemistry and medicine. **Phytochemistry**, v.30, n.12, p.3864/3874, 1991

HADACEK, F. & GREGER, H. Testing of antifungal Natural Products: Methodologies, Comparability of Results and Assay Choice. **Phytochemical Analysis**. Vol. 11: 137-147, 2000.

HIANE, PISCILA AIKO, et al.,. Carotenóides Pro-vitamínicos A e composição em ácidos graxos do fruto e da farinha do Bacuri (*Scheelea phalerata* Mart.). **Ciência Tecnologia de Alimento**. Vol. 23, n.2, p. 206-209, 2003.

HOUSAIN, C. F. et al. Genipatriol, a new cycloartane triterpene from *Genipa spruceana*. **Journal of Natural Products**. Vol.66, n.3, p.389-400, 2003.

HUDSON, MARGARET M. T. Antifungal resistance and over-the-counter availability in the UK: a current perspective. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**. London: p. 345–350. Vol. 48, 2001.

INFECTIOUS DISEASES SOCIETY OF AMERICA. **Bad bugs, no drugs. As antibiotic discovery stagnates, a public health crisis brews**. IDSA; 2004. [citado 02 Abril 2006], Disponível na World Wide Web: <[http://www.idsociety.org/pa/IDSA\\_Paper4\\_final\\_web.pdf](http://www.idsociety.org/pa/IDSA_Paper4_final_web.pdf)>.

KOCH, ARTHUR L. Bacterial Wall as Target for Attack: Past, Present, and Future Research. **Clinical Microbiology Reviews**. Vol. 16, n. 4, p.673-687, 2003.

LACAZ, C. S. **Antibióticos**. 3ª Edição. São Paulo: Editora da Universidade São Paulo, 1975.

LEVY, S & MARSHALL, B. Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges, responses. **Nature Medicine**. Vol.10, S122-S129, 2004.

LIMA, E. O. et al. *Schinus terebenthifolius* Raddi: avaliação do espectro de ação antimicrobiana de seu extrato aquoso. **Revista Infarma**. V.16. n. 7-8, p.83-85, 2004.

LIMA, E. O. et al. Atividade antifúngica de extratos obtidos de espécimes de leguminoseae contra dermatófitos. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**. V.1. n. 1-3, p.53-56, 1997.

LIMA, E. O.; GOMPertz, O. F.; GIESBRECHT, A. M.; PAULO, M. Q. In vitro antifungal activity of essential oils obtained from officinal plants against dermatophytes. **Mycoses**, v.36, p.333-336, 1993.

LIMA, EDELTRUDES DE OLIVEIRA. Plantas e suas Propriedades Antimicrobianas: Uma Breve Análise Histórica. In: YUNES, R. A. & CALIXTO, J. B. **Plantas Medicinais sob a Ótica da Química Medicinal Moderna**. Chapecó: Ed.

Argos. 2001, p. 481-500.

LIMA, M. R. F.; XIMENES, E. C. P. A.; LUNA, J. S.; SANT'ANA, A. E. G. The antibiotic activity of some brazilian medicinal plants. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, n.3, p.300-306, 2006.

LORENZI, H. & MATOS, A.F.J. **Plantas Medicinais no Brasil:Naturais e Exóticas**. São Paulo: Editora Plantarum. 2001, p?.

MACEDO, A. F. et al. Pharmacological and photochemical studies of calus culture extracts from *Alternanthera brasiliana*. **Pharmazie**. vol.54, n.10, p.776-7, 1999.

MACIEL, ANA MARIA TEIXEIRA. **Caracterização nutricional do mesocarpo de babaçu (*Orbignya phalerata* Mart.) nos municípios de Arari, Esperantinópolis e Pinheiro**. 2004. 79p. Dissertação (mestrado em Agroecologia) Universidade Estadual do Maranhão. 2004.

