

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA
MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

Cristiane Coimbra de Paula

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA *IN VITRO* E *IN VIVO* DE *Conyza bonariensis* (L.) Cronquist (Margaridinha do Campo) e *Macrosiphonia velame* (A. St.-Hil.) Müll. Arg. (Velame Branco)

CUIABÁ - MT

2010

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA
MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA *IN VITRO* E *IN VIVO* DE *Conyza bonariensis* (L.) Cronquist (Margaridinha do Campo) e *Macrosiphonia velame* (A. St.-Hil.) Müll. Arg. (Velame Branco)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Federal de Mato Grosso, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências da Saúde, Área de Concentração Farmacologia, Sub-Área Farmacologia de Produtos Naturais.

Cristiane Coimbra de Paula

Orientadora: Profa. Dra. Regilane Matos da Silva Prado

Co-Orientador: Prof. Dr. Wander Miguel de Barros

CUIABÁ - MT

2010

Esta Dissertação é parte integrante dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Mestre em Ciências da Saúde, outorgado pela Universidade Federal de Mato Grosso e encontra-se a disposição dos interessados na Biblioteca Central da referida Universidade.

A citação de qualquer trecho dessa Dissertação é permitida, desde que seja feita de conformidade com as normas da ética.

Cristiane Coimbra de Paula

Dissertação aprovada em: __ / __ / 2010

Prof. Dra. Regilane Matos da Silva Prado
(Orientadora)

Prof. Dr. Wander Miguel de Barros
(Co-Orientador)

Prof. Dra. Carla Maria Abido Valentini
(Membro)

Prof. Dra. Nair Honda Kawashita
(Membro)

*“O tempo é algo que não volta atrás.
Portanto, plante seu jardim e decore a sua alma,
ao invés de esperar que alguém lhe mande flores”.*

(WILLIAM SHAKESPEARE)

“O futuro tem muitos nomes: para os fracos, ele é inatingível; para os temerosos, ele é desconhecido; para os corajosos, ele é a chance”.

(VICTOR HUGO)

À minha família, em especial ao meu pai Aparecido de Paula (in memoriam), que para mim sempre foi meu exemplo de vida, confesso que sem o apoio dele eu não estaria aqui, e tenho certeza que mesmo longe ele nunca esteve tão perto.

À minha mãe, Neide Coimbra de Paula e às minhas irmãs Cristina Coimbra de Paula, em particular à Eliane Coimbra de Paula e minha sobrinha Caroline de Paula Almeida, por em pleno gozo de suas férias, estarem me ajudando na realização dos experimentos, e pelo constante apoio e incentivos incondicionais.

Aos meus cachorros Rayca, Snoopy e Bobby pela alegria de me receberem em casa em todos os momentos, mas principalmente nos momentos mais difíceis, pelas vezes que acolheram minhas lágrimas e pelo amor inigualável.

AGRADECIMENTOS

Com alegria e gratidão deixo aqui consignados sinceros agradecimentos os quantos comigo estiveram e me apoiaram ao longo desta jornada, de modo muito especial:

Agradeço a Deus, de eterna bondade, por ter me concedido essa oportunidade, permitindo que eu tivesse saúde e força para iniciar e concluir esse Mestrado.

À Professora Doutora Regilane Matos da Silva Prado, Orientadora, por acreditar que eu seria capaz de desenvolver essa pesquisa e estimular meus pensamentos, favorecendo meu aprendizado e desenvolvimento científico;

Ao Professor Doutor Wander Miguel de Barros, Co-orientador, por sempre acreditar e me apoiar, serei sempre grata pelo seu empenho;

Aos Professores Doutores Domingos Tabajara de Oliveira Martins e Amílcar Sabino Damazo pela atenção e disponibilização do laboratório;

Ao Mestre Iberê Ferreira da Silva Junior, pela atenção, disposição e paciência em me acompanhar na realização da parte prática;

Ao Mestre Rogério Alexandre Nunes dos Santos, pela realização da fitoquímica preliminar;

À Coordenação de Programas de Pós-Graduação em Medicina da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Federal de Mato Grosso, pela oportunidade e apoio financeiro recebidos durante a realização do Mestrado em Ciências da Saúde;

Aos Professores do Mestrado, por nunca terem esquecido da eterna arte de ensinar;

À Quessi Irias Borges, minha aluna, companheira e amiga, pela paciência em me ouvir cada vez que surgia um problema, e só ela sabe quantos foram, pois me proporcionou grande tempo de atuação ao meu lado. Gostaria de dizer o quanto sou grata pelas horas a fio que se dedicou a me ajudar e ouvir;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudos, essencial para minha manutenção no decorrer desse período;

À professora Especialista Thatyane Cristine Simão pela amizade e fornecimento de matéria prima para realização dos experimentos;

Ao professor Mestre Carlos Adriano Parizotto, pela disposição em me atender sempre que precisei para tirar minhas dúvidas de cromatografia;

Às amigas do mestrado, de modo particular Elisângela Saturnino de Souza, Suelen Iara Guirra Rosa e Isanete Geraldini Costa Bieski e Ana Flávia Marçal;

Ao aluno de iniciação científica (PIBIC) do curso de medicina Marcelo Garcia Picone pela ajuda na realização dos experimentos e busca dos artigos científicos;

Aos funcionários do Herbarium da UFMT, Rosilene Rodrigues Silva pela identificação taxonômica das plantas, e aos ajudantes de coleta em campo Libério Amorim Neto e José Edvaldo da Silva;

Ao UNIVAG, em especial aos meus alunos da Farmácia, turmas 07/2, 08/1 e 08/2, ao Douglas de Faria Rios funcionário da biblioteca do Univag, às técnicas do laboratório de microbiologia Ariana Arruda Camurça, Lindinalva Francisco Santos da Silva (Dalva), Antonia Maria Barbosa Perozo;

À UNIC, em particular aos técnicos dos laboratórios, Adrienne Cristina Maia de Arruda, Juscinei Maia de Arruda (Nica) e Adonel Pacheco de Almeida;

À técnica do IFMT, Aline de Arruda Benevides, pelo recebimento no setor e ajuda quando necessário;

E a todos que direta e indiretamente estiveram envolvidos neste trabalho, meu eterno agradecimento.

SUMÁRIO

Lista de Tabelas	ix
Lista de Figuras	xii
Lista de Quadros	xiii
Lista de Abreviaturas	xiv
RESUMO	xvi
ABSTRACT	xvii
INTRODUÇÃO	01
1. Biodiversidade	01
1.1. Plantas Medicinais	03
1.2. <i>Conyza bonariensis</i>	07
1.3. <i>Macrosiphonia velame</i>	08
1.4. Bactérias	10
1.4.1. Bactérias Gram Positivas	11
1.4.2. Bactérias Gram Negativas	13
1.5. Fungos	17
1.6. Antimicrobianos	19
1.7. Resistências Farmacológicas	20
1.8. Classificação dos Antimicrobianos	23
OBJETIVOS	29
2. Geral	29
2.1. Específicos	29
MATERIAIS	30
3.1. Material botânico	30
3.1.1. Coleta das Plantas	30
3.1.2. Identificação Botânica	31
3.2. Animais Experimentais	32
3.3. Microrganismos	32
3.4. Drogas e Reagentes	33
3.5. Equipamentos e Utensílios	35
3.6. Fluxograma do Protocolo Experimental	36

MÉTODOS	38
4.1. Obtenção dos Extratos Brutos	38
4.2. Determinação do Peso Seco	39
4.3. Determinação do Rendimento	39
4.4. Ensaio Microbiológicos <i>in vitro</i>	39
4.4.1. Difusão em Disco	39
4.4.2. Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)	41
4.5. Estudo Fitoquímico	43
4.5.1. Abordagem Fitoquímica Preliminar	41
4.5.2. Estudo Analítico – Cromatografia em Camada Delgada (CCD)	45
4.6. Bioautografia	46
4.7. Avaliação Toxicológica Aguda	48
4.7.1. Bioensaio com <i>Artemia Salina</i> Leach	48
4.8. Teste Hipocrático	48
4.9. Infecção Sistêmica em Camundongos	49
ANÁLISE ESTATÍSTICA	50
RESULTADOS	51
6.1. Determinação dos Pesos Secos e Rendimentos das Plantas	51
6.2. Ensaio de Difusão em Disco	51
6.3. Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)	70
6.4. Estudo Fitoquímico	78
6.4.1. Abordagem Fitoquímica Preliminar	78
6.4.2. Estudo Analítico – Cromatografia de Camada Delgada (CCD)	81
6.5. Bioautografia	83
6.6. Toxicidade Aguda	85
6.6.1. Bioensaio com <i>Artemia Salina</i> Leach	85
6.6.2. Teste Hipocrático	86
6.7. Modelo de Infecção Sistêmica em Camundongos	87
DISCUSSÃO	90
CONCLUSÃO	104
REFERÊNCIAS	106
ANEXOS	114

LISTA DE TABELAS

TABELA		PÁGINA
1	Plantas coletadas e triagem farmacológica	31
2	Relação das cepas bacterianas utilizadas nos ensaios antimicrobianos.....	33
3	Pesos secos e rendimentos dos extratos das folhas e caule de <i>Anacardium humille</i> , e das folhas de <i>Cecropia pachystachya</i> , <i>Gossypium barbadense</i> e <i>Plantago major</i>	51
4	Triagem da atividade antibacteriana do extrato metanólico das folhas da <i>Cariniana rubra</i> (Jequitibá) pelo método de difusão em disco.....	52
5	Triagem da atividade antibacteriana do extrato metanólico da entrecasca do <i>Stryphnodendron obovatum</i> (barbatimão) pelo método de difusão em disco.....	52
6	Triagem da atividade antibacteriana do extrato metanólico das Folhas do <i>Anacardium humile</i> (Cajuzinho do Campo) pelo método de difusão em disco.....	53
7	Triagem da atividade antibacteriana do extrato hidroetanólico da entrecasca da <i>Strychnos pseudoquina</i> (Falsa quina) pelo método de difusão em disco.....	53
8	Triagem da atividade antibacteriana do extrato metanólico da entrecasca da <i>Lafoensia pacari</i> (Mangava brava) pelo método de difusão em disco.....	54
9	Triagem da atividade antibacteriana do extrato metanólico do Caule do <i>Anacardium humile</i> (Cajuzinho do Campo) pelo método de difusão em disco.....	55
10	Triagem da atividade antibacteriana do extrato metanólico da entrecasca da <i>Tabebuia impetiginosa</i> (Ipê roxo) pelo método de difusão em disco.....	55
11	Triagem da atividade antibacteriana do extrato metanólico das folhas do <i>Gossypium barbadense</i> (Algodão) pelo método de difusão em disco.....	56
12	Triagem da atividade antibacteriana do extrato metanólico das folhas do <i>Plantago major</i> (Tanchagem) pelo método de difusão em disco.....	57
13	Triagem da atividade antibacteriana do extrato metanólico das folhas do <i>Cecropia pachystachya</i> (Embaúba) pelo método de difusão em disco.....	57
14	Triagem da atividade antibacteriana do extrato etanólico da vagem + semente do <i>Caesalpinia ferrea</i> (Jucá) pelo método de difusão em disco.....	58
15	Triagem da atividade antibacteriana do extrato aquoso da vagem + semente do <i>Caesalpinia ferrea</i> (Jucá) pelo método de difusão em disco.....	59
16	Triagem da atividade antibacteriana do extrato hidroetanólico do xilopódio da <i>Macrosiphonia velame</i> (Velame) pelo método de difusão em disco.....	59
17	Triagem da atividade antibacteriana do extrato do extrato metanólico das folhas da <i>Conyza bonariensis</i> (Margaridinha do Campo) pelo método de	

	difusão em disco.....	60
18	Triagem da atividade antibacteriana do extrato do extrato metanólico da raízes da <i>Conyza bonariensis</i> (Margaridinha do Campo) pelo método de difusão em disco.....	60
19	Triagem da atividade antifúngica do extrato metanólico da entrecasca do <i>Stryphnodendron obovatum</i> (barbatimão) pelo método de difusão em disco.....	61
20	Triagem da atividade antifúngica do extrato metanólico das folhas do <i>Anacardium humile</i> (Cajuzinho do Campo) pelo método de difusão em disco.....	62
21	Triagem da atividade antifúngica do extrato metanólico do caule do <i>Anacardium humile</i> (Cajuzinho do Campo) pelo método de difusão em disco.....	62
22	Triagem da atividade antifúngica do extrato metanólico da entrecasca da <i>Tabebuia impetiginosa</i> (Ipê roxo) pelo método de difusão em disco.....	63
23	Triagem da atividade antifúngica do extrato metanólico das folhas do <i>Cecropia pacystachya</i> (Embaúba) pelo método de difusão em disco.....	63
24	Triagem da atividade antifúngica do extrato etanólico da vagem + semente da <i>Caesalpinia ferrea</i> (Jucá) pelo método de difusão em disco.....	64
25	Triagem da atividade antifúngica do extrato metanólico da raízes da <i>Conyza bonariensis</i> (Margaridinha do Campo) pelo método de difusão em disco.....	64
26	Triagem da atividade antifúngica do extrato metanólico das folhas da <i>Cariniana rubra</i> (Jequitibá) pelo método de difusão em disco.....	65
27	Triagem da atividade antifúngica do extrato metanólico da entrecasca da <i>Lafoensia pacari</i> (Mangava brava) pelo método de difusão em disco.....	66
28	Triagem da atividade antifúngica do extrato metanólico das folhas do <i>Gossypium barbadense</i> (Algodão) pelo método de difusão em disco.....	66
29	Triagem da atividade antifúngica do extrato metanólico das folhas do <i>Plantago major</i> (Tanchagem) pelo método de difusão em disco.....	67
30	Triagem da atividade antifúngica do extrato aquoso da vagem + semente da <i>Caesalpinia ferrea</i> (Jucá) pelo método de difusão em disco.....	68
31	Triagem da atividade antifúngica do extrato hidroetanólico do xilopódio da <i>Macrosiphonia velame</i> (Velame) pelo método de difusão em disco.....	68
32	Triagem da atividade antifúngica do extrato metanólico das folhas da <i>Conyza bonariensis</i> (Margaridinha do Campo) pelo método de difusão em disco.....	69
33	Triagem da atividade antifúngica do extrato hidroetanólico da entrecasca da <i>Strychnos pseudoquina</i> (Falsa quina) pelo método de difusão em disco..	69
34	Atividade antibacteriana dos extratos metanólicos das plantas no ensaio de microdiluição em caldo.....	72
35	Atividade antibacteriana dos extratos hidroetanólicos das plantas no ensaio de microdiluição em caldo.....	73
36	Atividade antibacteriana dos extratos da vagem + semente da planta <i>Caesalpinia ferrea</i> no ensaio de microdiluição em caldo.....	74

