

MARIA DAS GRAÇAS VALVERDE MARIANI PASSOS

**AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE
PRODUTOS DE PLANTAS NATIVAS DE REGIÕES DO
ESTADO DA BAHIA**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
LABORATÓRIO DE TECNOLOGIA FARMACÊUTICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUTOS NATURAIS E SINTÉTICOS BIOATIVOS**

João Pessoa
2007

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

MARIA DAS GRAÇAS VALVERDE MARIANI PASSOS

AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE PRODUTOS DE PLANTAS
NATIVAS DE REGIÕES DO ESTADO DA BAHIA

Trabalho de Tese apresentado ao
Programa de Pós-Graduação em
Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos
da Universidade Federal da Paraíba, em
cumprimento às exigências para
obtenção do título de Doutor.

Orientador: Profa. Dra. Edeltrudes de Oliveira Lima

Universidade Federal da Paraíba
Centro de Ciências da Saúde
Laboratório de Tecnologia Farmacêutica
Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos

P289a Passos, Maria das Graças Valverde Mariani
Avaliação de Atividade Antimicrobiana de Produtos de
Plantas Nativas de Regiões do Estado da Bahia / Maria das
Graças Valverde Mariani Passos. – João Pessoa, 2007
156 p.: il.
Inclui bibliografia
Orientador: Edeltrudes de Oliveira Lima
Tese (doutorado) - UFPB / CCS/ LTF
1.Plantas Medicinaiis–atividade antimicrobiana-Bahia I.
2.Plantas Nativas. 3. Produtos naturais.
UFPB/BC CDU 633.887 (813.8)

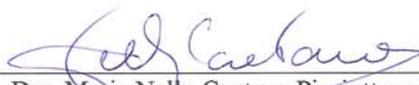
AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE PRODUTOS DE PLANTAS
NATIVAS DE REGIÕES DO ESTADO DA BAHIA

Aprovada em 29 de março de 2007

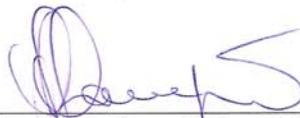
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dra. Edeltrudes de Oliveira Lima/UFPB
Orientador



Prof. Dra. Maria Nelly Caetano Pisciotano/UFPE
Examinador



Prof. Dra. Maria Carméli Correia Sampaio/USP
Examinador



Prof. Dr. José Pinto de Siqueira Junior/UFPB
Examinador



Prof. Dra. Margareth de Fátima F. M. Diniz/UFPB
Examinador

A

Lourival, pai muito querido, pelo seu empenho e sacrificio ao longo da vida, em prol da melhor educaçao para os filhos.

AGRADECIMENTOS

A Deus e aos bons amigos espirituais que me ampararam e fortaleceram nesta caminhada.

A minha família, Lourival, Josilda e Eugênio, pela compreensão diante de tantas ausências em momentos importantes.

A Moacir, o amor que veio do céu, por compartilhar as aflições e as alegrias deste doutorado.

À Profa. Dra. Edeltrudes de Oliveira Lima pela orientação ministrada e pela lição de alegria, estímulo e força ao longo deste trabalho.

Aos pesquisadores do GESNAT da UFBA, Prof Dr. Frederico Guaré Cruz, Prof. Dr. Dirceu Martins, Prof. Dr. Lafaiete Almeida Cardoso e suas equipes, pela obtenção dos produtos vegetais utilizados e compartilhamento dos resultados obtidos.

Ao corpo docente do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica e dos Laboratórios de Micologia e Microbiologia do Centro de Ciências da Saúde da UFPB, pelo convívio profissional enriquecedor em diferentes etapas do curso.

Aos docentes do Departamento de Biologia Molecular da UFPB, Profa. Dra. Maria do Socorro Vieira Pereira, Profa. Dra. Creuzione Santos e Prof. Dr. José Pinto de Siqueira Júnior, pelo suporte acadêmico e atenção dispensados e às colaboradoras Maria Angélica Ramos, Amely Martins e Alba Fabíola, pelo valioso auxílio técnico na execução dos ensaios, durante o trabalho desenvolvido nesse departamento.

Aos colegas e companheiros de curso, especialmente à Profa. Dra. Rinalda Araújo Guerra de Oliveira, pela amizade, enriquecimento pessoal e profissional que me proporcionaram.

A CAPES/PICDT pelo apoio financeiro durante a vigência do curso.

PASSOS, Maria das Graças Valverde Mariani. Avaliação de Atividade Antimicrobiana de Produtos de Plantas Nativas e Regiões do Estado da Bahia. 156 f. il. 2007. Tese (Doutorado) – Centro de Ciências da Saúde, Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2007.

RESUMO

O interesse por plantas com atividades antimicrobianas tem ressurgido como consequência dos problemas atuais relacionados ao uso de antibióticos e ao desenvolvimento de múltiplas resistências em microrganismos potencialmente patogênicos. Para detectar e avaliar o grau de atividade antimicrobiana de produtos de plantas nativas do Estado da Bahia, 17 espécies vegetais pertencentes a 6 famílias botânicas, foram investigados *in vitro* frente a bactérias, fungos leveduriformes e fungos filamentosos, através de ensaios de screening, determinação de concentração inibitória mínima (CIM), tempo de morte bacteriana e eletroforese de proteínas bacterianas. Todas as 17 espécies botânicas investigadas apresentaram atividade em diferentes espectros e graus de inibição, em função do material botânico testado. As cepas de *Staphylococcus aureus* foram inibidas por 16 das 17 espécies estudadas e as bactérias Gram-negativas foram inibidas por 4 espécies. Entre os microrganismos selecionados, *Staphylococcus aureus* sensível a Meticilina (MSSA), *Staphylococcus aureus* resistente a Meticilina (MRSA), *Microsporum canis* e *Trichophyton rubrum* foram os mais sensíveis e *Pseudomonas aeruginosa* o mais resistente à ação antimicrobiana das amostras testadas. A maioria dos óleos essenciais (OEs) apresentou espectro de ação superior aos dos extratos e frações, destacando-se os óleos de *Schinus terebinthifolius* (Anacardiaceae), *Protium baianus* (Burseraceae), *Poiretia bahiana* (Leguminosae) e de quatro espécies de *Myrcia* (Myrtaceae). *P. bahiana* apresentou as mais baixas CIMs para MSSA, MRSA e *C. neoformans* e *Myrcia myrtifolia* apresentou a mais baixa CIM para *C. albicans*. O OE de *S.terebinthifolius* inibiu o crescimento de todos os microrganismos ensaiados, apresentou rápida inativação e extravazamento protéico sobre *P.aeruginosa* e maior poder de fragilização de membrana para MRSA, enquanto que o OE de *P. bahiana* apresentou maior poder de fragilização de membrana para *E. coli*. As atividades apresentadas por *S.terebinthifolius*, *Acritopappus confertus* (Asteraceae), *A.micropappus*, *A. pintoii*, *Morithamnus ganophyllus* (Asteraceae), *Kielmeyera cuspidata* (Guttiferae), *P. bahiana*, *Zornia flemmingioides* (Leguminosae), *Mycia guianensis*, *M. sphenoides*, *M.myrtifolia* e *M. hiemalis* (Myrtaceae) contra MRSA e por *Mikania nitida* (Leguminosae), *M.ganophyllus* e *P.baianus* contra agentes etiológicos de micoses sistêmicas e dermatomicoses, indicam uma provável fonte de compostos de forte potencial terapêutico contra infecções causadas por esses microrganismos, entre estas espécies investigadas.

Palavras-chave: Plantas nativas da Bahia. Atividade antimicrobiana. Óleos essenciais. MSSA. MRSA.

PASSOS, Maria das Graças Valverde Mariani. Antimicrobial Activity Evaluation of Native Plant Products from Regions of Estado da Bahia (Brazil) 156 pp. ill. 2007. Thesis Doctorate – Centro de Ciências da Saúde, Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2007.

ABSTRACT

The interest about plants with antimicrobial activities has revived as a consequence of actual problems due to antibiotic use and to multiple resistance in potentially pathogens microorganisms. To detect and evaluate the degree of antimicrobial activity of native plant products from State of Bahia - Brazil, 17 vegetal species belonging to 6 botany families were investigated *in vitro* against bacteria and leveduriform and filamentous fungi, using screening, minimal inhibitory concentration (MIC), time – kill and protein electrophoresis assays. All the 17 vegetal species presented activity at different grades according to botanical material studied. The *Staphylococcus aureus* strains were inhibited by 16 vegetal species and Gram-negative bacteria by 4 species. Among the selected microorganisms, methicillin-susceptible *S. aureus* (MSSA) and methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA), *Microsporum canis* and *Trichophyton rubrum* were the most sensible and *Pseudomonas aeruginosa* was the most resistant to antimicrobial action. The majority of essential oils presented greater inhibition than extracts and fractions, among which *Schinus terebinthifolius* (Anacardiaceae), *Protium baianus* (Burseraceae), *Poiretia bahiana* (Leguminosae) and four *Myrcia* species (Myrtaceae). *P. bahiana* presented the lowest MICs to MSSA, MRSA and *Cryptococcus neoformans* and *Myrcia myrtifolia* presented the lowest MIC to *Candida albicans*. *S. terebinthifolius* essential oil inhibited the growth of all the assayed organisms, presented rapid inactivation and proteic leakage from *P.aeruginosa* and also presented the best power of membrane damage to MRSA, although *P. bahiana* presented greater membrane damage to *E. coli*. The activities presented by *S.terebinthifolius*, *Acritopappus confertus* (Asteraceae), *A.micropappus*, *A. pintoii*, *Morithamnus ganophyllus* (Asteraceae), *Kielmeyera cuspidate* (Guttiferae), *P. bahiana*, *Zornia flemmingioides* (Leguminosae), *Mycia guianensis*, *M. sphenoides*, *M.myrtifolia* e *M. hiemalis* (Myrtaceae) against MRSA and by *Mikania nitida* (Leguminosae), *M.ganophyllus* and *P.baianus* against ethiological agents of systemic mycoses and dermathomycoses, indicate a probable source of of compounds with strong therapeutic potential to treat infections caused by these microorganisms, among the vegetal species investigated.

Keywords: Native plants from Bahia. Antimicrobial activity. Essential oils. MSSA. MRSA.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	– Atividade antimicrobiana de <i>A.confertus</i> OE (1), <i>P. bahiana</i> OE folhas (2), <i>P. bahiana</i> OE frutos (3), <i>S. terebinthifolius</i> (4), <i>P. baianus</i> (5) e Gentamicina 10µg (6) frente a <i>E. coli</i>	68
Figura 2	– Atividade antimicrobiana de <i>A.confertus</i> OE (1), <i>P. bahiana</i> OE folhas (2), <i>P. bahiana</i> OE frutos (3), <i>S. terebinthifolius</i> (4), <i>P. baianus</i> (5) e Gentamicina 10µg (6) frente a <i>S. choleraesuis</i>	69
Figura 3	– Atividade antimicrobiana de <i>A.confertus</i> OE (1), <i>P. bahiana</i> OE folhas (2), <i>P. bahiana</i> OE frutos (3), <i>S. terebinthifolius</i> (4), <i>P. baianus</i> (5) e Gentamicina 10µg (6) frente a <i>P. mirabilis</i>	69
Figura 4	– Atividade antimicrobiana de <i>A.confertus</i> OE (1), <i>P. bahiana</i> OE folhas (2), <i>P. bahiana</i> OE frutos (3), <i>S. terebinthifolius</i> (4), <i>P. baianus</i> (5) e Gentamicina 10µg (6) frente a <i>P. aeruginosa</i>	70
Figura 5	– Atividade antimicrobiana de <i>P. bahiana</i> OE folhas (1), <i>P. bahiana</i> OE frutos (2), <i>S. terebinthifolius</i> (3), <i>P. baianus</i> (4) e Oxacilina 1µg (5) e <i>M.nitida</i> (6) frente a MSSA.	70
Figura 6	– Atividade antimicrobiana de <i>P. bahiana</i> OE folhas (1), <i>P. bahiana</i> OE frutos (2), <i>S. terebinthifolius</i> (3), <i>P. baianus</i> (4), <i>M. nitida</i> (5) e Vancomicina 30µg (6) frente a MRSA.	71
Figura 7	– Atividade antimicrobiana de <i>S. terebinthifolius</i> OE (1), <i>M. nitida</i> OE (2), <i>P.bahiana</i> FEE (3) e <i>P. baianus</i> (4) frente a <i>A. fumigatus</i>	71
Figura 8	– Atividade antimicrobiana de <i>S. terebinthifolius</i> OE (1), <i>M. nitida</i> OE (2), <i>P. baianus</i> (3) e <i>P.bahiana</i> FEE (4) frente a <i>P. notatum</i>	72
Figura 9	– Atividade antimicrobiana de <i>S. terebinthifolius</i> OE (1), <i>M. nitida</i> OE (2), <i>P.baianus</i> (3) e <i>P.bahiana</i> OE folhas frente a <i>C.herbarum</i>	72
Figura 10	– Atividade antimicrobiana de <i>S. terebinthifolius</i> OE (1), <i>M. nitida</i> OE (2), <i>P. baianus</i> (3) frente a <i>M. canis</i>	73
Figura 11	– Atividade antimicrobiana de <i>S. terebinthifolius</i> OE (1), <i>M. nitida</i> OE (2), <i>P. baianus</i> (3) frente a <i>T. rubrum</i>	73
Figura 12	– Atividade antimicrobiana de <i>A. pintoii</i> EM (1), <i>A. micropappus</i> EH (2), <i>A.confertus</i> EM (3), <i>A.confertus</i> EH (4), <i>M.ganophyllus</i> ED (5), <i>P. bahiana</i> EM (6) e <i>Z. flemmingioides</i> EM (7) frente a MSSA.....	76

Figura 13 – Atividade antimicrobiana de <i>A. pintoi</i> EM (1), <i>A. micropappus</i> EH (2), <i>A.confertus</i> EM (3), <i>A.confertus</i> EH (4), <i>M.ganophyllius</i> ED (5), <i>P.bahiana</i> EM (6) e <i>Z. flemmingioides</i> EM (7) frente a MRSA.	76
Figura 14 – Atividade antimicrobiana de <i>A.confertus</i> OE frente a <i>C.albicans</i> (1), <i>M. canis</i> (2) e <i>T. rubrum</i> (3).	77
Figura 15 – Atividade antimicrobiana de <i>K. cuspidata</i> EH folhas (1), <i>K. cuspidata</i> EH caule (2) frente a MSSA.	80
Figura 16 – Atividade antimicrobiana de <i>K. cuspidata</i> EH folhas (1), <i>K. cuspidata</i> EH caule (2) frente a MRSA	80
Figura 17 – Atividade antimicrobiana de <i>M.sphenoides</i> (1), <i>M. guianensis</i> (2), <i>M. myrtifolia</i> (3), <i>M. hiemalis</i> (4), Oxacilina 1µg (5) e diluente (6) frente a MSSA.	84
Figura 18 – Atividade antimicrobiana de <i>M.sphenoides</i> (1), <i>M. guianensis</i> (2), <i>M. myrtifolia</i> (3), <i>M. hiemalis</i> (4), Vancomicina 30µg (5) e diluente (6) frente a MRSA.	84
Figura 19 – Atividade antimicrobiana de <i>M. sphenoides</i> (1), <i>M.guianensis</i> (2), <i>M. myrtifolia</i> (3), <i>M. hiemalis</i> (4) frente a <i>M.canis</i>	85
Figura 20 – Atividade antimicrobiana de <i>M. sphenoides</i> (1), <i>M.guianensis</i> (2), <i>M.hiemalis</i> (3), <i>M. myrtifolia</i> (4) frente a <i>T. rubrum</i>	85
Gráfico 1 – Percentual de atividade das 35 amostras investigadas sobre o número de microorganismos ensaiados conforme a sequência estabelecida na Tabela 1.	87
Gráfico 2 – Percentual de inibição dos microorganismos pelas espécies botânicas investigadas.	88
Figura 21 – CIM de <i>P. bahiana</i> OE (1), <i>M. sphenoides</i> (2), <i>M. guianensis</i> (3), <i>M. myrtifolia</i> (4), <i>M. hiemalis</i> (5), <i>S. terebinthifolius</i> (6), <i>A. confertus</i> OE (7), <i>P. bahiana</i> FM (8), <i>P. bahiana</i> FEE (9), <i>P. bahiana</i> FAE (10), <i>P. bahiana</i> FH (11), controle de meio (a) e controle de microrganismo (b)) frente a MSSA.	93
Figura 22 – CIM de <i>P. bahiana</i> OE (1), <i>M. sphenoides</i> (2), <i>M. guianensis</i> (3), <i>M. myrtifolia</i> (4), <i>M. hiemalis</i> (5), <i>S. terebinthifolius</i> (6), <i>A. confertus</i> OE (7), <i>P. bahiana</i> FM (8), <i>P. bahiana</i> FEE (9), <i>P. bahiana</i> FAE (10), <i>P. bahiana</i> FH (11), controle de meio (a) e controle de microrganismo (b)) frente a MRSA.	94
Figura 23 – CIM de <i>P. bahiana</i> OE (1), <i>S. terebinthifolius</i> (2) frente a <i>E. coli</i> , controle de meio (a) e controle de microrganismo (b).	95

Figura 24 – CIM de <i>S. terebinthifolius</i> (1) frente a <i>S. choleraesuis</i> controle de meio (a) e controle de microrganismo (b).....	95
Figura 25 – CIM de <i>S. terebinthifolius</i> (1) frente a <i>P. aeruginosa</i> , controle de meio (a) e controle de microrganismo (b).....	96
Figura 26 – CIM <i>P. bahiana</i> OE (1), <i>S. terebinthifolius</i> (2) frente a <i>P. mirabilis</i> , controle de meio (a) e controle de microrganismo (b)	96
Figura 27 – CIM de <i>A. confertus</i> (1), <i>M. nitida</i> (2), <i>M. myrtifolia</i> (3), <i>P. bahiana</i> FEE (4), <i>P. bahiana</i> FAE (5), <i>P. bahiana</i> OE folhas (6), <i>P. bahiana</i> OE frutos (7), <i>P. baianus</i> (8), <i>S. terebinthifolius</i> (9), Cetoconazol (10), controle de microrganismo (11a) e controle de diluente (11b) frente a <i>C. albicans</i>	97
Figura 28 – CIM de <i>M. nitida</i> (1), <i>M. sphenoides</i> (2), <i>M. guianensis</i> (3), <i>M. myrtifolia</i> (4), <i>M. hiemalis</i> (5), <i>P. bahiana</i> FEE (6), <i>P. bahiana</i> OE folhas (7), <i>P. bahiana</i> OE frutos (8), <i>P. baianus</i> (9), <i>S. terebinthifolius</i> (10), controle de microrganismo (11a), controle de diluente (11b) e Cetoconazol (11C) frente a <i>C. neoformans</i>	97
Figura 29 – CIM de <i>M. ganophyllus</i> ED frente a MSSA (1), MRSA (2), <i>C. albicans</i> (3), <i>M. canis</i> (4) e <i>T. rubrum</i>	98
Figura 30 – CIM de <i>A. pintoii</i> EM frente a MSSA (1), MRSA (2) e <i>T. rubrum</i> (3)	99
Figura 31 – CIM de <i>A.confertus</i> EH frente a <i>C. albicans</i> (1), <i>C. neoformans</i> (2), <i>M. canis</i> (3) e <i>T. rubrum</i> (4).....	99
Figura 32 – CIM de <i>A.micropappus</i> EH frente a MSSA (1), MRSA (2), <i>C. albicans</i> (3)	100
Figura 33 – CIM de <i>K.cuspidata</i> EH frente a MSSA (1), MRSA (2).....	100
Figura 34 – CIM de <i>P.bahiana</i> EM frente a MSSA (1), MRSA (2), <i>C. albicans</i> (3), <i>C. neoformas</i> (4).....	102
Figura 35 – CIM de <i>Z. flemmigiodes</i> EM frente a MSSA (1) e MRSA (2).....	102
Figura 36 – Controles de crescimento em meio com DMSO (A), meio sem DMSO (B), e inibição de crescimento para MSSA (1), MRSA (2), <i>C. albicans</i> (3), <i>C. neoformans</i> (4), <i>M. canis</i> (5) e <i>T. rubrum</i> (6).....	104
Gráfico 3 – Efeito versus tempo de <i>P. bahiana</i> EM, FEE e controle sobre a viabilidade de MRSA	116
Gráfico 4 – Efeito versus tempo de OEs de <i>P. bahiana</i> , <i>S. terebinthifolius</i> , <i>M. sphenoides</i> e controle sobre a viabilidade de MRSA	117

Gráfico 5 – Efeito versus tempo de OE de <i>P. bahiana</i> , <i>S. terebinthifolius</i> e controle sobre a viabilidade de <i>E. coli</i>	118
Gráfico 6 – Efeito versus tempo de OE de <i>S. terebinthifolius</i> e controle sobre a viabilidade de <i>P. aeruginosa</i>	119
Figura 37 – Eletroforese de proteínas de sobrenadantes de cultura de MRSA tratadas com OEs de <i>P. bahiana</i> , <i>M. sphenoides</i> , <i>S. terebinthifolius</i> e em ausência de OE (CONTROLES) nos tempos 60, 90 e 120 minutos	122
Figura 38 – Eletroforese de proteínas de sobrenadantes de cultura de <i>E.coli</i> tratadas com OEs de <i>P. bahiana</i> , <i>S. terebinthifolius</i> e em ausência de OE nos tempos 60, 90 e 120 minutos (CONTROLES). Eletroforese de proteínas de sobrenadante de cultura de <i>P.aeruginosa</i> tratada com OE de <i>S. terebinthifolius</i> e em ausência de OE nos tempos 60, 90 e 120 minutos (CONTROLES)	122
Figura 39 – Mapa geográfico do Estado da Bahia com localização regional dos pontos de coleta das espécies botânicas investigadas.....	154
Figura 40 – Mapa topográfico da Chapada Diamantina.....	155
Figura 41 - Aroeira da Praia – <i>Schinus terebinthifolius</i> – Anacardiaceae.....	156
Figura 42 - Arruda da Serra – <i>Poiretia bahiana</i> – Leguminosae	156
Figura 43 – Cura Facada – <i>Acritopappus</i> spp. – Asteraceae.....	156
Figura 44 - <i>Morithamnus ganophyllus</i> – Asteraceae.....	156

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Famílias botânicas, espécies selecionadas, partes utilizadas, uso medicinal e tipo de material obtido para investigação de atividade antimicrobiana.	57
Tabela 2	- Correlação entre diluição e concentração em mg/mL de óleos essenciais “in natura”.	59
Tabela 3	- Média dos diâmetros (n=2) de halos de inibição (mm) do óleo essencial da Família Anacardiaceae e de padrões antimicrobianos testados frente a treze microrganismos.	68
Tabela 4	- Média dos diâmetros (n=2) de halos de inibição (mm) de amostras da Família Asteraceae e de padrões antimicrobianos testados frente a treze microrganismos.	75
Tabela 5	- Média dos diâmetros (n=2) de halos de inibição (mm) do óleo essencial da Família Burseraceae e de padrões antimicrobianos testados frente a treze microrganismos.	78
Tabela 6	- Média dos diâmetros (n=2) de halos de inibição (mm) de amostras da Família Guttiferae e de padrões antimicrobianos testados frente a treze microrganismos.	79
Tabela 7	- Média dos diâmetros (n=2) de halos de inibição (mm) de amostras da Família Leguminosae e de padrões antimicrobianos testados frente a treze microrganismos.	82
Tabela 8	- Média dos diâmetros (n=2) de halos de inibição (mm) de óleos essenciais da Família Myrtaceae e de padrões antimicrobianos testados frente a treze microrganismos.	83
Tabela 9	- CIMs de óleos essenciais (%) e de padrões antimicrobianos (µg/mL) para bactérias e fungos.	91
Tabela 10	- CIM de extratos, frações e óleos essenciais expressos em µg/mL.	92

Tabela 11 – População microbiana (UFC/mL) e redução percentual (%) de EM e FEE de <i>P. bahiana</i> frente a MRSA.	116
Tabela 12 – População microbiana (UFC/mL) e redução percentual (%) de OEs de <i>P.bahiana</i> , <i>S.terebinthifolius</i> e <i>M.sphenoides</i> frente a MRSA.	117
Tabela 13 – População microbiana (UFC/mL) e redução percentual (%) de OEs de <i>P.bahiana</i> e <i>S.terebinthifolius</i> frente a <i>E.coli</i>	118
Tabela 14 – População microbiana (UFC/mL) e redução percentual (%) de OEs de <i>S.terebinthifolius</i> frente a <i>P. aeruginosa</i>	119

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMH	Agar Mueller Hinton
ASD	Agar Sabouraud Dextrose 4%
ATCC	American Type Culture Collection
BHI	Brain Heart Infusion
CDB	Convenção da Diversidade Biológica
CIM	Concentração Inibitória Mínima
DMSO	Dimetilsulfóxido
EC	Extrato Clorofórmico
ED	Extrato Diclorometano
EE	Extrato Etanólico
EH	Extrato Hexânico
EM	Extrato Metanólico
EMC	Extrato Metanol/Clorofórmio
EMH	Extrato Metanol/Hexano
ESBL	Beta-lactamase de Espectro Ampliado
FAE	Fração Acetato de Etila da Partição do Extrato Metanólico
FEE	Fração Éter Etilico da Partição do Extrato Metanólico
FH	Fração Hexânica da Partição do Extrato Metanólico
FM	Fração Metanólica da Partição do Extrato Metanólico
GESNAT	Grupo de Estudos de Substâncias Naturais Orgânicas do Instituto de Química da Universidade Federal da Bahia
GISA	<i>Staphylococcus aureus</i> com resistência intermediária aos glicopeptídeos
GRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> com resistência total aos glicopeptídeos
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
INCQS	Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde
LPS	Lipopolissacarídeo
ME	Membrana Externa
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a Meticilina ATCC 33591
MSSA	<i>Staphylococcus aureus</i> sensível a Meticilina ATCC 25923
NCCLS	National Committee For Clinical Laboratory Standards

OE	Óleo Essencial
PM	Peso Molecular
SDS-PAGE	Eletroforese de Proteínas em Gel de Acrilamida Dodecil Sulfato de Sódio
SI	Sem Inibição
UFBA	Universidade Federal da Bahia
UFC	Unidade Formadora de Colônia
UFPB	Universidade Federal da Paraíba

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
2	OBJETIVOS	21
3	REVISÃO DE LITERATURA	22
3.1	BIODIVERSIDADE E ETNOFARMACOLOGIA: UMA BREVE ABORDAGEM	22
3.2	MICROORGANISMOS SELECIONADOS PARA ESTUDO E SUA IMPORTÂNCIA EM SAÚDE.....	27
3.2.1	Resistência Bacteriana e Terapêutica Atual	32
3.3	FAMÍLIAS, GÊNEROS E ESPÉCIES BOTÂNICAS SELECIONADAS PARA ESTUDO E SEUS PRINCIPAIS CONSTITUINTES	35
3.3.1	Família Anacardiaceae	35
3.3.1.1	Gênero <i>Schinus</i>	36
3.3.2	Família Asteracea	38
3.3.2.1	Gênero <i>Acritopappus</i>	39
3.3.2.2	Gênero <i>Lychnophora</i>	41
3.3.2.3	Gênero <i>Mikania</i>	42
3.3.2.4	Gênero <i>Morithamnus</i>	44
3.3.3	Família Burseraceae	44
3.3.3.1	Gênero <i>Protium</i>	45
3.3.4	Família Guttiferae	46
3.3.4.1	Gênero <i>Clusia</i>	46
3.3.4.2	Gênero <i>Kielmeyera</i>	48
3.3.5	Família Leguminosae	50
3.3.5.1	Gênero <i>Pouretia</i>	51
3.3.5.2	Gênero <i>Zornia</i>	52
3.3.6	Família Myrtaceae	53
3.3.6.1	Gênero <i>Myrcia</i>	54
4.	MATERIAL E MÉTODOS	56
4.1	SELEÇÃO E COLETA DE MATERIAL BOTÂNICO	56
4.2	OBTENÇÃO DOS EXTRATOS, FRAÇÕES E ÓLEOS ESSENCIAIS	58
4.3	PREPARO DO MATERIAL OBTIDO	58
4.3.1	Extratos e Frações	58

4.3.2	Óleos Essenciais	58
4.4	MICROORGANISMOS	59
4.5	MEIOS DE CULTURA	60
4.6	PREPARO E PADRONIZAÇÃO DE INÓCULOS MICROBIANOS	60
4.7	SCREENING	60
4.7.1	Execução e Leitura do Ensaio	61
4.8	DETERMINAÇÃO DE CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM)	61
4.8.1	Concentração Inibitória Mínima pelo Método de Diluição em Agar	62
4.8.1.1	Preparo dos Inóculos Microbianos	62
4.8.1.2	Execução e Leitura do Ensaio	62
4.8.2	Concentração Inibitória Mínima pelo Método de Microdiluição em Caldo	63
4.8.2.1	Preparo dos Inóculos Microbianos	63
4.8.2.2	Execução e Leitura do Ensaio	63
4.9	DETERMINAÇÃO DE TEMPO DE MORTE BACTERIANA	64
4.9.1	Preparo dos Inóculos Microbianos	65
4.9.2	Execução e Leitura do Ensaio	65
4.10	ELETROFORESE DE PROTEÍNAS BACTERIANAS	65
4.10.1	Preparo das Suspensões Microbianas	66
4.10.2	Execução e Leitura do Ensaio	66
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	67
5.1	SCREENING	67
5.1.1	Família Anacardiaceae	67
5.1.1.1	Gênero <i>Schinus</i>	67
5.1.2	Família Asteraceae	74
5.1.2.1	Gênero <i>Acritopappus</i>	74
5.1.2.2	Gênero <i>Lychnophora</i>	74
5.1.2.3	Gênero <i>Mikania</i>	74
5.1.2.4	Gênero <i>Morithamnus</i>	75
5.1.3	Família Burseraceae	77
5.1.3.1	Gênero <i>Protium</i>	77
5.1.4	Família Guttiferae	78
5.1.4.1	Gênero <i>Clusia</i>	78

5.1.4.2	Gênero <i>Kielmeyera</i>	78
5.1.5	Família Leguminosae	81
5.1.5.1	Gênero <i>Pouretia</i>	81
5.1.5.2	Gênero <i>Zornia</i>	81
5.1.6	Família Myrtaceae	82
5.1.6.1	Gênero <i>Myrcia</i>	82
5.2	CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM)	90
5.3	TEMPO DE MORTE BACTERIANA	114
5.4	ELETOFORESE DE PROTEÍNAS BACTERIANAS	120
6.	CONCLUSÕES	125
	REFERÊNCIAS	127
	ANEXO A – REGIÕES DE COLETA DO MATERIAL BOTÂNICO	154
	ANEXO B – FOTOGRAFIAS DE ALGUMAS ESPÉCIES INVESTIGADAS	156

1 INTRODUÇÃO

Desde as primeiras civilizações o homem tem demonstrado interesse pelo uso de plantas medicinais, na medida em que as utiliza em preparações empregadas na cura de várias enfermidades. O conhecimento sobre plantas medicinais simboliza muitas vezes o único recurso terapêutico de muitas comunidades e grupos étnicos e as observações populares sobre o uso de plantas medicinais, contribuem de forma relevante para a divulgação das propriedades terapêuticas dos vegetais, prescritos com frequência, pelos efeitos medicinais que produzem, apesar de não terem seus constituintes químicos conhecidos (MACIEL et al., 2002). Atualmente, estudos etnofarmacológicos registram grande número de aplicações de plantas que obtiveram confirmações de atividade farmacológica, comprovando assim o conhecimento popular que deu origem a inúmeros medicamentos fitoterápicos a partir do uso empírico (ELIZABETSKY,1993).

As mais remotas informações sobre drogas vegetais são de origem indiana, do Ayurvedá (Ciência da Vida), que consiste no sistema de medicina da Índia com registros de até 2500 a.C. e informações sobre o uso de plantas medicinais cientificamente catalogadas, num total de 10.000 plantas registradas desde aproximadamente 1000 a.C. (CHOPRA et al., 1958). Estas informações contribuíram para o conhecimento atual sobre as plantas e o isolamento de substâncias que hoje são utilizadas na prática médica e em muitos segmentos industriais. Entre os incontáveis produtos de metabolismos secundários das plantas, o Phytochemical Dictionary (Harborne & Baxter, 1993), totaliza o número de 2.973 compostos com atividade biológica bem caracterizada. Esta vasta gama de compostos orgânicos naturais biologicamente ativos, pode apresentar ação antiinflamatória, analgésica, antiviral, fungicida, bactericida e as mais diversas aplicações nas áreas da saúde, alimentos, agroquímica e cosmética.

A medicina do século XX trouxe a descoberta de grupos de compostos produzidos por microrganismos capazes de inibir o crescimento de outros organismos e até destruí-los, a era da “antibiose”, iniciada historicamente em 1928, com a descoberta da penicilina a partir do fungo *Penicillium notatum*, por Alexander Fleming. A utilização incorreta e indiscriminada destes compostos resultou no desenvolvimento da resistência microbiana e, a partir daí, cresceu o interesse sobre infecções, em vista do aumento do número de casos, da própria resistência aos tratamentos e da alta mortalidade (RODRIGUES et al, 1997).

Em época posterior ao descobrimento das sulfonamidas e da penicilina era raro efetuar-se prova de sensibilidade dos microrganismos às drogas. Os pacientes eram tratados de forma empírica e os microrganismos eram sensíveis. Só após o surgimento de cepas resistentes, os microbiologistas passaram a realizar testes de sensibilidade, que forneciam resultado quantitativo da concentração de agente antimicrobiano necessária para inibir o desenvolvimento de determinado microrganismo. Este método tornou-se a base para a determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM), parâmetro indispensável para o estabelecimento da dose terapêutica efetiva do agente antimicrobiano. Esta dose é geralmente definida em cerca de quatro vezes a CIM *in vitro*, embora isto nem sempre seja possível ou necessário na prática (BAILEY&SCOTT, 1996).

Nas últimas décadas, a crescente incidência de efeitos adversos associados às drogas convencionais, aliada ao surgimento de resistência microbiana a antibióticos, desinfetantes e germicidas e a importância clínica dada às infecções, principalmente em indivíduos imunocomprometidos, tem direcionado pesquisas com o objetivo de se obter novos produtos de origem vegetal, eficientes para o tratamento dessas infecções e menos tóxicos para os pacientes. Neste contexto, o estudo de produtos oriundos de vegetais com atividade antimicrobiana, vem ganhando grandes perspectivas (PAULO et al., 1992, RECIO et al., 1989).

As substâncias naturais compreendem atualmente apenas cerca de 11,5% do total prescrito na medicina moderna, embora metade dos 25 medicamentos mais vendidos no mundo, tenha sua origem em produtos naturais de plantas. Assim, as companhias farmacêuticas, da mesma maneira que os herboristas, dependem parcialmente da natureza para produzir drogas que são colocadas no mercado (SIMÕES et al., 2002)

O Brasil é o país com a maior diversidade genética vegetal no mundo, contando com mais de 55.000 espécies catalogadas de um total estimado entre 350.000 e 550.000 espécies. Várias dessas espécies são endêmicas de uma região e ainda não foram avaliadas do ponto de vista fitoquímico e farmacológico (SIMÕES et al., 2002). Isto significa que uma grande

quantidade de compostos bioativos ainda não foi descoberta e existem grandes possibilidades para a obtenção de compostos naturais de alto valor no mercado internacional.

A Chapada Diamantina, região que originou a maioria das espécies botânicas investigadas neste trabalho, situa-se no centro do Estado da Bahia, destacando-se por sua altitude e irregularidade do relevo, que aliadas às chuvas abundantes criam um lugar especial, com rios que correm sobre leitos de pedras polidas, formando cascatas, cachoeiras e poços fundos, entre serras cobertas com enorme variedade de plantas adaptadas a esse clima tão particular. Assim, na Chapada Diamantina ocorrem os mais variados tipos de vegetação, denominados campo rupestre, cerrado, floresta e caatinga, sendo traduzidos como “mosaicos” cujos habitats guardam características próprias (FUNCH et al., 2004). A Chapada Diamantina pode ser considerada como a maior fonte de recursos hídricos da região central do Estado da Bahia, e no manejo cuidadoso de seu ecossistema, reside a segurança desse valioso recurso natural, fato que foi reconhecido pelo Estado e resultou na publicação de um artigo, realizada através do IBGE, ressaltando a sua importância em termos sócio-econômicos (COSTA et al., 1993; STANNARD et al., 1995).

A busca de princípios ativos mais eficazes e menos agressivos para o homem, motivada pela existência de enfermidades endêmicas ou não, para as quais ainda não se obteve terapêutica efetiva, assim como para doenças decorrentes de novos agentes etiológicos, de procedimentos diagnósticos e terapêuticos invasivos, de poluição ambiental e de alterações no ecossistema, tem colocado as pesquisas sobre plantas medicinais em patamar de reconhecida importância e tem aberto novas perspectivas para os estudos de etnofarmacologia, fitoquímica e microbiologia, entre outros de igual relevância. Neste aspecto, o Brasil tem a dupla vantagem de contar com uma flora exuberante e uma extensa superfície fértil e, qualquer que seja a política interna com relação à pesquisa de fitocompostos, esta deve levar em consideração a necessidade de aprofundar os conhecimentos sobre os valiosos princípios ativos escondidos na flora brasileira e também, de preservar as espécies que já são objeto de investigação científica, bem como aquelas que podem vir a ser de grande interesse no futuro.

2 OBJETIVOS

Considerando a rica diversidade de plantas de uso medicinal e a parcela bastante reduzida de espécies vegetais pesquisadas até o momento, em relação ao vasto potencial oferecido pelas plantas nativas brasileiras, este trabalho tem como objetivos:

1. investigar a atividade antimicrobiana de espécies vegetais de diversas localidades do Estado da Bahia, algumas das quais sem referências na literatura, como *Morithamnus ganophyllus*, *Mikania nitida*, *Poiretia bahiana*, *Protium baianus*, *Myrcia myrtifolia*, e *Zornia flemmingioides* frente a microrganismos potencialmente patogênicos, e dessa forma contribuir para o aumento do número de espécies estudadas;
2. avaliar o espectro de ação e o grau de inibição de produtos de dezessete espécies botânicas, obtidos na forma de extratos, frações e óleos essenciais, frente a treze microrganismos;
3. determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) das amostras que apresentarem inibição significativa na primeira etapa da investigação;
4. efetuar ensaios para determinação do tempo de morte bacteriana das amostras que apresentarem as menores CIMs para bactérias Gram-negativas e Gram-positivas;
5. realizar ensaios adicionais para obtenção de dados sobre os prováveis mecanismos de ação das amostras que demonstrarem efetiva atividade bactericida.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 BIODIVERSIDADE E ETNOFARMACOLOGIA: UMA BREVE ABORDAGEM

Biodiversidade pode ser entendida como a associação de ecossistemas, comunidades, espécies, populações e genes num espaço geográfico definido, tendo como uma das principais características, a distribuição relativa desigual de seus componentes (DOBSON, 1996).

Dados estatísticos sobre o número de espécies de organismos descritas, mostram que os artrópodes constituem a maior parcela (75,4%) de biodiversidade da terra e só os insetos compreendem 62,0% da diversidade global. Apesar do número, esse grupo permanece relativamente intacto, como fonte de novos compostos. Baseado no número de espécies conhecidas, as plantas representam a segunda maior fonte (15%) de biodiversidade (HAMMOND, 1995). Estimativas revelam que entre 20 mil e 55 mil espécies de plantas tem sido utilizadas em medicina, das quais apenas uma pequena quantidade foi investigada para busca de novas drogas. Entre as que foram pesquisadas, estão espécies que produzem drogas importantes como quinina, reserpina, vimblastina, vincristina, atropina e morfina (HAMBURGER & HOSTETTMANN, 1991). No geral, apenas 15 a 20% das plantas terrestres foram avaliadas quanto ao seu potencial farmacêutico. Conseqüentemente, plantas, incluindo as de uso medicinal que ainda não foram investigadas, continuam a representar uma fonte significativa de matéria prima para a descoberta de novas drogas. Entre 40% dos medicamentos obtidos de fontes naturais disponíveis em terapêutica, 25% foram desenvolvidos de plantas. Embora só cerca de 10% da biodiversidade mundial tenha sido estudada, 140 mil metabólitos intermediários, originados principalmente de plantas superiores e de microrganismos, foram isolados e identificados, mas ainda não foram avaliados biologicamente (SOEJARTO et al., 2005).

A maior biodiversidade do mundo, concentrada em território brasileiro, é estimada em cerca de 20% do número total de espécies do planeta. O Brasil é o país com a maior diversidade genética vegetal do mundo, com mais de 55mil espécies catalogadas, de um total estimado em cerca de 550 mil espécies, o que o torna alvo de países do hemisfério norte ricos em tecnologia , mas pobres em recursos genéticos (ELISABETSKY & COSTA CAMPOS, 1996). Apesar dessa biodiversidade, apenas 8% das espécies vegetais da flora brasileira foram estudadas em busca de compostos bioativos, 1.100 espécies tiveram suas propriedades medicinais avaliadas (GARCIA et al., 1996) e destas, 590 plantas foram registradas no Ministério da Saúde para comercialização (ORTEGA et al., 1989).

O mercado mundial de medicamentos obtidos de produtos naturais, atinge hoje, vários bilhões de dólares. Embora o mercado brasileiro de fitomedicamentos tenha alcançado o equivalente a 5,9% do mercado interno de medicamentos, o panorama atual nesta área mostra que 84% de todos os fármacos são importados e que 78% da produção brasileira é feita por empresas multinacionais. Estas informações apontam para a necessidade de buscar alternativas para superar a dependência externa, principalmente quando se comparam os altos preços praticados no Brasil com os praticados nos países desenvolvidos (BERMUDEZ, 1995).

Com valor econômico incalculável em diversas atividades, o maior potencial da biodiversidade brasileira está atualmente, na área de desenvolvimento de novos fármacos. A terapêutica atual, com medicamentos de ações específicas sobre receptores, canais iônicos e enzimas, não teria sido alcançada sem a contribuição de produtos naturais das plantas superiores, das toxinas animais e dos microrganismos. (CRAGG, 1997; PANDEY, 1998; SHU, 1998). O interesse pela biodiversidade para a produção de medicamentos cresceu visivelmente com a conclusão do genoma humano, já que o número de possíveis alvos terapêuticos aumentou de aproximadamente 500 para mais de 6 mil. (VERPOORTE, 1998).

Embora esteja entre os países detentores de megadiversidade, na década de 80, o Brasil foi responsável por 28% das perdas das florestas tropicais e por 14% de outros tipos de florestas na América do Sul, alcançando um patamar de devastação praticamente irreversível, dada a complexidade de ecossistemas tropicais e tendo como consequência, a perda da diversidade genética associada à destruição, fragmentação dos ecossistemas e aos estresses ambientais como poluição e mudanças climáticas (SOULÉ, 1991). Outro aspecto relevante associado à devastação das florestas tropicais, é a perda do conhecimento acumulado sobre o uso medicinal das plantas dessas florestas, pelas comunidades nativas. A devastação provoca migração dessas comunidades para outras regiões, levando ao rompimento do fluxo de conhecimento adquirido e acumulado ao longo do tempo

(SCHULTES, 1994), trazendo implicações negativas para a identificação de novas drogas através da etnobotânica e etnofarmacologia (BUENZ, 2005).

Alguns problemas dificultam o aproveitamento da diversidade vegetal no Brasil para o desenvolvimento de novos fármacos, entre os quais se inclui a falta de leis específicas para o acesso à biodiversidade; tempo às vezes longo para a descoberta de novas moléculas; dificuldade de síntese de moléculas isoladas de produtos naturais, devido a sua complexidade; alto custo das pesquisas; poucas bibliotecas de compostos naturais disponíveis e pouca informação com relação à estrutura-atividade desses compostos (STROBL, 2000). Este quadro demonstra a necessidade de estabelecimento de políticas e ações de caracterização, conservação e proteção da diversidade genética vegetal, como também a criação de indústrias de base tecnológica e formação e qualificação de recursos humanos. Não menos importantes são as ações relacionadas à propriedade intelectual e industrial, cujas leis vigentes são passíveis de alterações para melhor adequação ao panorama atual, visando oferecer maior controle e vigilância aos processos de bioprospecção em território nacional. Nesse sentido, a Convenção da Diversidade Biológica (CDB), assinada durante a Conferência das Nações Unidas sobre Meio Ambiente e Desenvolvimento, realizada na cidade do Rio de Janeiro em junho de 1992, deu ensejo a ampla discussão sobre o assunto. A CDB tem como objetivos a conservação da diversidade biológica, a utilização sustentável de seus componentes e a repartição justa e equitativa dos benefícios derivados da utilização dos recursos genéticos, mediante o acesso a esses recursos e a transferência adequada de tecnologias pertinentes, levando em conta todos os direitos sobre tais recursos e tecnologias, mediante o financiamento adequado.

O consumo de plantas medicinais baseado em informações terapêuticas, acumuladas durante séculos em todo o mundo, é uma prática que tem se intensificado nas últimas décadas, embora o uso de plantas no tratamento e cura de enfermidades, seja tão antigo quanto a espécie humana. No Brasil, só na região Amazônica, cerca de 1.200 plantas são comercializadas no mercado Ver-o-Peso, em Belém do Pará e 260 espécies nativas e cultivadas já foram catalogadas em comunidades que vivem às margens da baía de Marajó. Esse tipo de cultura medicinal desperta o interesse de pesquisadores em áreas multidisciplinares como botânica, farmacologia e fitoquímica, que juntas, buscam ampliar o conhecimento sobre a flora mundial (MACIEL et al., 2002).

Um dos constantes desafios na pesquisa de produtos naturais, era saber qual a melhor maneira de investigar uma atividade biológica desejável. Várias abordagens para seleção de espécies vegetais têm sido descritas na literatura (ELISABETSKY & MORAES, 1988), entre

as quais, três tipos tem sido alvo de maior atenção: a) abordagem randômica - escolha da planta sem qualquer critério, tendo como fator determinante a disponibilidade da planta; b) abordagem quimiotaxonômica ou filogenética - seleção da espécie correlacionada com a ocorrência de uma determinada classe química de compostos em um gênero ou família; c) abordagem etnofarmacológica – seleção da espécie de acordo com o uso terapêutico evidenciado por um grupo étnico. De acordo com a abordagem randômica, 10.000 diferentes tipos de plantas significam 50.000 a 100.000 possibilidades estruturais de produtos naturais, elevando as probabilidades de descobertas de substâncias inéditas pela seleção randômica. No entanto, a seleção etnofarmacológica favorece com maior probabilidade a descoberta de substâncias bioativas, já que nesta abordagem, a descrição do histórico da planta como um recurso terapêutico eficaz para o tratamento e cura de enfermidades de determinado grupo étnico, se traduz na economia de tempo, direcionando mais objetivamente as etapas de pesquisa. (MACIEL et al., 2002).

A Etnofarmacologia, uma divisão da Etnobiologia, é uma disciplina voltada para o estudo do complexo conjunto de relações de plantas e animais com sociedades humanas presentes ou passadas (BERLIN, 1992). Como estratégia na investigação de plantas medicinais, a abordagem etnofarmacológica consiste em combinar informações adquiridas junto a comunidades que fazem uso da flora local, com estudos químicos e farmacológicos realizados em laboratórios especializados. Neste aspecto, a seleção etnofarmacológica de espécies vegetais para pesquisa e desenvolvimento, baseada na informação de um efeito terapêutico, pode se constituir num valioso atalho para a descoberta de fármacos. Por se basear em informações de utilidade terapêutica, a etnofarmacologia pode levar à identificação de produtos com mecanismos de ação totalmente desconhecidos, ao contrário da abordagem mecanicista, que se baseia na interferência dos produtos em teste com mecanismos farmacodinâmicos predeterminados. Este fato é mais relevante ainda, quando se considera a desistência de pesquisa e desenvolvimento relacionados a um composto, o maior impasse da indústria farmacêutica (ELISABETSKY, 1993).

A indústria farmacêutica aceita como razoável a relação de 1: 10.000 entre compostos comercializado/estudados; as que aplicam procedimentos de triagem associados à química combinatória, clonagem de receptores e automação consideram razoável 1: 250.000. Mesmo quando se conhece o mecanismo de ação desejado e se tem o ensaio *in vitro* apropriado para detectá-lo, a maior parte dos compostos testados é descartada por ausência de biodisponibilidade ou por toxicidade para o homem. De cada dez compostos descobertos,

quatro seguem para a fase de desenvolvimento e desses, 50% apresentam toxicidade e/ou efeitos adversos antes mesmo de iniciarem os estudos da fase clínica I (HARVEY, 2002).

Os resultados das pesquisas com plantas medicinais podem ter desdobramentos em vários níveis. Individualmente, a descoberta de novos fármacos ou fármacos acessíveis, pode determinar a melhoria da qualidade de vida no caso de doenças crônicas ou a própria sobrevivência do paciente. Socialmente, a descoberta de fontes naturais locais de compostos químicos que são usualmente importados junto ao desenvolvimento de fitomedicamentos de fabricação nacional, podem ter conseqüências econômicas significativas, possibilitando também que cada país tenha autonomia para gerenciar suas políticas de saúde. Nesse sentido, a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, aprovada por meio do Decreto N° 5.813, de 22 de junho de 2006, tem como objetivo, garantir à população brasileira o acesso seguro e o uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos, promovendo o uso sustentável da biodiversidade, o desenvolvimento da cadeia produtiva e da indústria nacional. Com esta iniciativa, o Brasil com seu amplo patrimônio genético e sua diversidade cultural, tem em mãos a oportunidade para estabelecer um modelo de desenvolvimento próprio e soberano na área de saúde e uso de plantas medicinais e fitoterápicos, que priorize o uso sustentável dos componentes da biodiversidade e respeite os princípios éticos e compromissos internacionais assumidos, notadamente a Convenção da Diversidade Biológica (CDB). No plano de desenvolvimento das diretrizes da Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, destacam-se o fomento à pesquisa, desenvolvimento tecnológico e inovação com base na biodiversidade brasileira, abrangendo espécies vegetais nativas e exóticas adaptadas, priorizando as necessidades epidemiológicas da população (BRASIL, 2006). É nesse contexto, que a etnobotânica e etnofarmacologia assumem o importante papel de mediador entre o conhecimento tradicional e sua utilização comercial, já que essas disciplinas resgatam e organizam os conhecimentos tradicionais de maneira utilizável por processos de desenvolvimento tecnológico (ELISABETSKY & MORAES, 1989).