MARTIN, K. W. & ERNST, E. Herbal medicines for treatment of infections: a review of controlled clinical trials. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**. Vol 51, p. 241-246, 2003.

MARTINEZ, M.J. et al. Screening of some Cuban medicinal plants for antimicrobial activity. **J. Ethnopharmacology**. v.52, p.171/174, 1996.

MARTINS, N.L.P; et al.,. Análise comparativa da cicatrização da pele com o uso intraperitoneal de extrato aquoso de *Orbignya phalerata* (babaçu). Estudo controlado em ratos. **Acta Cir Bras**. vol. 21, suplem 2, p.66-75, 2006.

Mc GINNIS, M. R. **Laboratory handbook of medical mycology**. New York: Academic Press. 1980. 643p.

MORAES, A.P.; SILVA, J. V.; MACHADO, M.I.L.; MATOS, F.J.A.; FONTELES, M.C.; GOMES, J.A.M.; PESSOA, C.E.; MORAES, M.O. Avaliação da atividade de



plantas do nordeste brasileiro em tumores experimentais. In: **XI Simpósio de Plantas Mediciniais do Brasil**. João Pessoa, p. 4.45, setembro 1990.

MOSMANN, T. Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays. **J. Immunol. Meth.** 65, 55-63, 1983.

MOTHANA, R. A. A. & LINDEQUIST, I. Antimicrobial activity of some medicinal plants of the island Soqotra. **Journal of Ethnopharmacology**. Vol. 96, n.1-2, p.177-181, 2005.

MOTTA, V. T. **Bioestatística**. 2. ed. Caxias do Sul – RS: Editora EDUCS, 2006, p.127-134.

NASCIMENTO, F. R. F. et al. Macrophage activation induced by *Orbignya phalerata* Mart. **Journal of Ethnopharmacology**. Vol. 103, 53-58, 2006.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS (NCCLS) – **Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests**; 7th Edition. Approved standard M2-A7. Wayne, Villanova, PA, 2000.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G.M.; SNADER, K. M. Natural Products as Sources of New Drugs over the Period 1981 – 2002. **Journal of Natural Products**. vol. 66, n. 7, p.1022-1037, 2003.

NDIFON, G.T. & UKOLI, F.M.A. Some preliminary observations on the molluscicidal property of *Alternanthera sessilis* (Amaranthaceae). **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Higiene**. Vol. 78, n.5, p. 706-707, 1984.

OESTERHELT, H. B. et al. Dysregulation of bacterial proteolytic machinery by a new class of antibiotics. **Nature Medicine**. Vol. 11, n.10, p. 1082-1087, 2005.

OJEWOLE, J.A.O. Antihypertensive proprieties of *Bryophyllum pinnatum* {(LAM) OKEN} leaf extracts. **American Journal of Hypertension**. Vol. 15, n.4, p. 34A, 2002.

OJEWOLE, J.A.O. Antinociceptive, anti-inflammatory and antidiabetic effects of *Bryophyllum pinnatum* (Crassulaceae) leaf aqueous extract. **Journal of Ethnopharmacology**. Vol. 99, p.13-19, 2005.

ONO, M. et al. Iridoid Glucosides from the fruit of *Genipa americana*. **Chemical Pharm. Bull.** Vol. 53, n.10, 1343-1344, oct., 2005.

OMS - ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **WHO Traditional Medicine Strategy 2002-2005**. World Health Organization. Genebra. 2002. p. 9-18 Disponível na word web: < [http://whqlibdoc.who.int/hq/2002/WHO\\_EDM\\_TRM\\_2002.1.pdf](http://whqlibdoc.who.int/hq/2002/WHO_EDM_TRM_2002.1.pdf) >

PINO, J.; MARBOT, R.; VAZQUEZ, C. Volatile constituents of genipap (*Genipa americana* L.) fruit from Cuba. **Flavoor and Fragrance Journal**. Vol. 20, n. 6, p. 583-86, Nov-Dec, 2005.