37	Atividade antifúngica dos extratos metanólicos das plantas no ensaio de microdiluição em caldo.....	76
38	Atividade antifúngica dos extratos hidroetanólicos das plantas no ensaio de microdiluição em caldo.....	77
39	Atividade antifúngica dos extratos da vagem + semente da planta <i>Caesalpinia ferre</i> no ensaio de microdiluição em caldo.....	77
40	Valores dos fatores de retenção do extrato metanólico da planta <i>Conyza bonariensis</i> folhas e raízes e do extrato hidroetanólico da planta <i>Macrosiphonia velame</i>	82
41	Determinação da CL ₅₀ do EHM _v e EMC _b folhas e raízes frente ao modelo de bioensaio por <i>Artemia salina</i>	85
42	Efeito da administração oral do EHM _v e do EMC _b usada na triagem antiedematogênica sobre as atividades comportamentais gerais em camundongos.....	86
43	Atividade antibacteriana <i>in vivo</i> do extrato metanólico das folhas e raízes de <i>Conyza bonariensis</i> e do extrato hidroetanólico do xilopódio da <i>Macrosiphonia velame</i> no modelo de infecção sistêmica em camundongos induzida pela <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Escherichia coli</i>	89

LISTA DE FIGURAS

FIGURA		PÁGINA
1	Biomias brasileiros, com destaque para o Cerrado	02
2	Aspectos gerais da <i>Conyza bonariensis</i>	08
3	Aspectos gerais da <i>Macrosiphynia velame</i>	10
4	Diferenças da parede celular das bactérias Gram positivas e Gram negativas	11
5	Fluxograma do protocolo experimental	37
6	Triagem da atividade antimicrobiana dos extratos metanólicos, hidroetanólicos, etanólico e aquoso das plantas em estudo e do cloranfenicol e anfotericina B (droga padrão) pelo ensaio de difusão em disco	41
7	Preenchimento da microplaca para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos extratos e do cloranfenicol e anfotericina B (droga padrão)	43
8	Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos extratos metanólicos, hidroetanólicos, etanólico e aquoso das plantas e das drogas padrões Cloranfenicol e Anfotericina, pelo método de diluição em microplaca.....	70
9	Perfil cromatográfico do extrato metanólico da planta <i>Conyza bonariensis</i> folhas e raízes e do extrato hidroetanólico de <i>Macrosiphonia velame</i> . Rf: fator de retenção.....	82
10	Atividade antibacteriana e antifúngica do EMCb folhas da <i>Conyza bonariensis</i> e a droga padrão cloranfenicol (C) pelo método de bioautografia.....	83
11	Atividade antibacteriana e antifúngica do EMCb raízes e a droga padrão cloranfenicol (C) pelo método de bioautografia	84
12	Atividade antibacteriana e antifúngica do EHMv xilopódio.....	84

LISTA DE QUADROS

QUADRO		PÁGINA
1	Classificação dos antimicrobianos segundo o efeito sobre as bactérias e fungos	23
2	Relação das drogas, reagentes e corantes utilizados nos ensaios microbiológicos e abordagem fitoquímica	34
3	Utensílios e equipamentos utilizados nos ensaios microbiológicos e abordagem fitoquímica	35
4	Análise fitoquímica preliminar dos extratos metanólicos das plantas <i>Anacardium humile</i> (caule), <i>Anacardium humile</i> (folhas), <i>Cariniana rubra</i> e <i>Cecropia pachystachyaa</i>	78
5	Análise fitoquímica preliminar dos extratos metanólicos das plantas <i>Conyza bonariensis</i> (folhas e raízes), <i>Gossypium barbadense</i> e <i>Lafoensia pacari</i>	79
6	Análise fitoquímica preliminar dos extratos metanólicos das plantas <i>Plantago major</i> , <i>Stryphnodendron obovatum</i> e <i>Tabebuia heptaphylla</i>	80
7	Análise fitoquímica preliminar dos extratos hidroetanólicos das plantas <i>Macrosiphonia velame</i> e <i>Strychnos pseudoquina</i> , e dos extratos aquoso e etanólico da planta <i>Caesalpinia ferrea</i>	81

LISTA DE ABREVIATURAS

ATCC	American Type Culture Collection
BGN	Bacilos Gram negativos
<i>C. albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>C. glabrata</i>	<i>Candida glabrata</i>
<i>C. kruzei</i>	<i>Candida kruzei</i>
<i>C. parapsilosis</i>	<i>Candida parapsilosis</i>
CC	Controle de crescimento
CCD	Cromatografia camada delgada
CE	Controle de esterilidade
CGP	Cocos Gram positivos
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CL ₅₀	Concentração Letal Mediana
DE ₅₀	Dose mediana efetiva
EMAh	Extrato metanólico <i>Anacardium humille</i>
EACf	Extrato aquoso <i>Caesalpinia ferrea</i>
ETCf	Extrato etanólico <i>Caesalpinia ferrea</i>
EHMv	Extrato hidroetanólico <i>Macrosiphonia velame</i>
EHSp	Extrato hidroetanólico <i>Strychnos pseudoquina</i>
EMAh	Extrato metanólico <i>Anacardium humile</i>
EMCr	Extrato metanólico <i>Carinina rubra</i>
EMCp	Extrato metanólico <i>Cecropia pachystachya</i>
EMCb	Extrato metanólico <i>Conyza bonariensis</i>
EMGb	Extrato metanólico <i>Gossypium barbadense</i>
EMLp	Extrato metanólico <i>Lafoensia pacari</i>
EMPm	Extrato metanólico <i>Plantago major</i>
EMSo	Extrato metanólico <i>Stryphnodendron obovatum</i>
EMTi	Extrato metanólico <i>Tabebuia impetiginosa</i>

<i>E. aerogenes</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>
<i>E. faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
ITU's	Infecção do Trato Urinário Superior
FCM	Faculdades de Ciências Médicas
<i>K. pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
LPS	Lipopolissacarídeo
MTT	Cloridrato de metiltiazoliltetrazólico
<i>P. mirabilis</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>P. aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>S. flexneri</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>S. pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>S. pyogenes</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
UFC	Unidade formadora de colônia

RESUMO

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA *IN VITRO* E *IN VIVO* DE *Conyza bonariensis* (L.) Cronquist (Margaridinha do Campo) e *Macrosiphonia velame* (A. St.-Hil.) Müll. Arg. (Velame Branco) Paula, C.C. Dissertação submetida à coordenação do curso de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Departamento de Ciências Básicas em Saúde da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Federal de Mato Grosso, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde. Orientadora: Profª. Dra. Regilane Matos da Silva Prado.

As infecções humanas constituem um sério problema de saúde pública e muitos patógenos como bactérias e fungos estão se tornando cada vez mais resistentes aos antimicrobianos. Testes antimicrobianos *in vitro* permitem a seleção de extratos brutos de plantas com propriedades potenciais de uso em estudos químicos e farmacológicos. O presente estudo teve por objetivo realizar uma triagem da atividade antibacteriana *in vitro* de extratos das plantas *Anacardium humile* (EMAh), *Caesalpinia ferrea* (EACf e ETCf), *Cariniana rubra* (EMCr), *Cecropia pycnostachya* (EMCp), *Conyza bonariensis* folha (EMCb-f) e raiz (EMCb-r), *Gossypium barbadense* (EMGb), *Lafoensia pacari* (EMLp), *Macrosiphonia velame* (EHMv), *Plantago major* (EMPm), *Strychnos pseudoquina* (EHSp), *Stryphnodendron obovatum* (EMSo) e *Tabebuia impetiginosa* (EMTi) para selecionar plantas com atividade antimicrobiana e aprofundar os estudos farmacológicos. As plantas foram selecionadas após levantamento etnobotânico e etnofarmacológico em trabalhos de conclusão de curso e dissertações de mestrado, publicados na Universidade Federal do Mato Grosso (UFMT) no período de 1996 – 2008, referente a plantas utilizadas por comunidades de Mato Grosso no tratamento de sinais e sintomas do processo infeccioso. Foram citadas 268 plantas com ações antimicrobianas, distribuídas em 87 famílias. Foi realizada uma busca relativa a estudos de atividade antimicrobiana nas bases de dados MEDLINE-PubMed e Bireme com as 12 espécies mais citadas. Para a triagem, utilizando o método de difusão em disco, os extratos EMLp, EMGb, EMPm, EACf, ETCf, EHMv e EMCb apresentaram atividade antibacteriana e antifúngica enquanto que, pela determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM), os extratos EMAh, EMCr, EMCp, EMGb, EMLp, EMSo, EMTi, EHMv e EHSp apresentaram essas atividades. A partir destes resultados, os extratos EHMv e EMCb foram selecionados para continuação dos estudos. A fitoquímica realizada do EHMv revelou a presença de flavonóides, taninos, alcalóides, saponinas, cumarinas e triterpenóides, sendo alguns metabólitos secundários dotados de atividade antimicrobiana. O EMCb-f revelou somente a presença de flavonóides, cumarinas e esteróides livres, enquanto que o EMCb-r revelou a presença de mais metabólitos secundários como: flavonóides, taninos, antraquinonas reduzido, cumarinas e esteróides livres. A toxicidade aguda do EHMv e dos EMCb foi avaliada por meio do teste hipocrático e do bioensaio em *Artemia salina* Leach. Os resultados indicaram toxicidade aguda para EHMv e nenhuma para o EMCb. No modelo de infecção sistêmica induzida em camundongos, os resultados obtidos pelos extratos EHMv e EMCb folhas e raízes apresentaram atividade antibacteriana, com atividade profilática as infecções causadas pelos microrganismos gram-positivo e gram-negativo (*S. aureus* e *E. coli*) envolvidos neste estudo. Os extratos apresentaram atividade antimicrobiana nos testes realizados nesse estudo frente às bactérias gram positivas e negativas testadas, justificando o uso popular dessas plantas como agentes anti-infecciosos.

Palavras-chave: Plantas medicinais; Cerrado; Atividade antimicrobiana.

ABSTRACT

***IN VITRO* AND *IN VIVO* EVALUATION OF THE ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF *Conyza bonariensis* (L.) Cronquist (Margaridinha do Campo) e *Macrosiphonia velame* (A. St.-Hil.) Müll. Arg. (Velame Branco)** Paula, C. C. Thesis submitted to the coordination of the course of Post-Graduation in Health Sciences, Department of Basic Sciences in Health of the College of Medical Sciences of the Federal University of Mato Grosso, as partial requirement for obtaining the title of Master of Health Sciences. Guide: Regilane Matos da Silva Prado.

The human infections are a serious public health problem and many pathogens such as bacteria and fungi are becoming increasingly resistant to the antibiotics. In vitro antimicrobial tests allow the selection of crude extracts of plants with potential properties of use in chemical and pharmacological studies. This study was aimed to perform a screening of the *in vitro* antibacterial activity of the plants *Anacardium humile* (EMAh), *Caesalpinia ferrea* (EACf and ETCf), *Cariniana rubra* (EMCr), *Cecropia pacystachya* (EMCp), *Conyza bonariensis* leaf (EMCb-f) and root (EMCb-r), *Gossypium barbadense* (EMGb), *Lafoensia pacari* (EMLp), *Macrosiphonia velame* (EHMv), *Plantago major* (EMPm), *Strychnos pseudoquina* (EHSp), *Stryphnodendron obovatum* (EMSo) and *Tabebuia impetiginosa* (EMTi) to select plants with antimicrobial activity to further the pharmacological studies. The plants were selected after ethnobotanical and ethnopharmacological survey in finals performances and Master's degree thesis, published in the Federal University of Mato Grosso (UFMT) between 1996 and 2008, about the plants used by communities of Mato Grosso in the treatment of signs and symptoms of infection. 268 plants were cited having antimicrobial activities, distributed in 87 families and 12 species most mentioned, a search was conducted on antimicrobial activity studies in MEDLINE, PubMed and BIREME databases. For screening, using the disk diffusion method, the extracts EMLp, EMGb, EMPm, EACf, ETCf, EHMv and EMCb showed antibacterial and antifungal activity, while for the determination of minimum inhibitory concentration (MIC), the extracts EMSo, EMCr, EMCp, EMGb, EMLp, EMSp, EMTi, EHMv and EHSp presented that activities. From these results the extracts EHMv and EMCb were selected for further experiments. The performed phytochemistry of EHMv revealed the presence of flavonoids, tannins, alkaloids, saponins, coumarins and triterpenoids, some being secondary metabolites endowed with antimicrobial activity. The EMCb-f revealed only the presence of flavonoids, coumarins and free steroids, while EMCb-r revealed the presence of more secondary metabolites such as flavonoids, tannins, reduced anthraquinones, coumarins and free steroids. The acute toxicity of the EHMv and EMCb was evaluated by hippocratic test and bioassay with *Artemia salina* Leach. The results indicated acute toxicity to EHMv and any to EMCb. In the model of systemic infection induced in mice, the results obtained by extracts EHMv and EMCb (leaves and roots) presented antibacterial activity, with prophylactic activity against infections caused by gram-positive and gram-negative (*S. aureus* and *E. Coli*) involved in this study. The plants presented antimicrobial activity, through tests performed in this study, versus gram positive and gram negative bacteria tested, confirming the popular use of these plants as anti-infective agents.