A despeito das questões que se apresentam, o uso de produtos naturais bioativos na investigação de processos moleculares e farmacológicos de organismos vivos irá continuar em condições até mais sofisticadas, graças aos avanços alcançados pela biologia molecular. Unindo a capacidade tecnológica que a biologia molecular oferece, à diversidade química, o futuro da descoberta de drogas oriundas de produtos naturais é mais promissor do que antes. Os produtos naturais descobertos até o momento, têm desempenhado papel vital no melhoramento da condição humana e este papel continuará a existir na medida em que houver fontes inexploradas de novos produtos naturais (CLARK, 1996). Segundo SOEJARTO et al.

(2005), ... “a biodiversidade mundial continuará a ser um alvo atrativo para a realização de bioprospecção em massa no futuro”.

3.2 MICRORGANISMOS SELECIONADOS PARA ESTUDO E SUA IMPORTÂNCIA EM SAÚDE.

A escolha da maioria das cepas microbianas utilizadas neste trabalho foi baseada na sua relevância em clínica médica e na sua conhecida sensibilidade aos agentes antimicrobianos usados na terapêutica atual.

As bactérias Gram-negativas selecionadas, com exceção de *Pseudomonas aeruginosa*, pertencem à família Enterobacteriaceae. Do ponto de vista médico, alguns bastonetes Gram-negativos desta família, constituem um grupo importante de microrganismos que causam enfermidades no trato gastrointestinal e em outros órgãos. Entre esses, a *Escherichia coli* é o habitante mais prolífero do trato intestinal do homem, onde sua presença é benéfica, por auxiliar a produção de algumas vitaminas e promover a quebra de alimentos não digeríveis. Devido ao grande conhecimento obtido sobre sua bioquímica e genética, *E.coli* é, provavelmente, o organismo mais familiar em microbiologia e continua sendo uma ferramenta importante em pesquisa biológica. Sua presença em água ou alimentos é também importante como indicador de contaminação fecal. Embora não seja considerado um microrganismo patogênico, *E.coli* pode ser a causa comum de infecções do trato urinário. Algumas cepas produzem enterotoxinas não invasivas causadoras da “diarréia dos viajantes” e de diarréia infantil em países em desenvolvimento. Menos comuns são os casos provocados por cepas invasivas de *E.coli* que tem como alvo a parede intestinal, causando inflamação, febre e disenteria. As cepas produtoras de toxinas enterohemorrágicas são a causa de graves surtos de enfermidades associadas à ingestão de carne e leite bovinos. O patógeno mais virulento neste grupo, *E.coli* O157: H7, é habitante ocasional do trato intestinal de bovinos, onde não produz efeito patogênico, mas é responsável pelo quadro de colite hemorrágica no homem, ocasionando alta taxa de mortalidade infantil (TORTORA et al., 1998).

Salmonella choleraesuis, microrganismo potencialmente patogênico, é o agente etiológico de salmoneloses, distúrbios caracterizados pela invasão e proliferação microbiana da mucosa intestinal do homem que pode se estender pelas vias linfáticas, sistema cardiovascular e outros órgãos. Este microrganismo tem sua origem no trato intestinal de

muitos animais e pode ser veiculado por alimentos contaminados durante o processamento. Embora a taxa de mortalidade por salmoneloses seja baixa, o índice de morte, ocasionado por septicemia é mais alto em crianças e idosos (TORTORA et al., 1998).

Proteus mirabilis é uma enterobactéria que apresenta acentuada capacidade de crescimento expansivo, devido à existência de até milhares de flagelos por célula microbiana. A presença deste microrganismo está associada à infecções do trato urinário, ferimentos e diarreia infantil (TORTORA et al., 1998).

Entre os bastonetes Gram-negativos, muitas espécies têm importância médica, industrial e ambiental. Os do gênero *Pseudomonas*, muito comuns no solo e em outros ambientes naturais, são capazes de sintetizar um grande número de enzimas e provavelmente contribuem significativamente para a decomposição de pesticidas. Em ambientes hospitalares, devido à sua habilidade para crescer em fontes de carbono não usuais e em antissépticos e desinfetantes, assim como a sua resistência à maioria dos antibióticos, este gênero tem sido objeto de intensas pesquisas nas áreas de biologia molecular e genética microbiana. *P. aeruginosa*, a espécie mais proeminente, é considerada um modelo de patógeno oportunista. É produtora de exotoxinas e endotoxinas, responsáveis em grande parte, pela sua patogenicidade. Em indivíduos saudáveis, a espécie pode causar infecções superficiais na pele e otite externa. Em indivíduos comprometidos por deficiências imunológicas ou por doenças pulmonares crônicas, *P. aeruginosa* muitas vezes causa infecções respiratórias oportunistas e constitui sério risco para pacientes queimados, particularmente aqueles com queimaduras de segundo e terceiro graus, podendo levar a septicemia.

Uma característica comum entre as bactérias Gram-negativas é a presença de uma membrana externa, que circunda a camada de peptidoglicano e é constituída de lipoproteínas, lipopolissacarídeos (LPS) e fosfolipídeos. Esta membrana tem funções especializadas: sua forte carga negativa é fator importante para escapar da fagocitose e ação do complemento, dois componentes de defesa do hospedeiro; a membrana externa também produz uma barreira à certos antibióticos, enzimas, detergentes, metais pesados, sais biliares e a certos corantes. Parte da sua permeabilidade é devida a proteínas na membrana, as porinas, que formam canais permitindo a passagem de moléculas. O componente LPS é responsável por duas características importantes das bactérias Gram-negativas. Primeira, a porção polissacarídica é composta de açúcares que funcionam como antígenos e permitem a identificação de espécies e sorotipos, como no caso da *E.coli* O157:H7. Segunda, a porção lipídica do LPS, chamada lipídio A, é uma endotoxina que, uma vez liberada na corrente sanguínea ou no trato intestinal do hospedeiro, desencadeia um quadro de febre e choque (TORTORA et al., 1998). Essas

endotoxinas, complexos de alto peso molecular, constituem a maior fonte de pirogênios para a indústria farmacêutica, tornando a sua detecção e eliminação um desafio à produção de medicamentos e outros produtos de uso parenteral (PINTO et al., 2000).

Staphylococcus aureus, a bactéria Gram-positiva selecionada para estudo, situa-se entre os cocos Gram-positivos de interesse médico. Este patógeno cresce comparativamente bem sob condições de alta pressão e baixa umidade, o que explica em parte, a sua capacidade de crescimento e sobrevivência nas cavidades nasais e em certos alimentos que, pelas referidas condições de pressão e umidade, tendem a inibir outros microrganismos. Devido a uma considerável resistência ao calor, células vegetativas de *S.aureus* podem tolerar exposição a 60°C por 30 minutos. Sua resistência à dessecação e radiação também auxiliam a sua sobrevivência na superfície da pele, para onde são carregados a partir das cavidades nasais do hospedeiro. *S.aureus* produz muitas toxinas que aumentam a sua habilidade de invadir e causar danos teciduais. As infecções mais comuns envolvem a pele e feridas em sítios diversos. Algumas infecções são agudas, piogênicas e podem disseminar para outros tecidos, provocando focos metastásicos. Quadros mais graves como bacteriemia, pneumonia, endocardite, miocardite, meningite, abscessos musculares e cerebrais são descritos com frequência (LOWY, 1998). Uma causa muito comum de gastroenterite é a intoxicação alimentar por ingestão de enterotoxina produzida por este microrganismo, que afeta o trato intestinal de modo semelhante à toxina do cólera: a formação de AMP cíclico a partir de ATP no citoplasma de células epiteliais do intestino delgado, induz a liberação de grandes quantidades de líquidos e eletrólitos levando a quadro severo de diarreia e vômito. Quase todas as cepas de *S.aureus* são produtoras de coagulase, enzima que produz coágulos de fibrina no sangue e que protegem o microrganismo da fagocitose e o mantém isolado de outras defesas do hospedeiro. *S.aureus* é frequentemente um problema em ambiente hospitalar, uma vez que, é carregado por pacientes, membros das equipes de trabalho e visitantes. É grande o risco de infecções de pele e feridas cirúrgicas, com o agravante que, essas infecções são de difícil tratamento devido à alta resistência desenvolvida pelo microrganismo em consequência da exposição a muitos antimicrobianos (TORTORA et al., 1998).

A incidência de infecções fúngicas envolvendo indivíduos imunocomprometidos, tem crescido significativamente nas últimas décadas. A microbiota bacteriana de membranas mucosas no trato geniturinário e bucal do homem, geralmente inibe o crescimento de fungos leveduriformes do gênero *Candida*, especialmente *C. albicans*. Quando fatores predisponentes como processos neoplásicos, tuberculose, diabetes, gestação, cirurgias,

transplantes, síndrome da imunodeficiência adquirida, estado nutricional, uso de antibióticos, corticóides e drogas citotóxicas alteram a flora bacteriana normal, conduzindo a levedura da fase saprofítica para a parasitária (LACAZ, 1980), ocorre um crescimento excessivo desse microrganismo denominado candidíase, na forma de infecção aguda, subaguda ou crônica. Se a infecção torna-se sistêmica, como no caso de indivíduos imunosuprimidos, a candidíase pode levar à morte. *C. albicans* é também uma causa muito comum de vulvovaginites. Diabetes, gestação, uso de contraceptivos orais e antibióticos, são condições predisponentes para o aparecimento dessas infecções. *C. albicans* é usualmente tratada com miconazol, clotrimazol ou nistatina em infecções de pele e mucosa e com cetoconazol em infecções sistêmicas (TORTORA et al, 1998).

Cryptococcus neoformans, um fungo leveduriforme encapsulado, é largamente distribuído no solo contaminado com excrementos de pombos. É patogênico para o homem e causa enfermidades conhecidas como criptococoses. A maioria dos casos ocorre em áreas urbanas por inalação de partículas infectadas, que causam inicialmente infecções subclínicas nos pulmões. Em indivíduos imunosuprimidos ou em tratamento com esteróides, a infecção pode alcançar outras partes do corpo incluindo cérebro e meninges, através da corrente sanguínea. A enfermidade usualmente se apresenta como meningite crônica que muitas vezes é progressiva e fatal se não for tratada (TORTORA et al., 1998). Em 1992 *C. neoformans* já era diagnosticado entre 4% de pacientes com AIDS na Europa, 12% nos Estados Unidos e 33% na África. Vários tratamentos tem sido propostos incluindo fluconazol, itraconazol ou anfotericina B e flucitosina em combinação (TORTORA et al, 1998; VIOLLON & CHAUMONT, 1994). Ainda assim a, a taxa de mortalidade se aproxima de 30%.

Aspergiloses são as micoses mais freqüentes causadas por fungos filamentosos, cujo agente etiológico *Aspergillus*, é um gênero de fungo oportunista, encontrado habitualmente no solo, água, vegetais e restos orgânicos em decomposição. Seus esporos podem estar presentes em ervas, flores secas e palhas. Entre 200 espécies identificadas, 20 são patogênicas para o homem. A mais freqüente, *A. fumigatus*, é a causa de aspergiloses broncopulmonares alérgicas e aspergiloses invasivas (STANKOVIC et al., 2006). A aspergilose invasiva é relativamente freqüente em pacientes neutropênicos e imunocomprometidos. A alta taxa taxa de mortalidade (50 a 90%) é devida em parte, à dificuldade de obter rápido diagnóstico, já que a sintomatologia é quase sempre não específica ou atenuada por terapia com corticóides. Entre as espécies de *Aspergillus*, *A. fumigatus* representa 70% de isolados clínicos de importância médica (QUINDÓS, 2006). Como na maioria das infecções fúngicas sistêmicas,

o arsenal de agentes terapêuticos disponíveis é limitado, sendo anfotericina B o mais utilizado (TORTORA et al, 1998).

O gênero *Penicillium*, amplamente disseminado no ar ambiental, é associado a enfermidades respiratórias alérgicas, juntamente com os gêneros *Alternaria*, *Aspergillus* e *Cladosporium* (CHAPMAN, 2006). A importância clínica de alérgenos associados com germinação fúngica permanece em discussão. Esporos não germinados podem penetrar no pulmão ou na cavidade nasal e o ambiente quente e úmido onde são depositados, favorece a germinação e atua como uma fonte adicional de alérgenos. Embora o transporte ciliar e mecanismos imunes possam impedir tal invasão em indivíduos normais, vários fungos dermatófitos incluindo espécies de *Penicillium*, são capazes de desencadear infecções fúngicas, particularmente doenças broncopulmonares alérgicas e sinusites fúngicas em pessoas imunocomprometidas (GREEN et al., 2003).

Os fungos podem coexistir como saprófitas ou comensais, sem afetar os hospedeiros com imunidade celular normal. Entretanto, esses fungos ambientais e seus produtos podem contribuir para o desenvolvimento e exacerbação de enfermidades alérgicas das vias aéreas. Clinicamente, a associação entre exposição fúngica e asma é amplamente conhecida. Eosinófilos e seus produtos são considerados importantes na fisiopatologia de enfermidades alérgicas como asma brônquica, dermatite atópica, e na imunidade de hospedeiros. INOUE et al. (2005) demonstraram que *Penicillium notatum* e *Alternaria alternata* induziram a degranulação de eosinófilos em indivíduos sadios. Esta resposta inata de eosinófilos a certos fungos ambientais pode ser de relevância na defesa imunológica e na exacerbação de processos inflamatórios da asma e doenças alérgicas.

Cladosporium herbarum, outro fungo ambiental alergênico, é reconhecido como indutor de rinites e asma no homem (HAVAUX et al., 2005). *Cladosporium* é um dos poucos gêneros de fungos que tem sido estudados em relação a doenças alérgicas. Os mais investigados são *C. herbarum* e *C. cladosporioides* e os antígenos mais disponíveis comercialmente para diagnóstico e tratamento, são obtidos dessas espécies. Estudos revelaram que *Cladosporium* é o gênero mais prevalente em ambientes externos, constituindo até 25% de todos os esporos fúngicos em regiões secas e até 40% em cidades costeiras (HASNAM, 2004).

Microsporum canis e *Trichophyton rubrum* são espécies fúngicas envolvidas em micoses cutâneas. Esses fungos infectam as áreas queratinizadas do corpo, causando dermatomicoses. Algumas formas de dermatomicoses são a causa de grande morbidade em pacientes sob quimioterapia antineoplásica, submetidos à transplantes de órgãos ou com

AIDS. Embora compostos imidazólicos como clotrimazol e miconazol se mostrem efetivos para o tratamento de dermatomicoses, essas infecções são freqüentemente muito difíceis de erradicar (TORTORA et al., 1998; ZACCHINO et al., 1999).

3.2.1 Resistência Bacteriana e Terapêutica Atual

Durante os primeiros anos da era dos antibióticos, o desenvolvimento de novas classes de agentes antimicrobianos acompanhou ou ficou à frente da capacidade de microrganismos clinicamente importantes desenvolverem resistências. Apesar da disponibilização de novos antimicrobianos, o ritmo de desenvolvimento de resistência em patógenos Gram-negativos e Gram-positivos, representa um grande desafio terapêutico em todo o mundo.

Nos anos 1960 e 1970 o uso indiscriminado de penicilinas semi-sintéticas resistentes a penicilinas e de cefalosporinas, favoreceu o surgimento de cepas de *S.aureus* resistentes a meticilina, e nessa mesma época, o uso extenso de ampicilina favoreceu o aparecimento de cepas de *E.coli* ampicilina-resistentes. Entre 1970 e 1980, as bactérias Gram-negativas resistentes eram o principal obstáculo terapêutico, mas no novo milênio as Gram-positivas resistentes passaram também a ocupar lugar de destaque (ROSSI & ANDREAZZI, 2005). Enquanto a resistência microbiana tem crescido de forma significativa, o número de antibióticos em pesquisa diminuiu drasticamente nos últimos anos. O percentual de artigos relacionados a novas resistências microbianas publicados no *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* aumentou de 11% no período de 1972-1973 para 34% no período de 1997-1998 (SWARTZ, 2000). Nesse contexto, o uso incorreto dos antimicrobianos, uma das principais causas do aparecimento de resistência, pode estar associado a fatores como doses subterapêuticas, inefetividade da droga selecionada, esquemas terapêuticos curtos, baixa penetração no local de infecção, conhecimento inadequado das características de farmacocinética e farmacodinâmica dos fármacos para escolha terapêutica, além de fatores relacionados ao paciente, como idade, *status* imunitário e não-adesão ao tratamento (QUINTILIANI et al., 1994).

A problemática atual de resistência às drogas tem sua origem em muitos fatores, incluindo a seleção de mutantes resistentes por exposição a agentes antimicrobianos, transferência de determinantes genéticos de resistência entre cepas bacterianas e disseminação clonal de cepas resistentes entre pacientes hospitalizados e entre instituições hospitalares. Como conseqüências incluem-se o aumento de mortalidade e morbidade entre pacientes, uma

redução no número de drogas utilizáveis por futuras gerações de pacientes, além do impacto econômico trazido pelos custos com infecções (McGOWAN Jr, 2004).

Entre as bactérias Gram-negativas, cepas de enterobactérias e não-fermentadores, começaram a apresentar níveis de resistência cada vez mais expressivos frente a cefalosporinas de segunda, terceira e quarta geração, o que dificulta a eliminação desses microrganismos nos processos infecciosos. Cepas produtoras de beta-lactamases de espectro ampliado (ESBL), capazes de inativar cefalosporinas de terceira e quarta geração, passaram a ser preocupação mundial, com mudanças na abordagem terapêutica. A produção de carbapenemases associada a problemas de permeabilidade e efluxo são de mecanismo complexo e se apresentam em frequência cada vez maior em ambiente hospitalar, principalmente nas cepas de microrganismos não-fermentadores, como a *P. aeruginosa* (ROSSI & ANDREAZZI, 2005).

A função catalítica das beta-lactamases, enzimas encontradas praticamente em todas as enterobactérias, é causa primária de resistências aos antibióticos beta-lactâmicos e tem sido objeto de investigação nas áreas de microbiologia, bioquímica e genética. Nas bactérias Gram-negativas, a localização periplásmica dessas enzimas, favorece sua concentração e atuação mais eficaz contra os antimicrobianos. Beta-lactamases cromossômicas e plasmidiais têm expressão tanto em enterobactérias como em microrganismos não-fermentadores. Em 1965 uma beta-lactamase mediada por plasmídeo (TEM-1), foi identificada em uma *E.coli* ampicilina-resistente. Em 1969 essas enzimas já haviam sido identificadas também em *P. aeruginosa*. Segundo relatos, em 1996, a TEM-1 já ocorria em cerca de 60% das *E.coli* em todo o mundo em 20% a 50% de outras espécies de enterobactérias. Assim como outros bastonetes Gram-negativos não-fermentadores de glicose, a *P. aeruginosa* pode expressar uma série de outros mecanismos de resistência além da produção de beta-lactamases. A permeabilidade muito reduzida à entrada de antibióticos, como consequência de alteração na expressão dos canais de porina, modificando a penetração e ação dos antibióticos, juntamente com a propriedade de expulsar ativamente os antibióticos para fora da célula (bomba de efluxo), contribuindo para uma concentração inadequada e consequente ação inefetiva do fármaco, podem levar este microrganismo à resistência intrínseca a múltiplos antibióticos (QUINN, 1998). Atualmente no tratamento das ESBL, os carbapenêmicos são a primeira escolha no caso de infecções graves. Em infecções consideradas menos graves, alguns autores recomendam o uso de quinolonas, a depender da epidemiologia local (PATERSON & YU, 1999; TENOVER et al., 1999).

Staphylococcus aureus, considerado um patógeno humano oportunista, está freqüentemente associado a infecções adquiridas na comunidade e no ambiente hospitalar. Portadores nasais e pacientes colonizados por *S. aureus* têm sido descritos como fator de risco para o desenvolvimento de infecções, em que 11 a 43% dos pacientes colonizados adquirem infecção (LOWY, 1998; FRIDKIN, 2001; NAIMI et al., 2003).

No início da década de 1940, os *S. aureus* isolados de processos infecciosos, apresentavam sensibilidade à penicilina. Entre 1942 e 1960, a resistência à penicilina por produção de beta-lactamases (penicilinasas), passou a ser descrita e a predominar em cepas isoladas de pacientes hospitalizados, limitando o uso da penicilina e seus derivados. Em 1960, a meticilina começou a ser utilizada como alternativa terapêutica mas, em 1961, surgiram cepas resistentes também à meticilina, denominadas *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA), representando um problema endêmico em hospitais de diversos países, inclusive o Brasil, a partir de 1980. Até 1996, todas as cepas MRSA eram universalmente sensíveis aos glicopeptídeos. O primeiro isolamento de *S. aureus* com resistência intermediária aos glicopeptídeos (GISA) foi descrito em 1997 e em 2002 foi relatado o aparecimento de cepas totalmente resistentes aos glicopeptídeos (GRSA). Até maio de 2004, já haviam sido descritas três cepas com a presença do gene VanA, codificador desse perfil de resistência (ROSSI & ANDREAZZI, 2005).

No Brasil, os índices de cepas MRSA são bastante elevados (40 a 80%), principalmente nas cepas isoladas em unidades de terapia intensiva. Alguns trabalhos demonstram índices de mortalidade mais altos em pacientes que desenvolveram bacteriemia por MRSA (49 a 55%) do que por MSSA (20 a 32%) (ROMERO-VIVAS et al, 1995) e apontam índices de mortalidade 2,5 vezes maiores nos casos de infecções por MRSA em relação a MSSA (RUBIN et al., 1999).

Nas cepas MRSA, o mecanismo de resistência está associado à alteração de proteínas ligantes de penicilina, codificada pelo gene *mecA*, que faz com que a meticilina e os compostos penicilina-penicilinase resistentes tenham baixa afinidade pelo local de ligação na bactéria, a parede celular, e deixem de ser efetivos. Uma vez detectadas cepas MRSA, as opções terapêuticas tornam-se bastante restritas e, no caso de infecções severas, os glicopeptídeos vancomicina e teicoplanina são as drogas de escolha (ROSSI & ANDREAZZI, 2005).

3.3 FAMÍLIAS, GÊNEROS E ESPÉCIES BOTÂNICAS SELECIONADAS PARA ESTUDO E SEUS PRINCIPAIS CONSTITUINTES

3.3.1 Família Anacardiaceae

A família Anacardiaceae, a principal fonte de compostos fenólicos no reino vegetal, é amplamente representada por árvores tropicais, arbustos e cipós, caracterizados pela produção de três tipos de fenóis: biflavonóides, alquilcatecóis e alquilresorcinóis. As espécies tóxicas nesta família, produtoras de catecóis e resorcinóis, são membros de quatro das cinco tribos definidas por ENGLER (1883): *Spondiadeae*, *Anacardieae*, *Semecarpeae* e *Rhoeeae* mas, recentes estudos filogenéticos baseados em evidências anatômicas, morfológicas e moleculares detectaram que há apenas dois grupos produtores de fenóis dentro desta família: um formado pelos gêneros de *Spondia* e alguns gêneros de *Rhoea* que não produzem compostos fenólicos tóxicos, e um segundo grupo com os demais gêneros (TERRAZAS & CHASE, 1996; PELL & URBATSCH, 2001).

Dos cerca de 66 gêneros de anacardiáceas, 25 são relatados como tóxicos, sendo que a maioria das espécies tóxicas que contém catecóis, pertencem ao segundo grupo (MITCHELL, 1990; AGUILAR-ORTIGOZA, 2003, 2004). A maioria dos fenóis vegetais não apresenta toxicidade para o homem e animais. Entretanto, existem alguns fenóis altamente tóxicos armazenados em canais resinosos de certas espécies de anacardiáceas, capazes de produzir dermatites, gastroenterites, anafilaxia ou edema de glote, embora sejam também potencialmente úteis no tratamento de câncer, doenças virais e cutâneas. Estes fenóis tóxicos na família *Anacardiaceae* são provavelmente um mecanismo de defesa das plantas, já que são capazes de inibir o crescimento de fungos patogênicos como *Alternaria*, *Fusarium* e *Helminthosporium* (RIVERO-CRUZ et al., 1997; HARBORNE, 1999). Fenóis que inibem o ataque de insetos e vertebrados herbívoros foram encontrados no gênero *Mangifera* (MITCHELL, 1990). Fenóis alergênicos do tipo resorcinol foram encontrados nos frutos de *Anacardium occidentale* (cajuzeiro), *Mangifera indica* (mangueira) e *Schinus terebinthifolius* (aroeira da praia) (STAHL, 1983; MITCHELL, 1990).

3.3.1.1 Gênero *Schinus*

Entre as Anacardiáceas, a espécie selecionada para estudo, *Schinus terebinthifolius* Raddi, uma planta exótica invasiva nativa da América do Sul e muito comum em áreas litorâneas é popularmente conhecida como aroeira vermelha, aroeira da praia ou aroeira mansa. *Schinus molle* Lineu e *Schinus aroeira* Vell, também conhecidas como aroeira mansa são outras espécies sinônimas nesta família, sendo muito utilizadas na arborização de ruas e parques. Seus frutos apresentam sabor picante e são utilizados como um tipo de pimenta que a depender da dose, podem provocar forte irritação gástrica (STAHL, 1982) e produzem um efeito paralizante em pássaros (DOMINGUEZ et al., 1971).

A espécie é representada por arbustos de 2 a 3 metros de altura, recobertos por casca espessa, com ramos desenvolvidos formando uma copa ovóide, folhas imparimpinadas com 02 a 07 pares de folíolos sésseis, oblongos, agudos e crenados nas margens, flores miúdas amarelas em panículas axilares e pequenos frutos vermelhos globosos (CORRÊA, 1974; BARROSO et al., 1991)

O decocto da entrecasca desta espécie é bastante utilizado em medicina popular, em processos inflamatórios e infecciosos do trato respiratório, digestivo e gênito-urinário e o decocto das folhas, no tratamento de lesões e úlceras de pele e mucosas (BACCHI, 1986 ; LIMA et al., 2004), embora a ocorrência de reações alérgicas desencadeadas pelo cardanol, um alquilfenol presente nos frutos e sementes de *S. terebinthifolius* tenham sido descritas na literatura (STAHL et al., 1983; SKOPP et al., 1987), como também a presença de quercetina nos frutos (DOMINGUEZ et al., 1971).

Muitas das suas propriedades terapêuticas podem ser atribuídas à presença de vários constituintes químicos destacando-se majoritariamente os taninos distribuídos em vários órgãos da planta, em níveis que variam de 28% nas folhas a 30% nas inflorescências (QUEIRES & RODRIGUES, 1998).

Estudos fitoquímicos iniciais levaram à identificação dos triterpenos terebintona e schinol (KAISTHA & KIER, 1962) e da bauerenona, juntamente com o ácido terebintifólico e o ácido gálico (DEPAIVOC & MARSAIOLI, 1974; CAMPELLO & MARSAIOLI, 1975) isolados dos frutos.

BORIO et al. (1973) verificaram a presença de 13,9% de taninos, 0,12% de óleo essencial, resinas e saponinas na casca de *S. terebinthifolius*.

Em 1977 LLOYD et al. isolaram novos componentes dos frutos da espécie, entre eles o ácido ursólico. No óleo essencial estes autores identificaram α -pineno, β -pineno, sabineno, δ^3 -careno, α e β -felandreno, p-cimeno, terpinoleno e na fração menos volátil do óleo, β -cariofileno entre outros componentes.

Outros estudos sobre a composição química do óleo essencial desta espécie (MALIK et al., 1994), relataram que os terpenos constituíam 92,23% dos compostos presentes, representados principalmente por α -pineno (43,20%) e α -felandreno (18,85%) .

Análises do óleo obtido de folhas e inflorescências de espécimes de *S. terebinthifolius* cultivadas na Índia (SINGH et al., 1998), identificaram 41 compostos, sendo que os principais componentes encontrados foram α -pineno (24,4%), limoneno (11,9%) e p-cimeno (14,3%).

JAMAL & AGUSTA (2001) revelaram a presença de 47 compostos em óleo essencial de folhas da referida espécie, sendo a maioria representada por monoterpenos (68,63%).

Estudos realizados na Flórida (VERNIN & PARKANYI, 2003) em óleo essencial de folhas de espécimes das Ilhas Reunion, levaram à identificação de cerca de 96 compostos compreendendo: 36 hidrocarbonetos (60%), 7 óxidos (3,6%), 9 compostos carbonilados (1,3%), 11 ésteres (2,0%), 29 alcalóides (13,7%) e 5 compostos diversos (0,7%), destacando-se entre os hidrocarbonetos limoneno (17,7%), p-cimeno (15,7%), α -pineno (10,4%) e δ^3 -careno (5,5%).

Estudos realizados com óleos essenciais obtidos de folhas e frutos de *S. terebinthifolius* e *S. molle* cultivadas no Egito, concluíram que o α -felandreno é o principal componente nas folhas (39,72%) e nos frutos (23,4%) de *S. molle* e nas folhas (24,2%) de *S. terebinthifolius*, ao passo que elixeno (15,18%), α -pineno (15,01%) e germacreno D (14,31%) foram identificados como os principais componentes no óleo dos frutos de *S. terebinthifolius* (IBRAHIN et al., 2004).

Estudos desenvolvidos por KASSEM et al. (2004) revelaram a presença de novos biflavonóides isolados dos frutos de *S. terebinthifolius*, identificados como agasthisflavona, robustaflavona e tetrahidrorobustaflavona, além de dois novos ésteres bifenila.

Análise de material obtido de partes aéreas de *S. terebinthifolius* coletadas em Salvador e Itaparica e extraído em CO₂ supercrítico (CARDOSO et al., 2004), mostrou que os ácidos anacárdicos, precursores dos alquilfenóis, foram os principais compostos presentes em todas as partes da planta, enquanto que para o óleo essencial, estes autores também identificaram os compostos δ^3 careno (20,71%), cariofileno (16,09%), α -cubebeno (14,12%), azuleno (4,27%) e α -pineno (2,31%) como principais constituintes.

MARTÍNEZ et al. (1996) em estudos sobre atividade antimicrobiana de plantas medicinais de Cuba, relataram que entre 12 espécies estudadas, *Schinus terebinthifolius* foi a que apresentou o melhor espectro de atividade para a maioria dos microrganismos testados e a única espécie que inibiu as bactérias Gram negativas *E.coli* e *P.aeruginosa*.

Estudos de atividade antifúngica com 16 plantas brasileiras utilizadas no tratamento de enfermidades cutâneas (SCHMOURLO et al., 2005) revelaram que as anacardiáceas *Anacardium occidentale*, *Schinus molle* e *Schinus terebinthifolius* apresentaram boa atividade contra *C.albicans* e *C.neoformans*. Estudos anteriores já relatavam atividade antimicrobiana de *S. molle* e *S. terebinthifolius* (ROSS et al, 1980; DIKSHIT et al., 1986; GUNDIDZA, 1993; QUIROGA et al., 1993; DE MELO JÚNIOR et al., 2002; Lima et al, 2004).

Recentemente QUEIRES et al. (2006) demonstraram efeito antiproliferativo de polifenóis extraídos de folhas de *S.terebinthifollius*, sobre células de carcinoma prostático humano, contribuindo com novos dados sobre atividades antitumorais e antiproliferativas de polifenóis isolados de plantas.

3.3.2 Família Asteracea

A família Asteraceae com cerca de 2.000 gêneros e aproximadamente 20.000 espécies distribuídas em 3 subfamílias e 17 tribos, constitui a maior família botânica e uma grande fonte de investigação de novas drogas medicinais, em que apenas 15% das espécies foram estudadas. No Brasil estão aproximadamente 200 gêneros representados, na grande maioria, por espécies herbáceas anuais ou perenes, subarbustivas ou arbustivas, raramente por espécies arbóreas e caracterizam-se por sua inflorescência, um conjunto de pequenas flores formando uma estrutura básica simples, capaz de gerar grande diversidade. (SHELMLUCK, 1982; BARROSO et al., 1991; HIND, 1995).

Para LAVABRE (1993), por serem muito adaptáveis e intimamente ligadas à luz, as asteráceas personificam um equilíbrio perfeito entre as forças etérea e astral traduzidas em atividade terapêutica extremamente diversificada.

Segundo PROKSCH & RODRIGUEZ (1983), a Asteraceae é uma família bem definida em termos morfológicos e químicos, com a presença de compostos como alcalóides, benzofuranos e cromenos entre os quais os precocenos, compostos que apresentam atividade biológica, isolados quase exclusivamente em algumas tribos dessa família, cumarinas,

flavonóides entre os quais quercetina, apigenina e luteolina, lactonas sesquiterpênicas que podem ser úteis como marcadores taxonômicos no delineamento de tribos e gêneros das asteráceas e compostos terpênicos (mono, sesqui e triterpenos presentes em todas as tribos e diterpenos restritos a algumas tribos). É interessante notar que, a atividade inseticida apresentada por lactonas sesquiterpênicas, provavelmente representa uma maior vantagem de adaptabilidade das asteráceas ao ataque de microrganismos e insetos herbívoros.

A tribo *Eupatorieae* que constitui a maior tribo da família Asteraceae, está representada por 16 subtribos, com 170 gêneros e cerca de 2.400 espécies distribuídas pelo México, América Central, Índias Ocidentais e América do Sul. Algumas subtribos compreendem um grande número de gêneros exclusivamente brasileiros e alguns endêmicos de regiões montanhosas como é o caso de *Acritopappus* e *Morithamnus* que ocorrem na Chapada Diamantina (KING & ROBINSON, 1987; BREMER, 1994).

As espécies da tribo *Eupatorieae* são ervas ou arbustos em sua maioria, reconhecidas usualmente por seus capítulos discóides ou inflorescências azul-avermelhadas (BREMER, 1994).

3.3.2.1 Gênero *Acritopappus*

O gênero *Acritopappus* pertencente à tribo *Eupatorieae*, subtribo *Ageratinae*, reconhecido como gênero endêmico no Brasil, é encontrado predominantemente em campos rupestres dos Estados da Bahia e Minas Gerais, cuja maioria das 18 espécies identificadas está restrita à Serra do Espinhaço, Serra de Jacobina e Chapada Diamantina (KING & ROBINSON, 1972, 1977, 1980; BAUTISTA et al., 1999, 2000).

Segundo BAUTISTA & HIND (2000), os membros do gênero *Acritopappus* são facilmente distinguíveis no campo, pelo padrão de ramificação apresentada. O gênero é caracterizado por arbustos e árvores de até 4,0m de altura com ramos ascendentes, caule em formato quadrangular ou cilíndrico; folhas opostas, pecioladas, coriáceas, lanceoladas geralmente com ápice acuminado; pequenas flores róseas ou lilases, em corimbos ou panículas (BARROSO et al., 1991). Várias espécies semelhantes são popularmente conhecidas como *cura-facada*, sendo mais comum a espécie *Acritopappus confertus* que cresce abundantemente nos solos arenosos das encostas mais baixas das montanhas da

Chapada. As folhas da *cura-facada* são maceradas e utilizadas como cicatrizante em ferimentos na pele (FUNCH, 2004).

Os ensaios de caracterização fitoquímica do gênero tiveram início em 1980, quando BOHLMANN et al.(1980b, 1981a, 1982, 1983a) estudaram várias espécies de *Acritopappus* do Estado da Bahia. Segundo estes autores, o gênero *Acritopappus* é bastante uniforme, com a presença de derivados sesquiterpênicos e benzofuranos e de diterpenos de labdano e kolavano em todas as espécies investigadas.

Estudos sobre constituintes das partes aéreas do *A. confertus* levaram ao isolamento de D germacreno, α -humuleno, bisabolol e cubebol. As frações mais polares continham uma mistura complexa de mais de 20 diterpenos, a maioria ácidos entre os quais o ácido acriconférico, e também as flavanonas pinocembrina, narigenina e sakuranetina. Das raízes desta espécie foram isolados D germacreno e humuleno (BOHLMANN et al.1980b).

PROKSCH & RODRIGUEZ (1983) em trabalho de revisão, apresentaram identificação estrutural de 167 cromenos e benzofuranos em cerca de 170 espécies de asteráceas, ressaltando o elevado número de benzofuranos encontrados na tribo Eupatorieae entre as quais figura o gênero *Acritopappus*.

Em recente trabalho, BARROS et al. (2005) relataram pela primeira vez a presença de cumarinas nas raízes de *A. confertus*.

Estudos sobre a composição química do óleo volátil das folhas de *A.confertus* (LIMA et al., 2005) revelaram a predominância de monoterpenos representando 81,0% do total, sendo mirceno o principal componente (52,0%), seguido por β - pineno (16,8%) e limoneno (8,2%)

Estudos fitoquímicos de espécimens de *A.micropappus* da Chapada Diamantina (GUEDES, 2004) revelaram a presença no EH, de sesquiterpenos (canferenol), triterpenos (α e β - amirina, lupeol, pseudotaraxasterol), esteróides (sitosterol e estigmasterol) e uma lignana (yateína) que juntamente com o sesquiterpeno canferenol, são raros na natureza e foram relatados em poucas espécies vegetais. Nos óleos voláteis dos mesmos espécimens foram isolados 31 constituintes, sendo 6 monoterpenos, 24 sesquiterpenos e uma cetona.

Análise fitoquímica de espécimens de *A.pintoi* coletados na Chapada Diamantina (SOUZA et al., 2000) levou ao isolamento de sesquiterpenos (espatulenol e epoxi-humuleno) e de acetofenonas.

3.3.2.2 Gênero *Lychnophora*

O gênero *Lychnophora* está incluído na tribo *Vernoniae* subtribo *Lychnophoreae* e parece estar restrito ao Brasil, com larga distribuição de várias espécies desse gênero como componentes dos campos, cerrados ou de floras rupestres (BOHLMANN et al., 1980a; BARROSO et al., 1991).

As *Lychnophora* são pequenas árvores de ramos candelabrifórmes, flores comondo capítulos compostos, providos de involúcro próprio e dispostos na extremidade de ramos folhosos ou de longos pedúnculos (BARROSO et al., 1991)

Algumas espécies, entre as quais *L. salicifolia*, popularmente conhecidas como arnica, arnica brasileira ou arnica da serra, são freqüentemente utilizadas na forma de preparações alcoólicas ou hidroalcoólicas das folhas e do pó das raízes, como medicamento analgésico e antiinflamatório.

Cerca de 50% das 34 espécies de *Lychnophora* descritas por ROBINSON (1999) foram submetidas a estudos químicos. Estudos fitoquímicos com as espécies *L. affinis*, *L. trichocarpha*, *L. diamantinana*, *L. ericoides*, *L. salicifolia*, *L. passerina*, *L. pseudovillosissima*, *L. rupestris*, *L. pinaster*, *L. markgravii* e *L. pohlii*. demonstraram que o perfil químico do gênero é caracterizado basicamente pela ocorrência de diterpenos, triterpenos, lactonas sesquiterpênicas, derivados de cariofileno, destacando-se os ácidos lychnofólico e acetil-lychnofólico, esteróides e flavonóides (RAFFAUD et al., 1978; BOHLMANN et al., 1980a, 1981b, 1983b; LOPES et al., 1991; DA COSTA et al., 1993; BORELLA et al., 1992, 1998; DE OLIVEIRA et al., 1996; SARTORI et al., 2002; SAKAMOTO et al., 2003; GRAEL et al., 2005).

Em 1996, MIGUEL et al. relataram a presença de atividade antifúngica e antibacteriana na espécie *L. salicifolia*, atribuída aos ácidos lychnofólico e acetil-lychnofólico.

Estudos biomonitorados utilizando extratos de *Lychnophora* demonstraram atividade tripanocida para a forma tripomastigota do *T. cruzi*, atribuída à presença de lactonas sesquiterpênicas e do ácido lychnofólico na *L. trichocarpha*, *L. pinaster* e *L. passerina* (DE OLIVEIRA et al., 1996); do flavonóide quercetina e do ácido lychnofólico na *L. salicifolia* (JORDAO et al., 2004). Estudos farmacológicos desenvolvidos por BASTOS et al. (1987) demonstraram atividades antiinflamatória de *Lychnophora ericoides*.

Efeitos antioxidantes e antiinflamatórios também foram relatados para flavonóides isolados de *L. granmongolense*, *L. salicifolia*, *L. ericoides* e *L. passerina* (KANASHIRO et al.,

2004; CHICARO et al., 2004) e para glucosilflavonas isoladas de *L. ericoides* (GOBBO-NETO et al., 2005).

A atividade analgésica observada em *L. ericoides* e relacionada à presença de ácidos cafeoilquínicos isolados de extratos polares das raízes desta espécie (DOS SANTOS et al., 2005), oferece suporte para a validade do uso desta planta na medicina tradicional.

3.3.2.3 Gênero *Mikania*

O gênero *Mikania*, o maior gênero da tribo *Eupatorieae*, possui cerca de 450 espécies distribuídas em áreas tropicais da África, Ásia e América (KING & ROBINSON, 1987). No Brasil é amplamente distribuído, com cerca de 200 espécies descritas (BARROSO et al., 1991) dos quais menos de 10% foram estudadas. O gênero é caracterizado por arbustos rasteiros de galhos lenhosos, número fixo de flores por capítulo. *Mikania* é o gênero que apresenta maior variação de formas de corola na tribo *Eupatorieae*

Entre as espécies mais estudadas quimicamente, apenas doze foram investigadas quanto à composição de seus óleos essenciais: *M. micrantha* (NICOLLIER & THOMPSON, 1981), *M. amara*, *M. banisteriae* e *M. congesta* (SILVA ET AL., 1984), *M. hirsutissima*, *M. involucrata*, *M. laevigata* (LIMBERGER et al., 1998), *M. burchellii*, *M. glomerata*, *M. micrantha*, *M. paranaense* (LIMBERGER et al., 2001) e *Mikania* sp nov. (NUNEZ et al., 2002). Os perfis fitoquímicos obtidos destes óleos indicaram a presença de monoterpenos e sesquiterpenos como principais constituintes.

As folhas da espécie *M. glomerata*, Sprengel, conhecida como guaco, são empregadas em medicina popular, nas formas de infusão e xarope para o tratamento de doenças respiratórias (MOURA et al., 2002). A atividade broncodilatadora desta espécie é atribuída à cumarina, um dos seus principais constituintes e marcador químico. A produção de cumarinas em folhas do Guaco é cerca de sete vezes maior do que no caule (PEREIRA et al., 1998).

Além de cumarina, os extratos das folhas de *M. glomerata* contém derivados do ácido kaurenóico (VENEZIANI & OLIVEIRA, 1999), compostos que também foram isolados na resina de *M. hookeriana* (REIS et al., 2003). A grande utilização desta planta, levou à sua inclusão na primeira edição da Farmacopéia Brasileira em 1929 (DO AMARAL et al., 2003).

Outros componentes foram isolados desta espécie entre os quais sesquiterpenos (espatulenol e óxido cariofileno, D-germacreno, β -cariofileno), diterpenos, diversos derivados

do ácido kaurenóico, ácido o-hidroxicinâmico e outras substâncias como estigmasterol, friedelina, β -sitosterol e lupeol (LIMBERGER et al., 2001). Alguns destes compostos, como os derivados do ácido kaurenóico, apresentaram atividades antimicrobiana e antifúngica (DAVINO et al., 1989).

Estudos posteriores também verificaram atividades antimicrobianas de diversas espécies de *Mikania* (CRUZ et al., 1996; MONTANARO et al., 1996; FACEY et al., 1999; HOLETZ et al., 2002; DUARTE et al., 2005).

Estudos para avaliação de composição química e atividade antimicrobiana de extratos e frações de *M.laevigata* e *M.glomerata* sobre o crescimento e aderência celular de *Streptococcus mutans*, indicaram que os compostos biologicamente ativos estão presentes principalmente na fração hexânica de ambas espécies, apresentando notável atividade inibitória contra *S. mutans* (YATSUDA et al., 2005).

Em 2002, NUÑEZ et al., analisando os óleos essenciais de caules e folhas de uma nova espécie de *Mikania* da Chapada Diamantina, identificaram 13 monoterpenos e 8 sesquiterpenos, sendo α e β -pinenos os principais constituintes. Posteriormente em 2004, estes autores identificaram 8 ácidos diterpênicos nas folhas da mesma espécie estudada, colocando-a entre as espécies brasileiras produtoras de ácidos diterpênicos como principais metabólitos.

MENDES et al. (2005) relataram o isolamento de compostos terpênicos no extrato hexânico das folhas de *Mikania* aff. *jeffreyi*, uma nova espécie endêmica da Chapada Diamantina. Entre os terpenos isolados, três compostos foram descritos pela primeira vez na literatura, sendo dois diterpenos derivados do ácido kaurenóico, predominantes na espécie estudada e um diterpeno derivado do labdano.

Estudos de óleos voláteis de partes aéreas de *Mikania hookeriana*, *M. hagei* e *M. jeffreyi* coletadas na Chapada Diamantina (REIS et al., 2006) levaram à caracterização de 46 terpenos, entre os quais β -selineno, componente majoritário em *M.hagei*, α -pineno e D-germacreno como principais compostos em *M.hookeriana* e limoneno, α e β -pineno em *M.jeffreyi*. A presença de diterpenos derivados do ácido kaurenóico em *M.hookeriana*, classificou esta espécie como produtora de diterpenos, conforme a maioria das espécies de *Mikania* que ocorrem no Brasil.

Estudos em desenvolvimento com o óleo volátil de partes aéreas de *M.nitida* conduziram à identificação de terpenos, sendo o sesquiterpeno oxigenado β -sesquifelandreno o seu componente majoritário, juntamente com α -humuleno (REIS et al, inconcluso).

3.3.2.4 Gênero *Morithamnus*

O gênero *Morithamnus* localizado na tribo *Eupatorieae* e na subtribo *Gyptidinae*, é endêmico da Chapada Diamantina e compreende apenas as espécies *Morithamnus crassus* e *Morithamnus ganophyllus*. Apresentam-se como arbustos, subarbustos eretos ou pequenas árvores com talos, folhas e involúncros viscidos, folhas opostas ou alternadas, inflorescências em capítulo corimboso, corola rosa ou branca, ductos de resinas ao longo das veias do limbo e ramificações filiformes e papilosas. Este gênero é facilmente reconhecido por suas folhas grossas e ramificações em forma de candelabro. A espécie *M. ganophyllus* apresenta algumas características que a diferem de *M. crassus* tais como: tubos de resinas emparelhados nas folhas, folhas carnosas, oblanceoladas e viscidas, sendo a inserção oposta das folhas, a diferença mais marcante em relação à outra espécie do gênero (KING & ROBINSON, 1979, 1980; BREMER, 1994; HIND, 1995).

O único estudo fitoquímico para o gênero, realizado por BOHLMANN et al. (1980) para a espécie *M. crassus*, relata a presença de compostos terpênicos e acetofenonas entre os quais germacreno D, humuleno, cariofileno, silphineno, modepheno, β -isocumeno, isocumeno, 6-hidroxitremetona, euparina, copaborneol, diterpenos *ent*-labdanos (ácido *E*-copálico e ácido *Z*-copálico) e ácido acetoxi-angélico.

O primeiro estudo fitoquímico sobre a espécie *M. ganophyllus* (DA SILVA, 2005) relata o isolamento em extrato hexânico e diclorometano das folhas, do diterpeno labdânico ácido *E*-copálico, das acetofenonas euparina e euparona, da flavona negletina e de seis flavanonas, entre elas a pinocembrina e duas flavanonas inéditas na literatura. Segundo a autora, a atividade fungitóxica apresentada por esta espécie foi atribuída a acetofenonas e flavanonas presentes na espécie estudada.

3.3.3 Família *Burseraceae*

A família *Burseraceae* é uma fonte conhecida de exudatos e resinas produzidos por alguns gêneros botânicos. Estas resinas, conhecidas como elemi, tem utilização amplamente difundida na medicina popular, em perfumaria e cosmética, na indústria de vernizes e outros usos.

3.3.3.1 Gênero *Protium*

Protium, o principal gênero na família, muito comum na América do Sul e bastante representativo na flora da região Amazônica, é caracterizado por árvores resinosas e odoríferas de 8 a 15 metros de altura, casca lisa a rugosa, folhas pequenas, coriáceas, verde brilhante, flores pequenas e esverdeadas, frutos rosados de polpa branca muito apreciada pelos pássaros. A espécie *P.heptaphyllum*, conhecida como breu branco, almécega do Brasil e goma-limão ocorre em todo o Brasil, sendo muito comum nas matas da Chapada Diamantina, especialmente na região de Lençóis. A árvore da almécega produz uma resina avermelhada, muito aromática, que é coletada e utilizada como incenso em cerimônias religiosas (FUNCH et al., 2004).).

Na medicina popular, gomas e resinas oleosas de várias espécies de *Protium* são utilizadas como analgésico, cicatrizante e antiinflamatório (CORRÊA, 1984).

Existe referência sobre a espécie *P.altissimum* que, juntamente com outros gêneros da região Amazônica, produzem um óleo muito utilizado como regenerador celular e antisséptico no tratamento da pele (RAOUL, 1954; ROSE, 1995).

Estudos farmacológicos utilizando óleos essenciais de resina de *P.heptaphyllum* e de folhas de *P. strumosum*, *P. grandifolium*, *P. lewellyni* e *P.hebetatum* da região Amazônica (SIANI et al., 1999) relataram atividades antiinflamatória e antitumoral atribuída aos sesquiterpenos predominantes nos óleos das folhas (cariofileno e selineno) e aos monoterpenos (terpinoleno e cimeno) e fenilpropanóides presentes no óleo da resina.

Estudos iniciais sobre metabólitos secundários de *P.heptaphyllum* e espécies relacionadas, identificaram a presença de derivados fenilpropanóides (PERNET, 1972), monoterpenos (GOTTLIEB et al., 1981; SIANI et al., 1999), lignanas (SIQUEIRA et al., 1995; SIANI et al., 1998) e triterpenos (MAIA et al., 2000; SUSUNAGA et al., 2001) como constituintes mais abundantes.