PIRES, L.L.S. et al. Avaliação da Atividade Antimicrobiana de Frações de *Lafoensia pacari* Saint. Hil – LYTHRACEAE em Linhagens de Microrganismos Patogênicos Humano. **I Jornada Científica do Curso de Farmácia da Universidade Federal de Alagoas**. Proceedings online... Available from: < [http://www.farmacia.csau.ufal.br/resumos\\_jornada\\_1.pdf](http://www.farmacia.csau.ufal.br/resumos_jornada_1.pdf) >. Acess on: 03 Aug. 2006.

PLANGGER, N. et al. Intravenous Tocolysis *Bryophyllum pinnatum* is better tolerated than beta-agonist application. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**. Vol. 124, p.168-172, 2006.

RAINTREE NUTRITION. **Tropical Plant Database – Kalanchoe**. Available from: < <http://www.rain-tree.com/coirama.htm>>. Access on: 12 Aug 2006.

RIBEIRO, M. C. & SOARES, M. M. S. R. **Microbiologia Prática: Roteiro e Manual: Bactérias e Fungos**. Ed. Atheneu: São Paulo, 2000.

RITCH-KRC, E.M.; TURNER, N.J.; TOWERS, G.H.N. Carrier herbal medicine: an evaluation of the antimicrobial and anticancer activity in some frequently use remedies. **J. Ethnopharmacology**. v.52, p.151/156, 1996.

ROBBERS, J. E.; SPEEDIE, M.K. E TYLER, V. E. **Farmacognosia e Farmacobiotecnologia**. Editora Premier : São Paulo, p.22, 1997.

RODRIGUES, EDILENE DELFINO. **Estudo químico das folhas e flores de *Lafoensia densiflora* POHL (L)**. 2000. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-graduação em Química, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2000.

ROGÉRIO, A. L. et al. *Lafoensia pacari* extract inhibits IL-5 production in toxocariasis. **Parasite Immunology**. 2003, 25, 293-400.

ROGÉRIO, ALEXANDRE DE PAULA. **Estudo da atividade antiinflamatória do extrato etanólico de *Lafoensia pacari* Jaume St. Hilaire (Lythraceae)**. Dissertação de Mestrado: Universidade de São Paulo – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, 2002, vol. 1, p88.

ROMEIRO, REINALDO DA SILVA. Apostila: **Antibióticos em seu emprego em pesquisa com bactérias fitopatogênicas**. Universidade Federal de Viçosa – Departamento de Fitopatologia – Laboratório de Bacteriologia de Plantas. p. 12-15, 2006. Disponível em: < [www.ufv.br/dfp/bac/uni16.pdf](http://www.ufv.br/dfp/bac/uni16.pdf) >. Acessado em: 03 Aug. 2006.

ROLLINS-SMITH, L. A.; REINERT, L. K.; O'LEARY, C. J.; HOUSTON, L. E.; WOODHANS, D.C. Antimicrobial Peptide Defenses in Amphibian Skin. **Integr. Comp. Biol.**, vol. 45 p.137-142, 2005.

SADER, H. S.; JONES, R. N.; GALES, A. C.; SILVA, J. B., PIGNATARI, A. C.; AND THE SENTRY PARTICIPANTS GROUP (LATIN AMERICA). SENTRY Antimicrobial Surveillance Program Report: Latin American and Brazilian Results for 1997 through 2001. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, vol. 8, n.1 p.25-79, 2004. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1413-86702004000100004&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-86702004000100004&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 03 Feb. 2008. doi: 10.1590/S1413-86702004000100004.

SANTOS, LAÉRCIO WANDERLEY DOS. **Estudos ecológicos e agrônômicos de *Lafoensia pacari* St. Hil. (Lythraceae) na região de Barra do Garças-MT / 2006.** 60p. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Mato Grosso - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Agronomia Tropical, 2006. p.13-40. Disponível em: <<http://www.ufmt.br/agriculturatropical/dissert/LaercioWanderleySantos.pdf>>. Acessado em 20 agosto 2008.