Keywords: Medicinal plants; Cerrado; Antimicrobial activity.

INTRODUÇÃO

1. BIODIVERSIDADE

Nas últimas décadas tem sido observado mundialmente um crescente interesse no aproveitamento da biodiversidade, particularmente no que se refere às plantas medicinais, que têm sido utilizadas em várias áreas da saúde como uma expressiva forma alternativa de tratamento e prevenção. Nos últimos vinte anos no Brasil, o número de informações sobre plantas medicinais tem crescido 8% anualmente. Isso mostra que em um país com uma biodiversidade biologicamente tão rica, e com ecossistemas tão ameaçados, pesquisas com plantas medicinais devem ser incentivadas.¹

O Brasil possui a maior biodiversidade do mundo, estimada em cerca de 20% do número total de espécies vegetais do planeta. Esse imenso patrimônio genético, já escasso nos países desenvolvidos, tem na atualidade valor econômico-estratégico inestimável em várias atividades; mas é no campo do desenvolvimento de novos medicamentos onde reside sua maior potencialidade. A razão dessa afirmação é facilmente comprovada quando se analisa o número de medicamentos obtidos direta ou indiretamente a partir de produtos naturais.²

O bioma do cerrado (também chamado de savana), é a segunda vegetação mais importante após a floresta amazônica, domina grande parte do Brasil e têm grande potencial econômico, especialmente na área de medicamentos. Nos cerrados muitos recursos naturais não estão suficientemente estudados, mas sabe-se que essa vegetação é formada por dois grupos de espécies: um composto por árvores e arbustos com caules grosseiros e outro composto por espécies rastejadoras, incluindo ervas.³

A biodiversidade deste bioma conta com a presença de diversos ecossistemas, riquíssima flora com mais de 10.000 espécies de plantas, sendo 4.400 endêmicas. Ainda incompletamente conhecida, pode-se estimar cerca de 3.000 espécies, sendo 1.000 delas do

extrato arbóreo-arbustivo e 2.000 do herbáceo-subarbustivo.⁴ O cerrado (**Figura 1**) é um dos biomas que mais sofre problemas de alteração da cobertura vegetal original.⁵

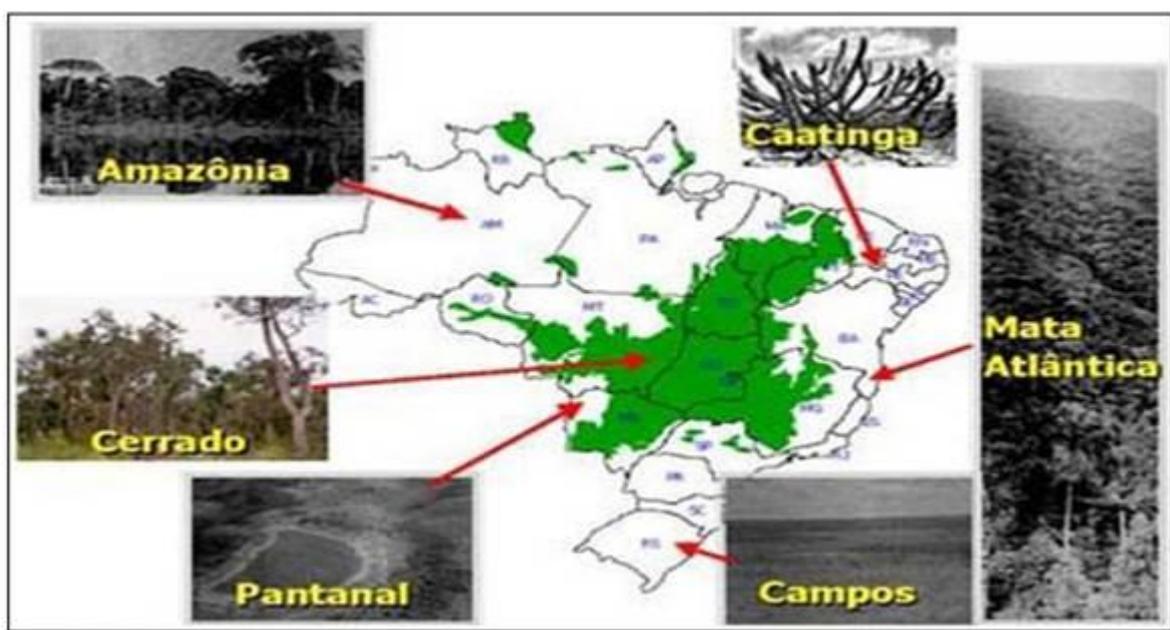


FIGURA 1 - Biomas brasileiros, com destaque para o Cerrado (em verde). Fonte: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia16/AG01/arvore/AG0123901200574232.html>, em 01/11/2009.⁶

Mais de 200 espécies de plantas medicinais já foram catalogadas, mas em função do extrativismo predatório e da falta de regulamentação estima-se que aproximadamente 40% da área do bioma Cerrado já perdeu a cobertura primitiva (flora nativa).^{7,8,9} Em vista dessa situação, várias espécies de plantas, muitas delas ainda desconhecidas pela botânica e farmacologia, podem estar em risco de extinção.¹⁰

De acordo com a Organização Mundial de Saúde, 80% da população mundial faz uso de plantas medicinais, sendo a maioria de países em desenvolvimento.¹¹ Dentre os fatores que definem o emprego popular das plantas nos cuidados com a saúde, está o alto preço dos medicamentos industrializados.¹² A idéia primordial na indicação do uso de fitoterápicos na medicina humana não é substituir medicamentos registrados e já comercializados, mas sim

aumentar as opções terapêuticas dos profissionais de saúde ofertando medicamentos equivalentes, também registrados, talvez mais baratos, com espectros de ação mais adequados e com indicações terapêuticas complementares às medicações existentes, mas sempre em estrita obediência aos preceitos éticos que reagem o emprego de xenobióticos na espécie humana.¹³

1.1. Plantas Medicinais

A etnobotânica é o campo interdisciplinar que compreende o estudo e a interpretação do conhecimento, significado cultural, manejo e usos tradicionais dos elementos da flora.¹⁴

O uso de plantas medicinais é milenar e difundido por todo o mundo, seja no uso em rituais mágicos/religiosos ou como medicamentos.^{15,16} O emprego empírico de produtos naturais é, e sempre foi, uma das formas usuais de se buscar cura e alívio para moléstias, ferimentos e males de conceituação popular que sempre acompanharam o homem.¹⁷

A utilização de plantas para o tratamento e cura de enfermidades é tão antigo quanto à espécie humana, representando muitas vezes, o único recurso terapêutico de algumas comunidades. Desde então, o homem adquiriu conhecimentos empíricos sobre plantas medicinais, repassando-os às demais gerações. Os produtos naturais exerceram importante papel na descoberta de muitos medicamentos e constituíram a base da medicina moderna, a qual está estritamente ligada às plantas medicinais.^{18,19,20,21} As plantas medicinais e seus derivados constituíram, durante muito tempo, a base da terapêutica e, representam atualmente, cerca de 25% dos fármacos utilizados são de origem vegetal, enquanto 50% deles são de origem sintética, mas relacionados aos princípios isolados de plantas medicinais.²⁰

A forte dependência que as comunidades tradicionais têm dos recursos naturais, o simbolismo e as crenças que envolvem o uso desses recursos e os sistemas de manejo

desenvolvidos ao longo do tempo, além do isolamento, fazem com que essas comunidades sejam parceiros necessários aos esforços de conservação.²² A utilização de plantas na prevenção e cura de enfermidades, condicionados a um processo de experimentação empírica, transmitidos através de gerações e às vezes em compêndios fitoterápicos, constitui a base da medicina popular.²³

A utilização desta prática no Brasil iniciou-se por influência européia com os primeiros jesuítas, com a finalidade de catequizar os índios. Estes religiosos formulavam receitas à base de plantas, a maioria de origem européia. Grande parte desses vegetais reproduziu-se espontaneamente no Brasil, formando genótipos ou variedades distintas daquelas que vieram com os europeus durante a colonização.²⁴

As plantas medicinais são meios naturais, resultando em valiosos produtos herbais, freqüentemente usados no tratamento de várias doenças,²⁵ e constituem uma importante fonte de novos componentes biologicamente ativos.²⁶

As infecções humanas constituem um sério problema de saúde pública porque muitos patógenos como bactérias e fungos estão se tornando cada vez mais resistentes aos antimicrobianos.²⁷ O uso das plantas e preparações feitas a partir delas para tratar infecções é uma prática antiga, utilizada por uma boa parte da população mundial, principalmente em países em desenvolvimento, onde há uma dependência da medicina tradicional para uma variedade de doenças.²⁸ Entre as plantas medicinais mais utilizadas pela população poucas têm ação comprovada, Contudo, o uso popular tradicionalmente consolidado tem sido utilizado como guia para pesquisas farmacológicas.²⁹ É crescente, porém a preocupação em fazer uso de produtos menos agressivos de origem natural ou o mais próximo possível desta origem.³⁰

Há entre 250.000 e 500.000 espécies de plantas na terra e apenas uma pequena porcentagem delas são utilizadas para tratamento das doenças. Esta pequena porcentagem tem

sido investigada fitoquimicamente e uma porcentagem ainda menor tem sido apropriadamente estudada quanto as suas propriedades farmacológicas.¹² No entanto, na última década tem aumentado o interesse em produtos naturais, e as plantas medicinais têm sido avaliadas para determinar eventuais compostos bioativos.³¹

A terapêutica moderna, composta por medicamentos com ações específicas sobre receptores, enzimas e canais iônicos, não teria sido possível sem a contribuição dos produtos naturais, notadamente das plantas superiores, das toxinas animais e dos microrganismos.^{02, 32}

As plantas medicinais desempenham um papel muito importante também na medicina moderna. Primeiramente porque podem fornecer fármacos extremamente importantes, os quais dificilmente seriam obtidos via síntese química; em segundo lugar, as fontes naturais fornecem compostos que podem ser levemente modificados, tornando-os mais eficazes ou menos tóxicos; em terceiro lugar, os produtos naturais podem ser utilizados como protótipos para obtenção de fármacos com atividades terapêuticas semelhantes a dos compostos originais.³³

Desde 1986, a Organização Mundial da Saúde (OMS) tem incentivado o estudo de plantas tradicionalmente conhecidas como medicinais, com o objetivo de avaliar cientificamente os benefícios da utilização de medicamentos fitoterápicos e de conhecer, ao mesmo tempo, os riscos de seu uso indevido. Muitos centros de pesquisa, em todo o mundo, vêm desenvolvendo estudos sobre atividades de produtos naturais, visando principalmente às atividades destes sobre microrganismos, mesmo assim, faltam ainda evidências laboratoriais e clínicas sobre a eficácia e a segurança de muitas plantas medicinais com suposta atividade antimicrobiana, onde seus méritos terapêuticos restringem-se quase exclusivamente às informações contidas na literatura etnofarmacológica. Assim, existe a necessidade de novas pesquisas com extratos vegetais e fitoquímicos de conhecida atividade, que podem adquirir significado nos tratamentos terapêuticos.³⁴

Na determinação desses efeitos terapêuticos dos produtos oriundos das plantas medicinais, é muito importante a colaboração de grupos multidisciplinares, das áreas: fitoquímica, farmacologia, microbiologia, toxicologia, farmacotécnica e outras áreas afins.^{35,36}

Muitas plantas são utilizadas no Brasil na forma de extrato bruto, infusões ou emplasto no tratamento de infecções comuns, sem qualquer evidência científica. Devido à diversidade biológica brasileira, muitos estudos têm sido conduzidos, focados na flora natural de determinadas regiões ou cidades específicas, na tentativa de validar as propriedades antimicrobianas de uso popular em determinada região.³⁷

Os testes antimicrobianos *in vitro* permitem a seleção de extratos brutos de plantas com propriedades potenciais de uso através de estudos químicos e farmacológicos.³⁸ Por isso os componentes antimicrobianos encontrados nas plantas podem inibir o crescimento bacteriano e fúngico por diferentes mecanismos daqueles presentes nos antimicrobianos em uso e tem um significativo valor clínico.³⁹

1.2. *Conyza bonariensis*

O gênero *Conyza* pertencente à família Asteraceae, ordem evolutiva thallophyta (Algae), subclasse dicotyledoneae, classe Angiospermae, segundo classificação de Engler. Esse gênero possui cerca de 100 espécies, distribuídas por todo o mundo.^{40,41}

A *Conyza bonariensis* (L.) Cronquist (**Figura 2**) é conhecida popularmente como buva, margaridinha-do-campo, capioçaba, enxota, erva-lanceta, salpexinho, catiçoba, rabo-de-foguete, rabo-de-raposa, voadeira, acatóia, capetiçoba.⁴² É uma planta anual, herbácea, ereta, cuja altura depende das condições do seu desenvolvimento. O caule apresenta-se como vara reta, cilíndrica, com até 15 mm de espessura, em geral com pequenas ramificações, glabro ou curto-piloso em seu ápice. As raízes principais são do tipo pivotante.⁴³ As folhas são alternas e pubescentes de 1,5 a 10 cm de comprimento por 0,5 a 2,5 mm de largura.⁴⁴ A inflorescência é terminal e axilar, formada por capítulos isolados e pedunculados. As flores são marginais de corola ligulada e esbranquiçadas, e as flores centrais são hermafroditas de corola tubulosa e branco-amarelada. A reprodução ocorre por sementes, em ciclos de 100 a 120 dias. O florescimento predomina nos meses de setembro a outubro.⁴³

Na medicina popular, a *Conyza bonariensis* é utilizada para tratar reumatismo, gota, cistite, nefrites, dismenorréia, dor de dente, dor de cabeça,⁴⁵ úlceras estomacais, verminoses, alterações digestiva e renais,⁴⁶ anti-hemorroidal, leucemia e anemia,⁴⁴ e na forma de infuso ou decocto de diversas partes da planta, como anti-séptico, anti-ulcerativo e hepatoprotetor.⁴¹

É uma planta nativa da América do Sul e encontrada na Argentina, Uruguai, Paraguai, Colômbia, Venezuela e, no Brasil ocorre nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste. É considerada uma planta invasora, sendo facilmente encontrada em lavouras, beira de estradas e campos baldios,⁴⁷ muito resistente a ação de herbicidas, sendo por isso considerada uma planta de difícil controle.⁴⁸



FIGURA 2 - Aspectos gerais da *Conyza bonariensis*.