Análises de constituintes voláteis de folhas, tronco e resina de *P.heptaphyllum* (ZOGHBI et al., 1995), demonstraram como principais compostos obtidos das folhas β -elemeno (22,09%), terpinoleno (15,45%) e β -cariofileno (11,11%); o principal composto obtido do tronco foi terpinoleno (40,28%), enquanto que na resina, foram obtidos terpinoleno (21,8%), e p-cimeno (11,0%). Posteriormente novos constituintes triterpênicos entre os quais

maniladiol, breína, α e β amirinas, foram isolados da resina desta espécie (MAIA et al., 2000).

Análises de óleos essenciais de seis espécies de *Protium* da região Amazônia (RAMOS et al., 2000), revelaram a predominância de constituintes monoterpênicos caracterizados por p-cimeno, α e β - felandreno e α -pineno. Propacina, um composto isolado do *Protium opacum*, foi o primeiro cumarinolignóide identificado no gênero *Protium* (ZOGHBI et al., 1981; MARQUES & YOSHIDA, 1990), assim como a 5- metoxipropacina isolada da espécie *P.unifoliatum* (MAGALHÃES et al., 2006).

Estudos desenvolvidos por ALMEIDA et al. (2002) em tronco, casca e folhas de *P.heptaphyllum*, relataram a presença de lupeol, sitosterol, stigmasterol, propacina e cleomiscosina A, uma cumarina isolada pela primeira vez, em espécies da família Burseraceae, fato relevante para o estabelecimento de marcador quimiotaxonômico.

Análise dos constituintes voláteis de folhas e frutos de *Protium baianus* (SILVA & CAMARA, 2004) revelou a presença de mono e sesquiterpenos em ambos os óleos, sendo aromadendreno e α -pineno os compostos mais abundantes.

3.3.4 Família Guttiferae

Guttiferae é uma família de plantas tropicais com 40 gêneros e cerca de 1200 espécies, sendo a maioria constituída de árvores ou arbustos lenhosos. As plantas desta família são geralmente caracterizadas pela presença de látex na maioria de seus tecidos (OLIVEIRA et al., 1996).

3.3.4.1 Gênero *Clusia*

A maioria das plantas floridas entomófilas presenteiam seus polinizadores com alguma recompensa que quase sempre é uma substância energética ou rica em nutrientes, como pólem, néctar ou óleo. Um pequeno número de angiospermas, porém, oferece uma resina desprovida de nutrientes e este fenômeno é limitado a poucos gêneros tropicais polinizados

por abelhas, entre os quais se encontra o gênero *Clusia*, cuja maioria das 250 espécies que ocorrem em regiões tropicais e subtropicais da América do Sul e América Central, secreta uma resina hidrofóbica viscosa, dos tecidos glandulares das flores (BITTRICH & AMARAL, 1997) e um látex produzido em sistema de canais que percorre toda a planta e que forma uma barreira contra insetos e invasão microbiana, quando os tecidos são danificados (LOKVAM et al., 2000).

O gênero *Clusia* é representado por cipós, arbustos e árvores de 1,5m a 9m de altura, folhas carnosas recurvadas, de coloração verde escuro brilhante na face superior e verde claro na face inferior, flores masculinas e femininas branco-esverdeadas, frutos verde alaranjados com ápice negro. Este gênero se notabiliza pela enorme variedade na morfologia floral (ENGLER, 1888).

A maioria das espécies de *Clusia* apresenta flores machos e fêmeas em indivíduos separados e a transferência de pólen é efetuada por abelhas melíferas especializadas que usam resinas de *Clusia* como material de construção para unir materiais sólidos como areia, pelos e gravetos, misturados a ceras endógenas, para construir as paredes de seus ninhos. Embora pouco se saiba sobre patologias de abelhas silvestres, os ninhos de abelhas melíferas são vulneráveis a patógenos microbianos que incluem bactérias, fungos e vírus.

LOKVAM & BRADDOCK (1999) estudando as resinas de *Clusia glandiflora* relataram que as flores macho e fêmea desta espécie produzem 500 a 700mg de resina por flor, constataram a existência de atividade contra bactérias Gram-positivas incluindo bactérias associadas a abelhas melíferas e observaram que as resinas secretadas por flores fêmeas apresentavam maior atividade antibacteriana que as das flores macho. Com isto, constatou-se uma dupla função para as resinas da *Clusia*: além de sua utilidade mecânica na construção do ninho, a proteção contra o ataque de microrganismos patógenos.

Referências de literatura relatam o isolamento de triterpenos e esteróis (MATHUR, 1972; DE ARAÚJO et al., 1966), benzofenonas polipreniladas (CERRINI et al., 1993), bifênicas (SEO et al., 1999; DELLE MONACHE et al., 2002) e quinonas NAGEM et al., 1993) em espécies do gênero *Clusia*.

Investigações sobre a química de resinas florais de várias espécies de *Clusia* (GUSTAFSON et al., 1992; OLIVEIRA et al., 1996, 1999) e do látex do tronco de *Clusia glandiflora* (LOKVAM et al., 2000) revelaram que elas são compostas quase exclusivamente de benzofenonas polipreniladas, substâncias que exibem atividade anti-inflamatória, antimicrobiana, antifúngica e antiviral. ALVES et al. (1999) e PICCINELLI et al. (2005)

relatam atividade anti- HIV para clusianona, 7-*epi*-clusianona, dihidroxiclusianona, propolona A e nemorosona, benzofenonas poliisopreniladas isoladas do gênero *Clusia*.

Estudos desenvolvidos por PORTO et al. (2000) envolvendo resinas florais e óleos estaminais de 11 espécies de *Clusia* relataram que as resinas das flores macho e fêmea não divergiam quanto à composição química mas diferiam na proporção entre os principais constituintes como ácidos graxos e benzofenonas em relação aos menores constituintes e que os óleos estaminais apresentaram como principais constituintes os ácidos oléico, esteárico e palmítico.

Investigação sobre a química de óleos voláteis de flores de 16 espécies de *Clusia* (NOGUEIRA et al., 2001) demonstrou que a composição desses óleos contendo derivados de ácidos graxos, isoprenóides, benzenóides, kaureno e acetato de isoamila (responsável em parte pelo odor semelhante ao de banana) entre outros componentes, estava relacionada à posição taxonômica das espécies e ao tipo de polinizador observado nas flores.

CRUZ & TEIXEIRA (2004), relataram o isolamento de três novas benzofenonas polipreniladas do extrato hexânico de *Clusia obdeltifolia*, uma espécie que ocorre em áreas de campo rupestre da Chapada Diamantina, Bahia. Em 2005 estes autores isolaram do extrato hexânico da mesma espécie citada, duas novas benzofenonas polipreniladas.

Estudos recentes desenvolvidos por TEIXEIRA et al. (2006) conduziram ao isolamento em extrato diclorometânico do tronco de *Clusia melchiorii* coletada no Parque Nacional da Chapada Diamantina, de um novo composto da classe de bifenilas, que são raros na família Clusiaceae e cuja presença em plantas está associada ao mecanismo de defesa por fitoalexinas, além de outros compostos conhecidos (ácido betulínico, friedelina, sitostenona, estigmastenona e uma mistura de β -sitosterol e estigmasterol). Do extrato hexânico do tronco de *Clusia obdeltifolia*, estes autores isolaram um novo tocotrienol, composto que atua como antioxidante da planta mantendo a integridade de membrana, encontrado principalmente em células especializadas como as produtoras de látex e cuja presença foi descrita em poucas espécies de clusiáceas.

3.3.4.2 Gênero *Kielmeyera*

Kielmeyera é um gênero endêmico da América do Sul, compreendendo cerca de 180 espécies, com larga ocorrência nos cerrados brasileiros. O gênero é representado por arbustos

a pequenas árvores de até 2,5m de altura, caule castanho vináceo pouco ramificado, folhas verdes, coriáceas, flores de pétalas branco esverdeadas com nervura central avermelhada externamente e frutos castanho-escuros.

Kielmeyera variabilis, uma árvore comumente conhecida no Brasil como malva-do-campo e pau-santo, é tradicionalmente usada em medicina popular para tratar várias doenças tropicais incluindo equistossomose, leishmaniose, malária e infecções bacterianas e fúngicas (ALVES et al., 2000).

Estudos iniciais com algumas espécies do gênero encontradas no cerrado do Planalto Central (PERES & NAGEM, 1997) descreveram a presença de xantonas como principais constituintes ao passo que, em investigações fitoquímicas das espécies *K.elata* *K.reticulata* e *K argentea* coletadas em restingas da costa da Bahia, só foram encontradas cumarinas como constituintes predominantes (CRUZ et al., 1998a, 1998b, 2002; GRAMACHO et al, 1999) e na espécie *K. lathrophyton* coletada em campos rupestres da Chapada Diamantina, foram encontradas xantonas e fenilcumarinas (CRUZ et al.,2001).

IINUMA et al. (1996) relataram a presença de atividade antibacteriana das xantonas da família Guttiferae, alfa-mangostin e rubraxantona, contra *Staphylococcus resistente a meticilina* (MRSA).

Cortez et al. (1998, 1999, 2002) em estudos com *K.coriaceae* relataram atividade antifúngica de xantonas e derivados bifenílicos e atividade contra bactérias Gram-positivas de xantonas e da fenilcumarina aucuparina, isolados de folhas da espécie. Ensaio biomonitorados também demonstraram atividade bactericida de xantonas isoladas de *K.variabilis* contra bactérias Gram-positivas (PINHEIRO et al., 2003) Estudos mais recentes desenvolvidos por SCIO et al. (2003) relataram a presença de novas cumarinas bioativas isoladas da espécie *K.albopunctata* que apresentaram atividades anticancerígena e antiparasitária contra *Schistosoma mansoni* e *Trypanosoma cruzi*.

Recentemente, atividades citotóxica, anti-tumoral, anti-inflamatória e antifúngica foram descritas por IINUMA et al. (1994) e também foi relatada a síntese de duas xantonas antibióticas, Cervinomicinas A1 e A2, com promissora atividade contra bactérias anaeróbicas, micoplasma e algumas bactérias Gram-positivas (PERES et al., 2000).

Estudos inconclusos sobre a composição química de extratos de caules e folhas de *K. cuspidata* (SOBRAL, 2006), conduziram ao isolamento de triterpenos, esteróides e xantonas no extrato hexânico e de xantonas no extrato metanólico desta espécie.

3.3.5 Família Leguminosae

A família Leguminosae, amplamente distribuída no planeta, possui cerca de 600 gêneros e 18.000 espécies e está dividida em três subfamílias: *Caesalpinoideae*, *Mimosoideae* e *Papilionoideae*. As plantas desta família apresentam-se como ervas, sub-arbustos, arbustos, árvores de pequeno, médio ou grande porte e tem em comum um sistema radicular bem desenvolvido, com predominância da raiz principal sobre as ramificações (BARROSO et al., 1991).

A subfamília *Papilionoideae*, a maior e mais evoluída entre as leguminosas, está representada por 482 gêneros e aproximadamente 12.000 espécies, com ampla distribuição geográfica. Pertencem a esta subfamília os gêneros *Arachis* (amendoim), *Cicer* (grão de bico), *Glycine* (soja), *Lens* (lentilha), *Phaseolus* (feijão), *Pisum* (ervilha), *Vicia* (fava), ricos em óleos e proteínas. Também são encontrados os gêneros *Mellilotus* e *Medicago*, nos quais se incluem plantas forrageiras conhecidas como alfafa, *Indigofera* (anil) *Astragalus* (goma arábica), usadas em indústria, *Machaerium* (jacarandá) e *Bowdichia* (sucupira), que fornecem madeiras economicamente importantes (JOLY, 1977).

Quando comparada a outras famílias botânicas, a família Leguminosae é particularmente rica em flavonóides, metabólitos secundários amplamente distribuídos no reino vegetal e que apresentam grande diversidade estrutural. Em sua maioria são pigmentos responsáveis pela coloração de numerosas flores e de alguns frutos, atraindo polinizadores e favorecendo a reprodução da espécie. Também atuam como antioxidantes e inibidores enzimáticos. Já os isoflavonóides apresentam uma distribuição taxonômica bastante restrita, estando praticamente limitados à subfamília *Papilionoideae* e são compostos que apresentam uma variação estrutural muito grande. Dos 630 isoflavonóides citados na literatura, provenientes da subfamília *Papilionoideae*, cerca de 234 são isoflavonas (SEIGLER, 1998).

Para todas as agliconas flavonóidicas relatadas em plantas superiores, 28% dos flavonóides e 95% dos isoflavonóides pertencem à família Leguminosae.

Os rotenóides, compostos derivados da isoflavona, fazem parte de um grupo importante do metabolismo secundário proveniente dos isoflavonóides e ocorrem em plantas que apresentam isoflavonas. Até o momento foram descritos 60 rotenóides com atividades inseticidas e piscicidas. Nos vegetais, uma grande parte dos isoflavonóides comporta-se como fitoalexinas, substâncias produzidas pela planta em resposta à infecção por agentes patogênicos (SIMÕES et al., 1999).

As propriedades biológicas mais importantes dos isoflavonóides conhecidas até o momento, são atividade estrogênica das isoflavonas, antifúngica e antibacteriana dos isoflavonóides (fitoalexinas) e as propriedades inseticidas dos rotenóides (SIMÕES et al., 1999).

3.3.5.1 Gênero *Poiretia*

O gênero *Poiretia* pertencente à subfamília *Papilionoideae* compreende espécies de regiões tropicais e subtropicais das Américas. No Brasil ocorrem todas as espécies, algumas de caráter endêmico. O gênero pertence à tribo *Aeschynomeneae* e à subtribo *Poiretiinae* e é constituído por 12 espécies divididas em duas seções: seção *Poiretia* Vent, constituída pela espécie *Poiretia punctata* e a seção *Virgata* C. Muller, representada pelas espécies *P.unifoliolata*, *P.longipes*, *P.angustifolia*, *P.coriifolia*, *P.marginata*, *P.crenata*, *P.tetraphylla*, *P.mattogrossensis*, *P.elegans*, *P.latifolia* e *P.bahiana*, encontradas principalmente em vales, encostas de montanhas, planaltos, planícies, e campos naturais (MÜLLER, 1984). No Brasil, a espécie *P.tetraphylla* é usada como tônico estomacal e as folhas da *P.latifolia* são usadas no Rio Grande do Sul como aromatizante de chimarrão e sua infusão é considerada afrodisíaca.

A espécie *Poiretia bahiana* C. Muller, popularmente conhecida como arrudinha, arruda da serra ou arruda brava, é a única do gênero que apresenta porte arbóreo ou subarbóreo, com altura média de 4,0m, característica que a diferencia das demais espécies do gênero. Apresenta inflorescências amarelas semelhantes às do feijão. As folhas verde-claro de odor muito forte, com numerosos pontos translúcidos visíveis à contraluz, são utilizadas popularmente na forma de inalação no combate à sinusite e na forma de chá para o tratamento de hemorróidas e dores articulares (FUNCH et al., 2004). Floresce de julho a dezembro e foi encontrada exclusivamente nos campos rupestres da região da Serra de Lençóis, na Chapada Diamantina, no Estado da Bahia, o que sugere ser a espécie endêmica da região (MULLER, 1984).

Estudos realizados com extratos hexânico e metanólico de folhas e galhos de *P.bahiana* (ARAÚJO, 2002), conduziram à identificação de 15 metabólitos secundários: 6 isoflavonas, 2 rotenonas, 2 esteróides identificados como sitosterol e estigmasterol, 2 triterpenos identificados como β -amirina e lupeol no extrato hexânico e a isoflavona D-

glicopiranosilisoflavona, um composto inédito na literatura, 1 aminoácido identificado como prolina e 1 ciclitol identificado como 3-O-metilchiroinositol no extrato metanólico.

Segundo ARAÚJO (2002), as isoflavonas identificadas como cabrevina e tetrametoxiisoflavona e os rotenóides, conhecidos como rotenona e 12a-hidroxirotenona isolados de *P.bahiana*, foram responsáveis pela atividade fungitóxica contra o fungo fitopatogênico *Cladosporium sphaerospermum*.

A análise do óleo volátil das partes aéreas apresentou mono e sesquiterpenos como principais constituintes, sendo a tujenona o componente majoritário (75,33%), seguido por sabineno (10,32%).

3.3.5.2 Gênero *Zornia*

O gênero *Zornia* está incluído na subfamília *Papilionoideae*, tribo *Aeschynomeneae*, subtribo *Poiretiinae* e é constituído por cerca de 80 espécies distribuídas em regiões tropicais e subtropicais da América e Europa. *Zornia flemmingioides*, a espécie selecionada para estudo, é endêmica dos campos rupestres da Chapada Diamantina e apresenta-se como erva perene ou pequeno subarbusto ereto, folíolos oblanceolados pubescentes a glabros, brácteas foliáceas suborbiculares tingidas de vermelho e flores em espigas terminais (LEWIS, 1987).

Estudos fitoquímicos relataram o isolamento de cumarina em *Zornia diphylla* (LOPEZ, 1981) e de esteróides, triterpenos, flavonóides e aminoácidos em *Zornia gibbosa* (SIDDIQUI et al., 1985, 1986).

Em análise dos constituintes químicos de partes aéreas de *Zornia flemmingioides* ALMEIDA et al. (2004) relataram o isolamento de benzofenonas, dado relevante para a quimiosistemática, uma vez que a ocorrência de benzofenonas na família *Leguminosae* só havia sido relatada para três espécies pertencentes a esta família.

Estudo biomonitorado desenvolvido por PEREIRA et al (2005), detectou atividade antitricomonas e atividade antimicrobiana contra *C.albicans*, *C. neoformans* e *S.aureus* em derivados de benzofenonas isoladas de *Z. flemmingioides*.

3.3.6 Família Myrtaceae

A família Myrtaceae, a maior da ordem *Myrtiliflorae*, compreende cerca de 140 gêneros e aproximadamente 3000 espécies divididas em 2 subfamílias, *Myrtoideae* e *Leptospermoideae*, que se distribuem por todos os continentes, exceto na Antártida, com predominância nas regiões tropicais e sub tropicais da América e Austrália.

No Brasil, todos os representantes nativos pertencem à subfamília *Myrtoideae* que é constituída de apenas uma tribo, *Myrteae*, que se divide em três subtribos, *Eugeniinae*, *Myrciinae* e *Myrtinae* (BARROSO et al., 1991). Algumas espécies pertencentes à família são conhecidas por apresentarem frutos comestíveis como a *Eugenia uniflora* (pitangueira), *Eugenia involucrata* (cerejeira), *Plinia trunciflora* (jabuticaba), largamente utilizadas em medicina popular como diuréticas, adstringentes, anti-reumáticas e especialmente como antidiarréicas (CORRÊA, 1984).

Outras espécies nesta família como as do gênero *Melaleuca*, de origem australiana, conhecidas como “tea tree” e as do gênero *Eucalyptus*, produzem óleos essenciais de alto poder germicida (SIANI et al., 2000).

Segundo LAVABRE (1993) “...as plantas e árvores dessa família têm um aspecto nobre e harmonioso, expressando o equilíbrio perfeito entre os quatro elementos na constituição do tipo. As folhas sempre verdes são fortes e simples e se abrem para a esfera superior animal e vegetal num intenso processo floral. O processo de formação de açúcar também é forte nessa família, que produz frutas deliciosas: romã, groselha, goiaba, jabuticaba etc. A profunda penetração do calor tropical nas folhas, flores, na casca e na madeira gera óleos etéreos e resinas aromáticas. Finalmente as árvores têm uma madeira muito dura, o que indica uma relação saudável com o elemento terra”.

Na família Myrtaceae existe uma grande variedade de compostos ativos contra microrganismos que incluem óleos essenciais, flavonóides (SLOWING et al., 1994; HERNÁNDEZ et al., 2000; LIS-BALCHIN et al., 2000) e taninos (SCALBERT, 1991; DJIPA et al., 2000).

3.3.6.1 Gênero *Myrcia*

O gênero *Myrcia* DC pertencente à subtribo *Myrciinae* é um dos maiores gêneros da família *Myrtaceae*, com mais de 300 espécies distribuídas em florestas costeiras e cerrados do México até o sul do Brasil. Apresenta-se como arvoretas ou árvores de até 15m de altura com galhos de casca acinzentada lisa ou descamando em tiras fibrosas, folhas pecioladas cartáceas ou coriáceas e inflorescências em panículas axilares. Algumas espécies de *Myrcia* destacando-se *M.multiflora*, conhecida como “pedra-ume-caá,” são utilizadas em medicina popular, na forma de infuso ou decocto (LIMBERGER et al., 2005).

Existem poucos trabalhos sobre a composição química de espécies de *Myrcia*. Sobre *M.citriofolia* foi relatada a presença de eucaliptina e de uma flavona metilada (GOTTLIEB et al., 1972). Estudo com *M.multiflora* revelou a presença de flavanonas, mirciacitrina I, II, III, IV e V, mirciafenonas A e B isoladas de suas folhas, associadas à inibição da atividade das enzimas aldose redutase e alfa-glicosidase, responsáveis pela atividade antidiabética atribuída à espécie (YOSHIKAWA et al., 1998; MATSUDA et al., 2002).

Estudo sobre a composição de óleos essenciais de *M.acuminatissima*, *M.bombycina*, *M.fallax* e *M.glabra* (HENRIQUES et al., 1997), *M.bracteata*, *M.cuprea* e *M.sylvatica* (ZOGHBI et al., 2003) e *M.richardiana*, *M.arborescens*, *M.selloi*, *M.oligantha*, *M.rostrata*, *M.lajeana*, *M.obtecta*, *M.pubipetala* e *M.hatschbachii* (LIMBERGER et al., 2004) relataram a predominância de mono e sesquiterpenos como principais componentes.

Estudos preliminares sobre a composição do óleo volátil de partes aéreas de *M.sphenoides* levaram à identificação do aldeído (E) 2-hexenal, monoterpenos e sesquiterpenos entre os quais β -cariofileno, sendo que o componente majoritário foi o α - pineno (88%).

Análise química de constituintes presentes no extrato etanólico de folhas de *M.guianensis* conduziu à identificação de flavonas C-metiladas, de ocorrência restrita à família *Myrtaceae*, sendo uma delas inédita. Estudos posteriores conduziram ao isolamento e determinação estrutural de um sesquiterpeno inédito e também ao isolamento do composto 1,2,3,4-tetrahydro-1,1,6-trimetil-4-cetonaftaleno, relatado pela primeira vez como constituinte de uma planta (FELBERG et al., 2005, 2006). Análises inconclusas dos constituintes do óleo essencial de partes aéreas dessa espécie, conduziram à detecção de 45 componentes entre os quais, α -pineno, eucaliptol, trans-pinocarveol, mirtenol, copaeno, santaleno e óxido de cariofileno.

Análises sobre a composição sazonal de óleos voláteis de folhas, flores e frutos de *M.myrtifolia* (MARTINS et al, 2004 a) revelaram a predominância de α -pineno (61,5 a 90,9%) em todas as amostras analisadas.

Estudos sobre a composição do óleo essencial de folhas de *M.hiemalis* (DE MARTINS et al, 2004 b) relataram a identificação de 26 compostos, sendo β -pineno e β -cariofileno os principais componentes.

Estudos com óleos de *M.lajeana*, *M.oligantha* e *M.rostrata* demonstraram atividade antimicrobiana para *S.aureus*, *S.epidermidis* e *M.luteus* e ausência de atividade para *E.coli* e *C.albicans* (LIMBERGER et al., 1998).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 SELEÇÃO E COLETA DE MATERIAL BOTÂNICO

Dezessete espécies vegetais pertencentes a seis famílias botânicas, apresentadas na Tabela 1, foram investigados sob a forma de extratos, frações e óleos essenciais, com o objetivo de detectar e avaliar o grau de atividade antimicrobiana destas amostras frente a treze microrganismos. As plantas investigadas foram coletadas em diferentes regiões do Estado da Bahia, conforme mapa apresentado no Anexo A. Os espécimens de *Schinus terebinthifolius* foram coletados na localidade de Amoreiras na Ilha de Itaparica. Os espécimens de *Acritopappus confertus*, *Acritopappus micropappus*, *Acritopappus pintoii*, *Lychnophora salicifolia*, *Mikania nitida*, *Morithamnus ganophyllus*, *Clusia melchiori*, *Poiretia bahiana*, e *Zornia flemmingioides*, foram coletadas em diferentes localidades da Chapada Diamantina. Os espécimens de *Protium baianus*, *Kielmeyera cuspidata*, *Kielmeyera reticulata*, *Myrcia sphenoides*, *Myrcia guianensis*, *Myrcia myrtifolia* e *Myrcia hiemalis* foram coletadas na restinga do Parque Metropolitano do Abaeté, em Salvador. Fotografias de algumas das espécies investigadas neste trabalho são apresentadas no Anexo B. O material botânico foi identificado pela Profa. Maria Lenise da Silva Guedes, curadora do Herbário Alexandre Leal Costa, do Instituto de Biologia da Universidade Federal da Bahia (UFBA), onde as respectivas exsicatas encontram-se depositadas.

TABELA 1 - Famílias botânicas, espécies selecionadas, partes utilizadas, uso medicinal e tipo de material obtido para investigação de atividade antimicrobiana.

FAMÍLIA/ ESPÉCIES	NOME POPULAR	PARTES UTILIZADAS	USO MEDICINAL	MATERIAL OBTIDO
Anacardiaceae <i>Schinus terebinthifolius</i>	Aroeira da praia	Partes aéreas	Inflamações e infecções do trato respiratório, digestivo e geniturinário, lesões e úlceras de pele e mucosas	Óleo essencial
Asteraceae <i>Acritopappus confertus</i>	Cura-facada	Partes aéreas	Cicatrização de ferimentos na pele	Extratos Metanólico, Hexânico e Óleo essencial
<i>Acritopappus micropappus</i>				Extratos Metanólico e Hexânico
<i>Acritopappus pintoii</i>				Extrato Metanólico
<i>Lychnophora salicifolia</i>	Arnica da serra	Casca, folhas, galhos	Dores e processos inflamatórios	Extratos Metanólico, Hexânico, Metanol/Clorofórmio e Metanol/Hexano
<i>Mikania nitida</i>	Guaco	Partes aéreas	Doenças respiratórias	Óleo essencial
<i>Morithamnus ganophyllus</i>	–	Partes aéreas	–	Extratos Diclorometano e Etanólico
Burseraceae <i>Protium baianus</i>	Bréu branco	Partes aéreas, folhas e frutos	Dores, processos inflamatórios e cicatrização	Óleo essencial
Guttiferae <i>Clusia melchiorii</i>	–	Tronco	–	Extratos Diclorometano e Clorofórmico
<i>Kielmeyera cuspidata</i>	Malva do campo	Caules, folhas	Infecções bacterianas e fúngicas e doenças tropicais	Extrato Hexânico
<i>Kielmeyera reticulata</i>		Caules		Extrato Clorofórmico
Leguminosae <i>Poiretia bahiana</i>	Arrudinha	Partes aéreas, folhas, frutos	Sinusites, hemorróidas e dores articulares	Extratos Metanólico, Hexânico, Frações Metanólica, Hexânica, Éter etílico e Acetato de etila da Partição do Extrato Metanólico e Óleo essencial
<i>Zornia flemmingioides</i>	–	Partes aéreas	–	Extrato Metanólico
Myrtaceae <i>Myrcia sphenoides</i>	Pedra-ume-caá	Partes aéreas	Diabetes	Óleo essencial
<i>Myrcia guianensis</i>		Partes aéreas		
<i>Myrcia myrtifolia</i>				
<i>Myrcia hiemalis</i>				

4.2 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS, FRAÇÕES E ÓLEOS ESSENCIAIS

A obtenção dos óleos essenciais, extratos e frações foi realizada por equipes de pesquisa do Grupo de Estudos de Substâncias Naturais Orgânicas (GESNAT) do Instituto de Química da Universidade Federal da Bahia sob a coordenação dos Professores Dr. Dirceu Martins e Dr. Frederico Guaré Cruz, segundo metodologias de extração e fracionamento adotadas pelos pesquisadores para estudo fitoquímico das espécies selecionadas.

4.3 PREPARO DO MATERIAL OBTIDO

4.3.1 Extratos e Frações

O preparo da solução inicial da amostra observou as seguintes proporções: 10 mg da amostra foram pesados em balança analítica, solubilizados em 0,2 mL de Dimetilsulfóxido (DMSO) (Vetec) na proporção de 2% (p/v) (RIOS, 1988; MITSHER et al., 1972), com o auxílio de Tween 80 (Merck) estéril na proporção de 10% (p/v) (ALLEGRINI et al., 1973; YOUSEF & TAWIL, 1980; VILLAR et al., 1986) e completados com água destilada estéril, para obter 1 mL da concentração inicial de 10.000 µg/mL. A partir desta concentração, foram efetuadas diluições seriadas ao dobro (1:2) em água destilada estéril, obtendo-se as concentrações de 5000, 2500, 1250, 625, 312, 156, 78 e 39 µg/mL.

4.3.2 Óleos Essenciais

Os óleos essenciais foram testados inicialmente “in natura”. As emulsões dos óleos diluídos foram preparadas em volumes de 2 mL em água destilada estéril, com o auxílio de Tween 80 estéril, na proporção de 10% (v/v) em relação ao volume de OE (ALLEGRINI et al., 1973), para obter diluição inicial de 8% (0,16 mL de óleo + 0,016 mL de Tween 80 + 1,82 mL de água destilada estéril). Através das densidades de cada óleo essencial “in natura”,

as correlações obtidas entre diluição inicial e concentração em mg/mL são apresentadas na Tabela 2. A partir desta concentração, foram efetuadas diluições seriadas a 1: 2 em água destilada estéril, para obtenção das concentrações de 4% a 0,06%

TABELA 2 – Correlação entre diluição e concentração em mg/mL de óleos essenciais “in natura”.

ÓLEO ESSENCIAL	Diluição
	8%
<i>Acritopappus confertus</i>	71,00
<i>Mikania nitida</i>	77,00
<i>Myrcia sphenoides</i>	78,50
<i>Myrcia guianensis</i>	81,00
<i>Myrcia myrtifolia</i>	69,50
<i>Myrcia hiemalis</i>	74,50
<i>Poiretia bahiana</i>	72,50
<i>Protium baianus</i>	70,50
<i>Schinus terebinthifolius</i>	70,00

4.4 MICRORGANISMOS

Os microrganismos utilizados nos testes foram obtidos através do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS) da Fundação Oswaldo Cruz, Ministério da Saúde. Foram selecionadas para estudo, seis cepas de bactérias (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Proteus mirabilis* ATCC 29906, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442, *Salmonella choleraesuis* ATCC 10708, *Staphylococcus aureus* sensível a meticilina ATCC 25923 (MSSA), *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina ATCC 33591 (MRSA), e sete cepas de fungos entre as quais duas cepas de leveduras (*Candida albicans* ATCC 90028, *Cryptococcus neoformans* ATCC 32045) e cinco cepas de fungos filamentosos (*Aspergillus fumigatus* ATCC, 16913, *Cladosporium herbarum* ATCC 26362, *Microsporium canis* ATCC 32903, *Penicillium notatum* ATCC 9478, *Trichophyton rubrum* ATCC 28189).

4.5 MEIOS DE CULTURA

Foram utilizados nos ensaios biológicos, os seguintes meios de cultura: Agar Sabouraud Dextrose 4% , Caldo Sabouraud Dextrose 4%, Agar Mueller Hinton, Caldo Muller Hinton (Difco Laboratories Ltda.) e Caldo Brain Heart Infusion (Oxoid Ltda).

4.6 PREPARO E PADRONIZAÇÃO DE INÓCULOS MICROBIANOS

Culturas de bactérias e fungos foram mantidas respectivamente a 4^o C em Agar Mueller Hinton (AMH) e Agar Sabouraud Dextrose 4%(ASD). Antes dos testes as cepas cultivadas foram repicadas duas vezes consecutivas para os meios mencionados e incubadas a 35^o C por 24h para bactérias e *C.albicans*, 48h para *C.neoformans* e 28-30^o por 7 a 14 dias para fungos filamentosos. Suspensões de cada microrganismo foram preparadas pelo método de inoculação direta de colônias de bactérias e de fungos leveduriformes e filamentosos em 10 mL de solução salina estéril e ajustadas frente ao padrão 0.5 da Escala McFarland para conter cerca de 1 a 2 x 10⁸ UFC bactérias / mL e 2 a 5 x 10⁶ UFC fungos/mL (NCCLS M2-A7, 2000a; NCCLS M27-A, 1997).

4.7 SCREENING

Os ensaios do screening para verificar a presença de atividade antimicrobiana nas amostras frente às cepas selecionadas, foram efetuados em duplicata pelo Método de Difusão em Agar, utilizando os extratos e frações na concentração de 10.000 µg/mL e os óleos essenciais não diluídos.

4.7.1 Execução e Leitura do Ensaio

Para cada microrganismo testado, 1 mL de inóculo padronizado foi transferido para placa de Petri 90 x 15mm estéril e misturado homogeneamente com 20 mL de agar fundido a 48^oC (AMH para bactérias e ASD para fungos). Após solidificação, cavidades de cerca de 6mm de diâmetro foram perfuradas no agar (seis por placa), para as quais foram transferidos 50µL de cada amostra de extrato e fração. Para testar os óleos essenciais frente às cepas de bactérias, discos de papel de filtro de 6mm de diâmetro (CECON/SP) impregnados com 10µL de óleos não diluídos foram transferidos para a superfície do agar inoculado. Após 30 minutos à temperatura ambiente, as placas foram incubadas a 35^oC por 24h para bactérias, por 48h para leveduras e a 28-30^oC por 10-14 dias para fungos filamentosos. Simultaneamente aos testes, foram realizados controle de viabilidade das cepas microbianas frente ao solvente e dispersante utilizados, bem como o controle de susceptibilidade das cepas a agentes antimicrobianos, utilizando Sensibiodisks (CECON/SP) com Cloranfenicol (30µg) e Gentamicina (10µg) para bactérias Gram-negativas, Oxacilina (1µg) para MSSA, Vancomicina (30µg) para MRSA e Cetoconazol (50µg) para fungos (NCCLS M2-A7, 2000a; NCCLS M27-A, 1997).

A leitura das zonas de inibição foi efetuada com régua de aço inox com precisão de 0,5 mm e foram utilizados os seguintes parâmetros para a interpretação dos resultados obtidos: diâmetro < 9mm = inativo; 9-12mm = parcialmente ativo; 12-18mm = ativo; >18mm = muito ativo (RIOS et al., 1988, LIMA et al., 1993; COLE, 1994; ALVES et al., 2000).

As amostras que apresentaram atividade antimicrobiana no screening, com diâmetros de halos de inibição iguais ou superiores a 12mm, foram submetidas a ensaios para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM).

4.8 DETERMINAÇÃO DE CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM)

Os ensaios para determinar a CIM foram efetuados pelo Método de Diluição em Agar para os extratos nas concentrações de 5000 a 39 µg/mL; pelo Método de Microdiluição em Caldo para frações nas concentrações de 5000 a 39 µg/mL e para óleos essenciais nas

diluições de 8 a 0,06 %. Devido à quantidades restritas de algumas amostras e limitações de metodologia para determinação de CIM para fungos filamentosos por Microdiluição em Caldo, este método foi utilizado na determinação de CIM de frações e óleos essenciais apenas para bactérias e leveduras.

4.8.1 Concentração Inibitória Mínima pelo Método de Diluição em Ágar

4.8.1.1 Preparo dos Inóculos Microbianos

As suspensões bacterianas previamente padronizadas pelo padrão 0.5 da Escala de McFarland, contendo cerca de $1 \text{ a } 2 \times 10^8$ ufc/mL, foram diluídas a 1:10 em solução salina estéril, para obter a concentração de $1 \text{ a } 2 \times 10^7$ ufc/mL. As suspensões de leveduras e fungos filamentosos foram utilizadas nas concentrações obtidas após padronização, contendo cerca de $1 \text{ a } 5 \times 10^6$ ufc/mL. Para obter a concentração final do inóculo exigida para o método de diluição em agar, contendo cerca de 10^4 ufc, foram utilizados $1\mu\text{L}$ das suspensões bacterianas e $10\mu\text{L}$ das suspensões de fungos e leveduras (NCCLS M7-A5, 2000b; NCCLS M27-A, 1997).

4.8.1.2 Execução e Leitura do Ensaio

Os extratos vegetais foram preparados na concentração de $50.000 \mu\text{g/mL}$, dez vezes a concentração inicial definida para ensaio, mantendo-se as proporções estabelecidas de 2 % (p/v) de solvente e 10% (p/v) de dispersante. A partir desta concentração foram efetuadas diluições seriadas ao dobro (1:2) e 1 mL de cada diluição da amostra foi transferido para 9mL de AMH e/ou ASD (diluição 1:10), homogeneizado e distribuído em placas 60×15 mm estéreis. Após solidificação do meio, alíquotas de $1\mu\text{L}$ das suspensões bacterianas e $10\mu\text{L}$ das suspensões de fungos e leveduras foram transferidas para a superfície do agar. Após 30 minutos à temperatura ambiente para absorção do inóculo pelo agar, as placas foram

invertidas e incubadas nas temperaturas e tempos especificados anteriormente. Controles de esterilidade dos meios, viabilidade dos microrganismos e inibição de atividade antimicrobiana, foram efetuados simultâneamente utilizando Vancomicina nas concentrações de 512 a 4µg/mL para as espécies de estafilococos e Cetoconazol nas concentrações de 8 a 0,06µg/mL para leveduras e fungos filamentosos . A leitura dos ensaios considerou como concentração inibitória mínima, a menor concentração da amostra que produziu inibição visível do crescimento microbiano em estudo (NCCLS M7-A5, 2000b; NCCLS M27-A, 1997).

4.8.2 Concentração Inibitória Mínima pelo Método de Microdiluição em Caldo

4.8.2.1 Preparo dos Inóculos Microbianos

As suspensões bacterianas previamente padronizadas pelo padrão 0.5 da Escala de McFarland, contendo cerca de 1 a 2×10^8 ufc/mL, foram diluídas a 1:10 em solução salina estéril, obtendo-se a concentração de 1 a 2×10^7 ufc/mL. Para obter a concentração final do inóculo de bactérias exigida para o método, 5×10^4 ufc/cavidade, foram utilizados 5µL (NCCLS M7-A5, 2000). As suspensões de leveduras nas concentrações obtidas após padronização, contendo cerca de 1 a 5×10^6 ufc/mL, foram diluídas em Caldo Sabouraud Dextrose a 1:50 e, em seguida a 1:20, obtendo-se a concentração de 1 a 5×10^3 ufc/mL. Para obter a concentração final do inóculo de leveduras exigida para o método, 0.5 a 2.5×10^3 ufc/cavidade, foram utilizados 100µL (NCCLS M27-A, 1997).

4.8.2.2 Execução e Leitura do Ensaio

Este método utilizou pequenos volumes de meio e amostra, distribuídos em cavidades de microplacas estéreis. As amostras ensaiadas foram preparadas em concentração dobrada (16% para óleos essenciais e 10.000µg/mL para frações) em relação à concentração inicial definida e volumes de 100µL foram diluídas seriadamente com auxílio de micropipetas a 1:2 em Caldo Muller Hinton para os ensaios com bactérias e Caldo Sabouraud Dextrose para os

ensaios com leveduras até as concentrações de 39 μ g/mL para frações e de 0,06 μ g/mL para óleos essenciais. Em cada cavidade contendo 100 μ L de amostra foram inoculados 5 μ L de suspensão bacteriana e 100 μ L de suspensão de leveduras previamente padronizadas. Controles negativos com os meios de cultura, controles positivos (meio + inóculo) e controles de inibição utilizando antimicrobianos em concentrações de 8 a 0,06 μ g/mL foram incluídos nos ensaios. As microplacas foram cobertas com filme de PVC e incubadas a 35⁰C por 16 a 20 horas para bactérias Gram-negativas, 24 horas para *Staphylococcus*, 48 horas para *C.albicans* e 72 horas para *C.neoformans*.

Para evidenciar a CIM das amostras frente às bactérias testadas, foi preparada uma solução indicadora de Resazurina Sódica (Sigma) em água destilada estéril na concentração de 0,01% (p/v). Após o tempo de incubação, foram dispensados 20 μ L da solução indicadora em cada cavidade e as placas foram reincubadas por cerca de 3 horas. A mudança de coloração azul para rosa indicativa de redução da resazurina devido à presença de crescimento bacteriano (MANN & MARKHAM, 1998; PALOMINO et al., 2002), auxiliou a visualização da CIM, definida pela menor concentração da amostra que inibiu o crescimento microbiano, evidenciada pela cor azul do indicador utilizado. A leitura da CIM frente às leveduras selecionadas, foi efetuada com auxílio de lupa, para melhor visualização da menor concentração da amostra que inibiu o crescimento microbiano, evidenciada pela ausência de turvação visível.

4.9 DETERMINAÇÃO DE TEMPO DE MORTE BACTERIANA

Para avaliar o tempo de morte bacteriana de amostras que apresentaram CIM significativa, o extrato metanólico e a fração éter-etílico de *P.bahiana* foram ensaiados frente a MRSA, o óleo essencial de *P.bahiana* foi ensaiado frente a MRSA e *E.coli*, o óleo de *S. terebinthifolius* foi ensaiado frente a MRSA, *E.coli* e *P.aeruginosa* e o óleo de *M.sphenoides* frente a MRSA. As amostras foram testadas em concentrações equivalentes a duas vezes a CIM para bactérias Gram-positivas e quatro vezes a CIM para bactérias Gram-negativas. O extrato metanólico e a fração éter-etílico de *P.bahiana* foram ensaiados inicialmente em concentrações equivalentes a duas vezes a CIM, apresentando resultados inefetivos, e por isso foram novamente testadas em concentrações equivalentes a quatro vezes a CIM.

4.9.1 Preparo dos Inóculos Microbianos

Suspensões de microrganismos foram preparadas individualmente por inoculação direta de colônias de culturas de 24h em 5mL de Caldo BHI e incubadas a 37⁰C durante 18h. Diluição posterior foi efetuada por inoculação de 50μL da suspensão em 30 mL de Caldo Muller Hinton e incubada durante 1h a 37⁰C, para assegurar que os microrganismos estivessem em fase logarítmica de crescimento. As concentrações finais situaram-se na faixa de 10⁶ a 10⁷ UFC/mL.

4.9.2 Execução e Leitura dos Ensaios

As amostras foram preparadas em concentrações dobradas em relação às concentrações selecionadas para os ensaios e colocadas em contato com os inóculos microbianos na proporção de 1:1, para alcançar a concentração final desejada e incubados a 37⁰C durante todo o tempo de execução dos ensaios. Os ensaios-controle foram realizados com água destilada estéril e tween 80. Imediatamente após o contato (T0), alíquotas de 0,1mL do controle, foram diluídas seriadamente em 0,9mL de solução salina estéril e 0,1 de cada diluição foi plaqueado em duplicata, pelo método de pourplate, em 20mL de Agar Muller Hinton e incubados a 37⁰C/24h. Após 2h (T2), 4h (T4), 6h (T6), 8h (T8), 10h (T10) e 24h (T24) de contato, repetiu-se o procedimento de diluição, plaqueamento e incubação para controle e amostras. A contagem de colônias foi efetuada em contador de colônias, para obtenção do número médio de microrganismos sobreviventes expressos em UFC/mL, cálculo dos percentuais de redução microbiana e construção das curvas de morte bacteriana representativas do número de microrganismos viáveis versus tempo de contato com as amostras investigadas.

4.10 ELETROFORESE DE PROTEÍNAS BACTERIANAS

Em vista dos resultados obtidos na determinação do tempo de morte bacteriana e para investigar a possível liberação de componentes celulares protéicos pela ação dos OE sobre

alguns dos microrganismos testados, foram realizados ensaios de eletroforese de sobrenadantes após tratamento de MRSA com os óleos de *P.bahiana*, *M.sphenoides* e *S.terebinthifolius*, de *E.coli* com os óleos de *P.bahiana* e *S.terebinthifolius* e de *P.aeruginosa*, com o óleo de *S.terebinthifolius*. Os óleos essenciais foram testados nas concentrações equivalentes a duas vezes a CIM para MRSA e quatro vezes a CIM para *E.coli* e *P.aeruginosa*.

4.10.1 Preparo das Suspensões Microbianas

Para cada microrganismo-teste, inóculo de 2% de cultura de 16-20h em caldo BHI foi utilizado para iniciar crescimento em 30 mL de Caldo Muller Hinton a 37⁰C, sob agitação de 200rpm durante 18h, para obter suspensões de microrganismos na fase estacionária de crescimento. As suspensões foram centrifugadas a 3000g a 4⁰C durante 10 minutos, lavadas e ressuspensas em água ultra pura estéril.

4.10.2 Execução e Leitura do Ensaio

As amostras dos óleos essenciais foram preparadas em água ultra-pura estéril e tween 80 conforme descrito em 4.3.2, no dobro das concentrações selecionadas, em volumes de 2mL, colocadas em contato com igual volume de suspensão bacteriana e incubados a 37⁰C por período de duas horas. Os ensaios-controle para cada microrganismo, foram realizados com água ultra-pura e tween 80. Após 60, 90 e 120 minutos de contato, alíquotas de 1mL de controle e amostra foram transferidas separadamente para tubos Eppendorf estéreis e centrifugadas a 10.000g durante 5 minutos. O volume de 500 µL do sobrenadante de amostra e controle foi transferido separadamente para igual volume de acetona PA e incubados a 4⁰C, por período de 16-20h, para precipitação de proteínas. Os precipitados obtidos foram levados a aquecimento em banho-maria a 70⁰C por 20 minutos e corados com Comassie Blue (Sigma). Alíquotas de 25µL de amostras, controles e do Padrão de Peso Molecular de Proteínas (Sigma) foram submetidas a eletroforese pela técnica em Gel de Acrilamida-Dodecil Sulfato de Sódio (SDS-PAGE) (HELANDER et al., 1998; USP 24, 2000).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 SCREENING

Os resultados do screening de atividade antimicrobiana pelo método de difusão em agar, das amostras representadas por extratos, frações e óleos essenciais das 17 espécies estudadas e dos controles de suscetibilidades dos microrganismos a agentes antimicrobianos, estão registrados nas Tabelas 3 a 8 e Figuras 1 a 20.

5.1.1 Família Anacardiaceae

5.1.1.1 Gênero *Schinus*

O óleo essencial da espécie estudada, *S. terebinthifolius*, revelou atividade inibitória sobre o crescimento de todos os microrganismos testados (Figuras 1 a 11), onde os halos de inibição apresentaram um intervalo de 12,2 a 44,0 mm de diâmetro (Tabela 3). As espécies *C.neoformans* e *T.rubrum* (Figura 11) foram as mais sensíveis ao referido óleo essencial, enquanto que, *P.aeruginosa* (Figura 4) foi a espécie mais resistente.

Tabela 3 – Média dos diâmetros (n=2) de halos de inibição (mm) do óleo essencial da Família Anacardiaceae e de padrões antimicrobianos testados frente a treze microrganismos.

AMOSTRA E PADRÕES	MICROORGANISMOS												
	<i>E.coli</i>	<i>S.choletraesuis</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>P.mirabilis</i>	MSSA	MRSA	<i>C.albicans</i>	<i>C.neoformans</i>	<i>A.fumigatus</i>	<i>P.notatum</i>	<i>C.herbarum</i>	<i>M.canis</i>	<i>T.rubrum</i>
<i>Schinus terebinthifolius</i>	22,5	23,2	12,2	16,0	28,0	20,5	21,0	44,0	27,2	25,0	19,5	31,5	42,0
Cloranfenicol 30µg	21,0	18,0	19,0	17,0									
Gentamicina 10µg	15,0	16,0	19,0	20,0									
Oxacilina 1µg					17,0								
Vancomicina 30µg						19,0							
Cetoconazol 50µg							23,0	27,0	21,0	20,0	23,0	22,0	20,0

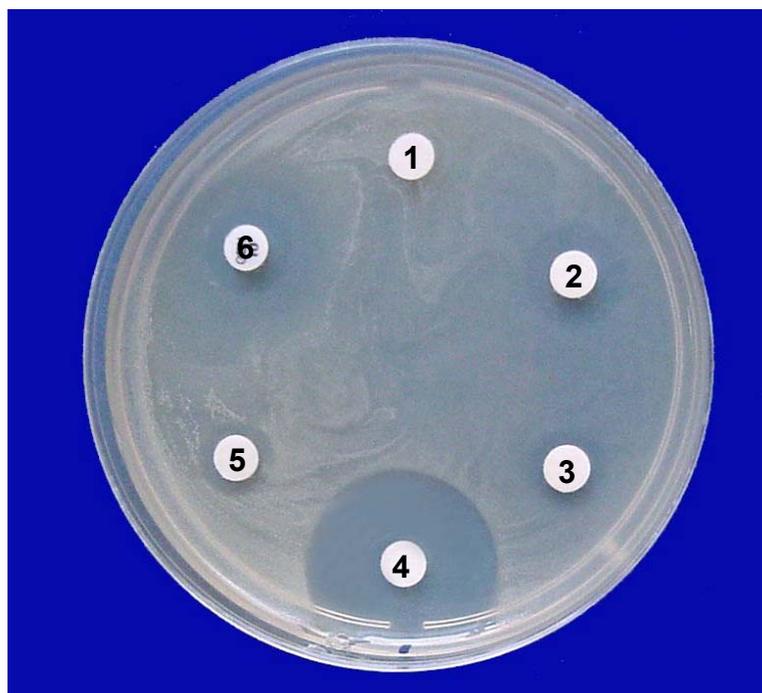


Figura 1 – Atividade antimicrobiana de *A.confertus* OE (1), *P. bahiana* OE folhas (2), *P. bahiana* OE frutos (3), *S. terebinthifolius* (4), *P. baianus* (5) e Gentamicina 10µg (6) frente a *E. coli*.