SALVADOR, M.J. et al. In vitro antimicrobial activity of crude extracts and isolated constituents of *Alternanthera maritime*. **PHARMACEUTICAL BIOLOGY** , nº42 p.138-148, abril,2004.

SHLASE, D. M. et al. Society for Healthcare Epidemiology of America and Infectious Diseases Society of America Joint Committee on the Prevention of Antimicrobial Resistance: Guidelines for the Prevention of Antimicrobial Resistance in Hospitals. **Clinical Infectious Diseases**. 1997; 25:584–99. Disponível na word web: <[http://www.journals.uchicago.edu/CID/journal/issues/v25n3/se39\\_584/se39\\_584.web.pdf](http://www.journals.uchicago.edu/CID/journal/issues/v25n3/se39_584/se39_584.web.pdf)>

SILVA, B. P. & PARENTE, J. P. An anti-inflammatory and immunomodulatory polysaccharide from *Orbigynya phalerata*. **Fitoterapia**. Vol. 72, 887-893, 2001.

SILVA, C. G. et al. Evaluation of antioxidant activity of Brazilian plants. **Pharmacological research**. Vol. 52, 229-233, 2005.

SIMAS, FERNANDA. F. et al. Structure of a heteroxylan of gum exudate of the palm *Scheelea phalerata* (uricuri) . **Phytochemistry**. Vol. 65, n. 16, p. 2347-2355, 2004.

SIMÕES, C. M. A. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universidade do UFRGS/Ed. da UFSC, 2002. 821p

SOLON, S.; LOPES, L.; TEIXEIRA de SOUZA, P. Jr; SCMEDA-HIRSCHMANN, G. Free radical scavenging activity of *Lafoensia pacari*. **J. Ethnopharmacol.**, v. 72, n. 1-2, p. 173-178, 2000.

SOUZA, L. K. H. et al. Antifungal properties of brazilian cerrado plants. **Brazilian Journal of Microbiology**. vol.33, p. 247-249, 2002. [citado 02 Abril 2006] Disponível na Word Web: <<http://www.scielo.br/pdf/bjm/v33n3/v33n3a12.pdf> >

STEVENS, JAN F. et al. Distribution of alkaloids and tannins in the crassulaceae. **Biochemical Systematics and Ecology**. Vol. 3, n.2, p. 157-165, 1995.

SUÁREZ, A.D.; ULLOA, L.A.; CUELLO, D. Efecto cicatrizante de extracto fluido de hojas de siempreviva. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**. Vol. 1, p.16-18, 2001. Available from: < [http://bvs.sld.cu/revistas/pla/vol6\\_1\\_01/pla04101.pdf](http://bvs.sld.cu/revistas/pla/vol6_1_01/pla04101.pdf)>. Access on: 12 Aug 2006.

TALLENT, W. H. Two new antibiotic cyclopentanoid monoterpenes of plant origin. **Tetrahedron**. Vol.20, n. 7, p. 1781-1787, 1964.

TAVARES, W. **Manual de Antibióticos e quimioterápicos antiinfeciosos**. 2ª Edição. São Paulo: Editora Atheneu, 1996.

TAVARES, W. Problem gram-positive bacteria: resistance in staphylococci, enterococci, and pneumococci to antimicrobial drugs. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. Uberaba, v. 33, n. 3, 2000. Available from: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0037-86822000000300008&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822000000300008&lng=en&nrm=iso)>. Access on: 12 Aug 2006. doi: 10.1590/S0037-86822000000300008.