Fonte: Favila, 2007⁴¹

1.3. *Macrosiphonia velame*

Macrosiphonia pertence à família Apocynaceae, ordem Gentianales, a qual inclui 4.545 espécies em 415 gêneros. Esta espécie é popularmente conhecida no Brasil pelos nomes de velame, velame-do-campo, velame-branco, Velame-grande, Losna-do-campo, Guaranítica, Boleadinha, Barbasco e Jalapa-branca, de acordo com a região em que se desenvolve.^{49, 50}

Macrosiphonia velame (A.St.-Hil) Müll. Arg. (**Figura 3**) é um subarbusto ereto, simples ou ramificado com altura média de 20 - 40 cm, muito raramente até 1 m de altura, seus ramos são densamente albo-lanatos. Apresenta folhas com pecíolo de 0,2 – 1 cm de comprimento, lanoso, opostas cruzadas, oblongo-lanceoladas, base obtusa e ápice acuminado, lâmina com 3,9 - 6,5 cm e comprimento e 1 - 4,2 cm de largura, membranácea, inteira, face superior inteiramente coberta por pelos albo-lanosos, face inferior com nervuras proeminentes e densa lanugem branco-amarelada.^{49, 51}

A inflorescência é terminal, com 2 - 6 flores e quando florida, produz látex branco. Pendúculo com 2 - 8 cm de comprimento, brácteas 2, com 1 - 2 cm de comprimento,

filiformes, pilosas. Cálice com sépalas de 2 -3 cm de comprimento, linear-lanceoladas, base alargada e ápice acuminado recurvado, extremamente lanosas, internamente glabras com 7 – 8 escamas. Corola densamente lanosa, parte inferior do tubo com cerca de 2 cm de comprimento e 1 cm de largura, lacínios de bordos crispados, obovados. Anteras com cerca de 1 cm de comprimento. Ovário com 3 mm de comprimento, glabro, circundado por nectários com cerca de 1 mm de comprimento mais ou menos unidos: estilete com 8 – 10 cm de comprimento e estigma com 0,5 cm de comprimento. Folículo atingindo até 30 cm de comprimento, toruloso, densamente branco-lanos.^{49,51}

Cada flor produz dois frutos alongados verde-avermelhados. Suas sementes têm cerca de 1 cm de comprimento e tufo de pelos com 2 – 3 cm de comprimento. Possui raízes tuberosas e caules normalmente pouco ramificados. O *M. velame* floresce de outubro a abril, com grande predominância nos meses de novembro a fevereiro. Sua frutificação ocorre entre os meses de janeiro a junho, com maior predominância nos meses de março e abril.^{49, 51}

Na medicina popular a *Macrosiphonia velame* é indicada para o tratamento de inflamações, gripe, febres e hemorragia, depurativa, sífilis, doenças reumáticas e nas úlceras gástricas. No Estado de Mato Grosso seu uso é bem difundido na terapia de processos inflamatórios e como depurativo.^{51, 52}

Macrosiphonia velame ocorre em boa parte de Brasil, é encontrado em Mato Grosso, Goiás, Distrito Federal, Minas Gerais, São Paulo e Rio Grande do Sul, podendo ser mais raramente encontrada no Uruguai. Seu habitat é o cerrado aberto, seco sujeito ao fogo, podendo também aparecer em campo e ocasionalmente em floresta de galeria.⁵³

Apesar da utilização das plantas *Conyza bonariensis* e *Macrosiphonia velame* com fins medicinais, foram encontradas poucas informações sobre as mesmas, fundamentando-se, assim, a realização dessa pesquisa como contribuição ao estudo das espécies.

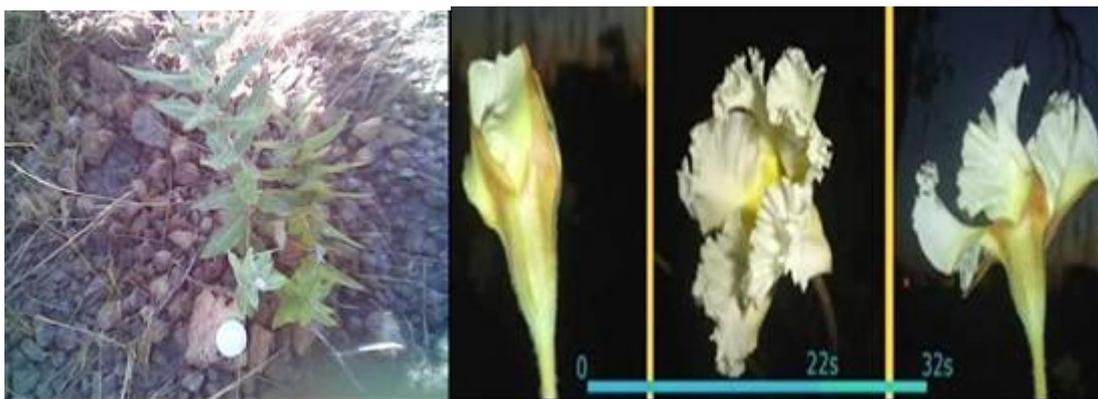


FIGURA 3 - *Macrosiphonia velame* em ambiente natural (Cerrado de Acorizal / MT).⁵⁶ Flor de *Macrosiphonia velame*, desabrochando de uma só vez em poucos segundos.⁵¹

1.4. Bactérias

As bactérias são organismos procarióticos, unicelulares simples sem membrana nuclear, mitocôndria, corpúsculo de Golgi ou retículo endoplasmático, que se reproduzem por divisão assexuada.⁵⁴

As células bacterianas possuem um nucleóide contendo DNA envolto pelo citoplasma, no qual as proteínas são sintetizadas e a energia é gerada. São desprovidas de organelas e possuem ribossomos (69S). Possuem parede celular rígida composta por peptidoglicano, polímeros de aminoácidos e açúcares.⁵⁵ Entre as possíveis estruturas externas à parede celular procariótica, estão o glicocálice (cápsula), os flagelos, os filamentos axiais, as fímbrias e pili.^{54,55,56}

Os tamanhos e formas das bactérias variam de 0,2 a 2,0 μm de diâmetro e de 2 a 8 μm de comprimento, possuindo algumas formas básicas: coco esférico, bacilo em forma de bastão e espiral;⁵⁶ podem distinguir em gram-positivas e gram-negativas, as diferenças entre esses dois grupos residem principalmente nas suas propriedades de permeabilidade e nos componentes de superfície. As diferenças reveladas na coloração pelo método de Gram estão relacionadas à presença de uma membrana externa nas bactérias gram-negativas e de uma

espessa camada de peptidoglicano nas gram-positivas (**Figura 4**).⁵⁷ Além da morfologia as bactérias ainda podem ser distinguidas umas das outras por características metabólicas, antigênicas e genéticas.⁵⁴

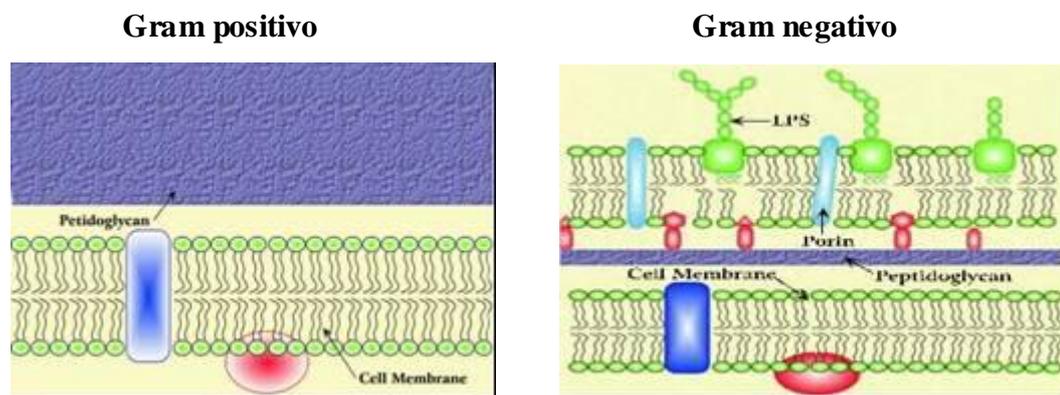


FIGURA 4 - Diferenças da parede celular das bactérias Gram positivas e Gram negativas. Fonte: <http://images.google.com.br>⁵⁸

1.4.1. Bactérias gram-positivas

Os cocos Gram positivos são grupos heterogêneos de bactérias. As características que apresentam em comum são forma esférica, coloração de Gram e ausência de endósporos.⁵⁷ Entre as bactérias gram positivas há dois gêneros de importância médica: *Staphylococcus* e *Streptococcus*. Os *Staphylococcus* são primariamente encontrados na microbiota humana normal; causam doença tanto por produção de toxinas quanto por multiplicação em tecidos e causam inflamação. Os *Streptococcus* produzem um grande variedade de infecções.^{54,55}

Os *Staphylococcus* são cocos esféricos, organizados em aglomerados formando cachos de uva irregulares, também podem aparecer como células isoladas, aos pares ou cadeias curtas são catalase positivos. Os *Streptococcus* são normalmente dispostos aos pares ou em cadeias; são catalase negativos.^{54,55,56}

Enterococcus faecalis

São cocos gram-positivos entéricos, classificados inicialmente como *Streptococcus* do grupo D de Lancefield, por possuir o antígeno de parede celular do grupo D. Em 1973 foram incluídos no novo gênero *Enterococcus* (atualmente com 29 espécies). São microrganismos comensais com limitado potencial de produzir doença, pois não apresentam toxinas potentes ou outros fatores de virulência bem definidos.⁵⁴ É causa de doenças comensais (adquiridas em hospitais), sendo responsável por 10% das infecções, comum em pacientes que fazem uso de cateteres urinários ou intravascular ou naqueles hospitalizados por um longo período e que receberam antibióticos de amplo espectro de ação. Desta forma pode ser causa de bacteremia, endocardite, Infecções do Trato Urinário (ITU), infecções de ferimentos.^{54, 59}

Staphylococcus aureus

Estão regularmente presentes na microbiota normal e nas membranas mucosas, envolvidas em infecções humanas tanto de origem comunitária como hospitalar. As manifestações clínicas de algumas doenças resultam quase que exclusivamente da atividade de toxinas: síndrome da pele escaldada, intoxicação alimentar e síndrome do choque tóxico. As infecções relacionadas com a pele são denominadas de infecções estafilocócicas piogênicas localizadas que incluem impetigo, foliculite, furúnculos e carbúnculos. É causa comum de bacteremia, endocardite, pneumonia, empiema, osteomielite e artrite séptica.^{54,55,57,59}

Streptococcus pyogenes

São pertencentes ao grupo A β -hemolíticos. Possui a capacidade de aderir à superfície das células do hospedeiro, de invadir células epiteliais, apresenta formas de escape da fagocitose e capacidade de elaboração de enzimas (estreptocinase A e B, desoxirribonuclease, hialuronidase) e exotoxinas (estreptolisina O e S, eritrogenicas), desta forma contribuindo para sua virulência e patogenicidade. Desenvolve infecções das vias respiratórias superiores, pele e tecidos moles, ou seja, faringite, celulite, erisipela, impetigo, fascite necrosante, síndrome do choque tóxico estreptocócico, bacteremia, doenças estreptocócicas não supurativas (febre reumática e glomerulonefrite aguda).^{54,55,60}