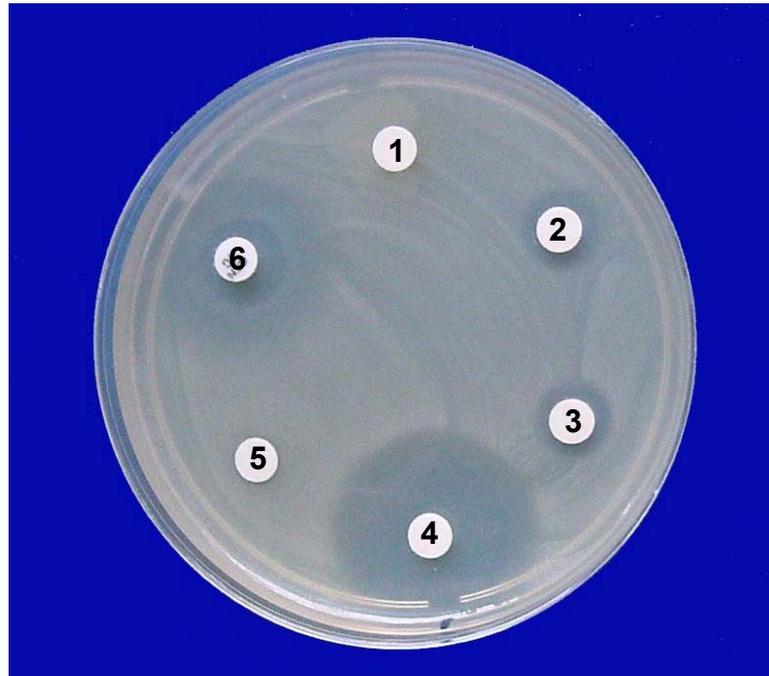


Figura 2 – Atividade antimicrobiana de *A.confertus* OE (1), *P. bahiana* OE folhas (2), *P. bahiana* OE frutos (3), *S. terebinthifolius* (4), *P. baianus* (5) e Gentamicina 10 μ g (6) frente a *S. choleraesuis*.

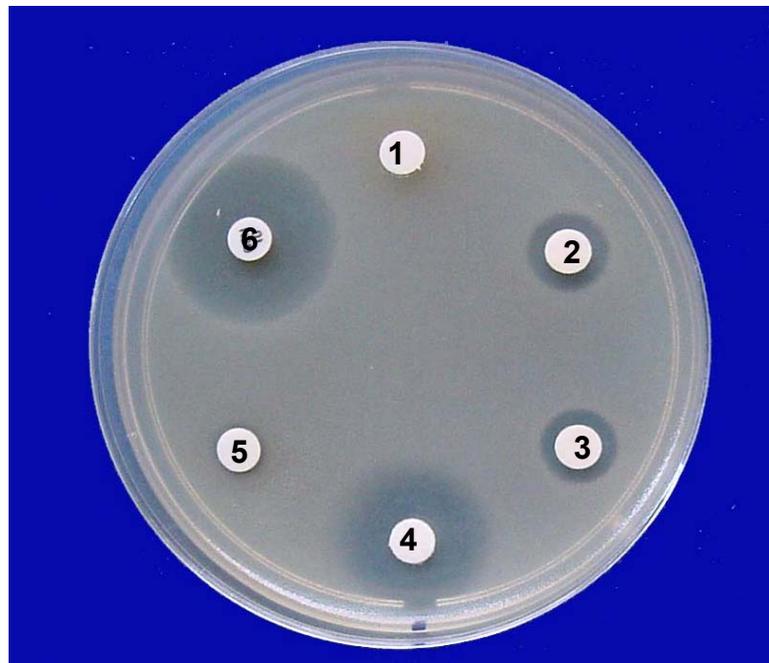


Figura 3 – Atividade antimicrobiana de *A.confertus* OE (1), *P. bahiana* OE folhas (2), *P. bahiana* OE frutos (3), *S. terebinthifolius* (4), *P. baianus* (5) e Gentamicina 10 μ g (6) frente a *P. mirabilis*.

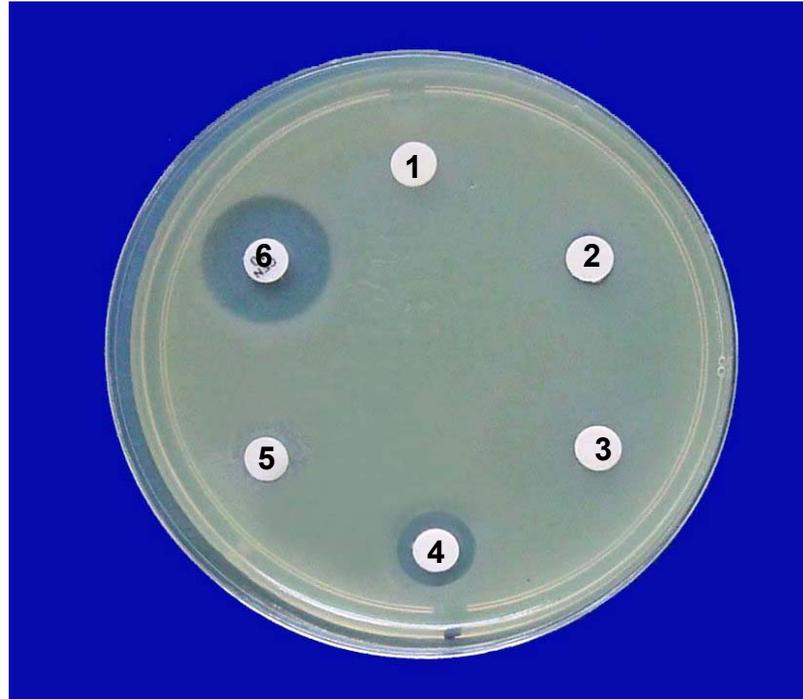


Figura 4 – Atividade antimicrobiana de *A.confertus* OE (1), *P. bahiana* OE folhas (2), *P. bahiana* OE frutos (3), *S. terebinthifolius* (4), *P. baianus* (5) e Gentamicina 10 μ g (6) frente a *P. aeruginosa*.

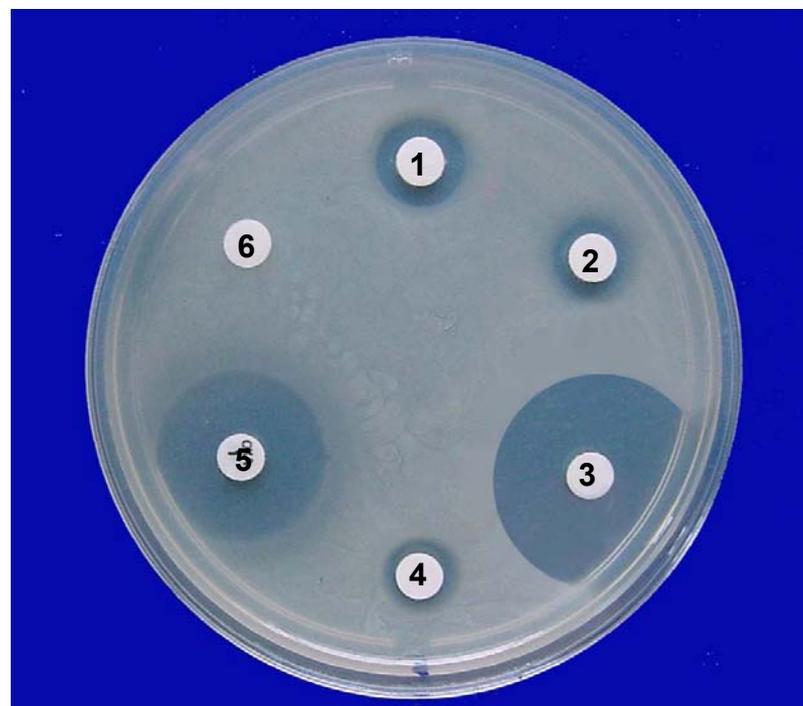


Figura 5 – Atividade antimicrobiana de *P. bahiana* OE folhas (1), *P. bahiana* OE frutos (2), *S. terebinthifolius* (3), *P. baianus* (4) e Oxacilina 1 μ g (5) e *M.nitida* (6) frente a MSSA.

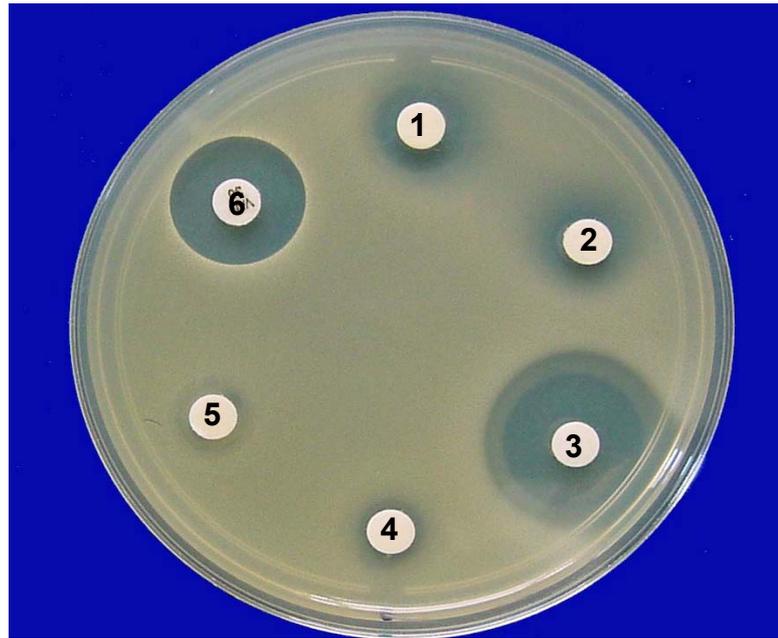


Figura 6 –Atividade antimicrobiana de *P. bahiana* OE folhas (1), *P. bahiana* OE frutos (2), *S. terebinthifolius* (3), *P. baianus* (4), *M. nitida* (5) e Vancomicina 30 μ g (6) frente a MRSA.



Figura 7 – Atividade antimicrobiana de *S. terebinthifolius* OE (1), *M. nitida* OE (2), *P.bahiana* FEE (3) e *P. baianus* (4) frente a *A. fumigatus*.



Figura 8 – Atividade antimicrobiana de *S. terebinthifolius* OE (1), *M. nitida* OE (2), *P. baianus* (3) e *P. bahiana* FEE (4) frente a *P. notatum*.



Figura 9 – Atividade antimicrobiana de *S. terebinthifolius* OE (1), *M. nitida* OE (2), *P. baianus* (3) e *P. bahiana* OE folhas frente a *C. herbarum*.

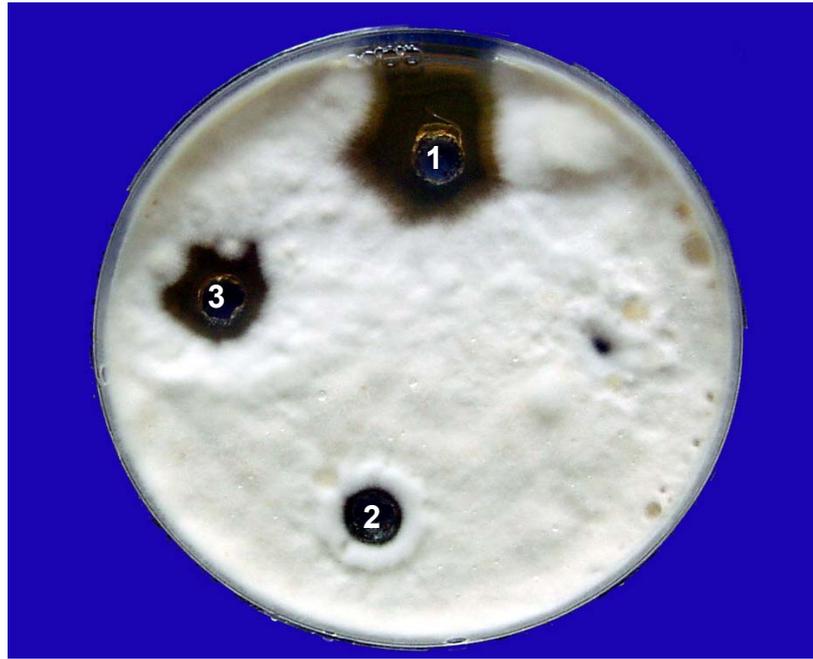


Figura 10 – Atividade antimicrobiana de *S. terebinthifolius* OE (1), *M. nitida* OE (2), *P. baianus* (3) frente a *M. canis*



Figura 11 – Atividade antimicrobiana de *S. terebinthifolius* OE (1), *M. nitida* OE (2), *P. baianus* (3) frente a *T. rubrum*

5.1.2 Família Asteraceae

5.1.2.1 Gênero *Acritopappus*

O EM da espécie *A.confertus* só apresentou atividade parcial para *C.albicans*, enquanto o EH produziu atividade inibitória sobre *C. albicans* e sobre *C. neoformans*, *M. canis* e *T.rubrum* (Tabela 4). O OE desta espécie apresentou atividade para as duas cepas de *S.aureus* testadas e para *C. albicans*, *M. canis* e *T.rubrum* (Tabela 4; Figura 14); o EM da espécie *A. micropappus* não inibiu nenhum dos microrganismos ensaiados, ao passo que o EH mostrou-se ativo para *Staphylococcus* (Tabela 4; Figuras 12 e 13), *C.albicans* e *T.rubrum*; o EM da espécie *A.pintoii* apresentou atividade para as cepas de *Staphylococcus* (Tabela 4; Figuras 12 e 13) e *T.rubrum*.

5.1.2.2 Gênero *Lychnophora*

O EH da casca de *L.salicifolia* não apresentou atividade antimicrobiana; os EH e EMC das folhas da espécie, apresentaram atividade parcial para *E.coli* e *Staphylococcus*; os EM e EMH de folhas e o EM dos galhos apresentaram atividade parcial apenas para as cepas de *S.aureus* (Tabela 4).

5.1.2.3 Gênero *Mikania*

O OE de *M. nitida* mostrou-se inativo para as bactérias ensaiadas e para *P.notatum* e *C. herbarum* (Tabela 4) e apresentou atividade inibitória sobre o crescimento de *C.neoformans*, *A.fumigatus* (Figura 7), *M. canis* (Figura 10) e *T.rubrum* (Figura 11).

5.1.2.4 Gênero *Morithamnus*

O ED da espécie *M.ganophyllus* mostrou-se ativo contra as cepas de *S.aureus* (Tabela 4; Figuras 12 e 13), *C. albicans*, *M. canis* e *T.rubrum*, enquanto o seu EE apresentou inibição apenas para *C. albicans*.

Tabela 4 – Média dos diâmetros (n=2) de halos de inibição (mm) de amostras da Família Asteraceae e de padrões antimicrobianos testados frente a treze microrganismos.

AMOSTRAS E PADRÕES	MICRORGANISMOS												
	<i>E.coli</i>	<i>S.choleraesuis</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>P.mirabilis</i>	MSSA	MRSA	<i>C.albicans</i>	<i>C.neoformans</i>	<i>A.fumigatus</i>	<i>P.notatum</i>	<i>C.herbarum</i>	<i>M.canis</i>	<i>T.rubrum</i>
<i>Acritopappus confertus</i> EM	SI	SI	SI	SI	SI	SI	10,5	SI	SI	SI	SI	SI	SI
<i>Acritopappus confertus</i> EH	SI	SI	SI	SI	SI	SI	12,2	13,0	SI	SI	SI	13,8	12,5
<i>Acritopappus confertus</i> OE	SI	SI	SI	SI	12,2	12,0	14,5	SI	SI	SI	SI	13,0	15,5
<i>Acritopappus micropappus</i> EM	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
<i>Acritopappus micropappus</i> EH	SI	SI	SI	SI	12,8	13,8	12,2	SI	SI	SI	SI	SI	12,8
<i>Acritopappus pintoii</i> EM	SI	SI	SI	SI	12,5	12,2	SI	SI	SI	SI	SI	SI	12,5
<i>Lychnophora salicifolia</i> EH folhas	11,5	SI	SI	SI	9,8	10,0	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
<i>Lychnophora salicifolia</i> EM folhas	SI	SI	SI	SI	10,0	9,8	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
<i>Lychnophora salicifolia</i> EMH folhas	SI	SI	SI	SI	10,2	10,0	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
<i>Lychnophora salicifolia</i> EMC folhas	11,0	SI	SI	SI	10,0	10,0	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
<i>Lychnophora salicifolia</i> EH casca	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
<i>Lychnophora salicifolia</i> EM galhos	SI	SI	SI	SI	10,5	10,0	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
<i>Mikania nitida</i> OE	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	15,0	14,0	SI	SI	12,0	13,5
<i>Morithamnus ganophyllus</i> ED	SI	SI	SI	SI	16,0	15,2	12,5	SI	SI	SI	SI	15,8	17,5
<i>Morithamnus ganophyllus</i> EE	SI	SI	SI	SI	SI	SI	12,0	SI	SI	SI	SI	SI	SI
Cloranfenicol 30µg	21,0	18,0	19,0	17,0									
Gentamicina 10µg	15,0	16,0	19,0	20,0									
Oxacilina 1µg					17,0								
Vancomicina 30µg						19,0							
Cetoconazol 50µg							23,0	27,0	21,0	20,0	23,0	22,0	20,0

EC= Extrato Clorofórmico; ED= Extrato Diclorometano; EE = Extrato Etanólico; EH= Extrato Hexânico; EM= Extrato Metanólico; EMC= Extrato Metanol/Clorofórmio; EMH= Extrato Metanol/Hexano; OE= Óleo Essencial; SI=Sem Inibição

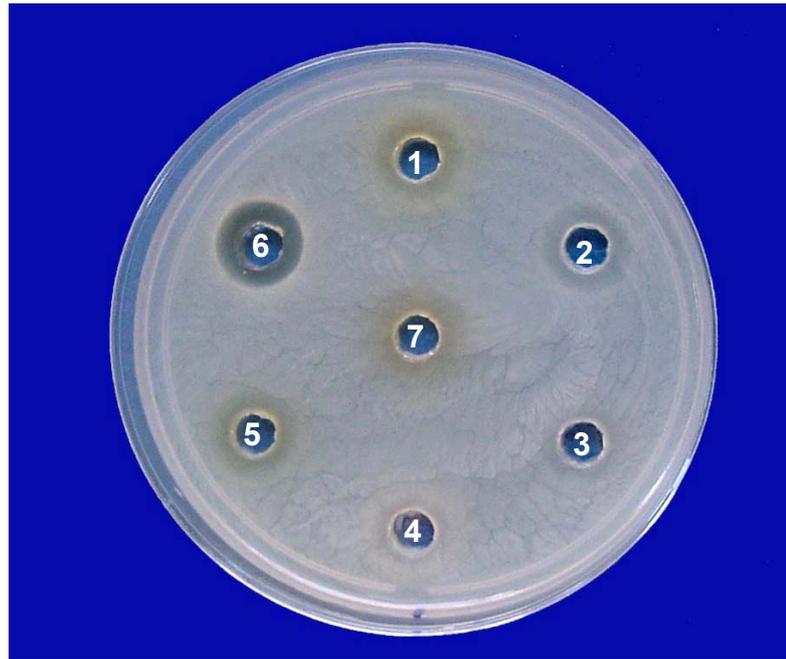


Figura 12 – Atividade antimicrobiana de *A. pintoii* EM (1), *A. micropappus* EH (2), *A.confertus* EM (3), *A.confertus* EH (4), *M.ganophyllius* ED (5), *P. bahiana* EM (6) e *Z. flemmingioides* EM (7) frente a MSSA.



Figura 13 – Atividade antimicrobiana de *A. pintoii* EM (1), *A. micropappus* EH (2), *A.confertus* EM (3), *A.confertus* EH (4), *M.ganophyllius* ED (5), *P.bahiana* EM (6) e *Z. flemmingioides* EM (7) frente a MRSA.

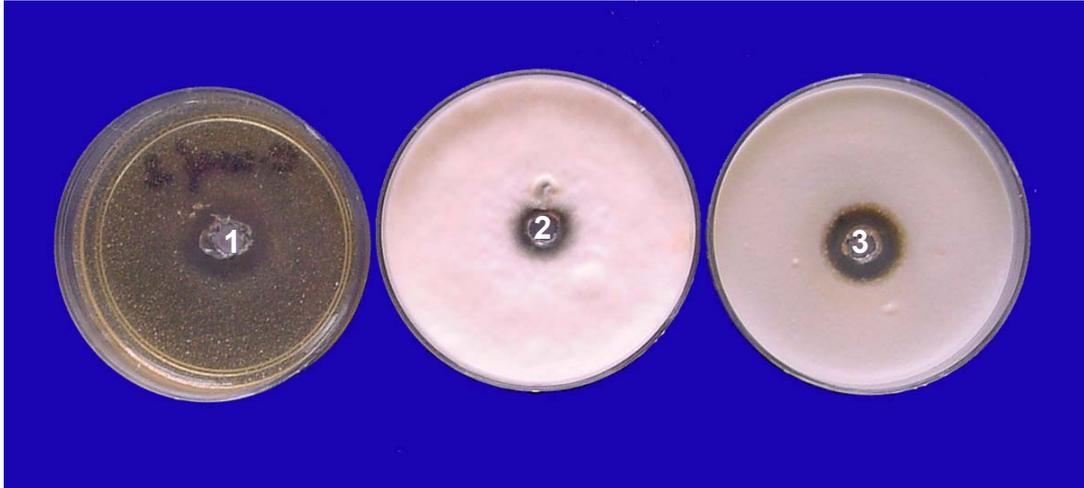


Figura 14 – Atividade antimicrobiana de *A.confertus* OE frente a *C.albicans* (1), *M. canis* (2) e *T. rubrum* (3).

5.1.3 Família Burseraceae

5.1.3.1 Gênero *Protium*

O OE da espécie estudada, *Protium baianus*, mostrou-se inativo para MRSA, *P.notatum* e *C.herbarum*; parcialmente ativo para *E.coli* (Tabela 5; Figura 1) e MSSA (Figura 5) e apresentou atividade para *C.albicans*, *C. neoformans*, *A.fumigatus* (Figura 7), *M. canis* (Figura 10) e *T.rubrum* (Figura 11)

Tabela 5 – Média dos diâmetros (n=2) de halos de inibição (mm) do óleo essencial da Família Burseraceae e de padrões antimicrobianos testados frente a treze microrganismos.

AMOSTRA E PADRÕES	MICRORGANISMOS												
	<i>E.coli</i>	<i>S.choletraesuis</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>P.mirabilis</i>	MSSA	MRSA	<i>C.albicans</i>	<i>C.neoformans</i>	<i>A.fumigatus</i>	<i>P.notatum</i>	<i>C.herbarum</i>	<i>M.canis</i>	<i>T.rubrum</i>
<i>Protium baianus</i>	11,0	SI	SI	SI	9,5	8,0	16,0	21,0	19,0	SI	SI	19,5	31,0
Cloranfenicol 30µg	21,0	18,0	19,0	17,0									
Gentamicina 10µg	15,0	16,0	19,0	20,0									
Oxacilina 1µg					17,0								
Vancomicina 30µg						19,0							
Cetoconazol 50µg							23,0	27,0	21,0	20,0	23,0	22,0	20,0

SI = Sem Inibição

5.1.4 Família Guttiferae

5.1.4.1 Gênero *Clusia*

O ED da espécie *C.melchiorii* apresentou atividade parcial para as cepas de *Staphylococcus* e *C.albicans*, mostrando-se inativo para os demais microrganismos (Tabela 6); o EC da espécie apresentou atividade parcial apenas para as cepas de *Staphylococcus*.

5.1.4.2 Gênero *Kielmeyera*

Os EH de folhas e caules de *K.cuspidata* apresentaram o mesmo perfil de atividade (Tabela 6), sendo ativos para *Staphylococcus* (Figuras 15 e 16) e parcialmente ativos para *C.albicans*, enquanto o EC da espécie *K.reticulata* mostrou-se parcialmente ativo para os *Staphylococcus* testados.

Tabela 6 – Média dos diâmetros (n=2) de halos de inibição (mm) de amostras da Família Guttiferae e de padrões antimicrobianos testados frente a treze microrganismos.

AMOSTRAS E PADRÕES	MICRORGANISMOS												
	<i>E.coli</i>	<i>S.choletraesis</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>P.mirabilis</i>	MSSA	MRSA	<i>C.albicans</i>	<i>C.neoformans</i>	<i>A.fumigatus</i>	<i>P.notatum</i>	<i>C.herbarum</i>	<i>M.canis</i>	<i>T.rubrum</i>
<i>Clusia melchiorii</i> ED	SI	SI	SI	SI	11,8	11,1	10,5	SI	SI	SI	SI	SI	SI
<i>Clusia melchiorii</i> EC	SI	SI	SI	SI	11,2	11,0	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
<i>Kielmeyera cuspidata</i> EH folhas	SI	SI	SI	SI	13,0	13,5	10,5	SI	SI	SI	SI	SI	SI
<i>Kielmeyera cuspidata</i> EH caule	SI	SI	SI	SI	12,8	13,0	10,0	SI	SI	SI	SI	SI	SI
<i>Kielmeyera reticulata</i> EC	SI	SI	SI	SI	11,2	10,2	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
Cloranfenicol 30µg	21,0	18,0	19,0	17,0									
Gentamicina 10µg	15,0	16,0	19,0	20,0									
Oxacilina 1µg					17,0								
Vancomicina 30µg						19,0							
Cetoconazol 50µg							23,0	27,0	21,0	20,0	23,0	22,0	20,0

EC= Extrato Clorofórmico; ED= Extrato Diclorometano; EH= Extrato Hexânico; SI=Sem Inibição

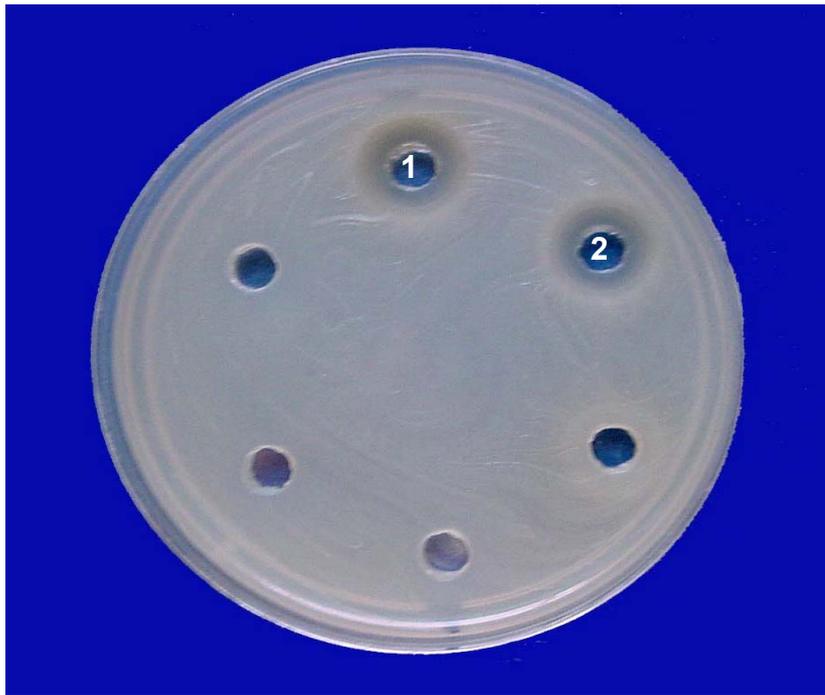


Figura 15 – Atividade antimicrobiana de *K. cuspidata* EH folhas (1), *K. cuspidata* EH caule (2) frente a MSSA.

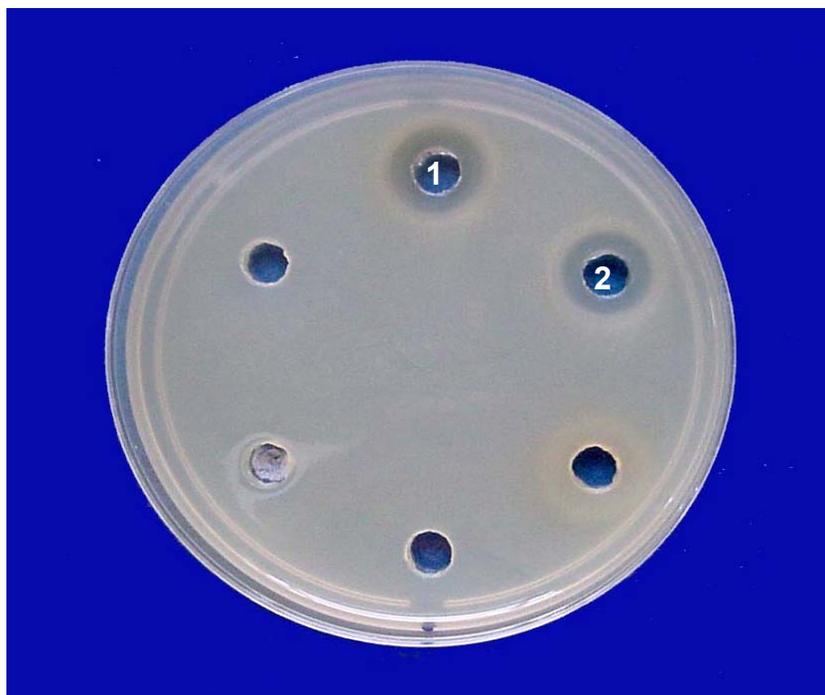


Figura 16 – Atividade antimicrobiana de *K. cuspidata* EH folhas (1), *K. cuspidata* EH caule (2) frente a MRSA

5.1.5 Família Leguminosae

5.1.5.1 Gênero *Poiretia*

A espécie *P.bahiana* apresentou diferentes perfis de atividade em função do material obtido, apresentados na Tabela 7: o EM apresentou atividade inibitória para *Staphylococcus*, (Figuras 12 e 13), *C.albicans* e *C.neoformans* enquanto que, o EH apresentou atividade parcial apenas para *C.albicans*; as FM e FH não apresentaram atividade inibitória; a FEE mostrou-se inativa para bactérias Gram-negativas e para *C.herbarum* e apresentou atividade para os demais microrganismos; a FAE apresentou atividade para os *Staphylococcus* e *C.albicans*. A mais ampla atividade inibitória desta espécie foi observada nos OE de folhas e de frutos : estes óleos mostraram-se parcialmente ativos para *S.choleraesuis* (Figura 2) e inativos para *P.aeruginosa* (Figura 4), *A.fumigatus* e *P.notatum* e; o OE de folhas mostrou atividade contra *E.coli* (Figura 1), *P.mirabilis* (Figura 3), *Staphylococcus*, (Figuras 5 e 6), *C.albicans*, *C.neoformans*, *C.herbarum*, *M.canis* e *T.rubrum* ao passo que, o OE de frutos mostrou-se parcialmente ativo para *E.coli*, *P.mirabilis* e *Staphylococcus* e apresentou atividade para os demais microrganismos.

5.1.5.2 Gênero *Zornia*

O EM de *Zornia flemmingioides* apresentou atividade apenas para as cepas de *Staphylococcus* (Tabela 7; Figuras 12 e 13).

Tabela 7 – Média dos diâmetros (n=2) de halos de inibição (mm) de amostras da Família Leguminosae e de padrões antimicrobianos testados frente a treze microrganismos.

AMOSTRAS E PADRÕES	MICRORGANISMOS												
	<i>E.coli</i>	<i>S.choletraesuis</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>P.mirabilis</i>	MSSA	MRSA	<i>C.albicans</i>	<i>C.neoformans</i>	<i>A.fumigatus</i>	<i>P.notatum</i>	<i>C.herbarum</i>	<i>M.canis</i>	<i>T.rubrum</i>
<i>Poiretia bahiana</i> EM	SI	SI	SI	SI	20,2	19,5	12,0	14,2	SI	SI	SI	SI	SI
<i>Poiretia bahiana</i> EH	SI	SI	SI	SI	SI	SI	11,0	SI	SI	SI	SI	SI	SI
<i>Poiretia bahiana</i> FM	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
<i>Poiretia bahiana</i> FEE	SI	SI	SI	SI	21,0	20,5	14,5	22,0	13,5	12,5	SI	13,0	14,5
<i>Poiretia bahiana</i> FAE	SI	SI	SI	SI	16,2	14,8	14,0	SI	SI	SI	SI	SI	SI
<i>Poiretia bahiana</i> FH	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
<i>Poiretia bahiana</i> OE folhas	14,0	11,0	SI	12,0	12,0	13,0	16,0	19,0	SI	SI	13,0	33,0	24,0
<i>Poiretia bahiana</i> OE frutos	11,5	10,0	SI	11,0	10,0	10,0	14,0	14,0	SI	SI	12,0	19,0	16,0
<i>Zornia flemmingioides</i> EM	SI	SI	SI	SI	12,8	13,5	SI	SI	SI	SI	SI	SI	SI
Cloranfenicol 30µg	21,0	18,0	19,0	17,0									
Gentamicina 10µg	15,0	16,0	19,0	20,0									
Oxacilina 1µg					17,0								
Vancomicina 30µg						19,0							
Cetoconazol 50µg							23,0	27,0	21,0	20,0	23,0	22,0	20,0

EH=Extrato Hexânico; EM= Extrato Metanólico; FM= Fração Metanólica da Partição do Extrato Metanólico; FEE=Fração Éter Etilico da Partição do Extrato Metanólico; FAE= Fração Acetato de Etila da Partição do Extrato Metanólico; FH= Fração Hexânica da Partição do Extrato Metanólico; OE= Óleo Essencial; SI= Sem Inibição.

5.1.6 Família Myrtaceae

5.1.6.1 Gênero *Myrcia*

Os OEs das quatro espécies de *Myrcia* estudadas, *M.sphenoides*, *M.guianensis*, *M.myrtifolia* e *M.hiemalis* apresentaram perfis inibitórios semelhantes: ausência de inibição para bactérias Gram-negativas, *C.albicans* (exceto *M.myrtifolia*, a única das quatro espécies a apresentar inibição para esta levedura), *P.notatum* e *C.herbarum*; todas as espécies apresentaram atividade antimicrobiana para as cepas de *Staphylococcus* (Figuras 17 e 18) e

para os demais microrganismos testados, com halos de inibição variando de 12,0 a 44,0 mm de diâmetro (Tabela 8) observando-se maior grau de inibição para os fungos, especialmente *M.canis* e *T.rubrum* (Figuras 19 e 20).

Tabela 8 – Média dos diâmetros (n=2) de halos de inibição (mm) de óleos essenciais da Família Myrtacea e de padrões antimicrobianos testados frente a treze microrganismos.

AMOSTRAS E PADRÕES	MICROORGANISMOS												
	<i>E.coli</i>	<i>S.choleraesuis</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>P.mirabilis</i>	MSSA	MRSA	<i>C.albicans</i>	<i>C.neoformans</i>	<i>A.fumigatus</i>	<i>P.notatum</i>	<i>C.herbarum</i>	<i>M.canis</i>	<i>T.rubrum</i>
<i>Myrcia sphenoides</i>	SI	SI	SI	SI	13,0	14,0	SI	18,2	19,0	SI	SI	41	43,0
<i>Myrcia guianensis</i>	SI	SI	SI	SI	13,5	14,5	SI	23,5	21,5	SI	SI	28,0	44,0
<i>Myrcia myrtifolia</i>	SI	SI	SI	SI	13,0	13,0	12,8	16,5	14,0	SI	SI	24,5	22,0
<i>Myrcia hiemalis</i>	SI	SI	SI	SI	12,0	14,0	SI	18,8	18,5	SI	SI	23,0	42,0
Cloranfenicol 30µg	21,0	18,0	19,0	17,0									
Gentamicina 10µg	15,0	16,0	19,0	20,0									
Oxacilina 1µg					17,0								
Vancomicina 30µg						19,0							
Cetoconazol 50µg							23,0	27,0	21,0	20,0	23,0	22,0	20,0

SI= Sem Inibição

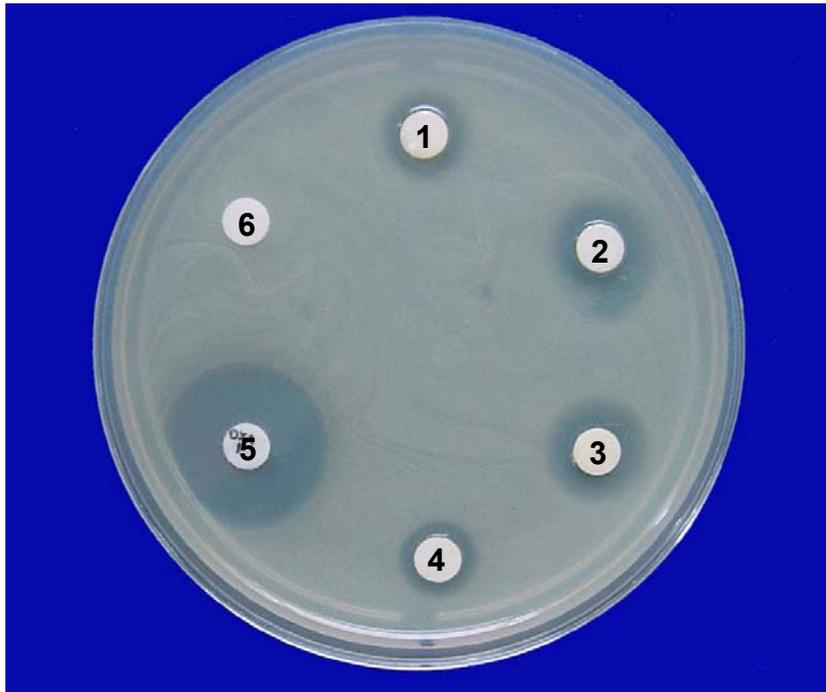


Figura 17 – Atividade antimicrobiana de *M.sphenoides* (1), *M. guianensis* (2), *M. myrtifolia* (3), *M. hiemalis* (4), Oxacilina 1 μ g (5) e diluente (6) frente a MSSA.

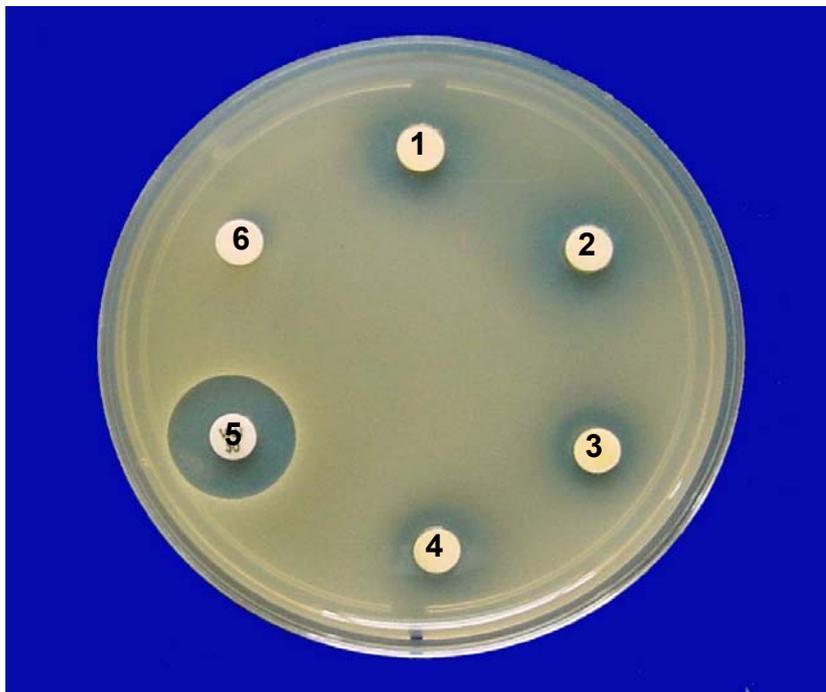


Figura 18 – Atividade antimicrobiana de *M.sphenoides* (1), *M. guianensis* (2), *M. myrtifolia* (3), *M. hiemalis* (4), Vancomicina 30 μ g (5) e diluente (6) frente a MRSA.

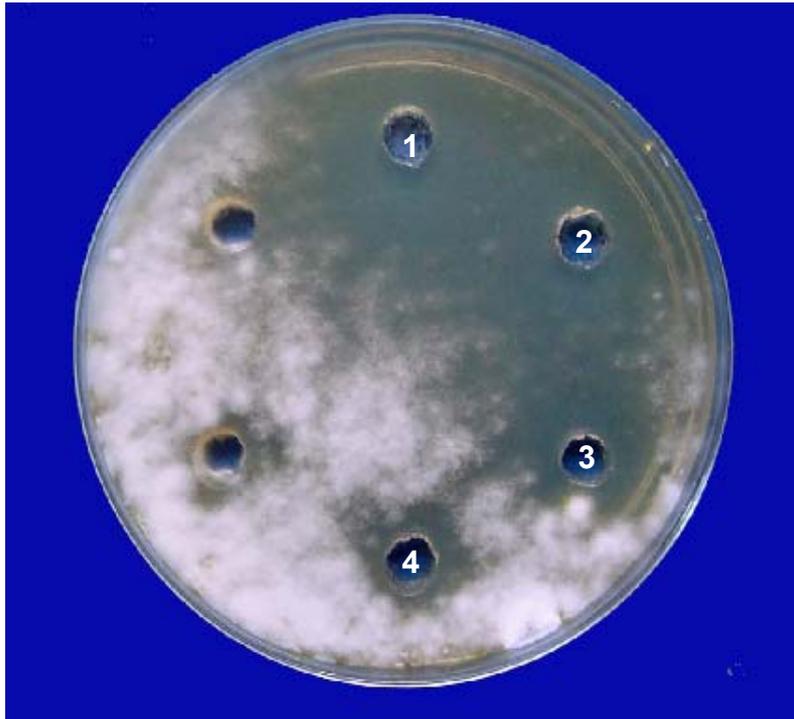


Figura 19 – Atividade antimicrobiana de *M. sphenoides* (1), *M. guianensis* (2), *M. myrtifolia* (3), *M. hiemalis* (4) frente a *M. canis*



Figura 20 – Atividade antimicrobiana de *M. sphenoides* (1), *M. guianensis* (2), *M. hiemalis* (3), *M. myrtifolia* (4) frente a *T. rubrum*

Considerando a diversidade do material obtido, pode-se observar que, entre as amostras analisadas, a maioria dos óleos essenciais apresentou atividade inibitória sobre o maior número de microrganismos em comparação aos extratos e frações (Gráfico 1).

S.terebinthifolius OE inibiu o total dos 13 microrganismos ensaiados (100%), seguida por *P.bahiana* OE de folhas e frutos que inibiu 10 microrganismos (76,92%); *Protium baianus* OE e *P.bahiana* FEE inibiram 8 microrganismos (61,54%); *M.myrtifolia* OE inibiu 7 microrganismos (53,85%); *M.sphenoides* OE, *M.guianensis* OE e *M.hiemalis* OE apresentaram inibição sobre 6 microrganismos (46,15%); *A.confertus* OE e *M.ganophyllus* ED inibiram 5 microrganismos (38,46%); *M.nítida* OE, *A.confertus* EH, *A.micropappus* EH e *P.bahiana* EM apresentaram inibição sobre 4 microrganismos (30,77%); *A.pintoii* EM, *L.salicifolia* EH e EMC folhas, *C.melchiorii* ED, *K.cuspidata* EH folhas e caules e *P.bahiana* FAE inibiram 3 microrganismos (23,07%); *L.salicifolia* EM, EMH de folhas e EM galhos, *C.melchiorii* EC, *K.reticulata* EC e *Z.flemmingioides* EM inibiram 2 microrganismos (15,38%); *A.confertus* EM, *M.ganophyllus* EE e *P.bahiana* EH só apresentaram inibição sobre 1 microrganismo (7,69%); *A.micropappus* EM, *L.salicifolia* EH casca e *P.bahiana* FH não apresentaram atividade inibitória (0%).

Entre as espécies que foram investigadas em extratos metanólicos e hexânicos, verifica-se que, com exceção de *P.bahiana* e *L.salicifolia*, os extratos hexânicos apresentaram maior espectro de atividade em comparação aos metanólicos. Para os demais extratos investigados, em ordem decrescente de espectro de inibição, incluem-se os extratos em diclorometano, metanol/clorofórmio, metanol/hexano, clorofórmio e etanol.

Os dados obtidos confirmam em parte, relatos de literatura em que a quantidade de substâncias inibidoras extraídas com determinados solventes tem duas implicações: a primeira é que os componentes mais ativos não são solúveis em água e a segunda é que, metanol e etanol, os solventes mais utilizados em aproximadamente 35% dos estudos que aparecem citados recentemente na literatura, podem não apresentar a melhor sensibilidade para revelar substâncias antimicrobianas em um screening inicial (COWAN, 1999).

Considerando que, quanto maior for a variedade de compostos extraídos por um solvente, melhor será a chance de que componentes bioativos estejam presentes, a despeito do grau de polaridade dos extratos e óleos essenciais e do método selecionado neste trabalho, podemos atribuir a atividade inibitória encontrada, à diversidade de compostos presentes nas amostras investigadas.

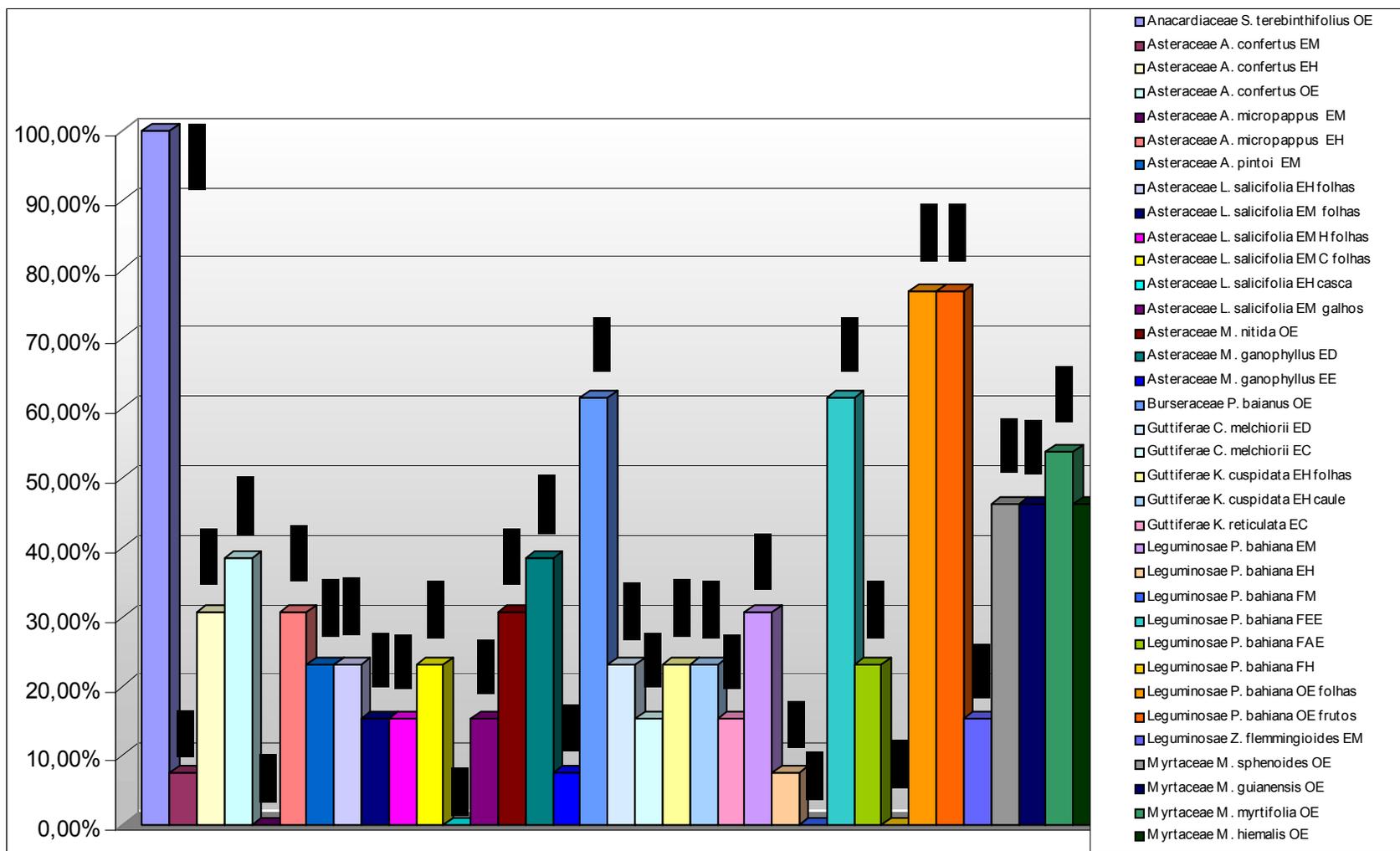


Gráfico 1 – Percentual de atividade das 35 amostras investigadas sobre o número de microorganismos ensaiados, conforme a seqüência estabelecida na Tabela 1.

Relacionando o índice de inibição dos microrganismos ensaiados pelas espécies botânicas estudadas (Gráfico 2), observou-se que entre as bactérias Gram-negativas, *E.coli* foi inibida por 4 espécies (23,53%), *S.choleraesuis* e *P.mirabilis* por 2 espécies (11,76%) e *P.aeruginosa* apenas por 1 espécie botânica (5,88%); as bactérias Gram-positivas foram inibidas por 16 espécies estudadas (94,12%); entre as leveduras ensaiadas, *C.albicans* e *C.neoformans* foram inibidas por 9 espécies (52,94%); entre os fungos filamentosos, *A.fumigatus* foi inibido por 8 espécies (47,06%), *P.notatum* e *C.herbarum* por 2 espécies (11,76%), *M.canis* por 10 espécies (58,82%) e *T.rubrum* por 12 espécies (70,58%).