TEIXEIRA, M. A. Estimativa do potencial energético na indústria do óleo de babaçu no Brasil. In: **ENCONTRO DE ENERGIA NO MEIO RURAL**, 3., 2000, Campinas. Proceedings online... Available from: <[http://www.proceedings.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=MSC0000000022000000200045&lng=en&nrm=abn](http://www.proceedings.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=MSC0000000022000000200045&lng=en&nrm=abn)>. Access on: 03 Aug. 2006.

TEIXEIRA, MARCOS A. Heat and power demands in babassu palm oil extration industry in Brazil. **Energy Conversion and Management**. Vol. 46, p. 2068-2074, 2005.

TOBASA. Utilização do Babaçu. Home-page 2005. [citado 02 Junho 2005] Disponível na Word Web: <[http:// www.tobasa.com.br](http://www.tobasa.com.br) >

TOCANTINS. Lei nº 1.959, de 14 de agosto de 2008. Dispõe sobre a proibição da queima, derrubada e do uso predatório das palmeiras do coco de babaçu e adota outras providências. Diário Oficial do Estado do Tocantins, Palmas, TO, 15 agosto 2008, nº 2713, p.1-2. Disponível em <[http://www.assembleiaparticipativa.to.gov.br/arq/AL\\_arquivo/11490\\_Lei1959-08.pdf](http://www.assembleiaparticipativa.to.gov.br/arq/AL_arquivo/11490_Lei1959-08.pdf)>. Acessado em 20 agosto 2008.

TOCANTINS. Secretaria de Estado do Planejamento. **Estudo de Flora e Fauna**. Palmas, To, 2004. Acesso em: 14 de Dezembro de 2006. Disponível em: <[http://www.seplan.to.gov.br/zee/Flora\\_e\\_Fauna\\_publicacao\\_preliminar.pdf](http://www.seplan.to.gov.br/zee/Flora_e_Fauna_publicacao_preliminar.pdf)>.

UEDA, SHINICHI & IWAHASHI, YASUHIRO. Production of anti-tumor-promoting iridoid glucosides in *Genipa americana* and its cell cultures. **Journal of Natural Products**. Vol.54, n. 6, p.1677-1680, Nov-Dec, 1991.

WANG, J. et al. Platensimycin is a selective FabF inhibitor with potent antibiotic properties. **Nature**. Vol. 44, p. 358-361, 2006.

WAGNER, H. & BLADT, S. **Plant Drug Analysis**. Springer Verlag, Heidelberg, 1996.

YANG, SHU-WEI et al. Synthesis and biological evaluation of analogues of Cryptolepine, an alkaloid isolated from the Suriname Rainforest. **Journal of Natural Products**. Vol.62, n.7, p. 976-983, 1999.

YANG, Z. Q. et al. Extraction of effective parts of *Alternanthera philoxeroides* (Mart.) Griseb. And its antiviral effect. **Zhongguo Zhong Yao Za Zhi**. Vol.14, n.8, p. 488-490 e 511-2, 1989.

YEMITAN, O.K.; SALAHDEEN, H.M. Neurosedative and muscle relaxant activities of aqueous extract of *Bryophyllum pinnatum*. **Fitoterapia**. Vol. 76, p. 187-193, 2005.

YUNES, R. A. & CALIXTO, J. B. **Plantas Mediciniais sob a Ótica da Química Medicinal Moderna**. Chapecó: Ed. Argos. 2001, p. 17-75.

## 9 GLOSSÁRIO

**Antropisada:** ação do homem sobre o ambiente, refere-se a um meio onde se nota a influencia do homem.

**Droga:** é a matéria prima mineral, vegetal ou animal da qual se podem extrair um ou mais princípios ativos. De acordo com esta aceção, os agentes terapêuticos de origem sintética não são drogas.

**Fármaco:** é a substância química de constituição definida que pode ter aplicação em Farmácia, seja como preventivo, seja como curativo, seja como agente de diagnóstico; a ser aceita esta definição, a matéria prima mineral, vegetal ou animal da qual se podem extrair uma ou mais bases medicamentosas não é fármaco, pois sua constituição química não é necessariamente conhecida.