1.4.2. Bactérias gram-negativas

As bactérias Gram negativas são mais complexas tanto estruturalmente quanto quimicamente (**Figura 4**). A parede celular apresenta uma camada mais delgada e única de peptidoglicano que é superposta por uma membrana externa, ancorada a moléculas lipopoliprotéicas, lipopolissacarídeos e fosfolipídeos; entre a membrana citoplasmática e o peptidoglicano está o espaço periplasmático, no qual em algumas espécies estão as enzimas β -lactamases que degradam as penicilinas e outras drogas β -lactâmicas.^{54,55}

Os lipopolissacarídeos (LPS) complexos constituem as endotoxinas que *in vivo* desencadeiam vários aspectos da reação inflamatória, e atua como fator de virulência, causando febre, diarreia, destruição das células vermelhas do sangue e pode levar ao choque potencialmente fatal. Existe uma proteína de membrana que formam canais transmembrânicos repletos de água denominados porinas, através dos quais os antibióticos hidrofílicos podem deslocar-se livremente.^{54,60,61,62,63} Devido à dificuldade de penetrar nesta camada externa, a

barreira de lipopolissacarídeos também contribui para a resistência das bactérias gram-negativas a vários antibióticos incluindo a benzilpenicilina, metilicina, macrolídeos, rifampicina, ácido fusídico, vancomicina, bacitracina e a novobiocina.⁶²

Escherichia coli

O gênero *E. coli* pertence à família Enterobacteriaceae, são bacilos gram-negativos, pertencentes à microbiota intestinal, encontrado no cólon, vagina e uretra externa, talvez por isso ela normalmente não seja patogênica. Entretanto, a *Escherichia coli* apesar de ser uma bactéria comum é clinicamente importante, pois, é uma das causas principais de meningite neonatal e o agente mais freqüente associado com a “diarréia dos viajantes”. Está associada ainda a uma variedade de doenças como a sepse, as ITU's (infecções do trato urinário superior) e gastroenterites. Os antígenos O, H e K estão relacionados com sua patogenicidade e também são úteis para a classificação. Possuem ampla variedade de fatores de virulência, como as adesinas e as exotoxinas. Das infecções causadas por esta bactéria, com exceção da meningite neonatal e das gastroenterites, se tratam de infecções endógena, isto é, quando o paciente se encontra com as defesas comprometidas.^{54,55,56}

Klebsiella pneumoniae

São bacilos gram-negativos, normalmente encontrados no intestino grosso de indivíduos saudáveis. Possui endotoxinas, fímbrias e outras adesinas, apresentam cápsulas que dão aspecto mucóide às colônias e contribui para sua virulência. A *K. pneumoniae* está relacionada com infecções oportunistas em pacientes imunocomprometidos, como pneumonias e infecções do trato urinário; também é importante patógeno do trato respiratório

fora dos hospitais, podendo causar pneumonia lombar primária adquirida na comunidade, sendo os alcoólatras os mais comprometidos a desenvolver este tipo de pneumonia. Mostram-se resistentes a vários antibióticos, resistência esta geralmente mediada por plasmídeos.^{54,55,61}

Pseudomonas aeruginosa

São bastonetes Gram negativos, algumas cepas parecem ser mucóides devido à abundante presença da cápsula polissacarídica. Encontrado no cólon e na pele de indivíduos saudáveis, pode colonizar o trato respiratório superior de pacientes hospitalizados. Patógeno oportunista de plantas, animais e do homem. Encontrado no ambiente hospitalar, em reservatórios úmidos, como alimentos, pias, sanitários, equipamentos de tratamento respiratório e diálise.^{54,55}

A *P. aeruginosa* possui vários fatores de virulência, as adesinas, cápsula, toxinas (endotoxina A), exotoxinas e enzimas. É causa de infecções oportunistas, em processos cirúrgicos, queimaduras, portadores de doenças respiratórias crônicas (fibrose cística), pacientes imunodeprimidos, pneumonia após procedimentos de intubação, podendo resultar em bacteremias severas. Pode causar infecção em qualquer parte do corpo, mas as infecções do trato urinário, pneumonia (pacientes com fibrose cística) e ferimentos (queimaduras) predominam. Apresenta resistência a muitos antibióticos.^{54,55,62}

Enterobacter aerogenes

Normalmente encontrada no intestino grosso, também presente no solo e água. São raras as infecções primárias causadas em pacientes imunocompetentes, são causas mais comuns de infecções hospitalares em neonatos e pacientes imunocomprometidos, pois, estão associadas com hospitalização, principalmente procedimentos invasivos como cateterização intravenosa, intubação respiratória (pneumonia) e manipulações no trato urinário. A resistência aos antibióticos é um problema grave relacionada a este gênero.^{54,55}

Proteus mirabilis

Microrganismo presente no cólon humano, no solo e na água. A infecção mais comum causada por este microrganismo é a infecção do trato urinário hospitalar e não hospitalar, provavelmente devido a sua presença no cólon e colonização da uretra, especialmente nas mulheres. Sua motilidade talvez seja característica importante na sua capacidade de invadir o trato urinário. Ao contrário de *Escherichia coli*, seus pili podem diminuir sua virulência por estimular a fagocitose das bactérias.^{54,55}

Shigella flexneri

A *S. flexneri* não pertence à microbiota normal do intestino humano, são responsáveis por diarreia muitas vezes graves. Causa doença por invadir e replicar nas células que revestem a mucosa gástrica. É causa comum de Shigellose, sendo uma das principais doenças infantis.^{54,55,61}

São os patógenos mais efetivos entre as bactérias entéricas, as que causam doença quase que exclusivamente no trato gastrintestinal, provocam diarreia hemorrágica, pela invasão da mucosa do íleo distal e do cólon. Apesar de algumas produzirem enterotoxina (*Shiga* toxina), a invasão é um fator crítico na patogenicidade.⁵⁵

Segundo Rang, et al. (2007),⁶² muitos patógenos estão desenvolvendo ou já desenvolveram resistência aos fármacos comumente usados. Dentre os citados pelos autores e os escolhidos para realização deste trabalho constam: *P. aeruginosa*, *S. pyogenes*, *S. pneumoniae*, *S. aureus*, *Enterococcus sp.*

1.5. Fungos

Durante as últimas décadas ocorreu um aumento significativo das infecções fúngicas nos humanos como resultado das deficiências do sistema imunológico associadas com a quimioterapia anticancerígena, transplantes, nutrição parenteral, uso de antibióticos de amplo espectro, síndrome da imunodeficiência adquirida, entre outras.^{62,64} Outro fator contribuinte é o uso generalizado de antibióticos de amplo espectro, que eliminam ou diminuem as populações bacterianas não-patogênicas que normalmente competem com os fungos.⁶²

Os fungos são organismos eucarióticos que possuem um núcleo bem definido, mitocôndria, corpúsculo de Golgi e retículo endoplasmático. Podem existir na forma unicelular – leveduras, que se replica de forma assexuada, quanto na forma filamentosa – bolores, que pode se reproduzir assexuadamente ou sexuadamente. A maioria dos fungos existe como leveduras ou bolores, porém alguns podem assumir ambas as morfologias – dimórficos.⁵⁴

Os fungos possuem um núcleo verdadeiro contendo vários cromossomos circundados por uma membrana nuclear. Contêm organelas, como as mitocôndrias, os lisossomos, e os

ribossomos (79S). A membrana nuclear contém esteróis. São organismos imóveis e desprovidos de parede celular com peptidoglicano, porém rígida composta por quitina.⁵⁵ As colônias de *Candida* são cremosas ou pastosas, moles, brancas ou branco-amareladas, de crescimento rápido (48 a 71 horas), pequenas, com cheiro de fruta fermentada, em alguns casos apresentando franjas nas bordas.⁶⁵

Candida spp

Candida spp. é o mais comum dos patógenos fúngicos oportunistas, colonizam a mucosa gastrointestinal e atinge a corrente sanguínea por translocação gastrointestinal ou através de cateteres vasculares contaminados, interage com defesas do hospedeiro e deixa o compartimento intravascular invadindo tecidos profundos de órgãos-alvo como fígado, baço, rins, coração e cérebro.⁵⁴

O termo candidíase ou candidose tem conotação genérica, sendo utilizado para denominar doenças causadas pela *C. albicans*, como por outras espécies de leveduras relacionadas.^{64,66} As manifestações clínicas das candidíases apresentam grande diversidade podendo ser: candidíase cutâneo-mucosa, candidíase sistêmica ou visceral e candidíase alérgica.⁶⁶

1.6. Antimicrobianos

O descobrimento dos componentes antibacterianos do *Penicillium notatum* por Alexander Fleming permitiu o desenvolvimento dos antibióticos que são as principais armas no combate às infecções bacterianas.⁶⁷

O termo antimicrobiano é comumente usado para designar um antibiótico. Agente antimicrobiano pode ser definido como compostos químicos que matam ou inibem o crescimento de microorganismos, podendo ser de origem natural, semi sintética ou sintética. Os antibióticos são substâncias químicas, produtos metabólicos naturais produzidos por várias espécies de microorganismos ou de origem sintética, capazes de impedir o crescimento ou destruir microorganismos (fungos, bactérias, vírus). Embora a maioria dos agentes antimicrobianos em uso atualmente, seja derivada de produtos naturais de fermentação, a maioria deles são modificados quimicamente a fim de aprimorar as propriedades antimicrobianas ou farmacológicas.^{68,69}

Apesar das indústrias farmacêuticas produzirem um expressivo número de novos antibióticos nas últimas três décadas, a resistência microbiana a essas drogas também aumentou. Em geral, as bactérias têm a habilidade genética de adquirir e de transmitir resistência às drogas utilizadas como agentes terapêuticos.⁷⁰

O conhecimento sobre determinadas espécies vegetais com propriedades antimicrobianas tem sido revisto e ampliado, em função dos crescentes problemas associados ao uso de diversos antibióticos comerciais, incluindo efeitos colaterais no hospedeiro, tais como hipersensibilidade, imunossupressão e reações alérgicas.²⁸ O interesse em plantas com propriedades antimicrobianas também tem sido incrementada, devido ao surgimento de resistências bacterianas, geralmente ocasionadas pelo uso indiscriminado e inadequado de antibióticos.^{74,75} Com a crescente prevalência de bactérias multi-resistentes, a pesquisa por

extratos de plantas, frente a esses microrganismos, oferece potencial considerável para o desenvolvimento de novos agentes efetivos contra infecções, comumente difíceis de tratar.³⁹

1.7. Resistência farmacológica

O corpo humano é habitado por milhares de diferentes espécies bacterianas, algumas vivendo de forma transitória e outras numa relação de parasitismo permanente. A doença pode resultar dos efeitos tóxicos de produtos bacterianos (toxinas) ou quando bactérias habitam partes do corpo normalmente estéreis.⁵⁴

Desde muito cedo, o aparecimento de patógenos resistentes aos antibióticos, vêm sendo reconhecido como um significativo problema clínico, e intensas pesquisas estão voltadas para o desenvolvimento de agentes antimicrobianos alternativos.⁷³

Apesar da produção de novos antibióticos ter aumentado nas últimas três décadas, a resistência microbiana a essas drogas também aumentou. Em geral, as bactérias têm a habilidade genética de adquirir e transmitir resistência às drogas utilizadas como agentes terapêuticos. O problema da resistência bacteriana é crescente e a perspectiva futura da produção e do uso das drogas antimicrobianas continua incerta. Assim, o uso de extratos vegetais e fitoquímicos de conhecida atividade antimicrobiana podem adquirir significado nos tratamentos terapêuticos.⁷⁴

O aparecimento de resistência resulta em diversos fatores, tais como: uso crescente e inadequado de antimicrobianos, procedimentos invasivos, grande número de hospedeiros susceptíveis e falhas terapêuticas, entre outros, ocasionando aumento da transmissão de organismos multirresistentes.⁷⁵

Muitos prejuízos têm sido enumerados devido à resistência microbiana e a auto-medicação, por outro lado, estudos etnobotânicos feitos em várias regiões do país têm

sinalizado positivamente mostrando a intensificação da medicina tradicional. A vasta biodiversidade vegetal pode ser uma forma alternativa no combate as infecções microbianas.⁷⁶

Algumas estruturas externas à parede celular dos procarióticos podem estar relacionadas com a resistência bacteriana, como exemplo, as cápsulas que são importantes para a contribuição da virulência, elas frequentemente protegem as bactérias patogênicas da fagocitose pelas células do hospedeiro. A cápsula pode ainda ter uma função na aderência da bactéria aos tecidos humanos, que é um passo inicial importante na infecção.^{54,55,56} Algumas bactérias produzem um biofilme de polissacarídeo sob certas condições, protegendo-as dos antibióticos e das defesas do hospedeiro.⁵⁴ Os esporos formados no interior de algumas células agem, inibindo certas vias metabólicas da bactéria, tornando-as ineficientes aos antibióticos. Além disso, o revestimento dos esporos também é impermeável aos antibióticos, aumentando a resistência bacteriana.⁵⁵

A terapia antimicrobiana altera a microbiota diretamente via erradicação ou super-colonização, ou indiretamente, selecionando cepas resistentes. O aumento da incidência de infecções provocadas por bactérias Gram-positivas deve-se, geralmente, ao uso indiscriminado de agentes antimicrobianos.^{77,78}

A maioria dos fungos não é afetada pelos agentes antibacterianos. Existem poucos agentes antifúngicos específicos e o emprego de muitos deles ainda é restrito pela relativa toxicidade. Paralelamente ao aumento de infecções fúngicas, tem ocorrido a introdução de novos agentes antifúngicos e o isolamento de cepas resistentes a essas drogas. O uso prolongado de agentes azólicos para o tratamento de pacientes com AIDS é um fator que seleciona microrganismos mais resistentes à terapia com esses agentes.⁷⁹

Os fármacos antifúngicos disponíveis produzem recorrência ou causam resistência, além de apresentarem importante toxicidade, por esta razão, há uma busca contínua de novos antifúngicos mais potentes e mais seguros que os existentes.^{27,64,80}

Segundo Levinson, et al. (2005),⁵⁵ existem várias razões não genéticas para uma resistência bacteriana, como por exemplo: as bactérias podem proteger-se dentro da cavidade de um abscesso no qual a droga antimicrobiana não penetra; as bactérias podem permanecer em um estágio estacionário, tornando-se assim insensíveis aos inibidores de parede celular; os organismos que normalmente seriam mortos pela penicilina podem perder sua parede celular e sobreviver na forma de protoplastos e se tornarem insensíveis às drogas que tem a parede celular como alvo; e ainda há vários artefatos que podem fazer com que o organismo pareça resistente, como a administração de uma droga ou de uma dosagem errada, uma falha na droga em atingir o seu sítio de ação (ex.: líquido cefalorraquidiano) ou uma falha do paciente em tomar a droga.