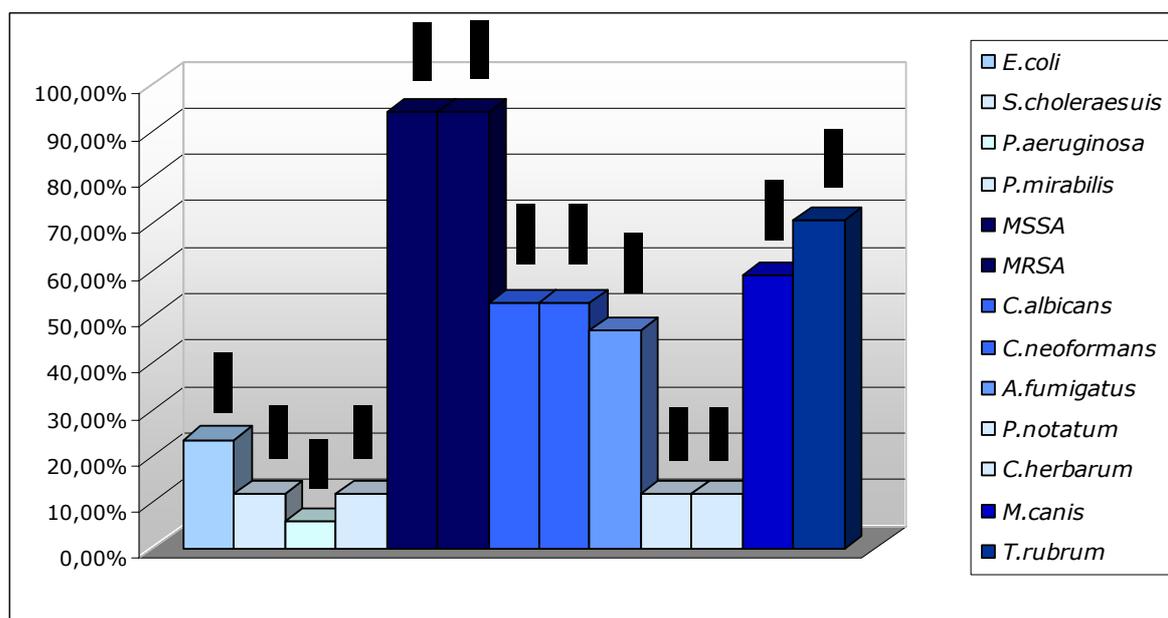


Gráfico 2 – Percentual de inibição dos microrganismos pelas espécies botânicas investigadas

Diversos estudos sobre atividade antimicrobiana de diferentes produtos obtidos de plantas relatam menor susceptibilidade de bactérias Gram-negativas em relação às Gram-positivas (IEVEN et al., 1979; GUTKIND et al., 1981; RIOS et al., 1987; BRANTNER & GREIN, 1994; NAVARRO et al., 1996; SILVA et al., 1996, ALVES et al., 2000). Embora nem todos os estudos tenham concluído que bactérias Gram-positivas são mais sensíveis, a baixa susceptibilidade das Gram-negativas já era previsível, pelo fato de possuírem uma membrana externa (ME) que circunda a parede celular bacteriana e um espaço periplásmico que são ausentes nas bactérias Gram-positivas. A ME protege a célula com uma superfície hidrofílica devido à presença de uma camada lipopolissacarídica que funciona como uma barreira à penetração de moléculas antibióticas e em especial de compostos hidrofóbicos

(TORTORA et al., 1997; HELANDER et al., 1998). Além disso, o espaço periplásmico contém enzimas capazes de inativar moléculas estranhas introduzidas a partir do meio exterior (DUFFY & POWER, 2001). Pequenas moléculas hidrofílicas conseguem passar pela ME através de canais hidrofílicos transmembranares formados por proteínas, as porinas, enquanto que a ME serve de barreira contra a penetração de macromoléculas e compostos hidrofóbicos, embora alguns desses compostos possam atravessar lentamente através de porinas. É por este motivo que as bactérias Gram-negativas são relativamente resistentes a compostos hidrofóbicos. De um modo geral, ultrapassar a ME é um pré-requisito para qualquer substância exercer atividade bactericida sobre bactérias Gram-negativas (HELANDER et al., 1998). Por sua vez, os agentes antimicrobianos presentes nas plantas atuam contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas interferindo no metabolismo microbiano por diversos mecanismos, a depender da sua concentração e composição química. Os OEs apresentam constituintes que variam de hidrocarbonetos terpênicos, álcoois simples e terpênicos, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, óxidos, peróxidos, furanos, ácidos orgânicos, lactonas, cumarinas, até compostos com enxofre. Na mistura, esses compostos apresentam-se em diferentes concentrações em que normalmente um deles é o composto majoritário e outros estão em teores menores ou em quantidades muito reduzidas (SIMÕES et al., 1999). Alguns estudos concluíram que os OEs totais tem uma atividade antibacteriana maior do que a dos componentes majoritários juntos (GILL et al., 2002; MOUREY & CANILLAC, 2002), o que sugere que os compostos presentes em maiores proporções, não são necessariamente responsáveis pela maior parte da atividade obtida. A atividade antimicrobiana pode ser atribuída ao envolvimento de constituintes menos abundantes que podem atuar por efeitos sinérgico ou potencializador entre os demais componentes (CIMANGA et al, 2001; BURT, 2004). Por sua vez, os componentes individuais dos OEs apresentam diferentes graus de atividade contra Gram-positivas e Gram-negativas e é sabido que a composição química dos OEs de uma determinada espécie de planta pode variar de acordo com a origem geográfica e o período de colheita (RECIO & RIOS, 1989; DORMAN & DEANS, 2000). Ainda em relação a bactérias Gram-negativas, os dados obtidos neste trabalho mostram que, neste grupo de bactérias *P. aeruginosa* mostrou-se a menos susceptível aos OEs ensaiados. A despeito do largo espectro de ação antimicrobiana, estudos demonstram que os OEs são quase sempre inefetivos contra cepas de *P. aeruginosa* (CARSON & RILEY, 1994; CHAND et al., 1994; PATTNAIK et al., 1995; BARATTA et al., 1998; HAMMER et al., 1999). Esta tolerância se deve a uma resistência intrínseca a uma extensa variedade de substâncias biocidas, associada à natureza de sua membrana externa, composta de lipopolissacarídeos (LPS), cuja superfície

normalmente aniônica, devido à presença de proteínas ácidas e dos grupos carboxila e fosfato da camada lipopolissacarídica, forma uma barreira de permeabilidade que confere proteção contra efeitos de agentes tóxicos (NIKAIDO & VAARA, 1985; HELANDER & MATTILA-SANDHOLM, 2000). Estudo utilizando Polimixina B nonapeptídeo como agente permeabilizante de membrana em células de *P.aeruginosa*, verificou a ação de p-cimeno e γ -terpineno sobre este microrganismo, demonstrando a inefetividade destes compostos na ausência de um agente permeabilizante, por não conseguirem penetrar a ME da *P.aeruginosa* (MANN et al., 2000). Geralmente, quanto mais lipofílico for um composto, maior será a sua afinidade por membranas celulares e maior a sua toxicidade. A relação entre permeabilidade de ME de Gram-negativas e toxicidade, salienta o fato de que a passagem de compostos bioativos será determinada tanto pela sua solubilidade em água quanto pela permeabilidade da ME do microrganismo alvo. Mesmo que outros mecanismos como efluxo ativo de componentes de EOs, inibição de produção de porinas e modificações na estrutura de membrana possam também estar envolvidos, o fator essencial para a resistência deste microrganismo é atribuído à própria ME da *P. aeruginosa* pela presença da camada intacta de LPS (MANN & MARKHAM, 2000).

5.2 CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM)

As CIMs dos produtos vegetais que apresentaram halos de inibição iguais ou superiores a 12mm no screening de atividade antimicrobiana, estão registrados nas Tabelas 9 e 10 e Figuras 21 a 36.

Na tabela 9, estão registrados os resultados de CIMs dos óleos essenciais expressos em percentual de diluição (%).

Para expressar os valores de concentração das amostras analisadas em uma mesma unidade e visando uma melhor avaliação dos resultados, as CIMs dos OEs expressas em percentual de diluição foram convertidas para mg/mL, conforme correlação apresentada na Tabela 2 e os resultados de CIMs dos extratos, frações e OEs expressos em $\mu\text{g/mL}$ são mostrados na Tabela 10.

Tabela 9 – CIMs de óleos essenciais (%) e de padrões antimicrobianos (µg/mL) para bactérias e fungos.

FAMÍLIAS BOTÂNICAS AMOSTRAS E PADRÕES	MICRORGANISMOS							
	<i>E.coli</i>	<i>S.choletraesnis</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>P.mirabilis</i>	MSSA	MRSA	<i>C.albicans</i>	<i>C.neoformans</i>
ANACARDIACEAE								
<i>Schinus terebinthifolius</i>	0,25	1,0	1,0	1,0	0,12	0,5	0,25	0,06
ASTERACEAE								
<i>Acritopappus confertus</i>	NT	NT	NT	NT	8,0	8,0	4,0	NT
<i>Mikania nitida</i>	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	1,0
BURSERACEAE								
<i>Protium baianus</i>	NT	NT	NT	NT	NT	NT	0,5	0,12
LEGUMINOSAE								
<i>Poiretia bahiana</i> OE folhas	1,0	NT	NT	2,0	4,0	4,0	0,25	0,25
<i>Poiretia bahiana</i> OE frutos	NT	NT	NT	NT	NT	NT	0,12	0,06
MYRTACEAE								
<i>Myrcia sphenoides</i>	NT	NT	NT	NT	0,12	0,25	NT	0,5
<i>Myrcia guianensis</i>	NT	NT	NT	NT	0,25	0,5	NT	0,5
<i>Myrcia myrtifolia</i>	NT	NT	NT	NT	0,25	0,25	0,12	1,0
<i>Myrcia hiemalis</i>	NT	NT	NT	NT	0,5	1,0	NT	0,25
PADRÕES								
Cetoconazol							0,125	0,25
Gentamicina	1,0	0,5	2,0	1,0				
Oxacilina					0,25			
Vancomicina						0,5		

NT= Não Testado

Tabela 10 – CIM de extratos, frações e óleos essenciais expressos em µg/mL.

FAMÍLIAS BOTÂNICAS E AMOSTRAS	MICRORGANISMOS									
	<i>E.coli</i>	<i>S.choletraesuis</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>P.mirabilis</i>	MSSA	MRSA	<i>C.albicans</i>	<i>C.neoformans</i>	<i>M.canis</i>	<i>T.rubrum</i>
<i>ANACARDIACEAE</i>										
<i>Schinus terebinthifolius</i> OE	2180	8750	8750	8750	1090	4370	2180	540	NT	NT
<i>ASTERACEAE</i>										
<i>Acritopappus confertus</i> EH	NT	NT	NT	NT	NT	NT	>5000	>5000	1250	5000
<i>Acritopappus confertus</i> OE	NT	NT	NT	NT	71000	71000	35500	NT	NT	NT
<i>Acritopappus micropappus</i> EH	NT	NT	NT	NT	>5000	2500	>5000	NT	NT	5000
<i>Acritopappus pintoii</i> EM	NT	NT	NT	NT	1250	2500	NT	NT	NT	1250
<i>Mikania nitida</i> OE	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	9620	NT	NT
<i>Morithamnus ganophyllus</i> ED	NT	NT	NT	NT	625	1250	>5000	NT	625	312
<i>BURSERACEAE</i>										
<i>Protium baianus</i> OE	NT	NT	NT	NT	NT	NT	4400	1100	NT	NT
<i>GUTTIFERAE</i>										
<i>Kielmeyera cuspidata</i> EHfolhas	NT	NT	NT	NT	1250	625	NT	NT	NT	NT
<i>LEGUMINOSAE</i>										
<i>Poiretia bahiana</i> EM	NT	NT	NT	NT	78	312	>5000	625	NT	NT
<i>Poiretia bahiana</i> FEE	NT	NT	NT	NT	78	78	2500	78	NT	NT
<i>Poiretia bahiana</i> FAE	NT	NT	NT	NT	625	1250	5000	NT	NT	NT
<i>Poiretia bahiana</i> OE folhas	9060	NT	NT	18120	36250	36250	2260	2260	NT	NT
<i>Poiretia bahiana</i> OE frutos	NT	NT	NT	NT	NT	NT	1130	560	NT	NT
<i>Zornia flemmingioides</i> EM	NT	NT	NT	NT	2500	2500	NT	NT	NT	NT
<i>MYRTACEAE</i>										
<i>Myrcia sphenoides</i> OE	NT	NT	NT	NT	1220	2450	NT	4900	NT	NT
<i>Myrcia guianensis</i> OE	NT	NT	NT	NT	2530	5060	NT	5060	NT	NT
<i>Myrcia myrtifolia</i> OE	NT	NT	NT	NT	2170	2170	1080	8680	NT	NT
<i>Myrcia hiemalis</i> OE	NT	NT	NT	NT	4650	9310	NT	2320	NT	NT

ED= Extrato Diclorometano; EH= Extrato Hexânico; EM= Extrato Metanólico; FEE= Fração Éter Etilico da Partição do Extrato Metanólico; FAE= Fração Acetato de Etila da Partição do Extrato Metanólico; OE= Óleo Essencial; NT= Não Testado.

Na família Anacardiaceae, o OE de *S.terebinthifolius* apresentou efeito inibitório em concentrações que variaram de 540 $\mu\text{g/mL}$ (0,06%) para *C.neoformans* (Figura 28), 1090 $\mu\text{g/mL}$ (0,12%) para MSSA (Figura 21), 2180 $\mu\text{g/mL}$ (0,25%) para *E.coli* (Figura 23) e *C.albicans* (Figura 27), 4370 $\mu\text{g/mL}$ (0,5%) para MRSA (Figura 22) a 8750 $\mu\text{g/mL}$ (1,0%) para *S.choleraesuis* (Figura 24), *P.aeruginosa* (Figura 25) e *P.mirabilis* (Figuras 26).

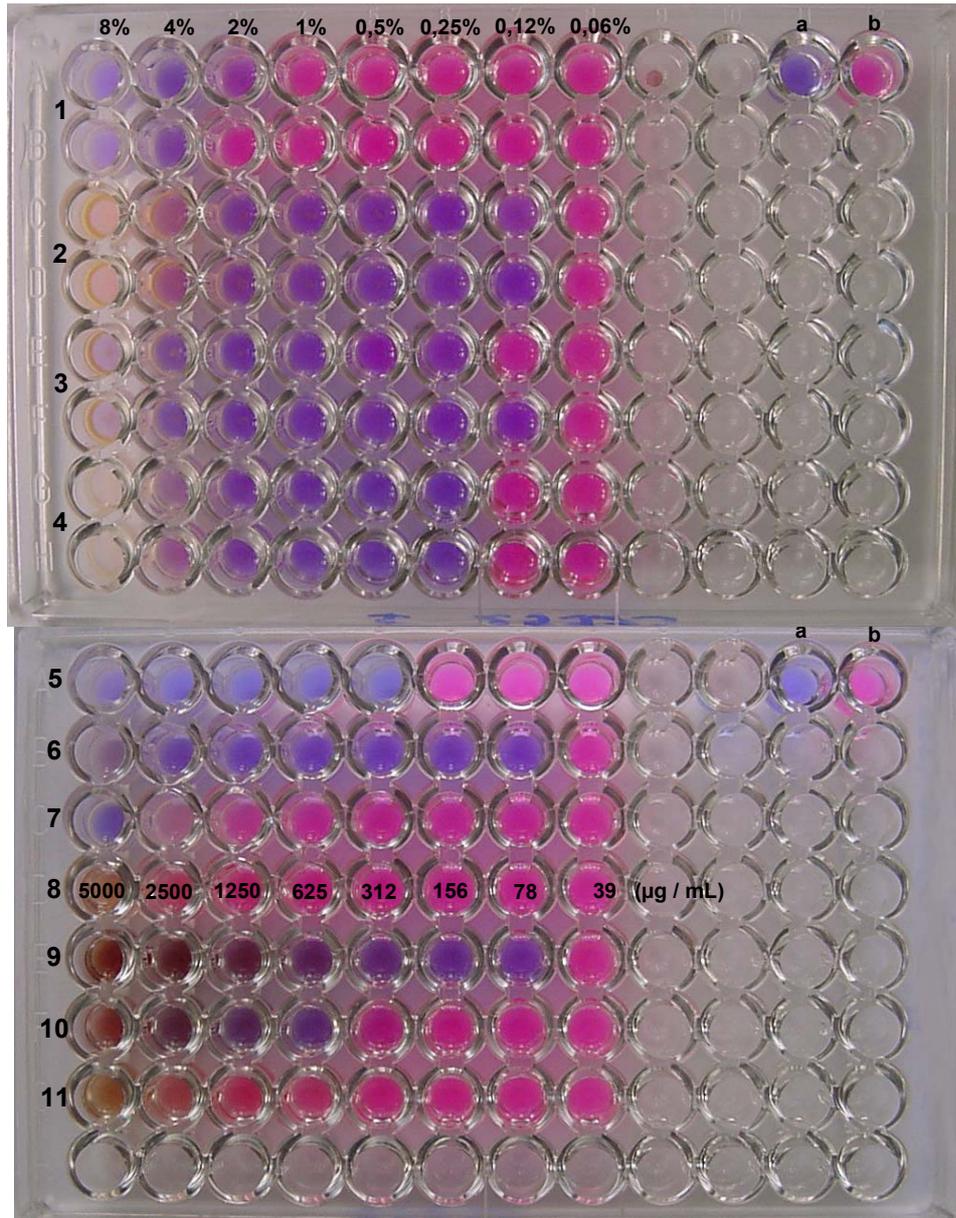


Figura 21 – CIMs de *P. bahiana* OE (1), *M. sphenoides* (2), *M. guianensis* (3), *M. myrtifolia* (4), *M. hiemalis* (5), *S. terebinthifolius* (6), *A. confertus* OE (7), *P. bahiana* FM (8), *P. bahiana* FEE (9), *P. bahiana* FAE (10), *P. bahiana* FH (11), controle de meio (a) e controle de microrganismo (b) frente a MSSA.

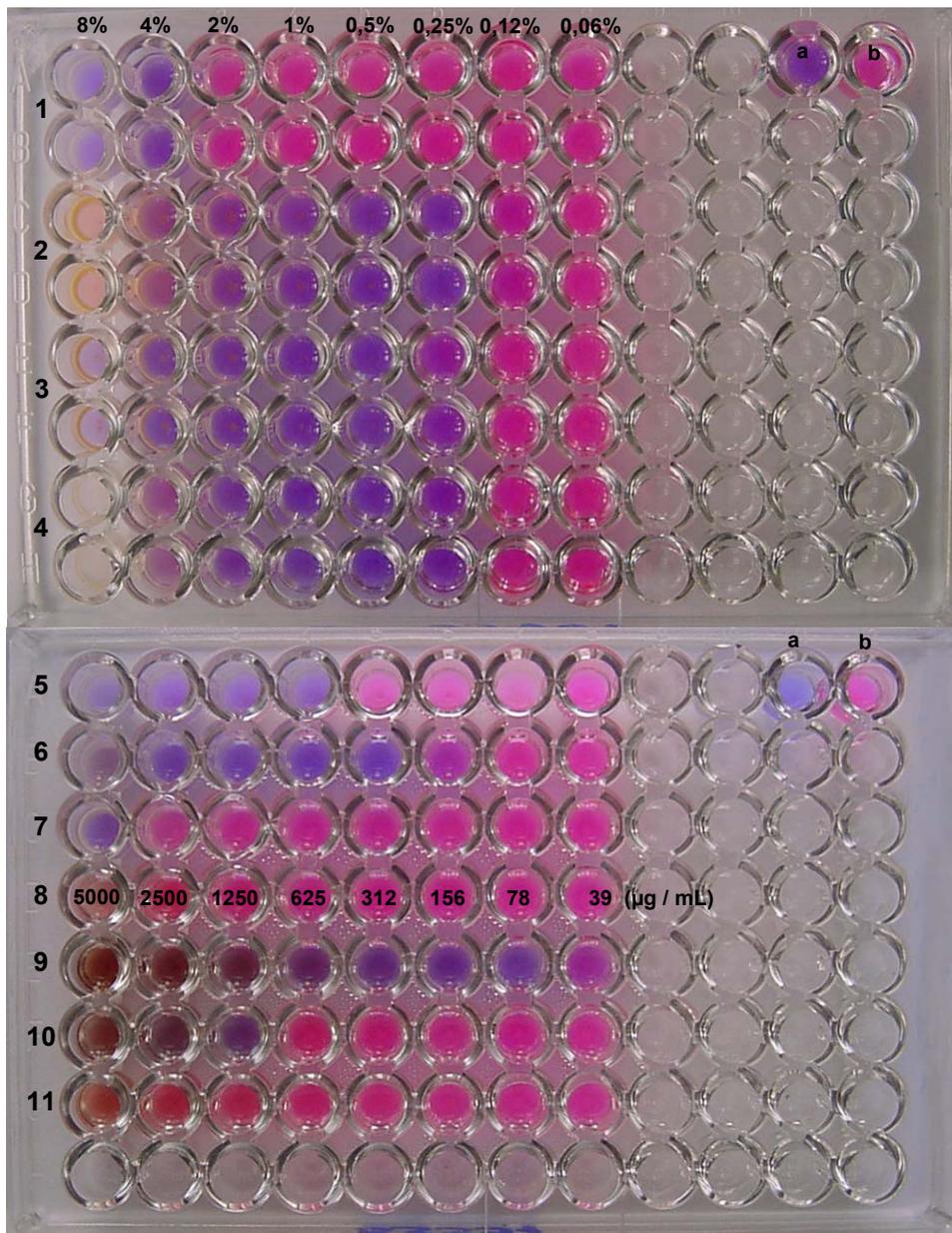


Figura 22 – CIMs de *P. bahiana* OE (1), *M. sphenoides* (2), *M. guianensis* (3), *M. myrtifolia* (4), *M. hiemalis* (5), *S. terebinthifolius* (6), *A. confertus* OE (7), *P. bahiana* FM (8), *P. bahiana* FEE (9), *P. bahiana* FAE (10), *P. bahiana* FH (11), controle de meio (a) e controle de microrganismo (b) frente a MRSA



Figura 23 – CIMs de *P. bahiana* OE (1), *S. terebinthifolius* (2) frente a *E. coli*, controle de meio (a) e controle de microrganismo (b).

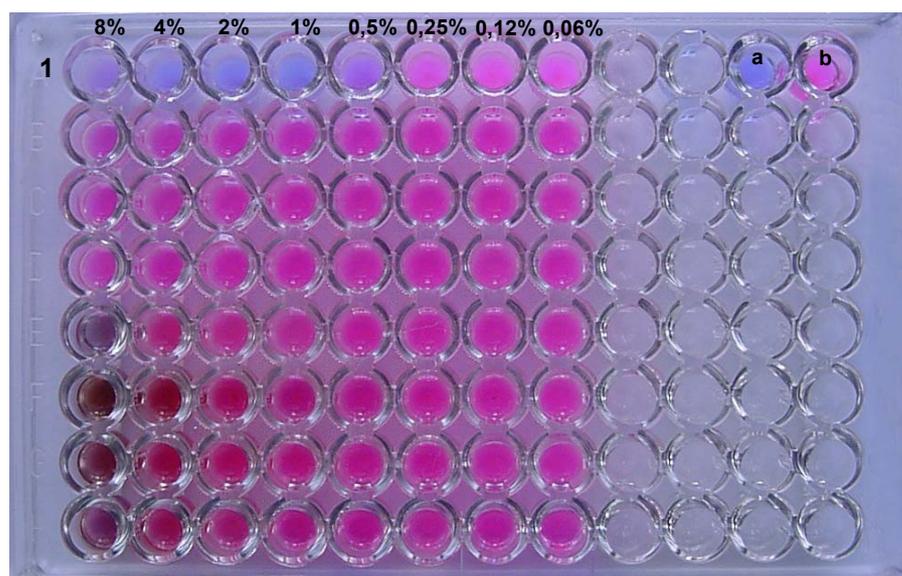


Figura 24 – CIMs de *S. terebinthifolius* (1) frente a *S. choleraesuis* controle de meio (a) e controle de microrganismo (b).

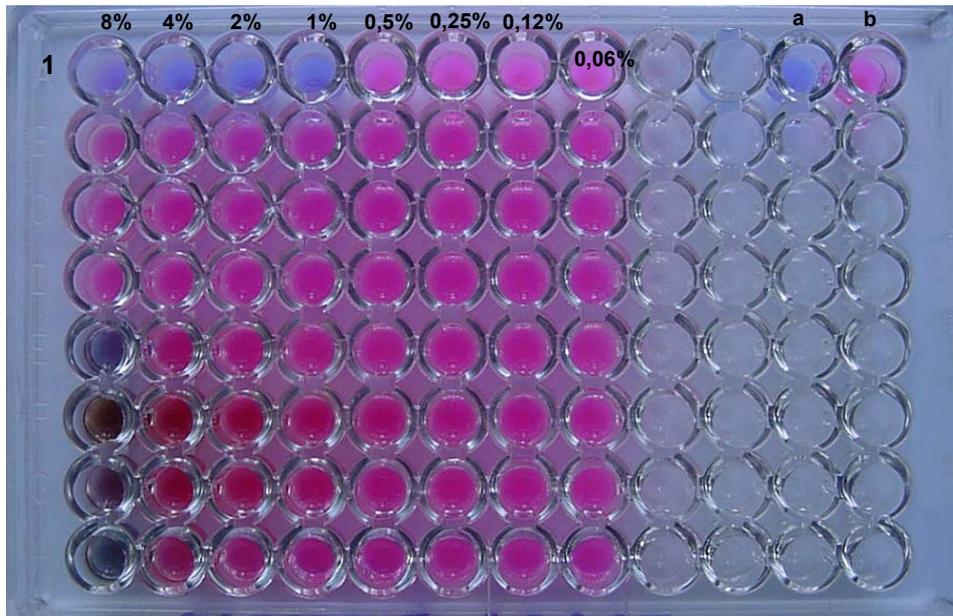


Figura 25 – CIMs de *S. terebinthifolius* (1) frente a *P. aeruginosa* controle de meio (a) e controle de microrganismo (b).

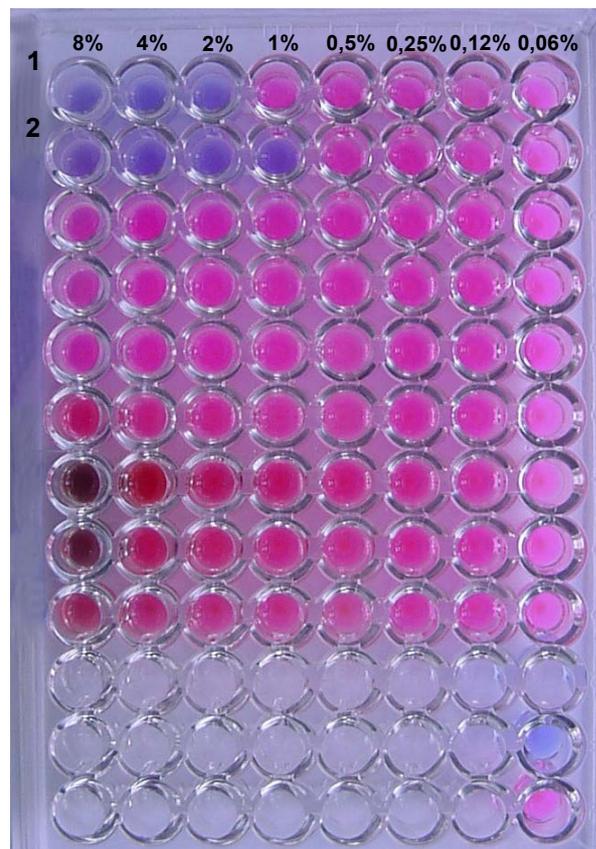


Figura 26 – CIMs de *P. bahiana* OE (1), *S. terebinthifolius* (2) frente a *P. mirabilis*, controle de meio (a) e controle de microrganismo (b).

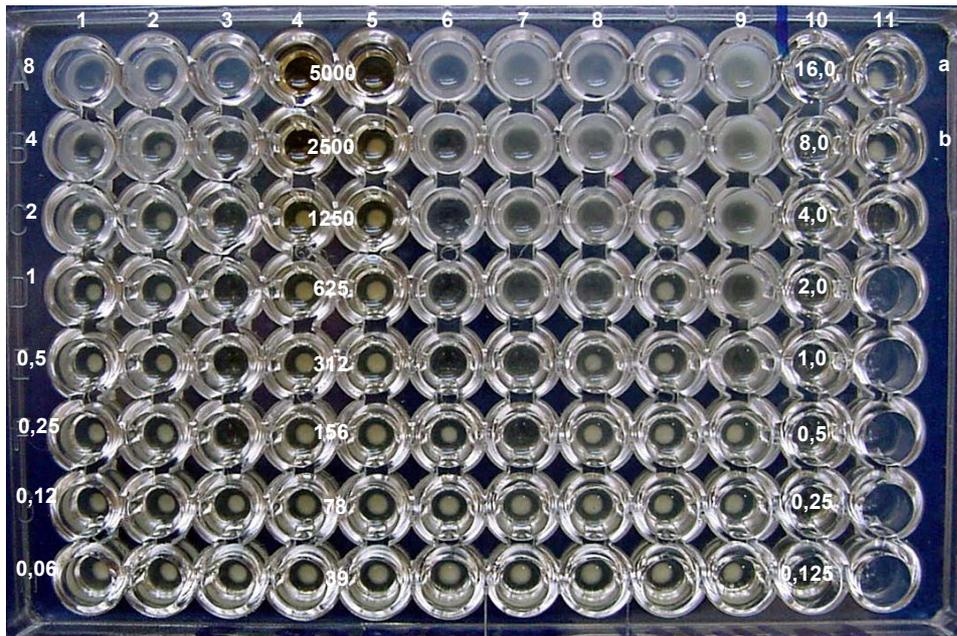


Figura 27 – CIMs de *A. confertus* (1), *M. nitida* (2), *M. myrtifolia* (3), *P. bahiana* FEE (4), *P. bahiana* FAE (5), *P. bahiana* OE folhas (6), *P. bahiana* OE frutos (7), *P. baianus* (8), *S. terebinthifolius* (9), *Cetoconazol* (10), controle de microrganismo (11a) e controle de diluente (11b) frente a *C. albicans*.

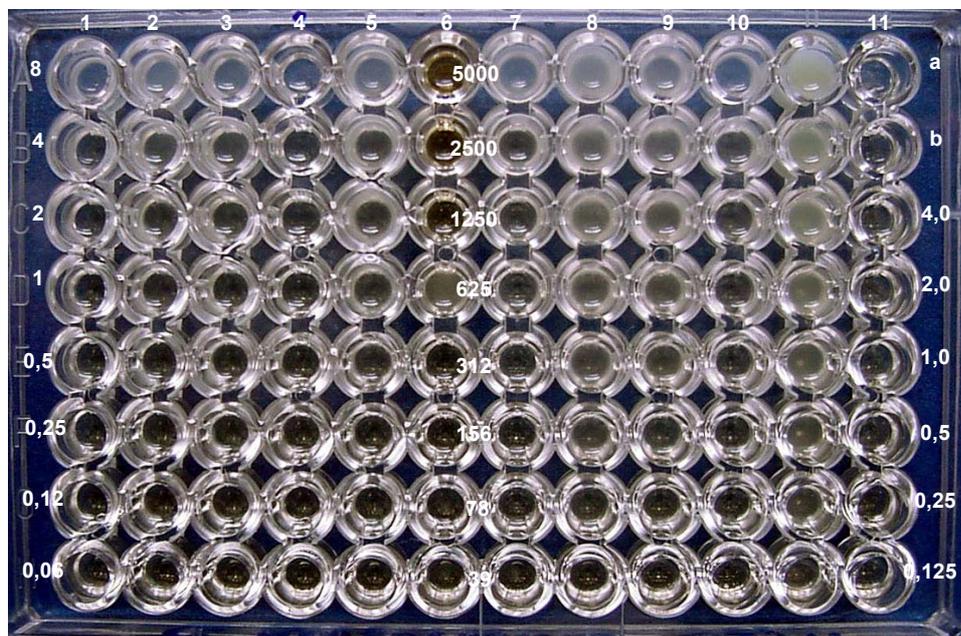


Figura 28 – CIMs de *M. nitida* (1), *M. sphenoides* (2), *M. guianensis* (3), *M. myrtifolia* (4), *M. hiemalis* (5), *P. bahiana* FEE (6), *P. bahiana* OE folhas (7), *P. bahiana* OE frutos (8), *P. baianus* (9), *S. terebinthifolius* (10), controle de microrganismo (11a), controle de diluente (11b) e *Cetoconazol* $\mu\text{g/mL}$ (11c) frente a *C. neoformans*.

Dentre os produtos vegetais testados na família Asteraceae, merece destaque o ED de *M. ganophyllus*, que até a concentração de 312 $\mu\text{g/mL}$, inibiu o crescimento de *T.rubrum*, *M.canis*, MSSA e MRSA (Figura 29). Somente *C.albicans*, apresentou resistência ao ED dessa espécie vegetal.

Em seguida, o EM de *A. pintoii*, produziu efeito inibitório sobre MSSA, MRSA, e *T.rubrum*, nas concentrações entre 1250 a 2500 $\mu\text{g/mL}$ (Figura 30).

O OE de *A.confertus* apresentou efeito inibitório em concentrações entre 35500 $\mu\text{g/mL}$ (4%) para *C.albicans* (Figura 27) e 71000 $\mu\text{g/mL}$ (8%) para MSSA e MRSA (Figuras 21 e 22).

Os EH de *A.confertus* e *A.micropappus* produziram pouco efeito inibitório sobre as espécies de bactérias e fungos testadas. Ambos os extratos, a 1250 $\mu\text{g/mL}$ e 2500 $\mu\text{g/mL}$ apresentaram atividade inibitória, respectivamente, sobre *M.canis* e MRSA (Figuras 31 e 32).

O OE de *M.nítida* apresentou CIM de 9620 $\mu\text{g/mL}$ (1%) para *C.neoformans*.

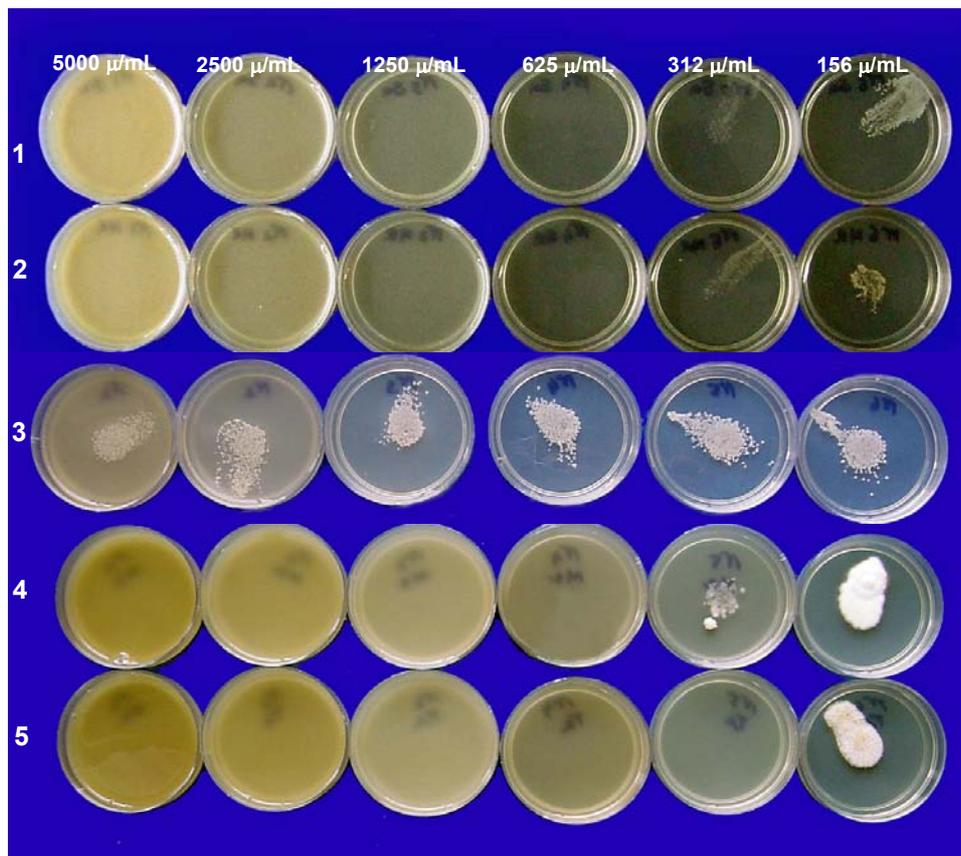


Figura 29 – CIMs de *M.ganophyllus* ED frente a MSSA (1), MRSA (2), *C. albicans* (3), *M. canis* (4) e *T. rubrum* (5)

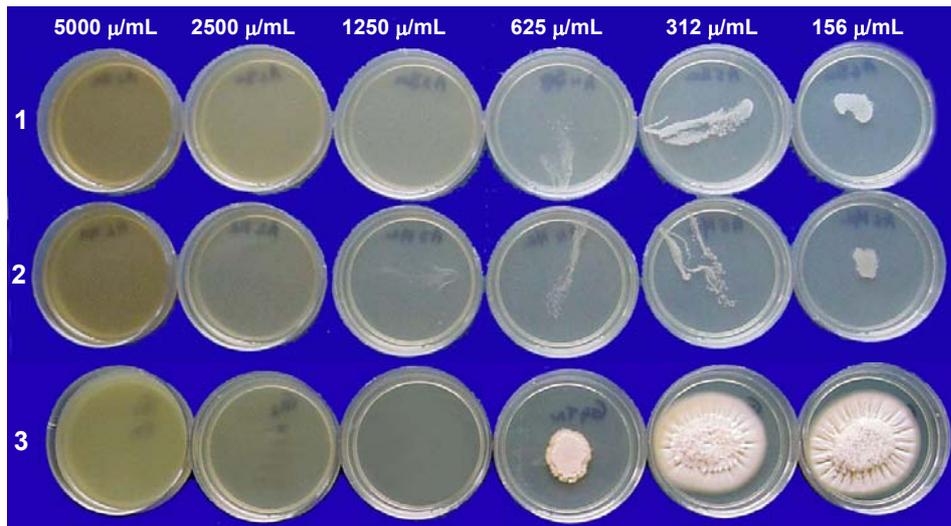


Figura 30 – CIMs de *A. pinotii* EM frente a MSSA (1), MRSA (2) e *T. rubrum* (3)

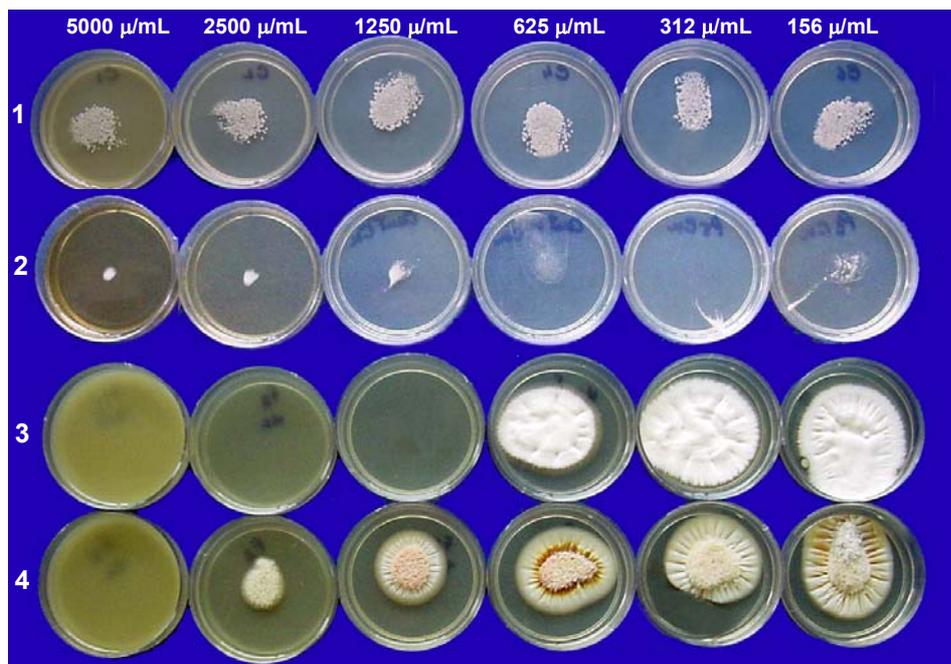


Figura 31 – CIMs de *A. confertus* EH frente a *C. albicans* (1), *C. neoformans* (2), *M. canis* (3) e *T. rubrum* (4)

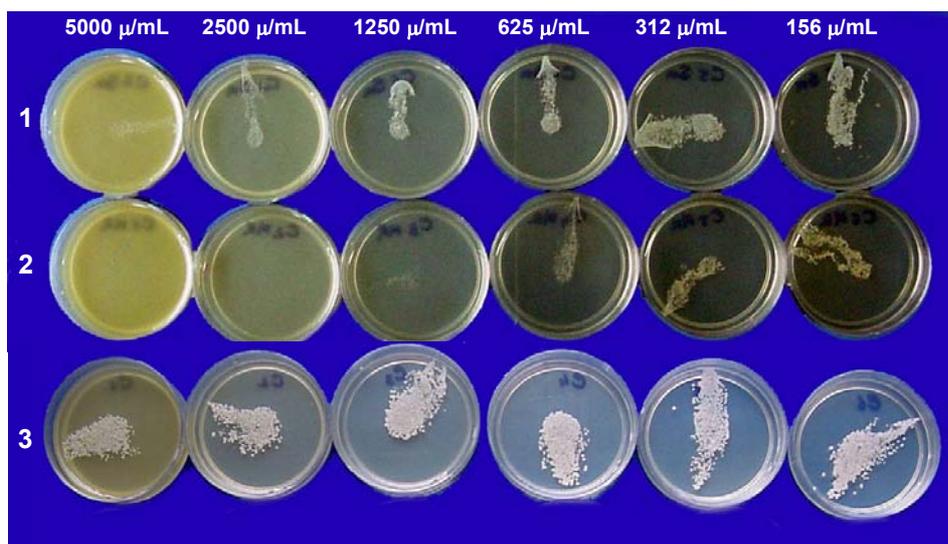


Figura 32 – CIMs de *A. micropappus* EH frente a MSSA (1), MRSA (2), *C. albicans* (3).

Na família Burseraceae, o OE de *P. baianus*, inibiu o crescimento de *C. neoformans* na concentração de 1100 µg/mL (0,12%) e de *C. albicans* a 4400 µg/mL (0,5%) (Figuras 27 e 28).

A espécie de Guttiferae ensaiada, *K. cuspidata*, apresentou atividade inibitória na concentração de 625µg/mL para MRSA e de 1250µg/mL para MSSA (Figura 33).

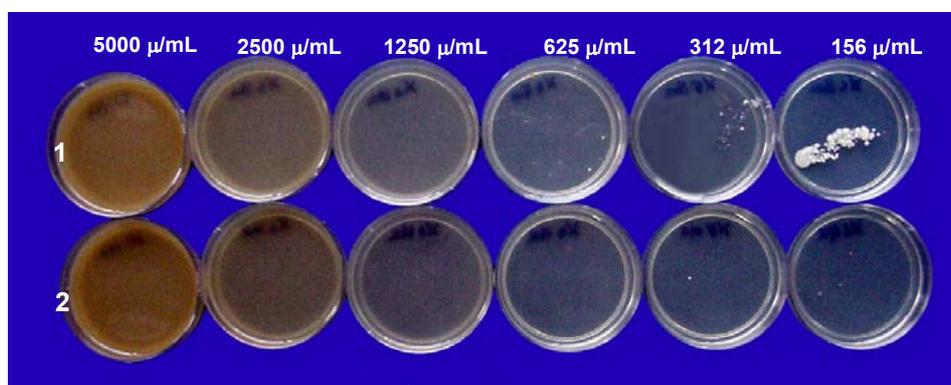


Figura 33 – CIMs de *K. cuspidata* EH frente a MSSA (1), MRSA (2)

Entre as CIMs das espécies de Leguminosae, destaca-se a concentração de 78 µg/mL apresentada pela FEE de *P.bahiana* para MSSA, MRSA e *C.neoformans* (Figuras 21, 22 e 28) e pelo EM da espécie para MSSA (Figura 21) seguida das concentrações de 312 µg/mL apresentada pelo EM para MRSA (Figura 22) e 625 µg/mL apresentada pelos EM e FAE, respectivamente, sobre *C.neoformans* e MSSA (Figuras 21 e 28).

Entre os óleos essenciais desta espécie, o OE de frutos apresentou CIMs de 1130 µg/mL (0,12%) e 560 µg/mL (0,06%), respectivamente, sobre o crescimento de *C.albicans* e *C.neoformans* (Figuras 27 e 28), enquanto o OE de folhas mostrou inibição para estes microrganismos, na concentração de 2260 µg/mL (0,25%), para *E.coli* na concentração de 9060 µg/mL (1%) (Figura 23), para *P.mirabilis* na concentração de 18120 µg/mL (2%) (Figura 26) e para os *Staphylococcus* na concentração de 36250 µg/mL (4%) (Figuras 21 e 22).

O EM de *Z.flemmingioides*, outra espécie de Leguminosae, inibiu o crescimento de *Staphylococcus* na concentração de 2500 µg/mL (Figura 35).

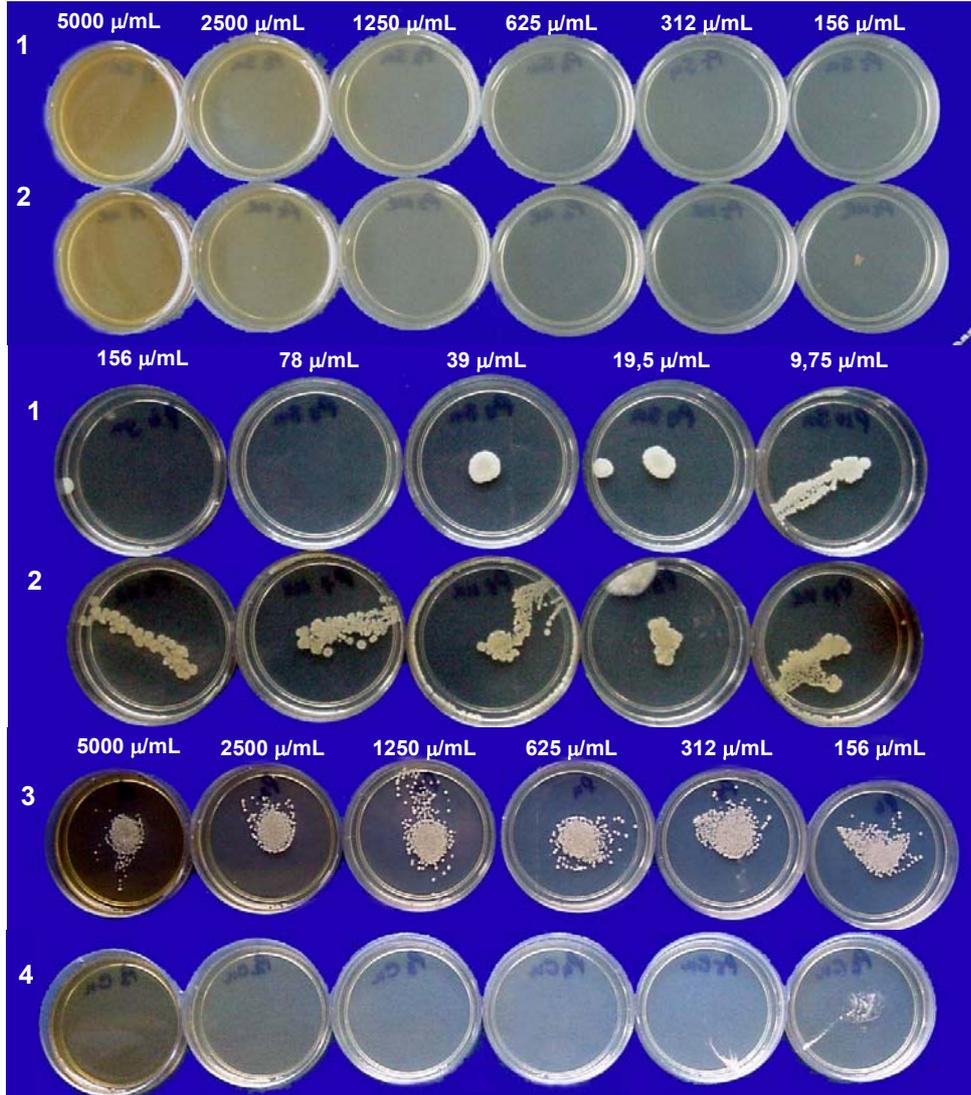


Figura 34 – CIMs de *P.bahiana* EM frente a MSSA (1), MRSA (2), *C. albicans* (3), *C. neoformas* (4).

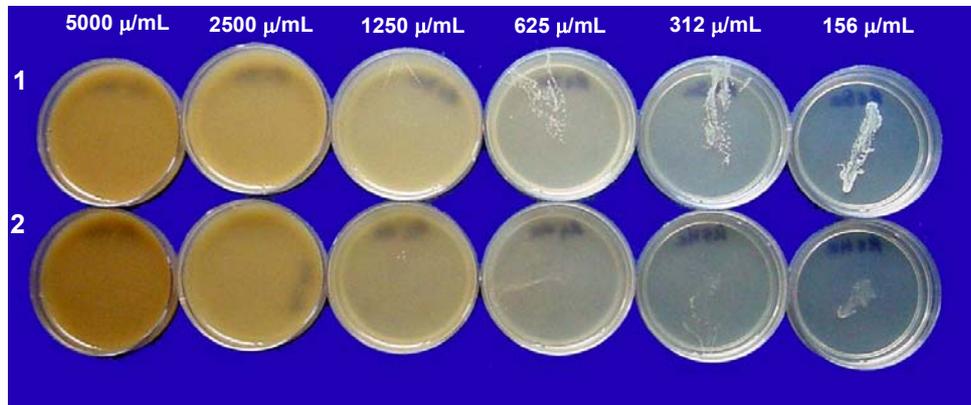


Figura 35 – CIMs de *Z. flemmigiodes* EM frente a MSSA (1) e MRSA (2).