**Ecotonal:** Área de transição entre duas comunidades ecológicas adjacentes, tais como floresta e campina, resultante da competição mútua entre organismos comuns às duas.

**Medicamento:** produto farmacêutico, tecnicamente obtido ou elaborado, com finalidade profilática, curativa, paliativa ou para fins de diagnóstico"(Lei nº 5.991, de 17/12/73). É uma forma farmacêutica terminada que contém o fármaco, geralmente em associação com adjuvantes farmacotécnicos.

**Tocolítico<sup>2</sup>:** Drogas que previnem o parto antes do tempo e o nascimento imaturo, suprimindo as contrações uterinas (TOCÓLISE). Os agentes usados para retardar a atividade uterina prematura incluem o sulfato de magnésio, beta-miméticos, antagonistas da ocitocina, inibidores dos canais de cálcio e agonistas dos receptores beta-adrenérgicos.

---

<sup>2</sup> Termo descritor DeCS MeSH, categoria D27.505.696.875.825 e D27.505.954.705.825, <[http://www.bvs.br/php/decsws.php?lang=pt&tree\\_id=D27.505.696.875.825&page=info](http://www.bvs.br/php/decsws.php?lang=pt&tree_id=D27.505.696.875.825&page=info)>



**Fitoterápico:** são substâncias ativas presentes na planta com um todo, ou parte dela, na forma de extrato total ou processado (OMS, 2002).



**ANEXO**



Governo do Estado do Tocantins  
 FUNDAÇÃO DE MEDICINA TROPICAL DO TOCANTINS

### FORMULÁRIO PARA COLETA DE CAMPO

Número de Coleta: \_\_\_\_\_ Data da Coleta: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_.

Hora da Coleta: \_\_\_\_\_:\_\_\_\_\_.

Formulário de Origem: \_\_\_\_\_

**Nome Popular:** \_\_\_\_\_

Código Nome Popular: \_\_\_\_\_ Parte Coletada: \_\_\_\_\_

Localização: \_\_\_\_\_

Cidade: \_\_\_\_\_ Estado: \_\_\_\_\_.

Localização Geográfica: W: \_\_\_\_\_

S: \_\_\_\_\_

**Habitat:**

Solo: \_\_\_\_\_

Altitude: \_\_\_\_\_

Tipo de vegetação: \_\_\_\_\_

Vegetação associada: \_\_\_\_\_

Tipo de Planta: ( ) Erva ( ) Arbusto ( ) Árvore ( ) epífita ( ) Liana

Altura da Árvore: \_\_\_\_\_ Diâmetro: \_\_\_\_\_

Característica da casca: \_\_\_\_\_

Estruturas especiais de raiz: \_\_\_\_\_

Exsudados: \_\_\_\_\_

Característica da Flor: \_\_\_\_\_

Característica das Folhas: \_\_\_\_\_

Outras \_\_\_\_\_ Obs:

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Coletada por: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ /2005.

**Tabela 36 – Avaliação de Sensibilidade e ou Resistência de bactérias patogênicas utilizadas neste estudo referente a Antibióticos de uso convencional na terapêutica segundo a NCCLS – M2-A8 e M100-S15.**