Outros mecanismos bioquímicos de resistência aos antimicrobianos são: produção de enzimas que inativam o fármaco (ex.: β -lactamases); alteração dos locais de ligação do fármaco (ex: aminoglicosídeos); redução da captura do fármaco pela bactéria (ex.: tetraciclinas) e alterações das vias enzimáticas (ex.: diidrofolato redutase torna-se insensível à trimetropina). Na maioria das vezes, a resistência a droga é devida as modificações genéticas no organismo, por uma mutação cromossomal ou pela aquisição de um plasmídeo ou transposon.^{55,56,61,62}

Como exemplo de microrganismos resistentes aos antimicrobianos tem-se: *Escherichia coli*, *Proteus* sp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella dysenteriae*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhi*, *S. aureus*, *Streptococcus faecalis* e *C. albicans*.⁸¹

1.8. Classificação dos Antimicrobianos

Os antimicrobianos podem ser de amplo ou estreito espectro. Alguns atuam em grupos seletos de microorganismos, sendo denominados como espectro de ação pequeno ou espectro seletivo. Outros atuam sobre um grande grupo de microorganismos, sendo então denominados de amplo espectro de ação. Como exemplo de antibióticos com amplo espectro de ação, tem-se as algumas penicilinas, carbapenens, ticarcilina, cefalosporinas, tetraciclina, cloranfenicol, etc.^{54,56,62} Exemplos de antifúngicos com amplo espectro de ação tem-se a anfotericina B, nistatina, caspofungina, cetoconazol, entre outros.⁶²

Os efeitos dos antimicrobianos sobre os microrganismos podem ser classificados em bacteriostáticos ou bactericidas (**Quadro 1**). Bacteriostáticos são aqueles que inibem o crescimento bacteriano e/ou fúngico o qual retorna a multiplicar-se com a interrupção do tratamento. Bactericida e/ou fungicida são os que possuem capacidade de destruir os microrganismos, sendo sua ação terapêutica irreversível.^{61,62,68,82}

QUADRO 1. Classificação dos antimicrobianos segundo o efeito sobre as bactérias e fungos.

BACTERICIDAS/FUNGICIDAS		BACTERIOSTÁTICOS/FUNGISTÁTICOS	
Penicilinas	Anfotericina B	Tetraciclina	Anfotericina B
Cefalosporinas	Nistatina	Sulfonamida	Nistatina
Aminoglicosídeos	Azóis	Novobiocina	Azóis
Rifampicina	Equinocandinas	Cloranfenicol	Terbinafina
Quinolonas	Terbinafina	Macrolídeos	Griseofulvina
Monobactâmicos	-----	Isoniazida	-----
Polimixina B	-----	Trimetoprima	-----
Cefamicinas	-----	Ciclosserina	-----
Bacitracina	-----	Dapsona	-----
Carbapenems	-----	-----	-----
Colistina	-----	-----	-----

Segundo Murray et al. (2006),⁵⁴ Tortora et al. (2005),⁵⁶ Range et al. (2007)⁶² e Mims et al. (2005),⁶¹ os antimicrobianos também podem ser classificados de acordo com o seu mecanismo de ação, tendo como alvo de ação as estruturas da célula bacteriana e/ou fúngica, podendo atuar como:

a) Inibidores da Síntese da Parede Celular

A parede celular das bactérias é um envoltório de proteção. O principal constituinte é o peptidoglicano, cuja síntese consiste de três etapas principais, cada uma destas etapas é afetada por diferentes grupos de antibiótico. A inibição da síntese da parede celular exerce um efeito bactericida. Os fármacos pertencentes a este grupo são denominados de antibióticos β -lactâmicos. A este grupo de fármacos estão:

- Penicilinas: benzilpenicilina, fenoximetilpenicilina, ampicilina, amoxicilina, pivampicilina, carbenicilina, ticarcilina, flucoxacilina;
- Cefalosporinas: cefalexina, cefaclor, ceftriaxona, cefadroxil, cefalotina, cefazolina, cefproxil, cefoxitina;
- Cefamicinas: cefuroxima, cefixima, cefotaxima, cefpima, cefpiroma;
- Carbapenens: imipenem, meropenem;
- Monobactâmicos: aztreonam.
- Bacitracina, fosfomicina, teicoplanin.

b) Inibidores da Síntese dos Ácidos Nucléicos

São antibióticos que impedem que a bactéria seja capaz de produzir componentes fundamentais do seu material genético como o ácido desoxiribonucléico (DNA ou ADN) que são genes empregados de transmitir as características próprias de cada espécie.

- Sulfonamidas: sulfadiazina, sulfadimidina, sulfametoxazol, sulfassalazina, sulfametopirazina, sulfassalazina;

- Trimetoprima;

Essas duas classes de fármacos citadas interferem na síntese ou ação do folato:

- Fluoroquinolonas e quinolonas: ciprofloxacina, levofloxacina, ofloxacina, norfloxacina, moxifloxacina, gatifloxacina, ácido nalidíxico (quinolona). Esta classe afeta a atividade da topoisomerase II girase ou topoisomerase tipo IV bacterianas as quais são necessárias para a replicação, recombinação e o reparo do DNA.

c) Inibidores da Síntese de Proteínas

Estes antibióticos impedem a síntese das proteínas bacterianas que são elementos indispensáveis para a sua sobrevivência. Interferem na formação do RNAm, na fixação do RNAm ao ribossoma, por alteração no ribossoma e na fixação do RNAt ao ribossoma.

- Tetraciclina: tetraciclina, oxitetraciclina, doxiciclina, demeclociclina, limeciclina, minociclina;
- Aminoglicosídeos: gentamicina, estreptomicina, ampicacina, tobramicina, netilmicina, neomicina, canamicina;
- Macrolídeos: eritromicina, claritromicina, azitromicina;
- Estreptograminas: quinopristina, dalfopristina;
- Lincosamidas: clindamicina;
- Cloranfenicol, ácido fusídico, linezolida.

d) Fármacos antibacterianos diversos

- Vancomicina: principal antibiótico glicopeptídico;
- Teicoplanina: semelhante à vancomicina, porém com ação mais longa;
- Nitrofurantoína: composto sintético de amplo espectro de ação;

- Polimixina B e colistina: exibem propriedades catiônicas, interagem com o fosfolípido de membrana celular e a desagregação de sua estrutura;
- Metronidazol: é um agente antiprotozoário que apresenta atividade sobre bactérias anaeróbicas (*Bacteroides*).

e) Novos antibióticos

- Everninomicina: oligossacarídeo com atividade contra *Staphylococcus aureus* resistente, em estudo clínico de fase III;
- Cetolídios: derivado macrolídeo eficaz contra microorganismos resistentes a múltiplos fármacos, em estudos de fase III;
- Gemifloxanona: novas fluoroquinolonas eficazes contra *Streptococcus pneumoniae* resistente a múltiplos fármacos;

f) Grupo poliênico dos agentes antifúngicos

Os locais de ação desses antifúngicos são nas membranas celulares, interferindo na permeabilidade e funções de transportes. Ex.: anfotericina B, nistatina.

Os antifúngicos azóis impedem a conversão do lanosterol em ergosterol, o principal esterol na membrana celular fúngica, alterando a fluidez da membrana. Ex.: azóis – cetoconazol, fluconazol, itraconazol, miconazol, etc.

g) Interação com microtúbulos fúngicos e interferência com a mitose

São antifúngicos que possuem ação fungistática pela interação com os microtúbulos fúngicos e pela interferência com a mitose, como por exemplo a griseofulvina.

h) Síntese de enzimas

A flucitosina é um agente antifúngico que é convertida no antimetabólito 5-fluorouracil que inibe a timidilato sintetase (síntese de DNA) nas células fúngicas. A terbinafina age inibindo seletivamente a enzima esqualeno epoxidase, responsável pela síntese do ergosterol; o seu cúmulo dentro da célula é tóxico para o microrganismo.

h) Fármacos antifúngicos diversos

- Anfotericina B
- Nistatina
- Griseofulvina
- Equinocandinas
- Flucitosina
- Terbinafina

i) Antifúngicos sintéticos Azóis

- Clotrimazol
- Econazol
- Fenticonazol
- Cetoconazol
- Miconazol
- Tioconazol
- Sulconazol

j) Novos Antifúngicos

- Equinocandinas
- Papulocandinas
- Muluncandinas
- Sordarinas
- Nicomicinas
- Triazóis de 3ª geração: Posaconazol, Ro vuconazol,

OBJETIVOS

2.1. Geral

Avaliar a atividade antimicrobiana das plantas *Cariniana rubra*, *Lafoensa pacari*, *Stryphnodendron obovatum*, *Anacardium humille*, *Tabebuia heptaphylla*, *Gossypium barbadense*, *Plantago major*, *Macrosiphonia velame*, *Cecropia pachystachyaa*, *Caesalpinia ferrea*, *Conyza bonariensis* e *Strychnos pseudoquina*, em diferentes modelos antimicrobianos *in vitro* e *in vivo*.

2.2. Específicos

- ❖ Realizar triagem da atividade antimicrobiana dos extratos das plantas selecionadas pelo método de difusão em disco;
- ❖ Determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) pelo método de diluição em microplaca dos extratos das plantas selecionadas;
- ❖ Determinar o perfil fitoquímico e cromatográfico dos extratos das plantas selecionadas;
- ❖ Realizar bioautografia com os extratos metanólico de *Conyza bonariensis* folhas e raízes, e hidroetanólico de *Macrosiphonia velame* xilopódio contra bactérias gram-positivas, gram-negativas e fungos;
- ❖ Avaliar os extratos metanólico da *Conyza bonariensis* folhas e raízes, e hidroetanólico da *Macrosiphonia velame* xilopódio em modelos *in vivo* de infecção sistêmica em camundongos induzidos por *E. coli* e *S. aureus*.

MATERIAIS

3.1. Material botânico

3.1.1. Coleta das Plantas

As plantas foram coletadas pela aluna de mestrado em Ciências da Saúde, Área de Farmacologia, Cristiane Coimbra de Paula, com a ajuda de mestrandos e bolsistas PIBIC/VIC do Laboratório de Farmacologia, como também do técnico Libério Amorim Neto do Departamento de Botânica e Ecologia (BOTEÇO) do Instituto de Biociências (IB) e Ms. Joaquim Corsino da Silva Lima, do Laboratório de Farmacologia de Produtos Naturais da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Federal de Mato Grosso.

As folhas e o caule da *Anacardium humile* foram coletadas no município de Cuiabá – bairro Pedra 90 na beira da estrada (E0604500 N8170573) em 17 de fevereiro de 2009. As folhas de *Cecropia pachystachyaa* foram coletadas no bairro Pedra 90 na chácara São José – Espaço Flor do Cerrado (E0525249 N8152367) em 10 de fevereiro de 2009. As folhas do *Gossypium barbadense* foram coletadas no município de Poconé, na comunidade Chafariz, distrito Nossa Senhora Aparecida do Chumbo (E0507236 N8146142) em 01 de dezembro de 2008. As folhas do *Plantago major* foram coletadas no município de Santo Antonio do Leverger na fazenda São Judas Tadeu (E628866.0890 N8143833.2200) em 17 de maio de 2009.

Os outros extratos foram adquiridos no setor da farmacologia de Produtos Naturais da UFMT, sendo eles coletados no campo, e realizada a mesma metodologia para a obtenção dos extratos: *Cariniana rubra* – folhas, *Lafoensia pacari* – entrecasca, *Stryphnodendron obovatum* – entrecasca, *Tabebuia impetiginosa* – entrecasca, *Caesalpinia ferrea* – vagem +

semente, *Macrosiphonia velame* – xilopódio, *Conyza bonariensis* – folhas e raízes, *Strychnos pseudoquina* – entrecasca. Identificações descritas na **Tabela 1**.

3.1.2. Identificação Botânica

Para identificação botânica, uma amostra testemunha do material florífero das plantas foi depositada no Herbário Central da UFMT, cuja identificação foi realizada pela pesquisadora Rosilene Rodrigues Silva do Herbário da Universidade Federal do Mato Grosso. Abaixo, segue o número das exsicatas de todas as plantas inseridas no trabalho (**Tabela 1**).