Na família Myrtaceae, entre os óleos essenciais das espécies de *Myrcia* estudadas, merecem destaque a CIM de 1080 µg/mL (0,12%) apresentada por *M.myrtifolia* para *C.albicans* (Figura 27), as concentrações de 1220 µg/mL (0,12%) e 2450 µg/mL (0,25%) apresentadas por *M.sphenoides*, respectivamente, sobre as cepas de MSSA e MRSA (Figuras 21 e 22), a concentração de 2170 µg/mL (0,25%) apresentada por *M.myrtifolia* sobre as cepas de *Staphylococcus* (Figuras 21 e 22) e a concentração de 2320 µg/mL (0,25%) apresentada por *M.hiemalis* sobre o crescimento de *C.neoformans* (Figura 28).

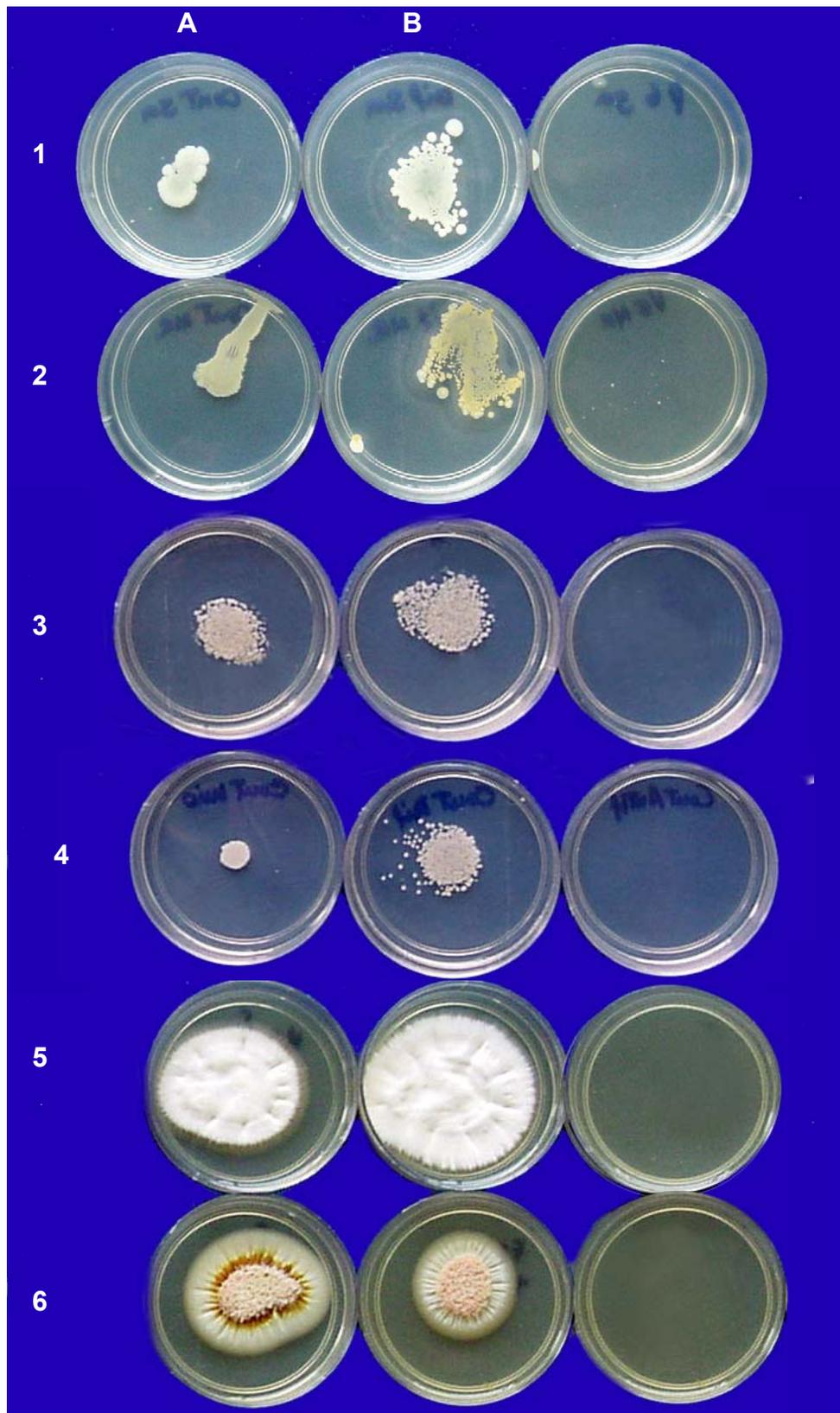


Figura 36 – Controles de crescimento em meio com DMSO (A), meio sem DMSO (B), e inibição de crescimento para MSSA (1), MRSA (2), *C. albicans* (3), *C. neoformans* (4), *M. canis* (5) e *T. rubrum* (6).

Considerando as espécies botânicas estudadas, o óleo essencial de *S.terebinthifolius* apresentou as menores CIMs para todas as bactérias Gram-negativas ensaiadas. Já para as cepas de *Staphylococcus*, *P. bahiana* EM, FEE, FAE e *M.ganophyllus* ED apresentaram as menores CIMs para MSSA e *P. bahiana* FEE, EM e *K.cuspidata* EH para MRSA. Para *C.albicans*, as espécies *M. myrtifolia* e *P. bahiana* OE frutos apresentaram valores próximos de CIM. Para *C.neoformans* as menores CIMs foram obtidas com *P. bahiana* FEE, OE frutos, *S. terebinthifolius* e *P. bahiana* EM. Para os fungos filamentosos testados, tendo em vista a forte inibição sinalizada pelos halos apresentados pelos óleos essenciais das espécies *S.terebinthifolius*, *A.confertus*, *M.nitida*, *P. baianus*, *P.bahiana*, *M. sphenoides*, *M.guianensis*, *M.myrtifolia* e *M.hiemalis* contra estes microrganismos, seria razoável supor que, se estas amostras tivessem sido submetidas à determinação de CIM, os valores obtidos poderiam ter sido inferiores aos apresentados pelo extrato em diclorometano da espécie *M. ganophyllus*, responsável pelas menores CIM para *M.canis* e *T.rubrum*. Porém, devido a diversos fatores (tamanho de inóculo, fase de crescimento, condições de incubação) a conseqüente padronização de ensaios para fungos filamentosos representa um grande desafio em comparação à bactérias e leveduras e a definição de valores de CIM para atividade antifúngica pode ser ambígua, uma vez que em ensaios de difusão, a CIM é definida como a mais baixa concentração de um composto que causa um efeito de inibição visível, enquanto que em métodos de diluição em meio líquido, a CIM representa a mais baixa concentração do composto que inibe totalmente o crescimento microbiano, o que significa que, estritamente falando, estes valores não são comparáveis (HADACEK & GREGER, 2000).

Pelos resultados obtidos pode-se observar que, para os extratos e frações houve uma correlação entre maiores halos de inibição e menores valores de CIM enquanto que, para os OEs esta correlação não se manteve para todos os óleos ensaiados como no caso de *P.bahiana* e das espécies de *Myrcia* estudadas. Estas diferenças podem ser atribuídas às limitações inerentes às técnicas utilizadas. Estes resultados também podem estar relacionados à variações dos óleos essenciais nos discos de papel de filtro ou incorporados no agar utilizado e a volatilidade do óleo no sistema de teste em meio líquido e em presença de ar. O período de incubação a depender do microrganismo ensaiado e a volatilidade dos óleos essenciais, também podem levar à obtenção de resultados de inibição negativa ou diminuída, nos ensaios de difusão com discos (JANSSEN et al., 1987; REMMAL & TANTAOUI-ELARAKI, 1993; PATTNAIK et al., 1995; PATTNAIL et al., 1996; CHALCHAT & GARRY, 1997; VILJOEN et al., 2003). Embora alguns autores relacionem valores de CIM com diâmetros de inibição, não existe correlação entre os dois conforme relatado por YOUSEF & TAWIL (1980), que

obteve resultados contraditórios no estudo de 22 óleos essenciais utilizando os métodos de difusão em agar e diluição em meio líquido. A determinação de CIM pelo método de diluição em meio líquido é a técnica mais complicada, mas segundo RIOS et al., (1988), é também a mais precisa, o que torna este método o mais recomendado.

Analisando os efeitos inibitórios das amostras estudadas com relação aos seus constituintes químicos, inclusive daquelas que não tiveram suas CIMs determinadas, observou-se que:

1) Na família Anacardiaceae o OE de *S.terebinthifolius* constituído basicamente de mono sesquiterpenos em que δ -3-careno, β -cariofileno e α -cubebeno foram os componentes majoritários, juntamente com α -pineno e azuleno em menores concentrações, apresentou uma mistura rica em compostos que inibiu efetivamente todos os microrganismos ensaiados.

2) Na família Asteraceae, a atividade do EH de *A. confertus* contra leveduras e dermatófitos, pode estar relacionada à presença de cromenos e benzofuranos, produtos vegetais de caráter fenólico, característicos nas asteráceas, que tem atividade biológica relatada contra fungos e bactérias e cujos supostos modos de ação seriam pela interação com ácidos nucleicos ou moléculas intracelulares em presença de luz (PROKSCH & RODRIGUEZ, 1983). A presença de flavanonas, constituintes de comprovada atividade biológica, podem ter contribuído também para a ação obtida.

A inibição sobre MSSA, MRSA e antifúngica apresentada pelo OE desta espécie, pode ser atribuída a uma atividade sinérgica ou aditiva entre os monoterpenos presentes, uma vez que mirceno, o seu constituinte majoritário, não apresentou boa atividade quando testado isoladamente (SACCHETTI et al, 2005), inclusive para dermatófitos (ONAWUNMI, 1989; WANNISSORN et al., 1996).

O EH de *A.micropappus* apresentou inibição que pode estar relacionada principalmente à presença dos sesquiterpenos e triterpenos presentes na amostra, ao passo que, no EM de *A.pintoi*, além dos sesquiterpenos, a presença de acetofenonas também contribuiu para a atividade observada.

Os produtos vegetais obtidos com *L.salicifolia* caracterizados pela presença de lactonas sesquiterpênicas e derivados de cariofileno, apresentaram baixa atividade restrita à *E.coli* nos EH e EMC de folhas e às cepas de *S.aureus* nos demais extratos. Em relação a *E.coli*, vale ressaltar a atividade dos EH e EMC de folhas da espécie, que apresentaram grau de inibição semelhante ao do OE de *P.baianus*. Aspecto interessante a considerar é que, os

constituintes responsáveis pela atividade observada, estão presentes no material obtido com solventes apolares. Estudos com os ácidos lychnofólico e acetil-lychnofólico, derivados do cariofileno, isolados de frações hexânicas de partes aéreas de *L.salicifolia* (MIGUEL et al., 1996), relataram ausência de atividade desses compostos para *E.coli*, embora o ácido acetil-lychnofólico tenha apresentado acentuada atividade antifúngica e contra *S.aureus* associada, segundo os autores, a um fator estrutural que é a presença do grupo acetila.

Isto sugere que, a atividade contra *E.coli* observada em nosso trabalho, deve estar relacionada a outros componentes isolados nos extratos. Entre os constituintes citados, as lactonas sesquiterpênicas, característicos neste gênero botânico, apresentam vasto espectro de atividade antimicrobiana, notadamente antifúngica, (BARDON & CATALAN, 1996; GRAEL et al., 2005), mas os resultados não confirmaram atividade antifúngica nessa espécie, que estaria associada à baixa polaridade e ao grau de hidrofobicidade desses compostos, que facilitam a sua passagem através da parede celular fúngica (BARRERO et al., 2000).

A atividade apresentada por *M.nitida* ficou restrita a alguns fungos, embora existam relatos sobre atividade de outras espécies de *Mikania* sobre várias espécies de *C.albicans*, associada à presença de germacreno-D e cariofileno (DUARTE et al., 2005) e sobre bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (FACEY et al., 1999; HOLETZ et al., 2002; YATSUDA et al., 2005). Por outro lado, o grau de inibição antifúngica obtido no screening, demonstra uma boa atividade que pode ser atribuída a β -sesquifelandreno, um sesquiterpeno oxigenado que é o seu componente majoritário, e a α -humuleno.

As baixas CIMs apresentadas por *M.ganophyllus* ED refletem o bom potencial da espécie, tanto para *S.aureus*, quanto para os dermatófitos ensaiados, o que pode ser explicado pela presença de acetofenonas e flavanonas cujas atividades bacteriostáticas e fungistáticas são relatadas por MITSCHER (1983) e, segundo DA SILVA (2005), seriam responsáveis pela atividade dessa espécie contra fungos fitopatogênicos.

3) Na família Buseraceae, o OE de *P.baianus*, apesar da fraca inibição sobre *E.coli* e *S.aureus*, apresentou boa atividade contra a maioria dos fungos ensaiados. Esta espécie, em que o aromadendreno foi o constituinte majoritário encontrado no OE, parece reproduzir o perfil fitoquímico do gênero, em que os compostos mais abundantes nos OEs de folhas são os sesquiterpenos, entre eles o cariofileno que, em relato de literatura foi apontado como responsável junto a outros sesquiterpenos, por forte inibição na produção de ácido nítrico (NO) associado a processo inflamatório e pela forte inibição do crescimento de *E.coli* (SIANI et al., 1999). Segundo esses autores, a produção de NO está intimamente relacionada ao

potencial antimicrobiano de um composto. HAMMER et al. (2003), relataram que o aromadendreno tem atividade antimicrobiana similar à dos monoterpênicos ativos. No caso do *P. baianus*, é possível que o cariofileno também esteja presente em menor concentração, juntamente com outros constituintes monoterpênicos que já foram isolados de OEs de folhas de outras espécies de *Protium* estudadas (RAMOS et al., 2000), e estes compostos estejam atuando sinergisticamente para a atividade observada.

4) Na família Guttiferae, os extratos de *C. melchiorii* apresentaram fraca inibição para *S.aureus* e *C.albicans*, apesar dos constituintes isolados nesta espécie, entre os quais um composto da classe de bifenilas, que provavelmente esteja atuando como fitoalexina, esteróides e o ácido betulínico, um triterpeno que tem mostrado papel relevante como potente inibidor seletivo da replicação do vírus HIV (KASHIVADA et al., 1996) e como antimalárico (BRINGMANN et al., 1997), e das benzofenonas polipreniladas relacionadas à atividades antimicrobianas contra patógenos de abelhas melíferas, e que já foram isoladas de troncos e resinas florais de outras espécies de *Clusia* (LOKVAN et al., 2000).

Os EHs de folhas e caules de *K.cuspidata*, tendo na sua composição triterpenos, esteróides e xantonas, apresentaram boa atividade para *S.aureus* e fraca inibição para *C.albicans*. As concentrações obtidas com o EH das folhas estão entre as menores CIMs observadas para *S.aureus*. Os resultados obtidos confirmam relatos de atividade de xantonas isoladas de Guttiferae contra MRSA (IINUMA et al., 1996) e outras bactérias Gram-positivas (PINHEIRO et al., 2003) mas, não confirmam a atividade de antifúngica de xantonas e derivados bifenílicos isolados de outras espécies de *Kielmeyera*, relatados por CORTEZ et al. (1998,1999,2002).

O EC de *K.reticulata*, contendo fenilcumarinas, compostos fenólicos com propriedades antibióticas que atuam como fitoalexinas (HOULT & PAYÁ, 1996), apresentou fraca inibição em comparação às atividades relatadas para esses compostos contra bactérias Gram-positivas, Gram-negativas e *C.albicans* (COWAN, 1999; OJALA et al., 2000; GODOY et al, 2005).

5) Na família Leguminosae, *P.bahiana* apresentou diferentes graus de inibição em função do produto vegetal obtido. O EH apresentou apenas fraca inibição contra *C.albicans*, apesar da grande variedade de constituintes isolados e das atividades antimicrobianas atribuídas às isoflavonas e rotenonas, constituintes do extrato. Este resultado pode ser atribuído a alguma falha na detecção de atividade, devido a fatores biológicos ou físico-químicos inerentes ao

extrato da espécie e/ou a técnica empregada no ensaio, do que propriamente ausência de atividade, uma vez que os constituintes isolados apresentam grande potencial antimicrobiano.

Já o EM e suas frações apresentaram outros graus de inibição, ressaltando-se as CIMs apresentadas pelo EM e sua fração em éter etílico (FEE) para MSSA e MRSA, as menores obtidas entre as amostras testadas, como também a mais baixa CIM para *C.neoformans*, apresentada por esta fração. A atividade apresentada pelo EM e suas frações pode ser atribuída à isoflavona isolada e a outros constituintes menos abundantes não referidos no isolamento.

Diversos autores relatam atividade de isoflavonas e flavanonas isoladas de espécies de Leguminosae contra cepas de MRSA (IINUMA et al., 1994; HIRONORI et al., 1996), bactérias Gram-negativas e Gram-positivas (PATHAK et al., 1991) e fungos dermatófitos (LIMA et al., 1997). Para HIRONORI et al (1996), a atividade apresentada pelos referidos compostos não estava relacionada ao grau de resistência das cepas de *S.aureus*, uma vez que os valores de CIM obtidos foram idênticos para MSSA e MRSA. Já LIMA et al. (1997) relatam a inibição de extratos aquosos, etanólicos e hexânicos de espécies de Leguminosae sobre cerca de 85% das cepas de dermatófitos testadas em concentrações que variaram de 1250 a 5000 µg/mL, tendo em comum, compostos flavonóides como principais constituintes.

Os OEs de *P.bahiana* merecem destaque pela atividade apresentada sobre o crescimento de 10 dos 13 microrganismos ensaiados, inclusive sobre as bactérias Gram-negativas, excetuando-se *P.aeruginosa*, embora o OE de frutos tenha apresentado fraca atividade para a maioria dos microrganismos, com exceção para os fungos leveduriformes, dermatófitos e fitopatogênico. Os efeitos observados nos OEs desta espécie, podem ser atribuídos à rica mistura de constituintes entre os quais, as cetonas terpênicas tujona e tujenona, seu componente majoritário, os monoterpenos sabineno, β-pineno, mirceno e limoneno, os sesquiterpenos E-cariofileno e γ-muuroleno e o álcool terpênico 4-terpineol.

A atividade apresentada pelo EM de *Z.flemmingioides*, restrita às cepas de *S.aureus*, possivelmente está relacionada à presença de benzofenonas isoladas nesta espécie, embora existam registros na literatura que relatam atividade de benzofenonas também contra *C.albicans* e *C.neoformans* (ZHANG et.al., 2002).

6) Na família Myrtaceae, o OE de *M.myrtifolia* destacou-se por ser a única das quatro espécies a apresentar inibição contra *C.albicans* e a mais baixa CIM para este microrganismo, atribuída à presença de α-pineno, seu componente mais abundante. PREETI-DHAR et al. (2004), relatam que α-pineno produz forte atividade sobre *C.albicans*, devido à sua

capacidade de penetrar facilmente a camada de quitina, um polímero de ácido acetilmurâmico, presente neste microrganismo. Em células leveduriformes e mitocôndrias isoladas, α e β -pinenos destroem a integridade de membrana, inibem processos de respiração e transporte de íons e aumentam a sua permeabilidade (ANDREWS et al., 1980; URIBE et al., 1985), embora estes microrganismos sejam mais fortemente inibidos por óleos ricos em constituintes fenólicos, aldeídos, cetonas e álcoois (VIOLLON & CHAUMONT, 1994; PATTNAIK et al., 1997; MONDELLO et al., 2003; OLIVA et al., 2003; SACCHETTI et al., 2005). Os aldeídos são conhecidos pela forte atividade antimicrobiana apresentada e podem interferir em processos biológicos envolvendo transferência de elétrons, reagir com componentes nitrogenados vitais como proteínas e ácidos nucleicos e em consequência, inibir o crescimento microbiano (DORMAN & DEANS, 1999).

A atividade antifúngica de espécies de Myrtaceae contra dermatófitos, foi relacionada aos constituintes terpênicos presentes nos OEs (LIMA et al., 1993), enquanto LIMBERGER et al. (1998), demonstraram atividade antimicrobiana desses compostos para bactérias Gram-positivas e ausência de atividade para *E.coli* e *C.albicans*.

Alguns óleos essenciais podem estimular o crescimento de pseudomicélio, uma série de células aderidas ponta a ponta, como resultado de separação incompleta de células recém formadas em certos fungos leveduriformes. Isto pode ser uma indicação de que os OEs atuam nas enzimas envolvidas na regulação de energia ou na síntese de compostos estruturais (BURT, 2004).

Os OEs das espécies de *Myrcia* investigados neste trabalho, tem em comum a presença de mono e sesquiterpenos. Os efeitos similares observados sobre *S.aureus* e demais espécies fúngicas podem ser creditados portanto, à presença majoritária de α -pineno, β -cariofileno e do aldeído (E) 2 -hexenal em *M.sphenoides*, de α -pineno, eucaliptol, trans-pinocarveol e outros constituintes terpênicos em *M.guianensis*, de α -pineno em *M.myrtifolia* e de β -pineno e β -cariofileno em *M.hiemalis*. O grau de inibição apresentado por *M.guianensis* no screening de atividade, superior aos das demais espécies de *Myrcia*, talvez possa ser explicado pela presença de álcoois terpênicos em adição aos demais constituintes. SIANI et al. (1999), relatam que “contrariamente ao que ocorre normalmente com constituintes não voláteis, considerável inconsistência de dados é relatada na literatura. Este fato deriva principalmente da variação na composição de óleos essenciais, relacionada a diferentes quimiotipos das espécies (fatores genéticos e influências ambientais sobre os constituintes terpenóides). Esta variação é especialmente notável quando os óleos se constituem principalmente de compostos

voláteis, como ocorre em perfis dominados por monoterpenos e compostos mais leves. Existem poucos exemplos na literatura nos quais sesquiterpenos predominam na composição do óleo essencial. Na teoria, espera-se que esses compostos menos voláteis assumam um perfil mais estável e isto é de fato encontrado em algumas espécies de Myrtaceae, demonstrado pela avaliação da composição sazonal de óleos de algumas espécies dessa família, em que os sesquiterpenos predominam”.

A notória atividade antimicrobiana apresentada pelos OEs das espécies *S. terebinthifolius* e *P. bahiana*, observada tanto no grau de inibição quanto no espectro de ação quando comparada à atividade desenvolvida pelos extratos e frações testados, tem a seu favor uma importante característica que é a sua natureza hidrofóbica. O caráter lipofílico dos OEs facilita a sua partição nos lipídios de membrana das células bacterianas, alterando suas estruturas e tornando-as mais permeáveis aos constituintes do meio (KNOBLOCK et al., 1989; SIKKEMA et al., 1994). Além disso, o grande número de diferentes compostos químicos presentes nestes OEs, levam a supor que a atividade antimicrobiana obtida, se deve a vários mecanismos de ação com alvos distintos na célula microbiana (SKANDAMIS et al., 2001; CARSON et al., 2002).

Os OEs que possuem fortes propriedades bacterianas contra microrganismos patogênicos, contem uma alta percentagem de compostos fenólicos (DORMAN & DEANS, 2000; LAMBERT et al., 2001) e cujo mecanismo de ação deve ser similar a de outros fenóis: alterações na membrana citoplasmática, bomba de próton, fluxo de eletrólitos, transporte ativo e coagulação do conteúdo celular (SIKKEMA et al., 1995; DORMAN & DEANS, 2000). A presença de compostos fenólicos, característicos nas anacardiáceas, podem justificar a excelente atividade apresentada pelo OE de *S. terebinthifolius* sobre as enterobactérias testadas. Estas bactérias que se desenvolvem em condições aeróbias, precisam de ferro para uma variedade de funções que incluem a redução do ribonucleotídeo precursor de DNA para formação de heme, atividade esta desempenhada pela enzima ribonucleotídeo-redutase. Para suprir a demanda de ferro, os microrganismos produzem sideróforos, agentes quelantes de baixo peso molecular que se ligam ao ferro e o solubilizam. Os compostos fenólicos podem atuar de forma semelhante a um sideróforo, quelando o ferro presente no meio e tornando-o indisponível para os microrganismos. Dessa forma, pelo mecanismo de privação de ferro, os taninos podem atuar como reguladores da população microbiana do trato gastrointestinal, com efeitos benéficos para a saúde humana (SCALBERT, 1991; HASLAM, 1996; MILA et al., 1996; CHUNG et al., 1998). Por outro lado, alguns microrganismos desenvolveram a capacidade de suportar altas concentrações de constituintes fenólicos, como os fungos

Aspergillus e *Penicillium* spp., que produzem tanases. O modo de ação desses compostos provavelmente depende de cada microrganismo, fato que poderia explicar grandes diferenças em valores de CIM entre fungos, bactérias e leveduras (SCALBERT, 1991).

Os ácidos anacárdicos encontrados na espécie *S. terebinthifolius*, derivados do ácido salicílico e precursores de alquilfenóis, são compostos de natureza extremamente lipofílica que tem a propriedade de se acumular em membranas celulares. Sabe-se que o caráter lipofílico das moléculas afeta as atividades biológicas dos compostos e alguns ácidos anacárdicos parecem possuir um ótimo equilíbrio entre as porções hidrofóbica e hidrofílica de sua estrutura molecular, onde a porção hidrofóbica desempenha importante papel no desencadeamento da atividade antimicrobiana (HANSCH & DUNN, 1972). O efeito antibacteriano desses compostos provém em parte de sua habilidade em inibir a atividade enzimática da cadeia respiratória bacteriana, inibindo a ação da NADH oxidase em bactérias aeróbias, embora este não pareça ser o seu principal modo de ação. Os efeitos bactericidas dos ácidos anacárdicos contra cepas de *Staphylococcus* resistentes a metilina, indicam que a atividade desses compostos está associada com a ruptura física de membrana plasmática onde os ácidos atuam primariamente como surfactantes, para alcançar a bicamada lipídica da membrana, e então romper as cadeias transportadoras de elétrons e ATPases, localizados na face interna da membrana citoplásmica (KUBO et al., 2003). Outro possível mecanismo de ação desses compostos sobre MRSA seria através de inibição da enzima β -lactamase, aumentando a atividade da metilina contra cepas de MRSA em presença de ácidos anacárdicos (COATES et al., 1994; MUROI & KUBO, 1996).

Os ácidos anacárdicos também podem inibir a síntese de lipídios bacterianos por inibição da enzima glicerol-3-fosfato desidrogenase (MURATA et al., 1997).

A presença majoritária de mono e sesquiterpenos nos OEs em estudo, também podem conduzir à indicação de alguns desses mecanismos que, isoladamente ou em sinergismo, contribuíram para os efeitos observados. Entre os terpenos mais representativos nos óleos essenciais estudados, α - pineno, β -pineno e limoneno são conhecidos por inibirem crescimento microbiano em ensaios de difusão em agar, através de mecanismos que envolvem interações entre esses compostos de caráter lipofílico e partes hidrofóbicas das células microbianas, sendo a membrana celular o seu principal sítio de ação (URIBE et al., 1985; SIKKEMA et al., 1994, 1995).

Estudos realizados com α -pineno, demonstraram que esse composto afeta as propriedades estruturais e funcionais das membranas plasmáticas tornando-as mais

permeáveis, causando sua expansão, levando ao intumescimento celular, inibição das enzimas respiratórias, causando conseqüente diminuição parcial do gradiente de pH e potencial elétrico e tendo como resultado a perda de metabólitos essenciais às células microbianas. Segundo GRIFFIN et al., (1999), a atividade antimicrobiana observada no α - pineno é significativamente maior que a do β -pineno, embora pesquisas recentes efetuadas em óleos essenciais tenham demonstrado que, o principal fator de toxicidade desses compostos contra os microrganismos é a sua habilidade de aumentar a permeabilidade de membrana. O acúmulo de terpenos, incluindo o β -pineno, aumenta a permeabilidade a prótons em células de *E.coli*, tendo como resultado a diminuição ou dispersão da bomba de próton. Tanto a respiração quanto a manutenção do potencial elétrico das células, são dependentes da integridade de estruturas de membrana (SIKKEMA et al., 1995). Efeitos similares aos do β -pineno, como perda de íons potássio, diminuição do potencial elétrico de membrana e aumento na atividade de ATPases, já haviam sido relatados anteriormente para o limoneno (URIBE et al., 1985). Os relatos publicados (GUSTAFSON et al. 1998; GRIFFIN et al., 1999; COX et al., 1998, 2000; PREETI DHAR et al., 2004) demonstram que a atividade antimicrobiana desses compostos, origina-se em parte, de sua habilidade para romper ou penetrar as estruturas lipídicas e em aumentar a permeabilidade da membrana a pequenos íons como K^+ . Isto sugere que compostos terpenóides que são microbiologicamente ativos, podem afetar a perda de K^+ das células microbianas em maior grau do que os compostos menos ativos, levando à morte celular.

Estudo sobre atividade antimicrobiana de óleos essenciais e seus principais constituintes sobre cepas de bactérias patogênicas, demonstrou que, entre os terpenos, δ -3-careno (um dos constituintes do OE de *S.terebinthifolius*) e β -pineno, apresentaram os maiores espectros de inibição, respectivamente, sobre 21 e 19 dos 25 microrganismos ensaiados, inclusive sobre *P.aeruginosa*., seguidos por α -pineno e limoneno. As maiores atividades relatadas foram obtidas, porém, entre os compostos fenólicos, aldeídos, álcoois e cetonas terpênicos presentes nos óleos testados (DORMAN & DEANS, 2000).

Segundo NAIGRE et al. (1996), a presença de uma função oxigenada aumenta as propriedades antimicrobianas de terpenóides, o que foi comprovado em estudo relatado por DORMAN & DEANS (2000), em que a atividade sobre bactérias e fungos desenvolvida pela tujona e mentona, foi de amplo espectro e acentuado grau de inibição, o que pode justificar o também o efeito apresentado pelo OE de *P.bahiana*, pela presença de cetonas terpênicas.

A presença do álcool terpênico 4-terpineol, mesmo em baixa concentração no OE de *P.bahiana*, também contribuiu para a atividade observada.

Estudos desenvolvidos com 4-terpineol, revelaram que este composto foi muito ativo entre outros terpenos oxigenados, causando perda de íons potássio em células de *E.coli* devido em parte à sua habilidade para aumentar a permeabilidade de membrana para pequenos íons e remover o potencial elétrico através da bicamada lipídica da membrana citoplásmica das células. Estes dados demonstram que a habilidade de causar extravazamento de potássio em células de *E.coli* é uma característica geral dos terpenos que são ativos contra este microrganismo e que esses compostos tendem a induzir extravazamento de K^+ em maior proporção e velocidade do que os compostos menos ativos (COX et al., 1998, 2000).

A atividade apresentada pela FEE desta espécie, que ainda não tem os seus fitoconstituintes isolados e identificados, pode se atribuída à presença de flavonóides e rotenóides, compostos fenólicos hidroxilados sintetizados pelas plantas em resposta à infecções microbianas, que são efetivos contra uma grande variedade de microrganismos e cuja ação é devida provavelmente à sua capacidade de se complexar com proteínas solúveis e parede celular bacteriana, sendo que os flavonóides mais lipofílicos podem até romper membranas microbianas (COWAN, 1999). Entre outros mecanismos de ação atribuíveis aos flavonóides, PATHAK et al. (1991) citam a inibição da síntese de DNA em *Proteus vulgaris* e em outras bactérias Gram-negativas e atuação também sobre fungos dermatófitos e fitopatogênicos. Aqui vale ressaltar que, a atividade sobre o fungo *C.herbarum* que só foi observada nos OEs de *S.terebinthifolius* e de *P.bahiana*, deve estar relacionada à presença de compostos terpênicos em ambas espécies, incluindo os de caráter fenólico no primeiro e as cetonas isoladas no segundo.

Referências ao perfil inibitório apresentado pelas espécies de *Myrcia*, reforça a importância dos resultados obtidos pela predominância de mono e sesquiterpenos nas amostras.

5.3 TEMPO DE MORTE BACTERIANA

Os resultados dos ensaios de morte bacteriana das amostras testadas frente a MRSA, *E.coli* e *P.areruginosa* são apresentados nas Tabelas 11 a 14 e Gráficos 3 a 6.

Um efeito bactericida é definido como um decréscimo de 3 ciclos logarítmicos em ufc/mL ou morte de 99,9% do inóculo, após um tempo especificado. O tempo de morte bacteriana pode ser determinado em 6h de exposição, considerando uma redução logarítmica constante, em que 90% de morte em 6h de exposição equivale a 99,9% de morte em 24h (HANDWERGER & TOMASZ, 1985; MAY et al, 1998, 2000)

O EM e a FEE de *P.bahiana* promoveram decréscimo em cerca de 3 log₁₀ sobre a concentração de MRSA em oito horas de exposição, correspondendo respectivamente a reduções de 99,87% e 99,70% sobre o inóculo inicial do microrganismo e inativação de cerca de 100,0% do inóculo em vinte e quatro horas (Tabela 11; Gráfico 3).

OS OEs de *P.bahiana*, *S.terebinthifolius* e *M.sphenoides* apresentaram decréscimo de cerca de 4 log₁₀ e de 3 log₁₀ sobre a concentração de MRSA em duas horas de exposição, correspondendo respectivamente a reduções de cerca de 100,0%, 99,99% e 99,85% sobre o inóculo inicial do microrganismo. A eliminação de cerca de 100,0% do inóculo ocorreu em quatro horas de contato para *S.terebinthifolius* e *M.sphenoides* (Tabela 12; Gráfico 4).

OS OEs de *P.bahiana* e *S.terebinthifolius* apresentaram decréscimo em cerca de 3 log₁₀ sobre a concentração de *E.coli* em duas horas de exposição, correspondendo respectivamente a reduções de 99,98% e 99,94% sobre o inóculo inicial do microrganismo, com eliminação de cerca de 100,0% do inóculo microbiano em seis horas de contato para as duas amostras (Tabela 13; Gráfico 5).

O OE de *S.terebinthifolius* promoveu redução percentual de cerca de 100,0% sobre a concentração inicial de *P.aeruginosa* em duas horas de exposição (Tabela 14; Gráfico 6).

Tabela 11 – População microbiana (UFC/mL) e redução percentual (%) de EM e FEE de *P. bahiana* frente a MRSA.

TEMPO (h)	CONTROLE	Extrato metanólico	%	Fração eter etílico	%
0	$2,34 \times 10^6$	-	-	-	-
2	$1,06 \times 10^7$	$6,50 \times 10^4$	97,22	$3,80 \times 10^4$	98,38
4	$3,45 \times 10^7$	$3,50 \times 10^4$	98,50	$2,25 \times 10^4$	99,04
6	$1,36 \times 10^8$	$1,99 \times 10^4$	99,15	$1,12 \times 10^4$	99,52
8	$1,05 \times 10^8$	$3,08 \times 10^3$	99,87	$7,00 \times 10^3$	99,70
10	$1,52 \times 10^8$	$9,70 \times 10^2$	99,96	$2,00 \times 10^3$	99,71
24	$2,30 \times 10^8$	$<10^1$	$>99,99$	$<10^1$	$>99,99$

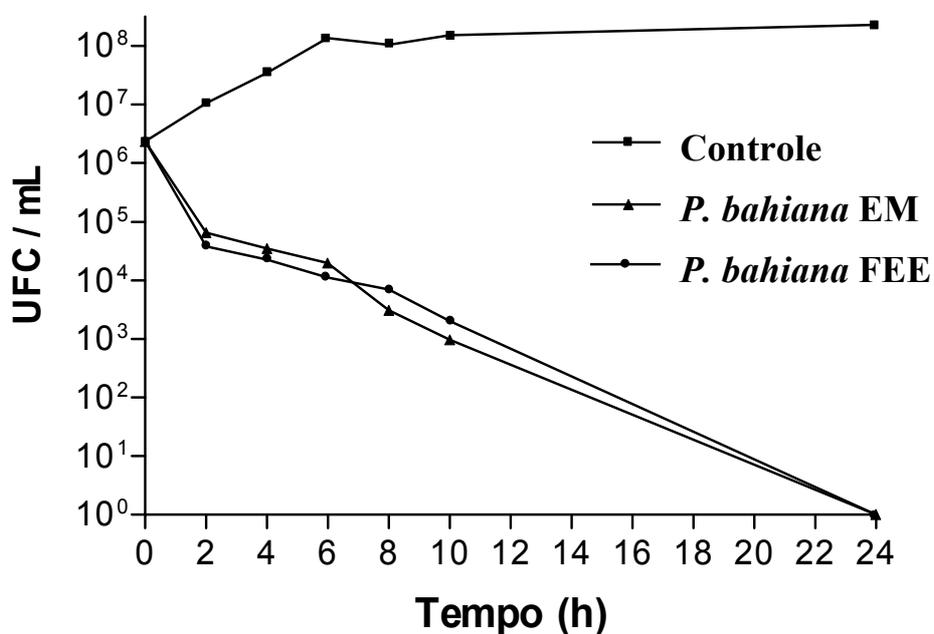


Gráfico 3 – Efeito versus tempo de *P. bahiana* EM, FEE e controle sobre a viabilidade de MRSA.

Tabela 12 – População microbiana (UFC/mL) e redução percentual (%) de óleos essenciais de *P.bahiana*, *S.terebinthifolius* e *M.sphenoides* frente a MRSA.

TEMPO (h)	CONTROLE	ÓLEO ESSENCIAL					
		<i>P. bahiana</i>	%	<i>S. terebinthifolius</i>	%	<i>M. sphenoides</i>	%
0	$8,00 \times 10^5$	-	-	-	-	-	-
2	$1,90 \times 10^6$	$<10^1$	>99,99	$5,0 \times 10^1$	99,99	$1,2 \times 10^3$	99,85
4	$1,50 \times 10^7$	-	-	$<10^1$	>99,99	$<10^1$	>99,99
6	$3,73 \times 10^7$	-	-	-	-	-	-
8	$3,60 \times 10^7$	-	-	-	-	-	-
10	$3,10 \times 10^7$	-	-	-	-	-	-
24	$7,00 \times 10^7$	-	-	-	-	-	-

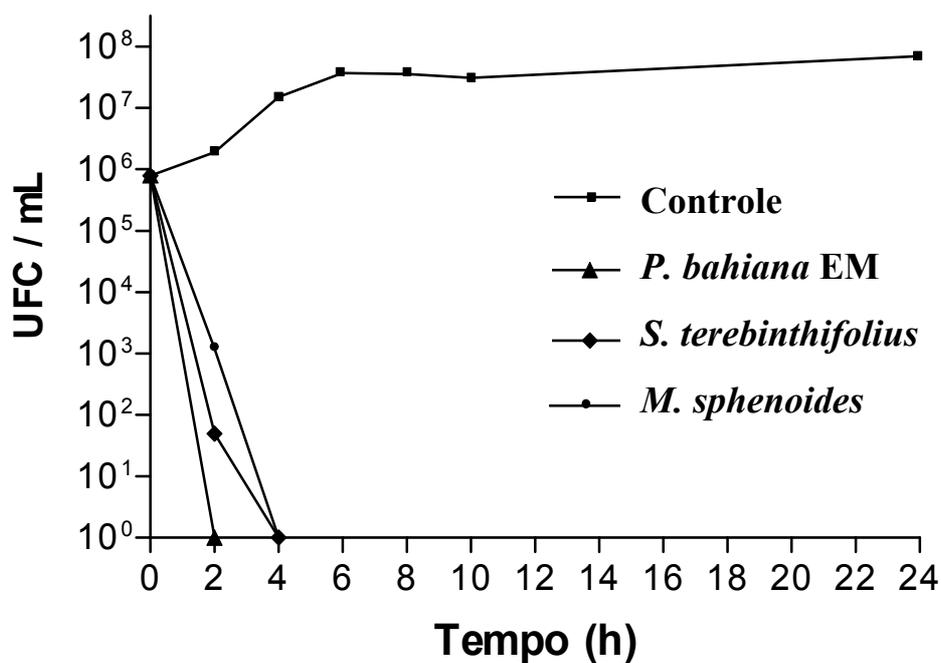


Gráfico 4 – Efeito versus tempo de OEs de *P. bahiana*, *S. terebinthifolius*, *M. sphenoides* e controle sobre a viabilidade de MRSA.

Tabela 13 – População microbiana (UFC/mL) e redução percentual (%) de OEs de *P.bahiana* e *S.terebinthifolius* frente a *E. coli*.

TEMPO (h)	CONTROLE	ÓLEO ESSENCIAL			
		<i>P.bahiana</i>	%	<i>S.terebinthifolius</i>	%
0	$6,50 \times 10^6$	-	-	-	-
2	$1,50 \times 10^8$	$1,50 \times 10^3$	99,98	$4,0 \times 10^3$	99,94
4	$3,60 \times 10^8$	$1,0 \times 10^2$	99,99	$1,0 \times 10^2$	99,99
6	$6,05 \times 10^8$	$<10^1$	$>99,99$	$<10^1$	$>99,99$
8	$6,05 \times 10^8$	-	-	-	-
10	$5,00 \times 10^8$	-	-	-	-
24	$2,10 \times 10^9$	-	-	-	-

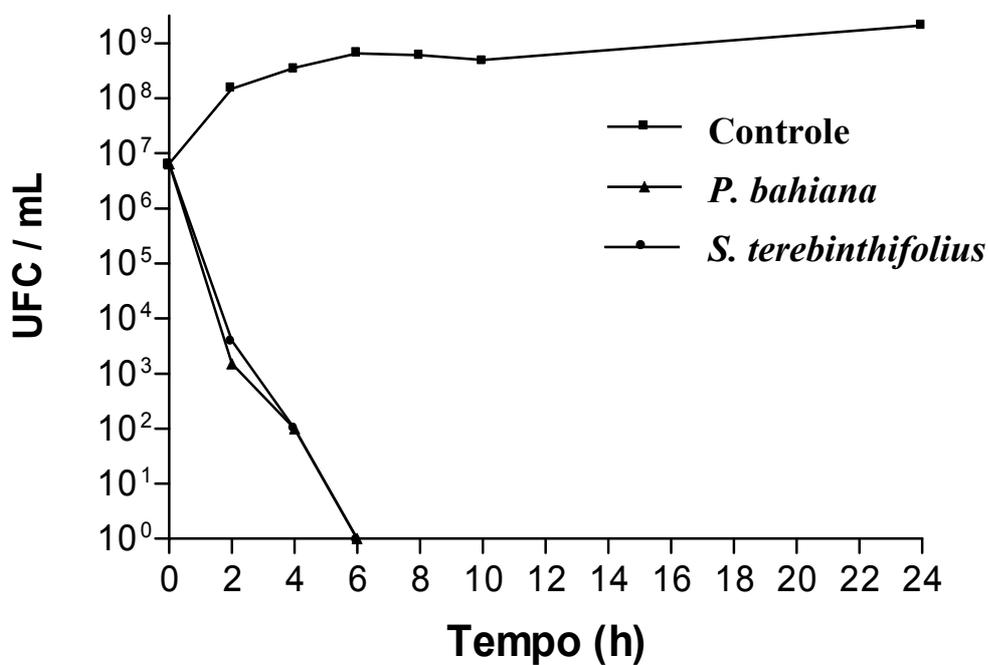


Gráfico 5 – Efeito versus tempo de OEs de *P. bahiana*, *S. terebinthifolius* e controle sobre a viabilidade de *E. coli*.

Tabela 14 – População microbiana (UFC/mL) e redução percentual (%) de OE de *S. terebinthifolius* frente a *P. aeruginosa*.

TEMPO (h)	CONTROLE	<i>S.terebinthifolius</i>	%
0	$1,75 \times 10^7$	-	-
2	$3,75 \times 10^7$	$<10^1$	$>99,99$
4	$7,30 \times 10^7$	-	-
6	$1,20 \times 10^8$	-	-
8	$2,32 \times 10^8$	-	-
10	$7,50 \times 10^8$	-	-
24	$2,15 \times 10^9$	-	-

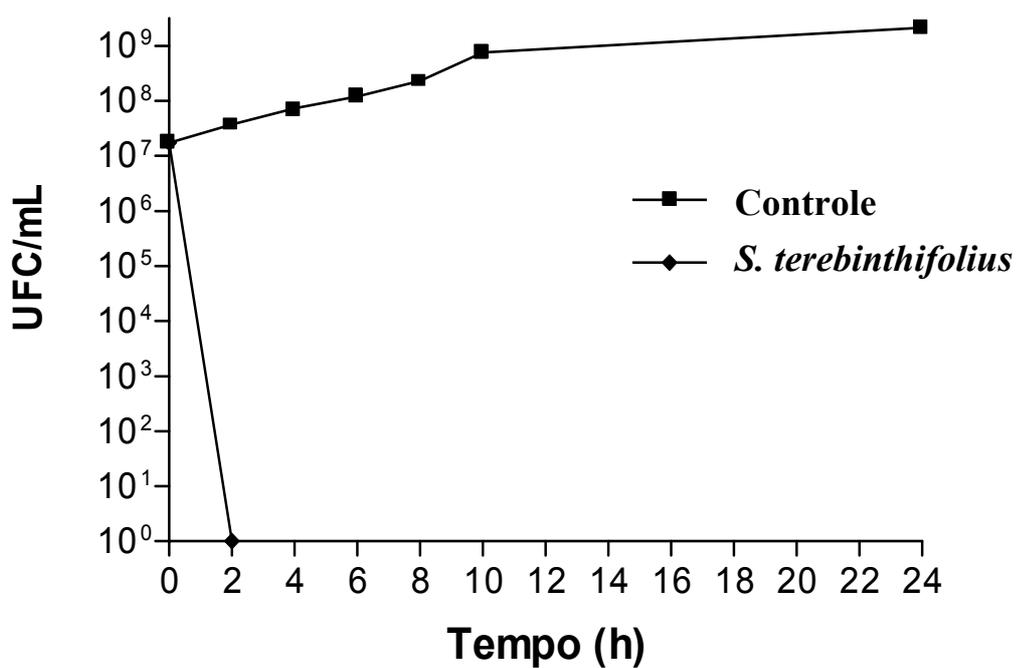


Gráfico 6 – Efeito versus tempo de OE de *S. terebinthifolius* e controle sobre a viabilidade de *P. aeruginosa*.

Analisando os resultados obtidos entre os microrganismos ensaiados, observou-se que: a atividade desenvolvida pelos EM e FEE de *P.bahiana* sobre MRSA, foi menos efetiva em termos de redução percentual versus tempo, em comparação à obtida pelo OE desta espécie, enquanto que as atividades apresentadas pelos OEs de *S.terebinthifolius* e *M.sphenoides* sobre este microrganismo foram similares entre si, porém mais lentas do que a obtida com o OE de *P.bahiana*; o tempo decorrido para que os EM e FEE de *P.bahiana* promovessem uma redução de no mínimo 3 log₁₀ sobre o crescimento de MRSA foi quatro vezes maior do que o dos OEs sobre este microrganismo. Este fato pode ser atribuído à mistura de constituintes e de suas concentrações nos produtos vegetais em questão e torna-se importante salientar que, a possibilidade de efeitos antagônicos entre constituintes é muito significativa no caso de microrganismos que apresentam resistência ou que não são rapidamente inativados (COX et al., 2000).

Com relação às bactérias Gram-negativas observou-se que a redução percentual apresentada pelos OEs de *P.bahiana* e *S.terebinthifolius* foi mais lenta do que para MRSA, uma vez que a inativação total do inóculo de *E.coli* só foi obtida em 6 horas de exposição, apesar das amostras terem sido testadas em concentrações duas vezes maiores que as utilizadas nos ensaios com MRSA. Os dois OEs apresentaram perfis de inibição semelhantes para *E.coli*.

A eliminação total do inóculo de *P.aeruginosa* pelo OE de *S.terebinthifolius* em 2 horas de exposição, mostrou-se a mais efetiva em termos de inativação das bactérias Gram-negativas ensaiadas.

5.4 ELETROFORESE DE PROTEÍNAS BACTERIANAS

Os resultados de eletroforese dos sobrenadantes de culturas de microrganismos em presença de óleos essenciais são apresentados nas figuras 37 para MRSA e 38 para *E. coli* e *P. aeruginosa*.

Os perfis eletroforéticos obtidos mostram que, em contraste com os controles representados pelos sobrenadantes de culturas dos microrganismos testados em ausência de OE, os sobrenadantes de células microbianas tratadas com OE apresentaram bandas de proteínas em diferentes padrões.

Nos ensaios realizados com MRSA (Figura 37), os controles representados pelos sobrenadantes de cultura deste microrganismo em ausência de OE (linhas 8 a 10) não apresentaram bandas protéicas.

Os ensaios com o microrganismo tratado com o OE de *P.bahiana* (linhas 2 a 4), mostram o aparecimento de bandas contendo proteínas de peso molecular (PM) aproximado de 14,3 kDa e 30 kDa para o tempo de 60 minutos, sendo que para os tempos 90 e 120 minutos observa-se apenas um fragmento protéico contendo cerca de 30 kDa.

Os ensaios com MRSA tratado com OE de *M.sphenoides* (linhas 5 a 7) mostram ausência de bandas protéicas no tempo de 60 minutos enquanto que para o tempo de 90 minutos apresentam bandas de proteínas de PM de cerca de 30 kDa e 45 kDa. Para o tempo de 120 minutos, observam-se bandas com proteínas de aproximadamente 14,3 kDa, 30 kDa e 45 kDa.

Os ensaios realizados com MRSA em presença de OE de *S.terebinthifolius* (linhas 11 a 13) mostram o aparecimento de bandas protéicas de PM em torno de 14,3 kDa, 20,1 kDa, 30 kDa e 97 kDa para os tempos de 60, 90 e 120.

Nos ensaios realizados com *E. coli* (Figura 38), os controles representados pelos sobrenadantes de cultura de *E.coli* em ausência de OE (linhas 2 a 4) não apresentaram bandas protéicas. Os ensaios deste microrganismo em presença do OE de *P.bahiana* (linhas 5 a 7) mostram o aparecimento de bandas protéicas de pesos moleculares situados entre 20 kDa e 30 kDa, de cerca de 45 kDa e em torno de 66 kDa para os tempos de 60, 90 e 120 minutos.

Os ensaios com *E.coli* tratada com OE de *S.terebinthifolius* (linhas 8 a 10) mostram o aparecimento de bandas com proteínas de PM situado entre 20 kDa e 30 kDa e PM em torno de 45 kDa para os tempos de 60 e 90 minutos e de PM situado entre 20 e 30 kDa para o tempo de 120 minutos.