| Antibióticos e Concentrações          | GRAM POSITIVAS     |             |                          |               |           | GRAM NEGATIVAS  |          |              |  |
|---------------------------------------|--------------------|-------------|--------------------------|---------------|-----------|-----------------|----------|--------------|--|
|                                       | S. aureus ATCC6538 | S. aureus** | S. epidermidis ATCC12228 | S. pyogenes** | S. ssp ** | P. aeruginosa** | K. ssp** | E. coli (B4) |  |
| Ácido Clavulínico + Amoxicilina 30mcg | S                  | S           | S                        | S             | S         | R               | S        | S            |  |
| Ácido Nalidíxico 30mcg                | S                  | S           | S                        | S             | R         | R               | S        | R            |  |
| Ácido Pipemídico 20mcg                | S                  | S           | S                        | S             | R         | S               | S        | R            |  |
| Amicacina 30mcg                       | S                  | S           | S                        | S             | S         | S               | S        | S            |  |
| Amoxicilina 10mcg                     | S                  | S           | S                        | S             | R         | R               | S        | R            |  |
| Ampicilina 10mcg                      | S                  | S           | S                        | S             | R         | R               | S        | R            |  |
| Azitromicina 15mcg                    | S                  | R           | S                        | S             | S         | R               | S        | S            |  |
| Aztreonam 30mcg                       | R                  | R           | R                        | R             | R         | S               | S        | S            |  |
| Cefalotina 30mcg                      | S                  | S           | S                        | S             | R         | R               | S        | S            |  |
| Cefazolida 30mcg                      | S                  | S           | S                        | S             | S         | R               | S        | S            |  |
| Cefepime 30mcg                        | R                  | S           | R                        | R             | R         | S               | S        | S            |  |
| Cefetamet 10mcg                       | R                  | R           | R                        | R             | R         | R               | S        | S            |  |
| Cefixina 5mcg                         | R                  | R           | R                        | R             | R         | R               | S        | S            |  |
| Ceflaclor 30mcg                       | S                  | S           | S                        | S             | S         | R               | S        | S            |  |
| Cefodizima 30mcg                      | S                  | S           | R                        | R             | R         | S               | S        | S            |  |
| Cefotaxima 30mcg                      | R                  | S           | S                        | S             | S         | S               | S        | S            |  |
| Cefoxitina 30mcg                      | S                  | S           | S                        | S             | R         | R               | S        | S            |  |
| Ceftazidima 30mcg                     | R                  | S           | R                        | R             | R         | S               | S        | S            |  |
| Ceftriaxona 30mcg                     | S                  | S           | S                        | S             | R         | S               | S        | S            |  |
| Cefuroxina 30mcg                      | R                  | S           | R                        | S             | R         | R               | S        | S            |  |
| Ciprofloxacina 5mcg                   | S                  | S           | S                        | S             | S         | S               | S        | R            |  |
| Claritromicina 15mcg                  | S                  | R           | S                        | S             | S         | R               | S        | R            |  |
| Cloranfenicol 30mcg                   | S                  | S           | S                        | S             | S         | S               | S        | R            |  |
| Doxicilina 30mcg                      | S                  | S           | S                        | S             | S         | R               | S        | S            |  |
| Eritromicina 15mcg                    | S                  | R           | S                        | S             | S         | R               | R        | R            |  |
| Estreptomomicina 10mcg                | S                  | S           | S                        | S             | R         | S               | S        | S            |  |