TABELA 1 - Plantas coletadas, local de coleta, nº exsicata e triagem farmacológica

PLANTA	NOME POPULAR	PARTE COLETADA	LOCAL	EXSICATA
<i>Cariniana rubra</i>	Jequitibá	Folhas	Serra de São Vicente	18.337
<i>Lafoensia pacari</i>	Mangava brava	Entrecasca	Várzea Grande	35.577
<i>Stryphnodendron obovatum</i>	Barbatimão	Entrecasca	Santo Antonio do Leverger	35.584
<i>Anadardium humile</i>	Cajuzinho do Campo	Folhas Caule	Pedra 90	31.789
<i>Tabebuia impetiginosa</i>	Ipê roxo	Entrecasca	Serra de São Vicente	39.140
<i>Gossypium barbadense</i>	Algodão	Folhas	Distrito Nossa Senhora Aparecida do Chumbo – Poconé	31.755
<i>Plantago major</i>	Tanchagem	Folhas	Fazenda São Judas Tadeu- Santo Antonio do Leverger	31.790
<i>Macrosiphonia velame</i>	Velame branco	Xilopódio	Acoriza I-MT, próximo à MT-010	38.289
<i>Cecropia pachystachyaa</i>	Embaúba	Folhas	Pedra 90 – Chácara D. Helena	34.119
<i>Caesalpinia ferrea</i>	Jucá	Vagem + semente	Fazenda N ^a . Sr ^a . Aparecida Capão Grande, Várzea Grande	34.407
<i>Conyza bonariensis</i>	Margaridinha do campo	Folhas Raízes	Km 411 BR 70 – Campo verde	21.438
<i>Strychnos pseudoquina</i>	Falsa quina	Entrecasca	Fazenda Terezinha, Serra de São Vicente – Cuiabá-MT	38.621

3.2. Animais Experimentais

Camundongos albinos (*Mus musculus*), variedade Swiss Webster, adultos, machos e fêmeas, pesando entre 25-35g variando não mais que 5 g para cada teste microbiológico, provenientes do Biotério Central/PROPEQ da Universidade Federal de Mato Grosso. Os animais foram acondicionados em caixas de polipropileno contendo telas anticoprofágicas, a temperatura entre 22 ± 1 °C, com ciclos de claro/escuro de 12 h, recebendo ração padrão Purina® (Labina) e água *ad libitum*. Os animais permaneceram no laboratório por um período de adaptação de pelo menos de 24 h antes da realização do experimento e submetidos, quando necessário, a privação de ração por 18 horas sendo mantidos em gaiolas, com livre acesso à água até 1h antes do ensaio.

Os experimentos foram realizados de acordo com os princípios éticos da experimentação animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), após a aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal da Universidade Federal de Mato Grosso (CEPA-UFMT), sob o nº 23108.047577/09-1 (**Anexo 1**). O número de animais e a intensidade dos estímulos utilizados foram os mínimos necessários para demonstrar de forma consistente o efeito dos tratamentos.

Para o bioensaio de toxicidade, foram utilizadas *Artemia salina* Leach adquiridas em lojas de pet shop.

3.3. Microrganismos

Todas as cepas bacterianas e fúngicas utilizadas nos modelos experimentais *in vitro* foram cepas ATCC, adquiridas comercialmente, da marca Newprov® que estão relacionadas na **Tabela 2**. Para o experimento *in vivo* as cepas bacterianas foram de isolados clínicos. Para a realização dos experimentos, as bactérias foram repicadas em ágar Muller Hinton e os

fungos em Sabouraud, 24 h antes dos ensaios, para se tornarem viáveis e o experimento reprodutível.

TABELA 2 - Relação das cepas bacterianas utilizadas nos ensaios antimicrobianos.

Modelos <i>in Vitro</i>			
Cepas	ATCC	Cepas	ATCC
<i>Enterococcus faecalis</i>	29212	<i>Candida albicans</i>	10231
<i>Enterobacter aerogenes</i>	13048	<i>Candida albicans</i>	64550
<i>Escherichia coli</i>	25922	<i>Candida grablata</i>	90030
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	13883	<i>Candida kruzei</i>	6258
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27853	<i>Candida parapsilosis</i>	40058
<i>Proteus mirabilis</i>	25933		
<i>Shigella flexneri</i>	12022		
<i>Staphylococcus aureus</i>	25923		
<i>Streptococcus pyogenes</i>	19615		

Modelos <i>in vivo</i>	
Cepas	ATCC
<i>Staphylococcus aureus</i>	Isolado clínico
<i>Escherichia coli</i>	Isolado clínico

3.4. Drogas e Reagentes

As drogas, reagentes e corantes utilizados durante a realização dos ensaios microbiológicos e abordagem fitoquímica estão relacionados no **Quadro 2**.

QUADRO 2 - Relação das drogas, reagentes e corantes utilizados nos ensaios microbiológicos e abordagem fitoquímica.

Drogas / Reagentes / corantes	Marca
Ácido clorídrico	Synth [®]
Acetato de Etila	Synth [®]
Acetona	Dinâmica [®]
Ácido sulfúrico	Dinâmica [®]
Agar BHI (Brain Heart Infusion)	Víboras [®]
Agar Muller Hinton	Oxoid [®]
Agar Muller Hinton com 5% sangue	Oxoid [®]
Agar nutritivo	Biobrás [®]
Água destilada	---
Água oxigenada volume 10	Miyako [®]
Álcool 70%	---
Álcool acetona	Newprov [®]
Álcool metílico P.A.	Synth [®]
Anfotericina B 100 µg – solução	Sigma [®]
Anidrido acético	Merck [®]
Benzeno	Vetec [®]
Caldo BHI	Víboras [®]
Caldo Muller Hinton	Oxoid [®]
Cloreto de sódio	Index [®]
Clorofórmio P. A.	Quimis [®]
Cristal violeta	Newprov [®]
Discos para antibiograma – cloranfenicol 30 µg	Cecon [®]
Discos para antibiograma – anfotericina B 100 µg	Sigma [®]
Eosina	Merck [®]
Éter etílico P.A.	Cromolin [®]
Fucsina fenicada	Newprov [®]
Hidróxido de sódio	Synth [®]
Hidróxido de amônia	Vetec [®]
Hidróxido de potássio	Vetec [®]
Lugol	Newprov [®]
Meropenem	Biochimico [®]
Óleo de imersão	Newprov [®]
Reagente de Dragendorff	---
Sulfato de quinidina	Sigma [®]
Sulfato de sódio anidro	Vetec [®]
Tolueno	Vetec [®]
Tween 80	Synth [®]
Cloridrato de metiltiazolotetrazólico (MTT)	Sigma-Aldrich [®]

3.5. Equipamentos e utensílios

Os equipamentos e utensílios utilizados durante a realização dos experimentos estão relacionados no **Quadro 3**.

QUADRO 3 - Utensílios e equipamentos utilizados nos ensaios microbiológicos e abordagem fitoquímica.

Equipamentos / utensílios	Marca
Alças bacteriológicas plásticas descartáveis	Pleion [®]
Alças descartáveis de platina	Newprov [®]
Algodão	Cremer [®]
Agulhas descartáveis (20x5,5 mm; 10x13,5 mm)	BD [®]
Autoclave	Phoenix [®]
Balança analítica Q-500 L210 C	QUIMIS
Balanças capacidade 500 gramas	Giro`s [®]
Balança pesar animal	Digital Scale LE 2066 [®]
Balão volumétrico fundo chato 500 mL	Vidrolabor [®]
Banho-maria	Tecnal [®]
Bastão de vidro	Pyrex [®]
Bico de mamadeiras para ratos/camundongos	---
Béckers vidro 25 mL	Vidrolabor [®]
Béckers vidro 500 mL	Vidrolabor [®]
Câmara de UV	Prodici ^{1®}
Capela de fluxo laminar	Labconco [®]
Capela de exaustão	Quimis [®]
Capilar	Perfecta [®]
Cromatofolhas de Sílica gel 60 F254	Merck [®]
Cronômetro digital	Technos [®]
Discos estéreis brancos para antibiograma	Cecon [®]
Eppendorf	---
Erlemeyer	Vidrolabor [®]
Escala de MacFarland	Probac do Brasil [®]
Estufa	Marcon ^{1®}
Funil de vidro	Pyrex [®]
Gaiolas polietileno	---
Geladeira	Cônsul [®]
Grades para tubos de ensaio	---
Lâminas para microscopia	Formarios [®]
Mamadeira para ratos/camundongos	---

Microplaca de 96 cavidades	TPP [®]
Microscópio	Oleman [®]
Papel de filtro	Qualy [®]
Pipetas automáticas	Pipetman [®]
Pipetas de vidro	Poliglass [®]
Placas de petri pequenas e grandes	Pyrex [®]
Placa quente de areia	Quimis [®]
Ponteiras descartáveis	Plastibrand [®]
Proveta	Vidrolabor [®]
Rotavaporador	Marconi [®]
Suporte para ponteiras	Physiocare [®]
Swabs descartáveis estéreis	Newprov [®]
Tampas para gaiola	---
Termômetro digital	Termomed [®]
Tubos de ensaio de vidro	Pyrex, Vidrolabor [®]
Vidro borel	Vidrolabor [®]
Vortéx	Phoenix [®]

3.6. Fluxograma do protocolo experimental

Após o levantamento etnobotânico e etnofarmacológico das plantas medicinais do cerrado matogrossense nos trabalhos de conclusão de curso e dissertações do mestrado da UFMT no período de 1996 a 2008, foram selecionadas as 12 plantas mais citadas para tratamento de infecções bacterianas e fúngicas. Foi realizada uma busca relativa aos estudos de atividade antibacteriana e antifúngica nas bases de dados MEDLINE-PubMed e Bireme destas 12 plantas. Em seguida foi realizada a triagem de difusão em disco, fitoquímica e a determinação da CIM para todos os extratos selecionados.

Partindo dos resultados antimicrobianos, foram selecionados os dois extratos que apresentaram melhores resultados nos testes *in vitro* para realização dos seguintes experimentos: bioensaio com *Artemia salina* Leach, teste hipocrático, cromatografia de camada delgada, bioautografia e ação dos extratos sobre os camundongos na infecção sistêmica.

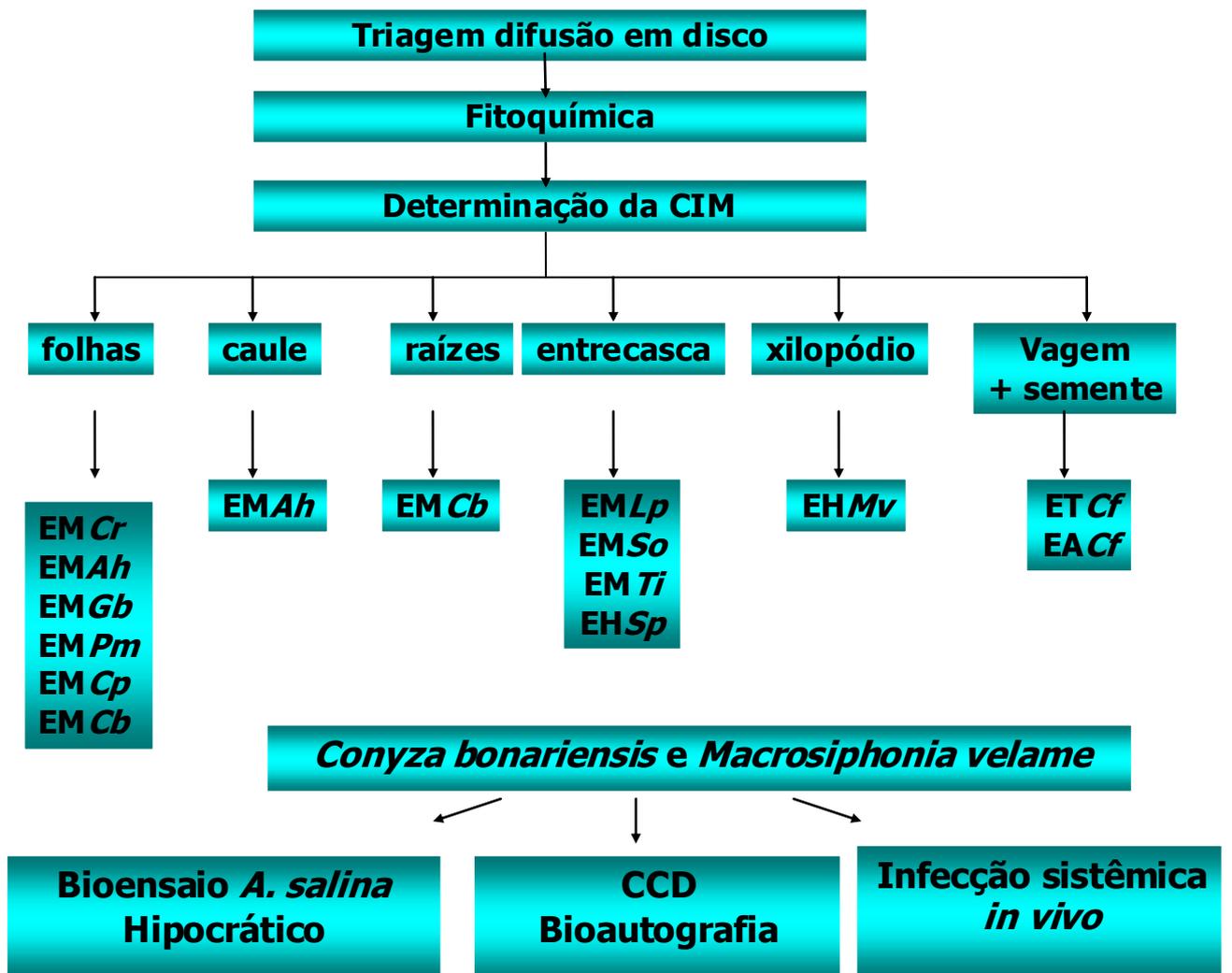


FIGURA 5 - Fluxograma do protocolo experimental

MÉTODOS

4.1. Obtenção dos Extratos Brutos

Os extratos brutos das plantas foram preparados no Laboratório de Farmacologia de Produtos Naturais, da Faculdade de Ciências Médicas (FCM) da UFMT, sob a supervisão da Profª. Dra. Regilane Matos da Silva Prado.