Nos ensaios realizados com *P. aeruginosa* os controles representados pelos sobrenadantes de cultura de *P. aeruginosa* em ausência de OE (linhas 11 a 13) não apresentaram bandas com proteínas. Os ensaios com este microrganismo em presença de OE de *S.terebinthifolius* (linhas 14 a 16) mostram o aparecimento de bandas protéicas de PM situado entre 20 kDa e 30 kDa, PM em torno de 45 kDa e em torno de 66 kDa para os tempos de 60, 90 e 120 minutos.

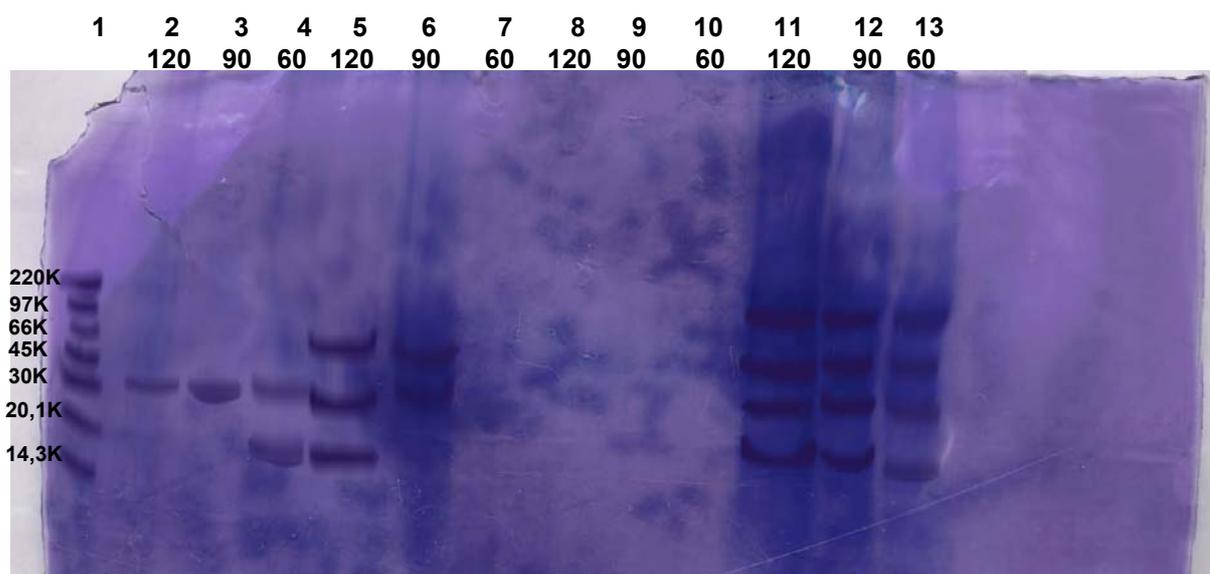


Figura 37 – Eletroforese de proteínas de sobrenadantes de cultura de MRSA tratadas com OE. Coluna 1 – padrão de peso molecular; colunas 2 a 4 – 25 μ L de sobrenadante em presença de *P. bahiana* nos tempos 120, 90 e 60 minutos; colunas 5 a 7 - 25 μ L de sobrenadante em presença de *M. sphenoides* nos tempos 120, 90 e 60 minutos; colunas 8 a 10 - 25 μ L de sobrenadante em ausência de OE nos tempos 120, 90 e 60 minutos (**CONTROLES**); colunas 11 a 13 - 25 μ L de sobrenadante em presença de *S. terebinthifolius* nos tempos 120, 90 e 60 minutos.

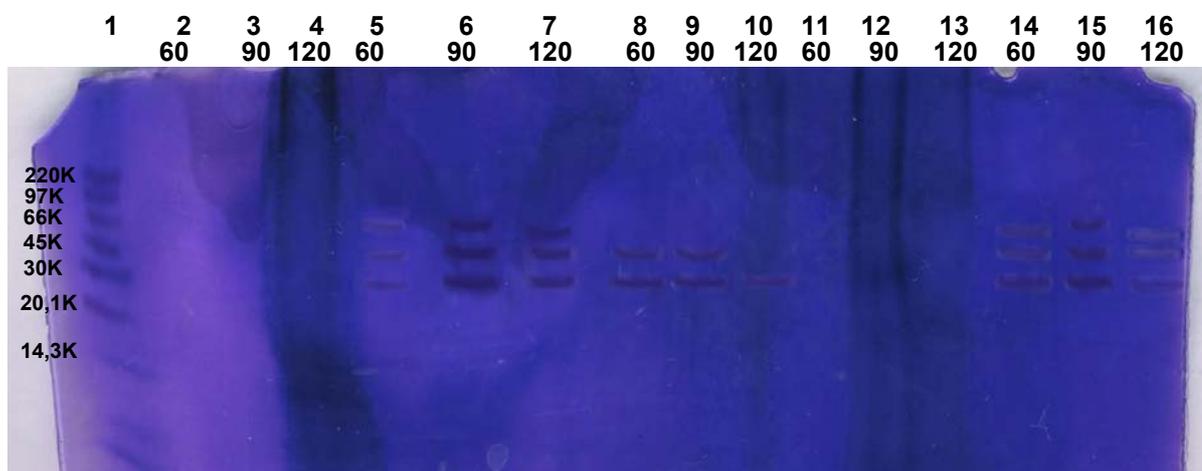


Figura 38 – Eletroforese de proteínas de sobrenadantes de cultura de *E. coli* e *P. aeruginosa* tratadas com OE. Coluna 1 – padrão de peso molecular; colunas 2 a 4 – 25 μ L de sobrenadante de cultura de *E. coli* em ausência de OE nos tempos 60, 90 e 120 minutos (**CONTROLES**); colunas 5 a 7 - 25 μ L de sobrenadante de cultura de *E. coli* em presença de *P. bahiana* nos tempos 60, 90 e 120 minutos; colunas 8 a 10 - 25 μ L de sobrenadante de cultura de *E. coli* em presença de *S. terebinthifolius* nos tempos 60, 90 e 120 minutos; colunas 11 a 13 - 25 μ L de sobrenadante de cultura de *P. aeruginosa* em ausência de OE nos tempos 60, 90 e 120 minutos (**CONTROLES**); colunas 14 a 16 - 25 μ L de sobrenadante de cultura de *P. aeruginosa* em presença de *S. terebinthifolius* nos tempos 60, 90 e 120 minutos.

Comparando as atividade dos OEs entre as bactérias testadas, os resultados obtidos, mostram que, para MRSA o OE de *S. terebinthifolius* apresentou maior extravasamento de conteúdo intracelular com liberação de proteína com peso molecular por volta de 97 kDa, enquanto que para o OE de *M.sphenoides* a proteína de maior PM liberada está em torno de 45 kDa e para o OE de *P.bahiana* a proteína de maior PM liberada está em torno de 30 kDa.

Para *E. coli*, o OE de *P.bahiana* apresentou maior extravasamento de conteúdo celular, com liberação de proteína com peso molecular por volta de 66 kDa, enquanto que para o OE de *S.terebinthifolius*, a proteína de maior PM liberada está em torno de 45 kDa.

Para *P.aeruginosa* o extravasamento de conteúdo celular promovido pelo óleo de *S. terebinthifolius*, liberou proteína de maior PM na faixa de 66kDa.

Pelo extravasamento de conteúdo celular observado, pode-se deduzir que houve fragilização de parede celular e aumento na porosidade de membrana em graus variados em função da ação de componentes dos OEs envolvidos, responsáveis pelos efeitos de inibição e morte dos microrganismos.

Os microrganismos utilizados nos ensaios de eletroforese, em fase estacionária de crescimento, foram afetados pelos OEs investigados e seus componentes, fase esta em que os microrganismos são geralmente menos sensíveis a alterações do que na fase exponencial (CORRE et al., 1990). Como agentes antimicrobianos que afetam processo de síntese celular, sempre tem pouco efeito sobre organismos na fase estacionária de crescimento (RUSSELL et al., 1973; CARSON et al., 2002), os resultados sugerem que o alvo principal dos óleos investigados não é um processo de síntese macromolecular. Por outro lado, a perda de material citoplásmico é considerada indicativa de dano à membrana citoplasmática. Muitos compostos que atuam na membrana citoplásmica, como o α -pineno (ANDREWS et al.,1980), um dos constituintes presentes nos óleos investigados, induzem a perda de material celular. Entretanto, há a possibilidade de que existam outros sítios de ação além da parede celular e membrana citoplasmática. É possível que outros compostos fitoquímicos não determinados, tenham contribuído por outros mecanismos, para as atividades observadas.

O efeito do OE de *P.bahiana* sobre as células de *E.coli*, atribuído à presença de terpenos, entre os quais 4-terpineol, composto fortemente microbicida, também é decorrente de ação sobre membrana celular, através de mecanismos que envolvem perda de potássio, inibição respiratória e conseqüente perda de material celular. Esses mecanismos podem ocorrer mesmo que na fase estacionária, as células de *E.coli* tenham sofrido alterações na composição de ácidos graxos da membrana interna e aumento de carga da membrana externa

por incremento de produção de LPS e essas mudanças tenham aumentado a resistência das células a agentes que tem como alvo membranas celulares (COX et al., 1998, 2000).

A rápida inativação de *P.aeruginosa* pelo OE de *S.terebinthifolius*, atribuída à ação dos constituintes terpênicos, também está associada à capacidade de permeabilização e ruptura da camada de LPS da membrana externa do microrganismo, por esses compostos (MANN & MARKHAM, 2000).

6 CONCLUSÕES

- ✓ Todas as 17 espécies botânicas estudadas apresentaram atividade antimicrobiana, em diferentes espectros e graus de inibição, em função do material botânico testado.
- ✓ As bactérias Gram-positivas foram inibidas por 16 das 17 espécies botânicas investigadas, ao passo as bactérias Gram-negativas só foram inibidas por 4 espécies.
- ✓ Entre os microrganismos selecionados para estudos, MSSA, MRSA, *T. rubrum* e *M. canis* foram os mais sensíveis e *P. aeruginosa*, o mais resistente à ação antimicrobiana das amostras testadas.
- ✓ A maioria dos óleos essenciais apresentou espectro de ação superior aos dos extratos e frações, destacando-se os OEs de *S. terebinthifolius*, *P. bahiana*, *P. baianus* e das quatro espécies de *Myrcia*.
- ✓ O OE de *S. terebinthifolius* inibiu o crescimento de todos os microrganismos utilizados.
- ✓ Entre as amostras ensaiadas, as mais baixas CIMs para MSSA, MRSA e *C. neoformans* foram obtidas com a espécie *P. bahiana* e a menor CIM para *C. albicans* foi obtida com a espécie *M. myrtifolia*.
- ✓ A rápida inativação apresentada pelos OEs de *S. terebinthifolius*, *P. bahiana* e *M. sphenoides* sobre os microrganismos selecionados, pode ser atribuída em parte aos constituintes terpênicos presentes nas amostras, cujos mecanismos de ação têm como alvo principal a membrana das células microbianas.

- ✓ Pelo conteúdo protéico liberado após exposição dos microrganismos aos óleos essenciais testados, o OE de *S. terebinthifolius* apresentou maior poder de fragilização de membrana para MRSA, enquanto que o OE de *P. bahiana* apresentou maior poder de fragilização para *E. coli*.
- ✓ O OE de *S. terebinthifolius* apresentou rápida inativação e extravazamento protéico sobre as células de *P. aeruginosa*, demonstrando a ação efetiva dos constituintes deste óleo sobre o microrganismo que apresentou resistência às demais espécies botânicas testadas.
- ✓ Em vista da composição diversificada das amostras testadas, é provável que os mecanismos de ação atribuídos a alguns de seus constituintes sejam responsáveis, isoladamente ou em associação, pelos efeitos antimicrobianos observados neste trabalho.
- ✓ A atividade apresentada por *S. terebinthifolius*, *A. confertus*, *A. micropappus*, *A. pintoii*, *M. ganophyllus*, *K. cuspidata*, *P. bahiana*, *Z. flemmingioides*, *M. sphenoides*, *M. guianensis*, *M. myrtifolia* e *M. hiemalis* contra MRSA, assim como a ação desenvolvida por *M. nitida*, *M. ganophyllus* e *P. baianus* contra agentes etiológicos de micoses sistêmicas e dermatomicoses, indicam uma provável fonte de compostos de forte potencial terapêutico contra infecções causadas por esses microrganismos, entre as espécies investigadas.
- ✓ Os resultados de atividades antimicrobianas observados neste trabalho podem justificar em parte, a utilização na medicina popular, de algumas espécies botânicas entre as estudadas, como é o caso de *S. terebinthifolius*, *A. confertus* e *P. bahiana*. Ao mesmo tempo, apontam a necessidade de estudos mais aprofundados no sentido de avaliar o potencial de atividade dos seus fitoconstituintes, observando os aspectos farmacotoxicológicos que irão determinar a real possibilidade de utilização dos produtos vegetais dessas espécies, com segurança e eficácia terapêutica comprovadas.

REFERÊNCIAS

AGUILAR-ORTIGOZA, C. J.; SOSA, V.; AGUILAR-ORTIGOZA, M. Toxic Phenols in Various Anacardiaceae Species. **Economic Botany**, v.57, n.3, p.354-364, 2003.

AGUILAR-ORTIGOZA, C. J.; SOSA, V. The evolution of toxic phenolic compounds in a group of *Anacardiaceae*. **Taxon**, v.53, n.2, p.357-364, 2004.

ALLEGRI, J.; De BUOCHBERG, M. Siméon; MAILLOLS, H. ÉMULSIONS D'HUILLES ESSENTIELLES. FABRICATION ET APPLICATIONS EN MICROBIOLOGIE. **Travaux de la Société de Pharmacie de Montpellier**, v.33, n.1, p.73-86, 1973.

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

ALVES, T. M. A.; ALVES, R. O.; ROMANHA, A. J.; DOS SANTOS, M. R.; NAGEM, T. J.; ZANI, C. L. Biological Activities of 7-Epiclusianone. **Journal of Natural Products**, v.62, p.369-371, 1999.

ALVES, T. M. A.; SILVA, A. F.; BRANDÃO, M.; GRANDI, T. S.M.; SMÂNIA, E. F. A.; JUNIOR, A. S.; ZANI, C. L. Biological Screening of Brazilian Medicinal Plants. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.95, n.3, p.367-373, 2000.

ANDREWS, R.E.; PARKS, L.W.; SPENCE, K.D. Some effects of Douglas fir terpenes on certain microorganisms. **Applied Environmental Microbiology**, v.40, p.301-304, 1980.

ARAÚJO, F. M. **Estudo Fitoquímico Biomonitorado da Espécie *Poiretia bahiana* (Leguminosae)**. 2002. 175p. Dissertação de Mestrado em Produtos Naturais – Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2002.

ARAÚJO, F.M.; PASSOS, M.G.V.M.; LIMA, E.O.; ROQUE, N.F.; MARTINS, D.; GUEDES, M.L.S.; CRUZ, F.G. Composition and antimicrobial activity of essential oils from *Poiretia bahiana* C. Muller (Papilionoideae-Leguminosae). In: 35th International Symposium on Essential Oils, 2004, Giardini Naxos, Itália. Anais do 35th International Symposium on Essential Oils, 2004, Giardini Naxos, Itália.

BACCHI, E. M. Ação Anti-úlceras e Cicatrizante de Algumas Plantas Brasileiras. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.1, n.1, p.93-100, 1986.

BAILEY & SCOTT. **Diagnóstico Microbiológico**. São Francisco: Editorial Medica Panamericana, 1996. 879p.

BARATTA, M. T.; DORMAN, H.J. D.; DEANS, S. G.; FIGUEIREDO, A. C.; BARROSO, J. G.; RUBERTO, G. Antimicrobial and antioxidant properties of some commercial essential oils. **Flavor and Fragrance Journal**, v.13, p.235-244, 1998.

BARBOSA, P. R.; FASCIO, M.; MARTINS, D.; GUEDES, M. L. S.; ROQUE, N. F. Triterpenes of *Croton betulaster* (Euphorbiaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v.31, p.307-308, 2003.

BARRERO, A. F.; OLTRA, J. E.; ALVAREZ, M.; RASLAN, D. S.; SAÚDE, D.A.; AKSSIRA, M. New sources and antifungal activity of sesquiterpenes lactones. **Fitoterapia**, v.71, p.60-64, 2000.

BARROS, M. C. P.; LIMA, M. A. S.; SILVEIRA, E. R. Coumarins and other constituents from *Acritopappus confertus* roots. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.33, p.215-218, 2005.

BARROSO, G.M; PEIXOTO, A.L.; ICHASO, C.L.F.; COSTA, C.G.; GUIMARÃES, E.F.; LIMA, H.C. **Sistemática de Angiospermas do Brasil**. Minas Gerais: Imprensa Universitária da Universidade de Viçosa, 1991. 3v.

BASTOS, M.; CERQUEIRA, S.; SOUZA, J.T.; JUNIOR, R.A.; PEIXOTO, A.B. F. Ação analgésica do extrato bruto aquoso liofilizado do caule e folhas da *Lychnophora ericoides* Mart. (arnica). **Ciência e Cultura**, v.39, n.5-6, p.551-553, 1987.

BAUTISTA, H. P.; ORTIZ, S.; RODRÍGUEZ-OUBIÑA, J. *Acritopappus diamantinicus* (Asteraceae, Eupatorieae), a new species from Chapada Diamantina, Bahia, Brazil. **Nordic Journal of Botany**, v.20, n.2, p.173-177, 2000.

BAUTISTA, H. P.; HIND, D. J. N. Two new species of *Acritopappus* (*Compositae: Eupatorieae: Ageratinae*) from Bahia, Brazil. **Kew Bulletin**, v.55, p.949-956, 2000.

BEGUM, S.; HASSAN, S.I.; SIDDIQUI, B.S.; SHAHEEN, F.; NABEEL GHAYUR, M.; GILANI, A.H. Triterpenoids from the leaves of *Psidium guajava*. **Phytochemistry**, v.61, n.4, p.399-403, 2002.

BENOUDA, A.; HASSAR, M. Les propriétés antiseptiques des huiles essentielles *in vitro*, testées contre des germes pathogènes hospitaliers. **Fitoterapia**, v.59, n.2, p.115-119, 1988.

BERLIN, B. On the making of a comparative ethnobiology. In: *Ethnobiological Classification: principles of categorization of plants and animals in traditional societies*. Princeton: Princeton University, 1992.

BERMUDEZ, J. A. Z. **Indústria Farmacêutica, estado e sociedade**. São Paulo: Hucitec, 1995. 204p.

BITTRICH, V.; AMARAL, M.C.E. Floral biology of some *Clusia* species from central amazonia. **Kew Bulletin**, v.52, n.3, p.617-635, 1997.

BOECK, P.; SÁ, M.M.; DE SOUZA, B.S.; CERCENÁ, R.; ESCALANTE, A.M.; ZACHINO, S.A.; FILHO, V.C.; YUNES, R. A. A Simple Synthesis of Kaurenoic Esters other Derivatives and Evaluation of their Antifungal Activity. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v.16, n.6B, p.1360-1366, 2005.

BOHLMANN, F.; ZDERO, C.; KING, R. M.; ROBINSON, H. Caryophyllene derivatives and a Heliangolide from *Lychnophora* species. **Phytochemistry**, v.19, p.2381-2385, 1980.

BOHLMANN, F.; ZDERO, C.; GUPTA, R. K.; KING, R. M.; ROBINSON, H. Diterpenes and Tetranorditerpenes from *Acritopappus* species. **Phytochemistry**, v.19, p.2695-2705, 1980.

BOHLMANN, F.; GUPTA, R. K.; KING, R. M.; ROBINSON, H. Labdane derivatives and a Himachalanolide from *Acritopappus prunifolius*. **Phytochemistry**, v.20, p.275-279, 1981.

BOHLMANN, F.; MUELLER, L.; KING, R. M.; ROBINSON, H. A guaianolide and other constituents from *Lychnophora* species. **Phytochemistry**, v.20, n.5 p.1149-1151, 1981

BOHLMANN, F.; ZDERO, C.; KING, R. M.; ROBINSON, H. Humulene derivatives from *Acritopappus prunifolius*. **Phytochemistry**, v.21, n.1, p.147-150, 1982.

_____. A new type of sesquiterpene lactones from *Lychnophora salicifolia*. **Liebigs Ann. Chem.**, v.8, p.1455-1458, 1983

BOHLMANN, F.; ZDERO, C.; JAKUPOVIC, J.; KING, R. M.; ROBINSON, H. Diterpenes from *Acritopappus confertus*. **Phytochemistry**, v.22, n.10, p.2243-2252, 1983.

BORELLA, J.C.; LOPES, J.L.C.; LEITÃO FILHO, H.F.; SEMIR, J.; DÍAZ, J.G.; HERZ, W. Eudesmonolides and 15-deoxygoyazensolide from *Lychnophora pseudovillosissima*. **Phytochemistry**, v.31,n.2, p.692-695, 1992.

BORELLA, J.C.; LOPES, J.L.C.; VICHNEWSKI, W.; CUNHA, W.R.; HERZ, W. Sesquiterpene lactones, triterpenes and flavones from *Lychnophora ericoides* and *Lychnophora pseudovillosissima*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.26, p.671-676, 1998.

BORIO, E.B.L.; CECY, C.; YASUMOTO, Y. Pharmacognostic study of the bark of *Schinus terebinthifolius* Raddi (*Anacardiaceae*). **Ciência e Cultura**, v.25, n.7, p.631-634, 1973.

BRANTNER, Adelheid; GREIN, Edith. Antibacterial activity of plants extracts used externally in traditional medicine. **Journal of Ethnopharmacology**, v.44, p.35-40, 1994.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. **Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Brasília: Ministério da saúde, 2006. 60p. – (Série B. Textos Básicos de Saúde).

BREMER. Asteraceae: cladistic & classification. BRIDSON, G.D.R. & SMITH, E.R. (compiler & editor). Portland, Oregon: Timber Press. 1994.

BRINGMANN, G.; SAEB, W.; ASSI, L.A.; FRANCOIS, G.; SANKARA NARAYANAN, A.S.; PETERS, K.; PETERS, E.M. Betulinic acid: isolation from *Triphyophyllum peltatum* and *Ancistrocladus heyneanus*, antimalarial activity and crystal structure of benzyl ester. **Planta Medica**, v.63, p.255-257, 1997.

BUENZ, E.J. Country development does not presuppose the loss of forest resources for traditional medicine use. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 100, p.118-123, 2005.

BURT, Sara Essential oils: their antibacterial properties and potential , applications in foods – a review. **International Journal of Food Microbiology**, v.94, n.3, p.223-256, 2004.

CAMPELLO, J.P.; MARSAIOLI, A.J. Triterpenes of *Schinus terebinthifolius*. **Phytochemistry**, v.13, n.3, p.659-60, 1974.

_____. Terebenthifolic acid and baurenone: New triterpenoid ketones from *Schinus terebinthifolius*. **Phytochemistry**, v.14, n.10, p.2300-2302, 1975.

CARMO, C. M. F.; LIMA, E. O.; MILAN, E. P. Atividade antifúngica de extratos e óleos essenciais contra *Candida albicans* isolada de pacientes com AIDS. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.79, n.3/4, p.108-111, 1998.

CARSON, C. F.; RILEY, T. V. The antimicrobial activity of tea tree oil. **Medical Journal of Australia**, v.160, p. 236, 1994.

CARSON, C. F.; HAMMER, K.A.; RILEY, T. V. Broth micro-dilution method for determining the susceptibility of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* to the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). **Microbios**, v.82, p.181-185, 1995.

CARSON, C. F.; MEE, B. J.; RILEY, T. V. Mechanism of Action of *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) Oil on *Staphylococcus aureus* Determined by Time-Kill, Lysis, Leakage, and Salt Tolerance Assays and Electron Microscopy. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.46, n.6, p.1914-1920, 2002.

CERRINI, S.; LAMBA, D.; DELLE MONACHE, F.; PINHEIRO, R.M. Nemorosonol, a derivative of triclo-[4.3.1.0^{3,7}]-Decane-7-hydroxy-2.9 dione from *Clusia nemorosa*. **Phytochemistry**, v.32, n.4, p.1023-1028, 1993.

CHALCHAT, J.; GARRY, R. Correlation between chemical composition and antimicrobial activity. VI. Activity of some African essential oils. **Journal of Essential Oil Research**, v.9, p. 67-75, 1997.

CHAPMAN, M.D. Challenges associated with indoor moulds: Health effects, immune response and exposure assessment. **Medical Micology**, v.44, Supplement 1, p.29-32, 2006.

CHAND, S.; LUZUNZI, I.; VEAL, D.A.; WILLIAMS, L.R.; KARUSO, P. Rapid screening of the antimicrobial activity of extracts and natural products. **Journal of Antibiotics**, v.47, p.1295-1304, 1994.

CHICARO, P.; PINTO, E.; COLEPICOLO, P.; LOPES, J.L.C.; LOPES, N.P. Flavonoides from *Lychnophora passerina* (Asteraceae): potencial antioxidants and UV-protectants. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.32, p.239-243, 2004.

CHOPRA, R.N.; CHOPRA, J.C.; HONDA, K.L.; APUR, L.D. **Indigenous Drugs of Índia**. Calcutta: U.N. Dhur & Sons, 1958.

CHUNG, K.-T.; LU, Z.; CHOU, M.W. Mechanism of Inhibition of Tannic Acid and Related Compounds on the Growth of Intestinal Bacteria. **Food and Chemical Toxicology**, v.36, p.1053-1060, 1998.

CIMANGA, K.; KAMBU, K.; TONA, L.; APERS, S.; DE BRUYNE, T.; HERMANS, N.; TOTTE, J.; PIETERS, L.; VLIETINCK, A.J. Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 79, p. 213-220, 2002.

CLARK, A.M. Natural Products as a Resource for New Drugs. **Pharmaceutical Research**, v.13, n.8, p.1133-1141,1996.

COATES, N.J.; GILPIN, M.I.; GWYNN, M.N.; LEWIS, D.I.; MILNER, P.H.; SPEAR, S.R.; TYLER, J.W. A novel β -lactamase inhibitor isolated from *Spondias mombin*. **Journal of Natural Products**, v.57, p.654-657, 1994.

COLE, M.D. Key Antifungal, Antibacterial and Anyi-insect Assays – a Critical Review. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.22, p.837-856, 1994.

CORRE, J.; LUCCHINI, J.J.; MERCIER, G.M.; CREMIEUX, A. Antibacterial activity of phenethyl alcohol and resulting membrane alterations. **Research Microbiology**, v.141, p.483-497, 1977.

CORREA, PIO M. **Dicionário das Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas**. 6v. Ministério da Agricultura. Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, 1974.

CORTEZ, D.A.G.; ABREU, B.A.; NAKAMURA, C.V.; DIAS B.P.; MARSTON, A.; HOSTETTMANN, K. Antibacterial activity of a biphenyl and xanthenes from *Kielmeyera coriaceae*. **Pharmaceutical Biology**, v.40, n.7, p.485-487, 2002.

COSTA, R.C.R. **Diagnóstico geo-ambiental e sócio-econômico da bacia do rio Paraguaçu – BA**. Rio de Janeiro: IBGE, 1993. 124p.

COX, S.D.; GUSTAFSON, J.E.; MANN, C.M.; MARKHAM, J.L.; LIEW, Y.C.; HARTLAND, R.P.; BELL, H.C.; WARMINGTON, J.R.; WYLLIE, S.G. Tea tree oil causes K^+ leakage and inhibits respiration in *Escherichia coli*. **Letters in Applied Microbiology**, v.26, p.355-358, 1998.

COX, S.D. The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). **Journal of Applied Microbiology**, v.88, p.170-175, 2000.

COX, S.D.; MANN, C.M.; MARKHAM, J.L. Interactions between components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. **Journal of Applied Microbiology**, v.91, p.492-497, 2001.

COWAN, M. M. Plant Products as Antimicrobial Agents. **Clinical Microbiology Reviews**, v.12, n.4, p. 564-582, 1999.

CRAGG, G. M. ; NEWMAN, D. J.; SNADER, K. M. Na tural Products in drug discovery and development. **Journal of Natural Products**, v.60, p.52-60, 1997.

CRUZ, F.G.; ROQUE, N.F.; GIESBRECHT, A.M.; DAVINO, S.C. Antibiotic activity of diterpenes from *Mikania triangularis*. **Fitoterapia**, v.67, n. 2, p.189-190, 1996.

CRUZ, F. G.; MOREIRA, L. M.; DAVID, J. M.; GUEDES, M.L.S.; CHÁVEZ, J. P. Coumarins from *Kielmeyera reticulata*. **Phytochemistry**, v.47, n.7, p.1363-1366, 1998.

CRUZ, F.G.; SANTOS, N.A.S.; DAVID, J. M.; GUEDES, M. L.S.; CHAVEX, J.P. Coumarins from *Kielmeyera argentea*. **Phytochemistry**, v.48, n.4, p.703-706, 1998.

CRUZ, F. G.; DA SILVA-NETO, J. T.; GUEDES, M. L.S. Xanthenes and Coumarins from *Kielmeyera lathrophyton*. **Journal of Brazilian Chemical Society**., v.12, n.1, p.117-122, 2001.

CRUZ, F. G.; MOREIRA, L. M.; SANTOS, N. A.S.; GUEDES, M. L.S. Additional Coumarins from *Kielmeyera reticulata*. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v.13, n.5, p.704-707, 2002.

CRUZ, F. G.; TEIXEIRA, J. S.R. Polyprenylated Benzophenones with a Tricyclo [4.3.1.1^{3,8}]Undecane Skeleton from *Clusia obdeltifolia*. **Journal of Brazilian Chemical Society** , v.15, n.4, p.504-508, 2004.

CRUZ, F.G.; CARDOSO, L.A.; MARTINS, D.; ROQUE, N.F.; REIS, A.A.; COSTA, T.A.C.; NÓBREGA,D.A.; DE SOUZA, V.F.; DE SOUZA, L.G. Preliminary Study of *Schinus terebinthifolius*. Extraction by Supercritical Carbon Dioxide. IN: V Brazilian Meeting on Supercritical Fluids, 2004, Florianópolis, SC. Anais do V Brazilian Meeting on Supercritical Fluids, 2004.

DA COSTA, F.B.; DIAS, D.A.; LOPES, J.L.C.; VICHNEWSKI, W. Flavonoides and heliangolides from *Lychnophora diamantinana*. **Phytochemistry**, v.34, n.1, p.261-263, 1993.

DA SILVA, M.L.; LUZ, A.I.R.; ZOGHBI, M.G.B.; RAMOS, L.S.; MAIA, J.G.S. Essential oils of some amazonian *Mikania* species. **Phytochemistry**, v.23, n.10, p.2374-2376, 1984.

DA SILVA, M.Q.O.R. Estudo Fitoquímico dos extratos de *Morithamnus crassus* e *Morithamnus ganophyllus* (Asteraceae). 2005. 167p. Dissertação de Mestrado em Química-Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2005.

DAVINO, S.C.; GIESBRECHT, A.M.; ROQUE, N.F. Antimicrobial activity of kaurenoic acid derivatives substituted on carbon-15. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.22, p.1127-1129, 1989.

DE ALMEIDA, L.C.B.; PEREIRA, R.M.S.; GUEDES, M.L.S.; MARTINS, D. Benzofenonas preniladas de *Zornia flemmingioides* (Leguminosae). In: 27^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química- SBQ, 2004. Anais da 27^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2004.

DE ARAÚJO, H.C.; MAHAJAN, J.R.; GOTTLIEB, O.R.; MAGALHÃES, M.T. A Química das Gutíferas Brasileiras. Constituintes triterpênicos de uma *Clusia*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.38, p.429- 430, 1966.

DELLE MONACHE, F.; DELLE MONACHE, G.; BOTTA, B.; GACS-BAITZ, E. A Biphenyl, a dihydrophenantrene and a xanthone from *Clusia paralycola*. **Heterocycles**, v.56, n. 1-2, p.589-597, 2002.

DE MELO, E.J.M.; RAPOSO, M.J.; NETO, J.A.L.; DINIZ, M.F.A.; MARCELINO, C.A.C.; SANT'ANA, A.E.G. Medicinal plants in the healing of dry socket in rats: Microbiological and microscopic analysis. **Phytomedicine**, v.9, n.2, p.109-116, 2002.

DE OLIVEIRA, A.B.; SAUDE, D.A.; PERRY, K.S.P.; DUARTE, D.S.; RASLAN, D.S.; BOAVENTURA, M.A.D.; CHIARI, E. Trypanocidal sesquiterpenes from *Lychnophora* species. **Phytotherapy Research**, v.10, n.4, p.292-295, 1996.

DEPAIVOC, J; MARSAIOLI, A.J. Triterpenes of *Schinus terebenthefolius*. **Phytochemistry**, v.13, n.3, p.659-660, 1974.

DHAR, P.; AYALA, U.; ANDARGE, E.; MORISSEAU, S. Study of the Structural Changes on the Antimicrobial Activity of [3.1.1.]-Bicyclics. **Journal of Essential Oil Research**, v.16, p.612-616, 2004.

DIKSHIT, A.; NAQVI, A.; HUSAIN, A.A. *Schinus molle*: a new source of natural fungitoxicant. **Applied and Environmental Microbiology**, v.51, p.1085-1088, 1986.

DJIPA, C.D.; DELMÉE, M.; QUETIN-LECLERCQ, J. Antimicrobial activity of bark extracts of *Syzygium jambos* (L.) Alston (Myrtaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v.71, p.307-313, 2000.

DOBSON, A.P. Conservation and biodiversity. New York: Scientific American Library, 1996, 264p.

DO AMARAL, R.R. Avaliação da atividade IMAO e antibacteriana de extratos de *Mikania glomerata* Sprengel. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.13, supl.1, p.24-27, 2003.

DOMINGUEZ, X.A.; CARMONA, J.F.; DE VENEGAS, R.B. Mexican Medicinal Plants. Anacardiaceae Lignoceric Acid and Other Compounds of *Schinus molle*. **Phytochemistry**, v.10, p.1687-&, 1971.

DORMAN, H.J.D.; DEANS, S.G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. **Journal of Applied Microbiology**, v.88, p.308-316, 2000.

DOS SANTOS, M.D.; GOBBO-NETO, L.; ALBARELLA, L.; DE SOUZA, G.E.P.; LOPES, N.P. Analgesic activity of di-caffeoylquinic acids from roots of *Lychnophora ericoides* (Arnica da serra). **Journal of Ethnopharmacology**, n.96, p.545-549, 2005.

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

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

ELISABETSKY, E.; MORAES, J. A. Ethnopharmacology as an instrument for technological development. In: The First International Congress of Ethnobiology, v.2, parte E., p.111-118, 1989.

ELISABETSKY, E. The Status of Ethnopharmacology in Brazil. **J.Ethnopharmacology**, v.38, p.137, 1993.

ELISABETSKY, E.; COSTA-CAMPOS, L. Medicinal plant genetic resources and international cooperation: the Brazilian perspective. **Journal of Ethnofarmacology**, v.51, p.11-120, 1996.

ELOFF, J. N. Which extractant should be used for the screening and isolation of antimicrobials components from plants? **Journal of Ethnopharmacology**, v.60, p.1-8, 1998.

ENGLER, A. Anacardiaceae. In: A. P. & A. C. De Candolle (Eds.). **Monographie Phanerogamarum**. Paris, France: G. Masson, v.4, , 1883, p.171-546.

ENGLER, A. Guttiferae et Quinaceae. In: von Martius, C.F.P. et al. (Eds.), **Flora Brasiliensis**, Leipzig: Frid. Fleischer, v.12, p.381, 1888.

FACEY, P.C.; PASCOE, K.O.; PORTER, R.B.; JONES, A.D. Investigation of plants used in Jamaican folk medicine for anti-bacterial activity. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v.51, n.12, p.1455-1460, 1999.

FACUNDO, V.A.; RIOS, K.A.; MEDEIROS, C.M.; MILITÃO, J.S.L.T.; MIRANDA, A.L.P.; EPIFANIO, R. A.; CARVALHO, M.P.; ANDRADE, A.T.; PINTO, A.C.; REZENDE, C.M. Arjunolic Acid in the Ethanolic Extract of *Combretum leprosum* Root and its Use as a Potential Multi-Functional Phytomedicine and Drug for Neurodegenerative Disorders: Anti-Inflammatory and Anticholinesterasic Activities. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v.16, n.6B, p.1309-1312, 2005.

FEHLBERG, I.; GUEDES, M.L.S.; CRUZ, F.G. C-Metilflavonas isoladas de *Myrcia guianensis*. In: 28ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química- SBQ, 2005. Anais da 28ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2005.

FEHLBERG, I.; GUEDES, M.L.S.; CRUZ, F.G. Novo Sesquiterpeno de *Myrcia guianensis*. In: 29ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química- SBQ, 2006. Anais da 29ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2006.

FREITAS, M.O.; DE MORAIS, S.M.; SILVEIRA, E.R. Volatile constituents of *Psidium myrsinoides* O. Berg. **Journal of Essential Oil Research**, v.14, n.5, p.364-365, 2002.

FRIDKIN, S. K. Vancomycin-intermediate and resistant staphylococcus aureus: What the infectious disease specialist needs to know. **Clinical Infectious Diseases**, v.32, p.108-115, 2001.

FUNCH, L. S.; HAYLEY, R.; FUNCH, R.; GIULETTI, A. M.; DE MELO, E. **CHAPADA DIAMANTINA Useful Plants**. São Carlos: RiMa. 2004. 206p.

GARCIA, E.S.; SILVA, A.C.P.; GILBERT, B.; CORRÊA, C. B. V.; CAVALHEIRO, M. V. S.; SANTOS, R. R.; TOMASINI, T. **Fitoterápicos**. Campinas: André Tosello, 1996. 17p.

GILL, A.O.; DELAQUIS, P.; RUSSO, P.; HOLLEY, R.A. Evaluation of antilisterial action of cilantro oil on vacuum packed ham. **International Journal of Food Microbiology**, v.73, p.83-92, 2002.

GOBBO-NETO, L.; SANTOS, M.D.; KANASHIRO, A.; ALMEIDA, M.C.; LUCISANO-VALIM, Y.M.; LOPES, J.L.C.; SOUZA, G.E.P.; LOPES, N.P. Evaluation of the anti-inflammatory and antioxidant activities of di-C-glycosylflavones from *Lychnophora ericoides* (Asteraceae). **Planta Medica**, v.71, n.1, p.3-6, 2005.

GODOY, M.F.P.; VICTOR, S.R.; BELLINI, A.M.; GUERREIRO, G.; ROCHA, W.C.; BUENO, O.C.; HEBLING, M.J.A.; BACCI JR., M.; DA SILVA, M.F.G.F.; VIEIRA, P.C.; FERNANDES, J.B.; PAGNOCCA, F.C. Inhibition of the Symbiotic Fungus of Leaf-Cutting Ants by Coumarins. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v.16, n. 3B, p.669-672, 2005.

GOTTLIEB, O. R.; DA SILVA, M.L.; MAIA, J.G.S. Chemistry of Brazilian Myrtaceae 3. Eucalyptin from *Eugenia* and *Myrcia* Species. **Phytochemistry**, v.11, n.3, p.1185-&, 1972.

GOTTLIEB, O. R.; KOKETSU, M.; MAGALHÃES, M.T.; MAIA, J.G.S.; MENDES, P.H.; DA ROCHA, A.I.; DA SILVA, M.L.; WILBERG, V.C. Essential Oils from the Amazon. VII. **Acta Amazonica**, v.11, n.1, p.143-148, 1981.

GOTTLIEB, O.R.; KAPLAN, M.A.C. **A Impotência dos Produtos Naturais para o Homem**. In: Anais do II SIMPRONAT, João Pessoa: Ed. Universitária UFPB, 1983, p.167-173

GRAEL, C.F.F.; ALBUQUERQUE, F.; LOPES, J.L.C. Chemical constituents of *Lychnophora pohlii* and trypanocidal activity of crude plant extracts and of isolated compounds. **Fitoterapia**, n.76, p.73-82, 2005.

GRAMACHO, R.S.; NAGEM, T.J.; DE OLIVEIRA, T.T.; QUEIROZ, M.E.L.R.; NEVES, A.A.; SADDI, N. Phenylcoumarins from *Kielmeyera elata*. **Phytochemistry**, v.51, p.579-581, 1999.

GREEN, B.J.; HONS, B.S.; MITAKAKIS, T.Z.; TOVEY, E.R. Allergen detection from 11 fungal species before and after germination. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v.11, n.2, p.285-289, 2003.

GRIFFIN, S.G.; WYLLIE, S.G.; MARKHAM, J.L.; LEACH, D.N. The role of structure and molecular properties of terpenoids in determining their antimicrobial activity. **Flavour and Fragrance Journal**, v.14, p.322-332, 1999.

GRIFFIN, S.G.; WYLLIE, S.G.; MARKHAM, J.L. Antimicrobially Active Terpenes Cause K⁺ Leakage in *E. coli* Cells. **Journal of Essential Oil Research**, v.17, p.686-690, 2005.

GUEDES, V.R. Estudo Fitoquímico do Extrato Hexânico e dos Óleos Voláteis de *Acritopappus micropappus* (Asteraceae). 2004. 162p. Dissertação de Mestrado em Produtos Naturais – Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2004.

GUNDIDZA, M. Antimicrobial activity of essential oil from *Schinus molle* Linn. **Central African Journal of Medicine**, v.39, p.231-234, 1993.

GUSTAFSON, J. E. Effects of tea tree oil on *Escherichia coli*. **Letters in Applied Microbiology**, v. 26, p.194-198, 1998.

GUSTAFSON, K.R.; BLUNT, J.W.; MURRAY, H.G.M.; FULLER, R.W.; McKEE, T.C.; CARDENLINA, J.W. II; McMAHON, J.B.; CRAGG, G.M.; BOYD, M.R. The guttiferones, HIV inhibitory benzophenones from *Symphonia globulifera*, *Garcinia livingstonei*, *Garcinia ovalifolia* and *Clusia rosea*. **Tetrahedron**, v.48, p.10093-10102, 1992.

GUTKIND, G. O.; MARTINO, V.; GRAÑA, N.; COUSSIO, J.D.; DE TORRES, R. A. Screening of South American Plants for Biological Activities 1. Antibacterial and Antifungal Activity. **Fitoterapia**, v.52, p.213-218, 1981.

HADACEK, F.; GREGER, H. Testing of Antifungal Natural Products: Methodologies, Comparability of Results and Assay Choice. **Phytochemicals Analysis**, v.11, p. 137-147, 2000.

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

HAMMER, K.A.; CARSON, C.F.; RILEY, T.V. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. **Journal of Applied Microbiology**, v.86, p.985-990, 1999.

_____. Antifungal activity of the components of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil. **Journal of Applied Microbiology**, v.95, p.853-860, 2003.

HAMMOND, P. M. The record to date: described species. In: Heywood, V.H.; Watson, R.T. (Eds.), *Global Biodiversity Assessment*. Cambridge: Cambridge University Press, 1995, p.113-138.

HANDWERGER, S.; TOMASZ, A. Antibiotic tolerance among clinical isolates of bacteria. **Reviews of Infectious Diseases**, v.7, p.368-386, 1985.

HANSCH, C.; DUNN, W.J. Linear relationships between lipophilic character and biological activity of drugs. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.61, p.1-19, 1972.

HARBORNE, J. B. ; BAXTER, H. **PHYTOCHEMICAL DICTIONARY: A Handbook of Bioactive Compounds from Plants**. London: Taylor & Francis, 1993.

HARBORNE, J.B. Classes and function of secondary products from plants. In: N.J. Walton and D.E. Brown (Eds.). **Chemicals from plants**. London, England: Imperial College Press, 1999, p.17-19.

HARVEY, A. L. Natural products for high-throughput screening. In: *Rethnomedicine and drug development*. **Advances Phytomedicine**, v.1, 2002.

HASLAM, E. Natural Polyphenols (Vegetable Tannins) as Drugs: Possible Modes of Action. **Journal of Natural Products**, v.59, n.2, p.205-215, 1996.

HAVAUX, X.; ZEINE, A.; DITS, A.; DENIS, O. A new mouse model of lung allergy induced by the spores of *Alternaria alternata* and *Cladosporium herbarum* molds. **Clinical and Experimental Immunology**, v.139, n.2, p.179-188, 2005.

HELANDER, I.M.; ALAKOMI, H.L.; LATVA-KALA, K.; MATTILA-SANDHOLM, T.; POL, I.; SMID, E. J.; GORRIS, L.G.M.; VON WRIGHT, A. Characterization of the Action of Selected Essential Oil Components on Gram-Negative Bacteria. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.46, p. 3590-3595, 1998.

HELANDER, I.M.; MATTILA-SANDHOLM, T. Permeability barrier of the Gram-negative bacterial outer membrane with special reference to nisin. **International Journal of Food Microbiology**, v.60, p.153-161, 2000.

HENRIQUES, A.T.; SOBRAL, M.; BRIDI, R. Essential Oils from Five Southern Brazilian Species of *Myrcia* (Myrtaceae). **Journal of Essential Oil Research**, v.9, p.13-18, 1997.

HERNÁNDEZ, N.E.; TERESCHUCK, M.L.; ABDALA, L.R. Antimicrobial activity of flavonoids in medicinal plants from Tafi del Valle (Tucumán, Argentina). **Journal of Ethnopharmacology**, v.73, p.317-322, 2000.

HIMEJIMA, M; KUBO, I. Antibacterial Agents from the Cashew *Anacardium occidentale* (Anacardiaceae) Nut Shell Oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.39, p.418-421, 1991.

HIND, N.D.J. In: Flora of the Pico das Almas - Chapada Diamantina – Bahia, Brazil. Editor: B.L. Stannard. Royal Botanic Gardens, Kew. 1995. 175p.

HOLETZ, F. B.; PESSINI, G. L.; SANCHES, N. R.; CORTEZ, D. A. G.; NAKAMURA, C. V.; FILHO, B. P. D. Screening of Some Plants Used in the Brazilian Folk Medicine for the Treatment of Infectious Diseases. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.97, n.7, p1027-1031, 2002.

HOOD, J.R.; WILKINSON, J.M.; CAVANAGH, M.A. Evaluation of Common Antibacterial Screening Methods Utilized in Essential Oil Research. **Journal of Essential Oil Research**, v.15, p.428-433, 2003.

HOULT, J. R. S.; PAYS, M. Pharmacological and biochemical actions of simple coumarins: natural products with therapeutic potential. **General Pharmacology**, v.27, n. 4, p.713-722, 1996.

IBRAHIM, M. T.; FOBBE, R.; NOLTE, J. Chemical composition and biological studies of Egyptian *Schinus molle* L and *Schinus terebinthifolius raddi* oils. **Bulletin of the Faculty of Pharmacy (Cairo University)**, v.42, n. 2, p.289-296, 2004.

IEVEN, M.; VANDEN BERGHE, D. A.; MERTENS, F.; VLIETINCK, A.; LAMMENS, E. Screening of Higher Plants for Biological Activities I. Antimicrobial Activity. **Planta Medica**, v.36, p. 311-321, 1979.

IINUMA, M.; TOSA, H.; TANAKA, T.; ASAI, F.F.; KOBAYASHI, Y.; SHIMANO, R.; MIYAUCHI, K. Antibacterial activity of xanthenes from guttiferaeous plants against

methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v.48, p.861-865, 1996.

INOUE, Y.; MATSUWAKI, Y.; SHIN, S.H.; PONIKAU, J.U.; KITA, H. Nonpathogenic Environmental Fungi Induce Activation and Degranulation of Human Eosinophils. **The Journal of Immunology**, v.175, p.5439-5447, 2005.

JAMAL, Y.; AGUSTA, A. Chemical composition of essential oil *Schinus terebinthifolius* Raddi leaves. **Majalah Farmasi Indonesia**, v.12, n. 3, p. 135-139, 2001.

JANSSEN, A.M.; SCHEFFER, J.J.C.; BAERHEIM SVENDSEN, A. Antimicrobial activity of essential oils: a 1976-86 literature review. Aspects of the test methods. **Planta Medica**, v.53, p. 395-398, 1987.

JOLY, A.B. **Botânica: Introdução à Taxonomia Vegetal**. 4.ed. São Paulo: Editora Nacional, 1977.

JORDAO, C.O.; VICHNEWSKI, W.; DE SOUZA, G.E.P.; ALBUQUERQUE, S.; LOPES, J.L.C. Trypanocidal activity of chemical constituents from *Lychnophora salicifolia*. **Phytotherapy Research**, v.18, n.4, p.332-334, 2004.

JUVEN, B.J.; KANNER, J.; SCHVED, F.; WEISSLOWICZ, H. Factors that interact with the antibacterial action of thyme essential oil and its active constituents. **Journal of Applied Bacteriology**, v.76, p.626-631, 1994.

KAISTHA, K.K.; KIER, L.B. Structural Studies on Terebinthone from *Schinus terebinthifolius*. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.51, p. 245-248, 1962.

KAISTHA, K.K.; KIER, L.B. Structural Studies on Triterpens of *Schinus terebinthifolius*. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.51, p. 1136-9, 1962.

KANASHIRO, A.; KABEYA, L.M.; POLIZELLO, A.C.M.; LOPES, N.P.; LOPES, J.L.C.; LUCISANO-VALIM, Y.M. Inhibitory activity of flavonoids from *Lychnophora* sp on generation of reactive oxygen species by neutrophils upon stimulation by immune complexes. **Phytotherapy Research**, n.18, v.1, p.61-65, 2004.

KASHIWADA, Y.; HASHIMOTO, F.; COSENTINO, L.M.; CHEN, C.H.; GARRET, P.E.; LEE, K.H. Betulinic acid and dihydrobetulinic acid derivatives: a potent anti-HIV agents. **Journal of Medical Chemistry**, v.39, p.1016-1017,1996.

KASSEM, M.E.S.; EL-DESOKY, S.K.; SHARAF, M. Biphenyl Esters and Biflavonoids from the fruits of *Schinus terebenthefolus*. **Chemistry of Natural Compounds**, v.40, n.5, p.447-450, 2004.

KAYE, S.K.; FRAIMOV, H.S.; ABRUTYN, E. Pathogens resistant to antimicrobial agents: epidemiology, molecular mechanisms, and clinical management. **Antibacterial Therapy**, v. 14, p.2-8, 2000.