| Antibióticos e<br>Concentrações  | GRAM POSITIVAS        |             |                             |               |          | GRAM NEGATIVAS     |          |              |
|--|-----------------------|-------------|-----------------------------|---------------|----------|--------------------|----------|--------------|
|  | S. aureus<br>ATCC6538 | S. aureus** | S. epidermides<br>ATCC12228 | S. pyogenes** | S. ssp** | P.<br>aeruginosa** | K. ssp** | E. coli (B4) |
| Gentamicina 10mcg  | S                     | S           | S                           | S             | S        | S                  | S        | S            |
| Imipenen 10mcg   | S                     | S           | S                           | S             | S        | S                  | S        | S            |
| Kanamicina 30mcg   | S                     | S           | S                           | S             | S        | S                  | S        | R            |
| Levofloxacina 5mcg   | S                     | S           | S                           | S             | S        | S                  | S        | R            |
| Licomina 2mcg  | R                     | R           | R                           | R             | R        | R                  | R        | R            |
| Neomicina 30mcg  | S                     | S           | S                           | S             | R        | S                  | S        | R            |
| Nitrofurantoína 300mcg   | S                     | S           | S                           | S             | S        | R                  | S        | S            |
| Norfloxacina 15mcg   | S                     | S           | S                           | S             | S        | S                  | S        | R            |
| Ofloxacina 5mcg  | S                     | S           | S                           | S             | S        | S                  | S        | S            |
| Oxacilina 1mcg   | R                     | S           | S                           | S             | R        | R                  | R        | R            |
| Pefloxacina 5mcg   | S                     | S           | S                           | S             | S        | S                  | S        | R            |
| Penicilina G 10U.I.  | S                     | S           | S                           | S             | R        | R                  | R        | R            |
| Piiperaciclina<br>Tazobactram 110mcg                                       | + S                   | S           | S                           | S             | S        | S                  | S        | S            |
| Rifampicina 5mcg   | S                     | S           | S                           | S             | S        | S                  | S        | S            |
| Sulbactam 10mcg<br>Ampicilina 10mcg  | + S                   | S           | S                           | S             | R        | R                  | S        | S            |
| Sulfadiazol 25mcg<br>Sulfazotrim<br>(Sulfametoxazol<br>+Trimetropim) 25mcg | R                     | S           | S                           | S             | R        | S                  | S        | S            |
| Sulfonamidas 300mcg  | S                     | R           | S                           | S             | R        | S                  | R        | S            |
| Teicoplanina 30mcg   | S                     | S           | S                           | S             | S        | R                  | S        | R            |
| Tetraciclina 30mcg   | S                     | S           | S                           | S             | S        | S                  | S        | S            |
| Tianfenicol 30mcg  | R                     | S           | R                           | S             | S        | R                  | S        | R            |
| Ticarcilina 75mcg + Ácido<br>Clavulânico 10mcg                             | S                     | S           | S                           | S             | R        | S                  | S        | S            |
| Tobramicina 10mcg  | S                     | S           | S                           | S             | S        | S                  | S        | S            |
| Vacomina 30mcg   | S                     | S           | S                           | S             | S        | R                  | R        | R            |

**S-** Bactérias sensíveis ao antibiótico, considerando incluso valores intermediários, segundo interpretação dos valores de halo de inibição (mm) pela técnica de difusão em Água Muller Hinton; **R-** Bactérias resistentes ao antibiótico. \*\* Microrganismos isolados clinicamente do Hospital Regional de Porto Nacional-TO, pelo Laboratório de Microbiologia e Saúde Pública da UFT – Compôs de Porto Nacional.

**Composição do meio de cultura agar Mueller Hinton.**

|                          |       |
|--------------------------|-------|
| Extrato de Carne.....    | 2g    |
| Caseína hidrolisada..... | 17,5g |
| Amido.....               | 1,5g  |
| Agar.....                | 17g   |

ph ajustado para 7,3 a 25 °C após esterilização.

Modo de preparo:

38gr de meio de cultura foi pesado e diluído em 1 litro de água tipo 1 em um Erlenmayer de boca larga de 2 litros.

Após aquecer para completa dissolução do meio, foi fracionado em tubos de ensaio em volumes de 50ml

Esterelizado em autoclave vertical por 20 minutos à 121 °C.

Resfriado e mantido em Banho Maria, 50 °C, até ser vertido pela técnica de pour plate em placa estéreis.

X@@@e Batista, Hebert Lima

Atividade antimicrobiana de extratos vegetais de plantas do Estado do Tocantins/ Hebert Lima Batista. 2008.

152f.

Orientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Elisabete Amaral de Moraes

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará.  
Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Fortaleza, 2008.

1. Atividade Antimicrobiana 2. Bryophyllum pinnatum 3. Lafoensia pacari 4. Alternanthera cf. brasiliana 5. Orbignya 6. Genipa americana I. Moraes, Maria Elisabete Amaral de (Orient.).  
II. Título.

CDD T XXX.XXX

# 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](#)