KIM, S.W.; CHANG, I.M.; OH, K.B. Inhibition of the Bacterial Surface Protein Anchoring Transpeptidase Sortase by Medicinal Plants. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v.66, n.12, p.2751-2754, 2002.

KING, R. M.; ROBINSON, H. Studies in the Eupatorieae (Asteraceae) CIX. A new genus, *Acritopappus*. **Phytologia**, v.24, n.5, p.401-403, 1972.

_____. Studies in the Eupatorieae (Asteraceae). CLXVI.. A new genus *Scherya* and additions to *Acritopappus*. **Phytologia**, v.38. p.99-105.1977.

_____. Studies in the Eupatorieae (Asteraceae).CLXXXIX. Aditions to *Acritopappus*. **Phytologia**, v.45.n. 2. p.142-157.1980.

_____. The genera of Eupatorieae (Asteraceae). **Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden**, v.9, p.581, 1987.

KING, S. R. In: GREAVES, T. **Society for Applied Anthropology**. Oklahoma: Oklahoma City ed., 1994, p.69.

KNOBLOCH, K.; PAULI, A.; IBERL, B.; WEIGAND, H.; WEIS, N. Antibacterial and antifungal properties of essential oil components. **Journal of Essential Oil Research**, v.1, p.119-128, 1989.

KUBO, I.; NIHEI, K.I.; TSUJIMOTO, K. Antibacterial Action of Anacardic Acids against Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.51, p.7624-7628, 2003.

LACAZ, C. S. **Candidíases**. São Paulo: EPU/EDUSP, 1980.

LAMBERT, R.J.W.; SKANDAMIS, P.N.; COOTE, P.; NYCHAS, G.J.E. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. **Journal of Applied Microbiology**, v.91, p.453-462, 2001.

LAVABRE, MARCEL. **AROMATERAPIA: A Cura Pelos Óleos Essenciais**. 2 ed. Rio de Janeiro: Record, 1993. 172p.

LEWIS, G.P. **Legumes of Bahia**. 1987. 1.ed. Kew: Royal Botanic Gardens.369p.

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. **Estudo das Dermatofitoses em João Pessoa-Paraíba e da Atividade Antifúngica de Plantas Medicinais da Região Contra Alguns dos Agentes Isolados**. 1996. Tese de Doutorado – Universidade de São Paulo, São Paulo.

LIMA, E. O.; CURY, A. E.; GOMPERTZ, O. F.; PAULO, M. Q. Atividade Antifúngica de Extratos Obtidos de Espécies de Leguminoseae contra Dermatofitos. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, v.1, n.1/3, p.53-56, 1997.

LIMA, E.O.; PEREIRA, F.O.; LIMA, I.O.; TRAJANO, V.N.; DE SOUZA, E.L. *Schinus Terebinthifolius* Raddr : avaliação do espectro de ação antimicrobiana de seu extrato aquoso. **Infarma**, v.16, n.7-8, 2004.

LIMA, M.A.S.; BARROS, M.C.P.; PINHEIRO, S.M.; DO NASCIMENTO, R.F.; MATOS, F.J.D.; SILVEIRA, E.R. Volatile compositions of two Asteraceae from the north-east of Brazil: *Ageratum conyzoides* and *Acritopappus confertus*. **Flavour and Fragrance Journal**, v.20, n.6, p.559-561, 2005.

LIMBERGER, R.; SUYENAGA, E.S.; HENRIQUES, A.T.C.; CHANTAL, M.; VERIN, P.; LAMATY, G.; BESSIERE, J.M. Aromatic plants from Brazil. Part VI. Chemical composition of essential oils from three southern Brazilian species of *Mikania* (Asteraceae). **Journal of Essential Oil Research**, v.10, n.4, p.363-367, 1998.

LIMBERGER, R.P.; APEL, M.A.; SOBRAL, M.; SCHAPOVAL, E.E.S.; HENRIQUES, A. T. Investigação da atividade antimicrobiana do óleo volátil de espécies da família *Myrtaceae*. **Rev. Bras. Farm.**, v.79, n.1/2, p.49-52, 1998.

LIMBERGER, R.P.; ABOY, A.L.; BASSANI, V.L.; MORENO, P.R.I.I.; RITTER, M.R.; HENRIQUES, A.T. Essential oils from four *Mikania* species (Asteraceae). **Journal of Essential Oil Research**, v.13, n.4, p.225-228, 2001.

LIMBERGER, R.P.; SOBRAL, M.; HENRIQUES, A.T. Óleos voláteis de espécies de *Myrcia* nativas do Rio Grande do Sul. **Química Nova**, v.27, n.6, p.916-919, 2004.

LIS-BALCHIN, M.; HART, S.L.; DEANS, S.G. Pharmacological and antimicrobial studies on different tea-tree oils (*Melaleuca alternifolia*, *Leptospermum scoparium* or *Manuka* and *Kunzea ericoides* or *Kanuka*), originating in Australia and New Zeland. **Phytotherapy Research**, v.14, p.623-629, 2000.

LLOYD, H.A.; JAOUNI, T.M.; EVANS, S.L.; MORTON, J.F. Terpenes of *Schinus terebinthifolius*. **Phytochemistry**, v.16, n. 8, p. 1301-1302, 1977

LOKVAM, J.; BRADDOCK, J.F. Anti-bacterial function in the sexually dimorphic pollinator rewards of *Clusia grandiflora* (Clusiaceae). **Oecologia**, v.119, p.534-540, 1999.

LOKVAM, J.; BRADDOCK, J.F.; REICHARDT, P.B.; CLAUSEN, T.P. Two polyisoprenylated benzophenones from the trunk latex of *Clusia grandiflora* (Clusiaceae). **Phytochemistry**, v.55, p.29-34, 2000.

LOWY, F. Staphylococcus aureus infections. **The New England Journal of Medicine**, v.339, n.8, p.520-532, 1998.

LIMBERGER, R.P.; ABOY, A.L.; BASSANI, V.L.; MORENO, P.R.H.; RITTER, M.R.; HENRIQUES, A.T. Essential oils from four *Mikania* species (Asteraceae). **Journal of Essential Oil Research**, v.13, n.4, p.225-228, 2001.

LOPES, J.L.C.; DIAS, D.A.; COSTA, F.B.; CUNHA, W.R.. Constituintes químicos de *Lychnophora*. **Cad. Farm. (Supl.)** 7, J-5, 1991.

LOPEZ, J.A. Isolation of coumarin in *Zornia diphylla* L. **Ingenieria y Ciencia Quimica**, v.5, n.3, p.96, 1981.

MACHADO, T.B.; PINTO, A.V.; PINTO, M.C.F.R.; LEAL, I.C.R.; SILVA, M.G.; AMARAL, A.C.F.; KUSTER, R.M.; NETTO-dos SANTOS. In vitro activity of Brazilian medicinal plants, naturally occurring naphthoquinones and their analogues, against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v.21, p.279-284, 2003.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, Â. C.; VEIGA JR., V. F. Plantas Mediciniais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v.25, n.3, p.429-438, 2002.

MAGALHÃES, A; ZOGHBI, M.D.B.; SIANI, A.C. 5-Methoxypropacin, a novel coumarinolignoid from *Protium unifoliatum*. **Natural Product Research**, v.20, n.1, p.43-46, 2006.

MAIA, R.M.; BARBOSA, P.R.; CRUZ, F.G.; ROQUE, N.F.; FASCIO, M. Triterpenos da Resina de *Protium heptaphyllum* March (Bourseraceae): Caracterização em misturas binárias. **Química Nova**, v.23, n.5, p.623-626.

MALIK, M.S.; MAHMUD, S.; SATTAR, A. Studies on the essential oil of *Schinus terebinthifolius*. **Science International (Lahore)**, v. 6, n. 4, p.351-2, 1994.

MANN, C.M.; MARKHAM, J.L. A new method for determining the minimum inhibitory concentration of essential oils. **Journal of Applied Microbiology**, v.84, p.538-544, 1998.

MANN, C.M.; COX, S.D.; MARKHAM, J.L. The outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 6749 contributes to its tolerance to the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). **Letters in Applied Microbiology**, v.30, p.294-297, 2000.

MARQUES, M.O.M.; YOSHIDA, M. Structure of propacin. **Química Nova**, v.13, n.4, p.245-246, 1990.

MARTINEZ, M.J.; BETANCOURT, J.; ALONSO-GONZÁLEZ, N.; JAUREGUI, A. Screening of some Cuban medicinal plants for antimicrobial activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 52, p. 171-174, 1996.

MARTINS, D. DE CERQUEIRA; SOUZA-NETA, L.; PASSOS, M.G.V.M.; LIMA, E.O.; ROQUE, N.F.; MARTINS, D.; GUEDES, M.L.S.; CRUZ, F.G. Seasonal composition and antimicrobial activity of essential oils from *Myrcia myrtifolia* DC (Myrtaceae). In: 35th International Symposium on Essential Oils, Giardini Naxos, Itália, 2004. Anais do 35th International Symposium on Essential Oils, Giardini Naxos, Itália, 2004.

MARTINS, D. DE CERQUEIRA; PASSOS, M.G.V.M.; ROQUE, N.F.; MARTINS, D.; GUEDES, M.L.S.; LIMA, E.O.; CRUZ, F.G. Composição e atividade antimicrobiana do óleo volátil das folhas de *Myrcia hiemalis* Camb. In: XVIII Simpósio de Plantas Mediciniais, 2004, Manaus. Livro de Resumos do XVIII Simpósio de Plantas Mediciniais, Manaus, AM, 2004. p.224.

- MARUZZELA, J. C.; LIGUORI, Laurence. The *In Vitro* Antifungal Activity of Essential Oils. **Journal of the American Pharmaceutical Association**, v.47, n.4, p.250-254, 1958.
- MATHUR, S.B. Triterpenoid constituents of *Clusia rosea*. **Phytochemistry**, v.11, n.4, p.1513-1514, 1972.
- MATSUDA, H.; NISHIDA, N.; YOSHIKAWA, M. Antidiabetic principles of natural medicines. V. Aldose reductase inhibitors from *Myrcia multiflora* DC (2): Structures of myrciacitrins III, IV and V. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v.50, p.429-431, 2002.
- MAY, J.; SHANNON, K.; KING, A.; FRENCH, G. Glycopeptide tolerance in *Staphylococcus aureus*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.42, p.189-197, 1998.
- MAY, J.; CHAN, C.H.; KING, A.; WILLIAMS, L.; FRENCH, G.L. Time-kill studies of tea tree oils on clinical isolates. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**. V.45, p.639-643, 2000.
- McCHESNEY, J. D.; CLARK, A. M.; SILVEIRA, E. R. Antimicrobial Diterpenes of *Cróton sonderianus*. II. ent-Beyer-15-en-18-oic Acid. **Pharmaceutical Research**, v.8, n.10, p.1243-1247, 1991.
- McGOWAN Jr, J.E. Minimizing Antimicrobial Resistance: The Key Role of the Infectious Diseases Physician. **Clinical Infectious Diseases**, v.38, p.939-942, 2004.
- MENDES, C.C.; CRUZ, F.G.; GUEDES, M.L.S.G.; ROQUE, N.F. Terpenes from *Mikania aff. jeffreyi* (Asteraceae). **Z. Naturforsch**, v.60b, p.875-879, 2005.
- MIGUEL, O. G.; LIMA, E. O.; DELLE MONACHE, F.; BELLA CRUZ, A. Antimicrobial Activity of Constituents Isolated from *Lychnophora salicifolia* (Asteraceae). **Phytotherapy Research**, v.10, p.694-696, 1996.
- MILA, I.; SCALBERT, A.; EXPERT, D.; Iron withholding by plant polyphenols and resistance to pathogens and rots. **Phytochemistry**, v.42, p.1551-1555, 1996.
- MIYAZAWA, M.; YAMAFUJI, C. Inhibition of Acetylcholinesterase Activity by Bicyclic Monoterpenoids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, p.1765-1768, 2005.
- MITCHELL, J.D. The poisonous Anacardiaceae genera of the world. **Advances in Economic Botany**, v.8, p.103-129, 1990.
- MITSCHER, L.A.; RAO, G.S.R.; KHANNA, I.; VEYSOGLU, T.; DRAKE, S. Antimicrobial agents from higher plants: Prenylated flavonoids and other phenols from *Glycyrrhiza lepidota*. **Phytochemistry**, v.22, n.2, p.573-576, 1983.
- MONDELLO, F.; De BERNARDIS, F.; GIROLAMO, A.; SALVATORE, G.; CASSONE, A. *In vitro* and *in vivo* activity of tea tree oil against azole-susceptible and resistant human pathogenic yeasts. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.51, p.1223-1229, 2003.
- MONTANARO, S.; BARDON, A.; CATALAN, C.A.N. Antibacterial activity of various sesquiterpene lactones. **Fitoterapia**, v.67, n.2, p.185-187, 1996.

MOUREY, A.; CANILLAC, N. Anti-*Listeria monocytogenes* activity of essential oils components of conifers. **Food Control**, v.13, p.289-292, 2002.

MÜLLER, C. **Revisão Taxonômica do Gênero *Poiretia* Vent (*Leguminosae*) para o Brasil**. 1984. 150p. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 1984.

MURATA, M.; IRIE, J.; HOMMA, S. Inhibition of Lipid Synthesis of Bactéria, Yeast and Animal Cells by Anacardic Acids, Glycerol-3-phosphate Dehydrogenase Inhibitors from Ginkgo. **Food Sciences and Technology**, v.30, p.458-463, 1997.

MUROI, H.; KUBO, I. Bactericidal Activity of Anacardic Acids against *Streptococcus mutans* and their Potentiation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.41, p.1780-1783, 1993.

_____. Bactericidal activity of anacardic acid and totarol, alone and in combination with methicillin, against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 80, p.387-394, 1996.

NAGEM, T.J.; DA SILVA, M.C.; MESQUITA, A.A.L.; SILVA, R. Constituents of *Clusia arboreicida*. **Fitoterapia**, v.64, p.87-90, 1993.

NAIGRE, R.; KALCK, P.; ROQUES, C.; ROUX, I.; MICHEL, G. Comparison of antimicrobial properties of monoterpenes and their carbonylated products. **Planta Medica**, v.62, p.275-277, 1996.

NAIMIN, T.S.; LEDELL, K.H.; COMO-SABETTI, K.; BORCHARDT, S.M.; BOXRUD, D.J.; ETIENNE, J.; JOHNSON, S.K.; VANDENESCH, F.; FRIDKIN, S.; O'BOYLE, C.; DANILA, R.N.; LYNFIELD, R. Comparison of community and health care associated methicillin-resistant staphylococcus aureus infection. **JAMA**, v.290, n.22, p.2976-2984, 2003.

NAKAMURA, C. V.; UEDA-NAKAMURA, T.; BANDO, E.; MELO, A. F. N.; CORTEZ, A. G.; FILHO, B. P. D. Antibacterial Activity of *Ocimum gratissimum* L. Essential Oil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 94, n.5, p.675-678, 1999.

NASCIMENTO, G.G.F.; LOCATELLI, J.; FREITAS, P.C.; SILVA, G.L. Antibacterial Activity of Plant Extracts and Phytochemicals on Antibiotic-Resistant Bacteria. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.31, p.247-256, 2000.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts. Villanova: PA. NCCLS Approved Standard M27-A, v.17, n.9, 1997.

_____. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. 7 ed. Villanova, PA: NCCLS, Approved Standard M2-A7, v.20, n.1, January 2000a.

_____. NCCLS Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically. 5 ed. Villanova, PA: NCCLS Approved Standard M7-A5, v.20, n.2, January 2000b.

- NAVARRO, V.; VILLARREAL, M.L.; ROJAS, G.; LOZOYA, X. Antimicrobial evaluation of some plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of infectious diseases. **Journal of Ethnopharmacology**, v.53, p.143-147, 1996.
- NICOLLIER, G.; THOMPSON, A.C. Essential oil and terpenoids of *Mikania micrantha*. **Phytochemistry**, v.20, n.11, p.2587-2588, 1981.
- NIKAIDO, H.; VAARA, M. Molecular basis of bacterial outer membrane permeability. **Microbiological Reviews**, v.49, p.1-32, 1985.
- NOGUEIRA, P.C.L.; BITTRICH, V.; SHEPHERDE, G.J.; LOPES, A.V.; MARSAIOLI, A.J. The ecological and taxonomic importance of flower volatiles of *Clusia* species (Guttiferae). **Phytochemistry**, v.56, p. 443-452, 2001.
- NÚÑEZ, L.; D'ÁQUINO, M.; CHIRIFE, J. Antifungal Properties of Clove Oil (*Eugenia caryophyllata*) in Sugar Solution. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.32, p.123-126, 2001.
- NUÑEZ, C.V.; LAGO, J.H.G.; AMENDOLA, M.C.; ROBERTO, P.; MORENO, P.R.H.; PELTENBURG-LOOMAN, A.; ROQUE, N.F. Analysis of essential oil from stems and leaves of *Mikania* sp nov (Asteraceae). **Journal of Essential Oil Research**, v.14, n.6, p.425-426, 2002.
- NUÑEZ, C. V.; AMÊNDOLA, M. C.; LAGO, J. H. G.; ROQUE, N. F. Diterpene acids from *Mikania* sp. Nov (Asteraceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v.32, p.233-237, 2004.
- OJALA, T.; REMES, S.; HAANSUU, P.; VUORELA, H.; HILTUNEN, R.; HAAHTELA, K.; VUORELA, P. Antimicrobial activity of some coumarin containing herbal plants growing in Finland. **Journal of Ethnopharmacology**, v.73, p.299-305, 2000.
- OLIVA, B.; PICCIRILLI, E.; CEDDIA, T.; PONTIERI, E.; AURELI, P.; FERRINI, A.M. Antimycotic activity of *Melaleuca alternifolia* essential oil and its major components. **Letters in Applied Microbiology**, v.37, p.185-187, 2003.
- OLIVEIRA, C.M.A.; PORTO, A.M.; BITTRICH, V.; VENCATO, I.; MARSAIOLI, A.J. Floral Resins of *Clusia* spp.: Chemical Composition and Biological Function. **Tetrahedron Letters**, v.37, n.36, p.6427-6430, 1996.
- OLIVEIRA, C.M.A.; PORTO, A.L.M.; BITTRICH, V.; MARSAIOLI, A.J. Two polyisoprenylated benzophenones from the floral resins of three *Clusia* species. **Phytochemistry**, v.50, p.1073-1079, 1999.
- OLIVEIRA, G.A.; DELL'ÁQUILA, A.M.; MASIERO, R.L.; LEVY, C.E.; GOMES, M.S.; CUI, I.; HIRATMATSU, K.; MANIZUKA, E.M. Isolation in Brazil of nosocomial *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin. **Infectious Control and Hospital Epidemiology**, v.22, p.443-448, 2001.
- ONAWUNMI, G. O. Evaluation of the Antifungal Activity of Lemon Grass Oil. **International Journal of Crude Drug Research**, v.27, n.2, p.121-126, 1989.

- ORTEGA, G. G.; SCHENKEL, E.P.; ATHAYDE, M. L.; MENTZ, L.A. Brasilianische Phytoterapeutika, Ihre Rolle im Arzneimittelmarkt. **Dtsch. Apoth. Ztg.**, v.35, p.1847-1848, 1989.
- PALOMINO, J.C.; MARTIN, A.; CAMACHO, M.; GUERRA, H.; SWINGS, J.; PORTAELS, F. Resazurin Microtiter Assay Plate: Simple and Inexpensive Method for Detection of Drug Resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.46, n.8, p.2720-2722, 2002.
- PANDEY, R. C. Prospecting for potentially new pharmaceuticals from natural sources. **Medical Research Reviews**, v.18, p.333-346, 1998.
- PATERSON, D.L.; YU, V.L.; Extended-spectrum Beta-lactamases: a call for improved detection and control. **Clinical Infectious Diseases**, v.29, p.1419-1422, 1999.
- PATHAK, D.; PATHAK, K.; SINGLA, A. K. Flavonoids as medicinal agents – Recent advances. **Fitoterapia**, v.61, n.5, p.371-389, 1991.
- PATTNAIK, S.; RATH, C.; SUBRAMANYAM, V.R. Characterisation of resistance to essential oils in a strain of *Pseudomonas aeruginosa*. **Microbios**, v.81, p.29-31, 1995.
- PATTNAIK, S.; SUBRAMANYAM, V.R.; BAPAJI, M.; KOLE, C.R. Antibacterial and antifungal activity of aromatic constituents of essential oils. **Microbios**, v.89, p.39-46, 1997.
- PATTNAIL, S.; SUBRAMANYAM, V.; KOLE, C. Antimicrobial and antifungal activity of ten essential oils in vitro. **Microbios**, v.86, p.237-246, 1996.
- PAULO, M. Q.; LIMA, E.O.; QUEIROZ, E.F.; KAPLAN, M. A.C. Chemical and antimicrobial analysis obtained of essential oil of *Annonaceae*. **Phytochem. Soc. North Am. Newslett**, 32 (1): 27, 1992
- PELL, S.K.; URBATSCH, L. Evaluation of evolutionary relationships in Anacardiaceae using *matK* sequence data. **Botany 2001. Plants and People**, v.42, p.12-16, 2001.
- PEREIRA, A.M.S.; MENEZES JR, A.; CÂMARA, F.L.A.; FRANÇA, S.C.; Influence of fertilizer on coumarin content and biomass production in *Mikania glomerata* Sprengel. **Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants**, 1998 (*In press*).
- PEREIRA, R.M.S.; DOS SANTOS A.V.A.; NETA, L.C.S.; DOS SANTOS, M.A.V.; CRUZ, F.G.; MARTINS, D. Derivados de benzofenona isolados de *Zornia flemmingioides* (Leguminosae) e sua atividade anti *Trichomonas vaginalis*. In: 28^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química- SBQ, 2005. Anais da 28^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2005.
- PERES, V.; NAGEM, T.J.; DE OLIVEIRA, F.F Tetraoxygenated Naturally Occurring Xanthenes. **Phytochemistry**, v.55, p.683-710, 2000.
- PERNET, R. Phytochemistry of Burseraceae. **Lloydia**, v.35, n.3, p. 280-281, 1972.

- PESSINI, G. L. et al. Avaliação da atividade antibacteriana e antifúngica de extratos de plantas utilizados na medicina popular. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.13, supl.1, p.21-24, 2003.
- PFALLER, M. A.; RINALDI, M. G. Antifungal Susceptibility Testing. Current State of Technology, Limitations, and Standardization. **Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases**, v.7, n.2, p.435-444, 1993.
- PICCINELLI, A.L.; CUESTA-RUBIO, O.; CHICA, M.B.; MAHMOOD, N.; PAGANO, B.; PAVONE, M.; BARONE, V.; RASTRELLI, L. Structural revision of clusianone and 7-*epi*-clusianone and anti-HIV activity of polyisoprenylated benzophenones. **Tetrahedron**, v.61, p.8206-8211, 2005.
- PINHEIRO, L.; NAKAMURA, C.V.; DIAS B.P.; FERREIRA, A. G.; YOUNG, M.C.M.; CORTEZ, D.A.G. Antibacterial Xanthenes from *Kielmeyera variabilis* Mart. (Clusiaceae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.98, n.4, p.549-552, 2003.
- PLOY, M.C.; GRELAND, C.; MARTIN, C. First clinical isolate of vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* in a French hospital. **Lancet**, v.351, p.1212-&, 1998.
- PORTO, A.L.M.; MACHADO, S.M.F.; OLIVEIRA, C.M.A.; BITTRICH, V.; AMARAL, M.C.E.; MARSAIOLI, A.J. Polyisoprenylated benzophenones from *Clusia* floral resins. **Phytochemistry**, v.55, p.755-768, 2000.
- POSEY, D. A. In: RIBEIRO, B. G. **Suma Etnológica Brasileira-1. Etnobiologia**. Petrópolis: Editora Vozes, 1986, p.302.
- PRASAD, G.; KUMAR, A.; SINGH, A.K.; BHATTACHARYA, A.K.; SINGH, K.; SHARMA, V.D. Antimicrobial Activity of Essential oils of some *Ocimum* species and clove oil. **Fitoterapia**, v.57, n.6, 1986.
- PREETI DHAR; ANDARGE, E.; MORISSEAU, S. Study of the Structural Changes on the Antimicrobial Activity of [3.1.1]-Bicyclics. **Journal of Essential Oil Research**, v.16, p. 612-616, 2004.
- PROKSCH, P.; RODRIGUEZ, E. Chromenes and Benzofurans of the Asteraceae, their chemistry and biological significance. **Phytochemistry**, v.22, n.11, p.2335-2348, 1983.
- QUEIRES, L.C.S.; FAUVEL-LAFEVE, F.; TERRY, S.; DE LA TAILLE, A.; KOUYOUMDJIAN, J.C.; CHOPIN, D.K.; VACHEROT, F.; RODRIGUES, L.E.A.; CREPIN, M. Polyphenols purified from the Brazilian aroeira plant (*Schinus terebinthifolius* Raddi) induce apoptotic and autophagic cell death of DU145 cells. **Anticancer Research**, v.26, n. 1A, p.379-387, 2006.
- QUINDÓS, G. New microbiological techniques for the diagnosis of invasive mycoses caused by filamentous fungi. **Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v. 12, Supplement 7, p.40-52, 2006.

QUINTILIANI, R.; NIGHTINGALE, C.H.; FREEMAN, C.D. Pharmacokinetic and pharmacodynamic considerations in antibiotic selection, with particular attention to oral cephalosporin. **Infectious Disease and Clinical Practice**, v.3, p.1-7, 1994.

QUIROGA, E.N.; SAMPIETRO, A.R.; VATTUONE, M.A. Screening antifungal activities of selected medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v.74, p.89-96, 2001.

RAFFAUD, R.F.; PASTORE, M.P.; KELLY, C.J.; LE QUESNE, P.W.. Lychnopholic acid, a novel trioxxygenated caryophyllene derivative from *Lychnophora affinis* Gargn. **Journal of American Chemical Society**, v.100, n.23, p.7438-7439, 1978.

RAMOS, M.F.S.; SIANI, A.C.TAPPIN, M.R.R.; GUIMARÃES, A.C.; RIBEIRO, J.E.L.S. Essential oils from oleoresins of *Protium* spp. of the Amazon region. **Flavour and Fragrance Journal**, v.15, n.6, p.383-387, 2000.

RAOUL, W. Brazilian rose-wood essential oil. **Revista de Química Industrial (Rio de Janeiro)**, v.23, p.204-208, 1954.

RECIO, M.C.; RIOS, J.L. A Review of Some Antimicrobial Compounds Isolated from Medicinal Plants Reported in the Literature 1978-1988. **Phytotherapy Research**, v.3, n.4, p.117-125, 1989.

REIS, A.A.MENDES, C.C.; FERRAZ, T.P.L.; ROQUE, N.F. Terpenes from *Mikania hookeriana*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.31, p.1061-1062, 2003.

REIS, A.A.; FERRAZ, T.L.; MARTINS, D.; CRUZ, F.G.; GUEDES, M.L.S.; ROQUE, N.F. Preliminary Studies on the Volatile Constitution of *Mikania* species. **Journal of Brazilian Chemical Society**, submetido em 2006.

REMMAL, A.; TANTAOUI-ELERAKI, A. Improved method for the determination of antimicrobial activity of essential oils in agar medium. **Journal of Essential Oil Research**, v.5, p.179-184, 1993.

RHAYOUR, K.; BOUCHIKHI, T.; TANTAOUI-ELARAKI, A.; SENDIDE, K.; REMMAL, A. The Mechanism of Bactericidal Action of Oregano and Clove Essential Oils and of their Phenolic Major Components on *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*. **Journal of Essential Oil Research**, v.15, p.286-292, 2003.

RIOS, J.L.; RECIO, M.C.; VILLAR, A. Antimicrobial Activity of Selected Plants Employed in the Spanish Mediterranean Area. **Journal of Ethnopharmacology**, v.21, p.139-152, 1987.

_____. Screening methods for natural products with antimicrobial activity: a review of the literatura. **Journal of Ethnopharmacology**, v.23, p.127-149, 1988.

RIVERO-CRUZ, J.F.; CHÁVEZ, D.; HERNÁNDEZ, B.; ANAYA, A. L.; MATA, R. Separation and characterization of *Metopium brownei* urushiol components. **Phytochemistry**, v.45, p.1003-1008, 1997.

ROBINSON, H. Generic and sub-tribal classification of American Vernoniaeae. **Smithsonian Contributions to Botany**, v.89, p.1-116, 1999.

- RODRIGUES, E.A.C.; MENDONÇA, J.S.; AMARANTE, J.M.B.; ALVES FILHO, M.B.; GRINBAUM, R.S.; RICHTMANN, R. **Infecções Hospitalares: Prevenção e Controle**. São Paulo: Sarvier, 1997. 647 p.
- ROMERO-VIVAS, J.; RUBIO, M.; FERNANDEZ, C. Mortality associated with nosocomial bacteremia due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Clinical Infectious Diseases**, v.21, n.12, p.1417-1423, 1995.
- ROSSI, F.; ANDREAZZI, D.B. **RESISTÊNCIA BACTERIANA. Interpretando o antibiograma**. 1.ed. São Paulo: Atheneu, 2005. 118p.
- RUBIN, R.J.; HARRINGTON, C.A.; POON, A.; DIETRICH, K.; GREENE, J.A.; MOIDUDDIN, A. The economic impact of *Staphylococcus aureus* infection in New York City hospitals. **Emergent Infectious Diseases**, v.5, p.9-17, 1999.
- ROSS, S.A.; EL-KELTAWI, N.E.; MEGALLA, S.E. Antimicrobial Activity of Some Egyptian Aromatic Plants. **Fitoterapia**, v.51, n.2, p. 201-206, 1980.
- RUSSEL, A. D.; MORRIS, A.; ALLWOOD, M.C. Methods for accessing damage to bacteria induced by chemical and physical agents. **Methods in Microbiology**, v.8, p.95-102, 1973.
- SÁ, L.D.; PAULO, M.Q.; LIMA, E.O.; FILHO, L.X. Activité Antimicrobienne D'Huilles Essentielles sur les Bacteries qui causent la Conjuntivite. **Separata do Boletim da Sociedade Broteriana**, v.67, Sér. 2, p.99-103, 1995.
- SACCHETTI, G.; MAIETTI, S.; MUZZOLI, M.; SCAGLIANTI, M.; MANFREDINI, S.; RADICE, M.; BRUNI, R. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. **Food Chemistry**, v.91, p.621-632, 2005.
- SAKAMOTO, H.T.; FLAUSINO, D.; CASTELLANO, E.E.; STARK, C.B.W.; GATES, P.J.; LOPES, N.P. Sesquiterpene Lactones from *Lychnophora ericoides*. **Journal of Natural Products**, n.66, p.693-695, 2003.
- SARTORI, F.T.; SACIOTO, A.C.B.C.; LOPES, J.L.C.; LOPES, N.P.; VICHNEWSKI, W. Phytochemical study of *Lychnophora markgravii* (Asteraceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v.30, p.609-612, 2002.
- SCALBERT, A. Antimicrobial properties of tannins. **Phytochemistry**, v.30, n.12, p.3875-3883, 1991.
- SCHMOURLO, G.; MENDONÇA-FILHO, R. R.; ALVIANO, C. S.; COSTA, S. Screening of antifungal agents using ethanol precipitation and bioautography of medicinal and food plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v.96, p.5633-568, 2005.
- SCHULTES, R. E. Burning the library of Amazonia. **The Sciences**, March/April, p.24-31, 1994.

SCIO, E.; RIBEIRO, A.; ALVES, T.M.; ROMANHA, A. J.; SHIN, Y.G.; CORDELL, G. A.; ZANI, C.L. New Bioactive Coumarins from *Kielmeyera albopunctata*. **Journal of Natural Products**, v.66, p.634-637, 2003.

SEIGLER, D.S. **Plant Secondary Metabolism**. London: Ed. Kluwer Academic Publisher, 1998. 151p.

SEO, E-K; HUANG, L.; MONROE, E.W.; WANI, M.C.; NAVARRO, H; MUKHERJ, R.; FARNSWORTH, N.R.; KINGHORN, A.D. New biphenyl Compounds with DNA Strand-Scission Activity from *Clusia paralycola*. **Journal of Natural Products**, v.62, n,11, p.1484-1487, 1999.

SHELMLUCK, M. Medicinal and others uses of the Compositae by Indians in the United States of Canada. **Journal of Ethnopharmacology**, v.5, p.303-358, 1982.

SHU, Y. Z. Recent natural products based drug development: A pharmaceutical industry perspective. **Journal of Natural Products**, v.61, p.1053-1071, 1998.

SIANI, A.C.; ZOGHBI, M.G.B; WALTER, E.L.A.; VENCATO, I. 5-Methoxyjusticidin A, a new arylnaphtalene lignan from *Protium unifoliatum*. **Journal of Natural Products**, v.61, p. 796-797, 1995.

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

SIANI, A.C.; RAMOS, M.F.S.; SAMPAIO, A.L.F.; De SOUZA M.C.; HENRIQUES, M.G.M.O; RAMOS, M.F.S. Óleos essenciais: Potencial anti-inflamatório. **Biociência & Desenvolvimento**, v.16, p.38-43, 2000.

SIDDIQUI, R.A.; KHAN, M.S.Y.; CHAGHTAI, S.A.; HASAN, Z.U. Preliminary qualitative organic analysis of *Zornia gibbosa* Span. **Oriental Journal of Chemistry**, v.1, n.1, p.44-45, 1985.

SIDDIQUI, R.A.; KHAN, S.S.; CHAGHTAI, S.A.; HASAN, Z.U; IQBAL, S.A. Study of the natural products from the stem of *Zornia gibbosa* Span. **Oriental Journal of Chemistry**, v.2, n.2, p.160-162, 1986.

SIKKEMA, J.; DE BONT, J.A.M.; POOLMAN, B. Interactions of Cyclic Hydrocarbons with Biological Membranes. **The Journal of Biological Chemistry**, v.269, n.11, p.8022-8028, 1994.

_____. Mechanisms of Membrane Toxicity of Hydrocarbons. **Microbiological Reviews**, v.59, n.2, p.201-222, 1995.

SILVA, O.; DUARTE, A.; CABRITA, M.; PIMENTEL, A. D.; GOMES, E. Antimicrobial activity of Guinea-Bissau traditional remedies. **Journal of Ethnopharmacology**, v.50, p.55-59, 1996.

- SILVA, J.M.O.; DA CAMARA, C.A.G. Constituintes voláteis de *Protium baianus* (Burseraceae). In: 27^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química- SBQ, 2004. Anais da 27^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2004
- SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; DE MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 4 ed. Porto Alegre: Editora da Universidade/UFRGS, 2002. 893p.
- SINGH, A.K.; GUPTA, K.C.; BROPHY, JOSEPH, J. Essential oil of leaves and inflorescence of *Schinus terebinthifolius*: an exotic plant of India. **Journal of Essential Oil Research**, v. 10, n. 6, p. 697-9, 1998.
- SIQUEIRA, J.B.G.; ZOGHBI, M.G.B; CABRAL, J.A.; FILHO, W.W. Lignans from *Protium tenuifolium*. **Journal of Natural Products**, v.58, n5, p.730-732, 1995.
- SKOPP, G.; OPFERKUCH, H.J.; SCHWENKER, G. n- Alkylphenols from *Schinus terebinthifolius* RADDI (Anacardiaceae). **Journal of Biosciences**, v.42, n.1-2, p.7-16, 1987.
- SLOWING, K.; SÖLLHUBER, M.; CARRETERO, E.; VILLAR, A. Flavonol glycosides from *Eugenia jambos*. **Phytochemistry**, v.37, p.255-258, 1994.
- SOARES QUEIRES, L.C.; RODRIGUES, L.E.A. Quantification of total phenolic substances in organs of aroeira *Schinus terebinthifolius* (Raddi). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 41, n. 2, p. 247-253, 1998.
- SOEJARTO, D.D.; FONG, H.H.S.; TAN, G.T.; ZHANG, H.J.; MA, C.Y.; FRANZBLAU, S.G. Ethnobotany/ethnopharmacology and mass bioprospecting: Issues on intellectual property and benefit-sharing. **Journal of Ethnopharmacology**, v.100, p.15-22, 2005.
- SOULÉ, M. E. Conservation: tactics for a Constant crisis. **Science**, v.253, p.744-750, 1991.
- SOUZA, E.C., YOUNG, M.C.M.; BAUTISTA, H.P.; MARTINS, D. Acetofenonas e Sesquiterpenos isolados de *Acritopappus pintoii*. In: 23^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química- SBQ, 2000. Anais da 23^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2000.
- STANKOVIC, K.; SÈVE, P.; HOT, A.; MAGY, N.; DURIEU, I.; BROUSOLLE, C. Aspergillose au cours de maladies systémiques traitées par corticoids et/ou immunosuppresseurs: analyse de neuf cas et revue de la littérature. **La Revue de médecine interne**, v.27, p.813-827, 2006.
- STANNARD, B.L.; HARVEY, Y.B.; HARLEY, R.M. **Flora of the Pico das Almas. Chapada Diamantina – Bahia, Brasil**. Great Britain: Whitsable Litho Ltd., 1995.
- STAHL, E.; KELLER, K.; BLINN, C. Cardanol, a skin irritant in Pink Peper. **Planta Medica**, v. 48, p.5-9, 1983.
- STROBL, W. R. The role of natural products in a modern drug discovery program. **Drug Discovery Today**, v.5, p.29-41, 2000.

SUSUNAGA, G.S.; SIANI, A.C.; PIZZOLATTI, R.A.; YUNES, F.; DELLE MONACHE, F. Triterpenes from the resin of *Protium heptaphyllum*. **Fitoterapia**, v.72, p.709-711, 2001.
SWARTZ, M.N. Impact of antimicrobial agents and chemotherapy from 1972 to 1998. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.44, p.2009-2016, 2000.

SYED, M.H.; AL-FRAYH, A.S.; AL-SUWAINE, GAD-EL-RAB, M.O.; FATIMA, K.; AL-SEDAIRY, S. *Cladosporium* and respiratory allergy: Diagnostic implications in Saudi Arabia. **Mycopathologia**, v. 157, p.171-179, 2004.

TEIXEIRA, J. S. R.; CRUZ, F. G. Polyisoprenylated benzophenone derivatives from *Clusia obdeltifolia*. **Tetrahedron Letters**, v.46, p.2813-2816, 2005.

TEIXEIRA, J. S. R.; MOREIRA, L.M.; GUEDES, M.L.S.; CRUZ, F. G. A New Biphenyl from *Clusia melchiorii* and a New Tocotrienol from *C. obdeltifolia*. **Journal of Brazilian Chemical Society**, 2006, in press.

TENOVER, F.C.; LANCASTER, M.V.; HILL, B.C. Characterization of staphylococci with reduced susceptibilities to vancomycin and other glycopeptides. **Journal of Clinical Microbiology**, v.36, p.1020-1027, 1998.

TENOVER, F.C.; MOHAMED, M.J.; GORTON, T.S.; DEMBEK, Z.F. Detection and reporting of organisms producing extended-spectrum Beta-lactamases: survey of laboratories in Connecticut. **Journal of Clinical Microbiology**, v.37, p.4065-4070, 1999.

TERRAZAS, T.; CHASE, M.W. A phylogenetic analysis of Anacardiaceae based on morphology, anatomy and *rbcL* sequence data. **American Journal of Botany**, v.83, p.197-198, 1996.

TORTORA, G. R.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiology: An Introduction**. 6 ed. Menlo Park, California: Addison Wesley Longman. 1998. 832p.

TSUCHIYA, H.; SATO, M.; MIYAZAKI, T.; FUJIWARA, S.; TANIGAKI, S.; OHYAMA, M.; TANAKA, T.; IINUMA, M. Comparative study on the antibacterial activity of phytochemical flavanones against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Journal of Ethnopharmacology**, v.50, p.27-34, 1996.

UNITED STATES PHARMACOPOEIA. 24.ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2000. 2.569p.

URIBE, S.; RAMIREZ, J.; PENA, A. Effects of β -pinene on yeast membrane functions. **Journal of Bacteriology**, v.161, p.1195-1200, 1985.

VAN DALEN, A.; DE KRUIJFF, B. The role of lipids in membrane insertion and translocation of bacterial proteins. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1694, p.97-109, 2004.

VENEZIANI, R.C.S.; DE OLIVEIRA, D.C.R. Constituents of *Mikania glomerata* Sprengel. **Biochemical Systematics and Ecology**, n.27, p.99-102, 1999.

VERNIN, G.; PARKANYI, C. GC/MS analysis of the volatile constituents of *Schinus terebinthifolius* from Reunion island. **225th American Chemical Society**, Abstracts of Papers, ACS National Meeting, New Orleans, LA, United States, March 23-27, 2003.

VERPOORTE, R. Exploration of nature's chemodiversity: the role of secondary metabolites as leads in drug development. **Drug Discovery Today**, v.3, p.232-238, 1998.

VILJOEN, A. *Osmitopsis astericoides* (Asteraceae) – the antimicrobial activity and essential oil composition of a Cape-Dutch remedy. **Journal of Ethnopharmacology**, v.88, p.137-143, 2003.

VIOLLON, C.; CHAUMONT, J. P. Antifungal properties of essential oils and their main components upon *Cryptococcus neoformans*. **Mycopathologia**, v.128, p.151-153, 1994.

VORAVUTHIKUNCHAI, S. Effective medicinal plants against enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O 157:H7. **Journal of Ethnopharmacology**, v.94, p.49-54, 2004.

WANNISORN, B.; JARIKASEM, S.; SOONTORNTANASART, T. Antifungal Activity of Lemon Grass Oil and Lemon Grass Oil Cream. **Phytotherapy Research**, v.10, p.551-554, 1996.

YATSUDA, R.; ROSALEN, P.L.; CURY, J.A.; MURATA, R.M.; REHDER, V.L.G.; MELO, L.V.; KOO, H. Effects of *Mikania* genus plants on growth and cell adherence of mutans streptococci. **Journal of Ethnopharmacology**, v.97, p.183-189, 2005.

YOSHIKAWA, M.; SHIMADA, H.; NISHIDA, N.; LI, Y.; TOGUCHIDA, L.; YAMAHARA, J; MATSUDA, H. Antidiabetic principles of natural medicines. II. Aldose reductase and alpha-glucosidase inhibitors from Brazilian natural medicine, the of *Myrcia multiflora* DC. (Myrtaceae): Structures of myrciacitrins I and II myrciaphenones A and B. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v.46, n.1, p.113-119, 1998.

YOUSEF, R.; TAWIL, G. Antimicrobial activity of volatile oils. **Pharmazie**, v.35, p. 698-701, 1980.

ZACCHINO, S.A.; LÓPEZ, S.N.; PEZZENATI, G.D.; FURLÁN, R.L.; SANTECCHIA, C.B.; MUÑOZ, L.; GIANNINI, F.A.; RODRIGUEZ, A.M.; ENRIZ, R.D. *In Vitro* Evaluation of Antifungal Properties of Phenylpropanoids and Related Compounds Acting Against Dermatophytes. **Journal of Natural Products**, v.62, n.10, p.1353-1357, 1999.

ZHANG, Z.; ELSOHLY, H.N.; JACOB, M.R.; PASCO, D.S.; WALKER, L.A.; CLARK, A.M. Natural products inhibiting *Candida albicans* secreted aspartic proteases from *Tovomita krukovii*. **Planta Medica**, v.68, p.49-54, 2002.

ZIDORN, C.; STUPPNER, H. Evaluation of chemosystematic characters in the genus *Leotodon* (Asteraceae). **Taxon**, v. 50, p. 115-133, 2001.

ZOGHBI, M.G.B.; ROQUE, N.F.; GOTTLIEB, O.R. Propacin, a coumarinolignoid from *Protium opacum*. **Phytochemistry**, v.20, n.1, p.180, 1981

ZOGHBI, M.G.B; MAIA, J.G.S.; LUZ, A.I.R. Volatile constituents from leaves and stems of *Protium heptaphyllum* (Aubl.) March. **Journal of Essential Oil Research**, v.7, n.5, p.541-543, 1995.

ZOGHBI, M.D.; ANDRADE, E.H.A.; da SILVA, M.H.L.; CARREIRA, L. M.M.; MAIA, J.G.S. Essential oils from three *Myrcia* species. **Flavour and Fragrance Journal**, n.18, v.5, p.421-424, 2003.

ANEXO A – Regiões de coleta do material botânico



Figura 39 - Mapa geográfico do Estado da Bahia com localização regional dos pontos de coleta das espécies botânicas investigadas.

- ① Ilha de Itaparica
- ② Parque Metropolitano do Abaeté
- ③ Chapada Diamantina
- ④ Morro do Pai Inácio (Palmeiras)

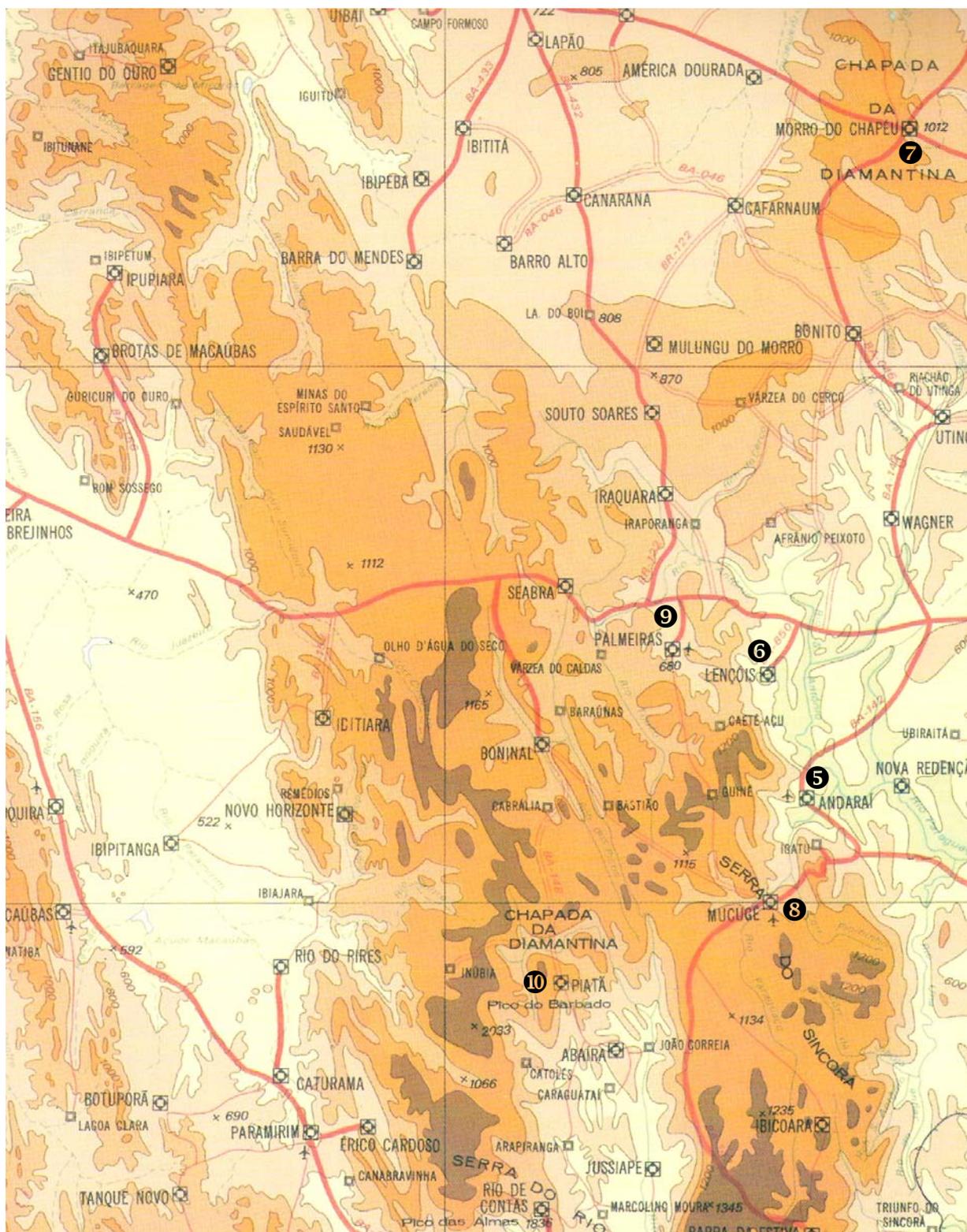


Figura 40 – Mapa topográfico da Chapada Diamantina.

- | | | | |
|---|-----------------|---|-----------|
| ⑤ | Andaraí | ⑧ | Mucugê |
| ⑥ | Lençóis | ⑨ | Palmeiras |
| ⑦ | Morro do Chapéu | ⑩ | Piatã |

ANEXO B – Fotografias de algumas espécies botânicas investigadas.



Figura 41 - Aroeira da Praia
Schinus terebinthifolius
Anacardiaceae

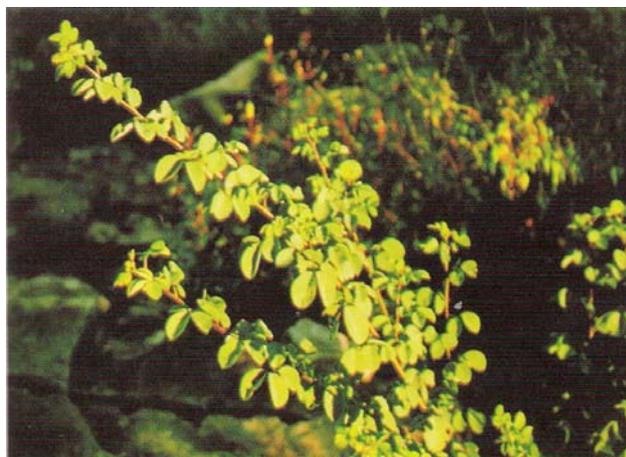


Figura 42 - Arruda da Serra
Poirertia bahiana
Leguminosae



Figura 43 - Cura Facada
Acritopappus spp.
Asteraceae



Figura 44 - *Morithamnus ganophyllus*
Asteraceae

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](#)