Os extratos brutos das folhas e caule da *Anacardium humile*, e folhas das plantas *Gossypium barbadense*, *Plantago major* e *Cecropia pachystachyaa*, foram obtidos pelo processo de maceração seqüencial a frio do pó de cada parte no solvente metanol 100% (1:10 p/v), por 7 dias a 25 °C. Os extratos foram filtrados e concentrados em rotaevaporador a vácuo e o solvente residual eliminado em estufa a 40 °C (obtendo-se assim quatro extratos brutos das folhas e um extrato bruto do caule). No momento de uso os extratos foram dissolvidos em Tween 80 (Synth®) e água destilada estéril.

Os restantes dos extratos brutos foram adquiridos prontos, os procedimentos são padronizados pelo Laboratório para preparação dos extratos, por isso que os mesmos foram obtidos no Laboratório de Farmacologia de Produtos Naturais da UFMT: *Cariniana rubra* – folhas, *Lafoensia pacari* – entrecasca, *Stryphnodendron obovatum* – entrecasca, *Tabebuia impetiginosa* – entrecasca, *Caesalpinia ferrea* – vagem + semente, *Macrosiphonia velame* – xilópódio, *Conyza bonariensis* – folhas e raízes, *Strychnos pseudoquina* – entrecasca.

4.2. Determinação do Peso Seco

Três alíquotas de 100 mg de cada extrato bruto foram retiradas e colocadas em frascos-ampola previamente tarados, secas em estufa a 60 °C e pesadas sucessivamente em balança analítica até obtenção de peso constante e as concentrações expressas em mg %, foram obtidas pela média aritmética dos três últimos pesos.

4.3. Determinação do Rendimento

A determinação do rendimento (R%) de cada extrato foi feita utilizando-se a fórmula:

$$R (\%) = \frac{\text{Peso seco (g/g)} \times \text{quantidade de extrato obtido (g)} \times 100}{\text{quantidade de pó utilizado (g)}}$$

4.4. Ensaio Microbiológicos *in vitro*

4.4.1. Difusão em Disco

No método de difusão, todos os extratos foram colocados num reservatório, neste caso o disco de papel, em contato com um meio de cultura sólido, inoculado com um determinado microorganismo. Após o tempo de incubação mede-se o halo de inibição, zona clara onde não houve o crescimento bacteriano, ao redor do disco onde está depositada a substância em pesquisa. Neste método a informação é apenas qualitativa, útil para estabelecer a sensibilidade do microorganismo à droga teste.⁸³

Para triagem da atividade antimicrobiana de todos os extratos, foi realizado o ensaio de difusão em disco em ágar Muller-Hinton (Oxoid®) e ágar Saubouraud (Oxoid®), segundo o

método de Bauer et al (1996),⁸⁴ frente a um painel de nove bactérias (6 gram-negativas e 3 gram-positivas) e 5 fungos (candidas), todas ATCC. As placas testes foram preparadas com ágar Muller Hinton e ágar Saubouraud e inoculadas sobre sua superfície a respectiva suspensão bacteriana e fúngica respectivamente, preparada em salina 0,9% estéril. A concentração da suspensão bacteriana foi ajustada a escala 0,5 de MacFarland (1×10^5 UFC/mL) e a suspensão fúngica foi ajustada a escala 1 de MacFarland (1×10^5 UFC/mL).

Os extratos foram testados em diferentes doses (0,009; 0,019; 0,039; 0,077; 0,156; 0,313; 0,615; 2,5; 5, 10 e 20 µg/disco) utilizando-se como droga padrão, o cloranfenicol (Cecon[®], 30 µg/disco e anfotericina B Cecon[®], 100 µg/disco). Foram usados como controles negativos, água destilada estéril para os extratos aquoso e etanólico da *Caesalpinia ferrea*, *Anacardium humile*, hidroetanólico da *Macrosiphonia velame*, metanólicos da *Cariniana rubra*, *Tabebuia heptaphila*, *Stryphnodendron obovatum* e Tween 80 em água destilada (3-5 %) para os extratos metanólicos da *Plantago major*, *Gossypium barbadense*, *Cecropia pachystachya*, *Conyza bonariensis* (folhas e raízes), *Lafoensia pacari* e *Strychnos pseudoquina*.

Os discos de papéis estéreis (Cecon[®]) foram impregnados com o extrato teste (20 µL) nas diferentes doses e depositados sobre a superfície das placas e estas acondicionadas em geladeira por 4 horas, com a finalidade da droga teste se difundir ao meio. Após esse período, as placas foram incubadas à 37 °C por 24 horas e, logo após, procedeu-se a mensuração das zonas de inibição de crescimento bacteriano, considerando-se ativos os halos de inibição de crescimento bacteriano \geq à 10 mm (**Figura 6**). A triagem antibacteriana foi realizada em duplicata.^{84,85}

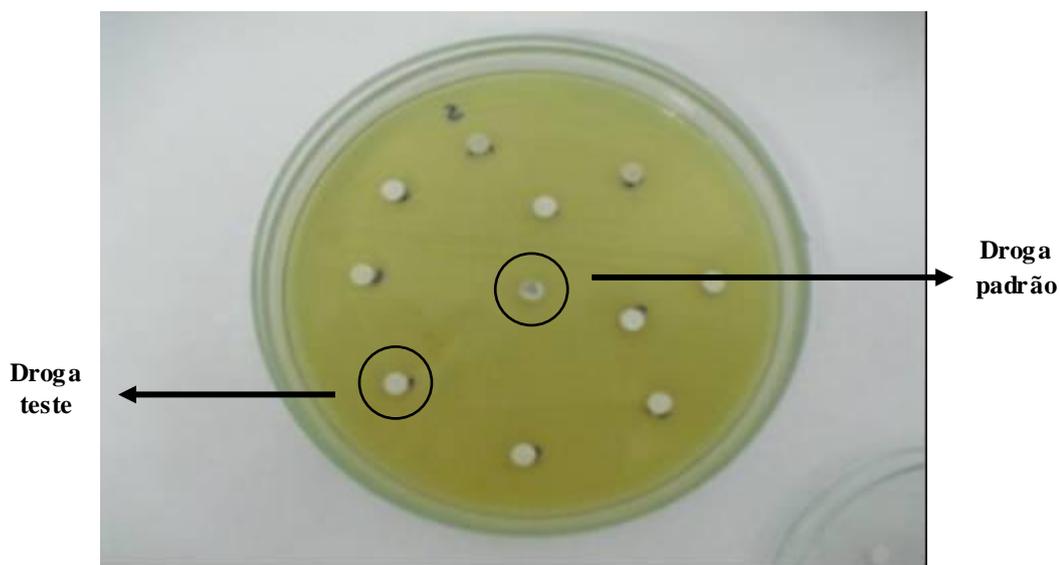


FIGURA 6 – Triagem da atividade antimicrobiana dos extratos metanólicos, hidroetanólicos, etanólico e aquoso das plantas em estudo e do cloranfenicol e anfotericina B (droga padrão) pelo ensaio de difusão em disco.

4.4.2. Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

Os métodos de diluição *in vitro* detectam possíveis atividades antimicrobianas de compostos, utilizando métodos celulares sem alvo específico.⁶⁰ Esta técnica de microdiluição consiste em dissolver a substância em um meio líquido conveniente. Possui a vantagem de ser quantitativo, ou seja, é possível a determinação da quantidade mínima de agente antimicrobiano necessária para inibir o crescimento de um microorganismo específico.

Para este ensaio foram utilizados todos os extratos *Cariniana rubra*, *Lafoensia pacari*, *Stryphnodendron obovatum*, *Anacardium humile*, *Tabebuia heptaphylla*, *Gossypium barbadense*, *Plantago major*, *Macrosiphonia velame*, *Cecropia pachystachyaa*, *Caesalpinia ferrea*, *Conyza bonariensis* e *Strychnos pseudoquina* a CIM obtida através da metodologia de microdiluição em caldo, contra nove bactérias (6 gram-negativas e 3 gram-positivas) e 5 fungos (candidas), todas ATCC.

Para determinar os valores da CIM foram usadas microplacas de 96 cavidades. Da solução mãe (1000 µg/mL) de cada extrato foi feita a diluição seriada (1,9; 3,9; 7,8; 15,62; 31,25; 61,5; 125; 250; 500 e 1000 µg/mL) e adicionados 100 µL de cada diluição aos caldos de Muller-Hinton e Sabouraud. Em seguida, as microplacas foram inoculadas com 100 µL de cada bactéria ou fungos, ajustadas a escala 1 de MacFarland (1×10^6 UFC/mL), incubadas a 37 °C por 24 horas e realizada a leitura das microplacas. O preenchimento das microplacas de microdiluição procedeu-se da seguinte forma: na coluna 1 e linhas de A a H foram adicionados 200 µL de meio de cultura como controle de esterilidade (CE). Nas colunas de 2 a 11 e linhas de A à H foram adicionados 100 µL do meio de cultura, 100 µL da droga teste e 100 µL do inóculo bacteriano. Da solução mãe foram feitas diluições seriadas na própria microplaca. E na coluna 12 adicionados 100 µL do meio de cultura e 100 µL do inoculo como controle de crescimento (CC). Para este ensaio, também foi utilizado como droga padrão o cloranfenicol nas concentrações de 3,1; 6,25; 12,5; 25 e 50 µg/mL e anfotericina B nas concentrações de 6,25; 12,5; 25; 50 e 100 µg/mL. A leitura das microplacas foi realizada pelo método de Elisa (**Figura 7**).

A CIM representa a menor concentração da droga teste capaz de inibir completamente o crescimento bacteriano no meio. O critério utilizado para classificação da atividade dos extratos foi: a CIM menor que 100 µg/mL considerado como boa atividade antimicrobiana; quando a CIM entre 100 a 500 µg/mL foi considerado moderadamente ativo; a CIM acima de 500 a 1000 µg/mL considerado pouco ativo e CIM maior que 1000 µg/mL inativo. Os testes foram realizados em duplicata.^{86,87,88}

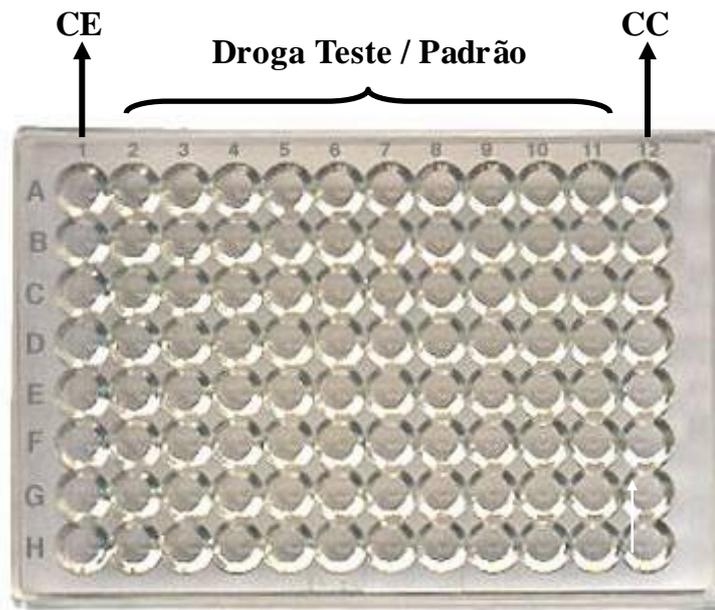


FIGURA 7 – Preenchimento da microplaca para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos extratos e do cloranfenicol e anfotericina B (droga padrão). CE: controle de esterilidade; CC: controle de crescimento.

4.5. Estudo Fitoquímico

A abordagem fitoquímica dos extratos metanólicos *Anacardium humile*, *Gossypium barbadense*, *Plantago lanceolata*, *Cecropia pachystachyaa*, *Cariniana rubra*, *Lafoensia pacari*, *Stryphnodendron obovatum*, *Tabebuia impetiginosa*, *Conyza bonariensis*, extratos hidroetanólicos da *Macrosiphonia velame* e *Strychnos pseudoquina*, e os extratos aquoso e etanólico da *Caesalpinia ferrea* foram realizadas para determinar quais os metabólitos secundários presentes nas plantas e compará-los com sua ação antimicrobiana.

4.5.1. Abordagem Fitoquímica Preliminar

Procedeu-se a análise fitoquímica por via úmida. Os testes para o estudo fitoquímico de compostos dos extratos foram realizados no Laboratório de Farmacognosia da Faculdade de Farmácia da Universidade de Cuiabá (UNIC) sob orientação do prof.^o Ms. Rogério Alexandre Nunes dos Santos, segundo a metodologia adotada por Matos (1997)⁸⁹ e Costa (1982)⁹⁰. Foram realizados testes para identificação dos seguintes grupos químicos:

✓ **Taninos:** quando em contato com a solução de gelatina a 1% contendo 10% de Cloreto de sódio, fornece um precipitado ou mesmo turvação.

✓ **Flavonóides:** em contato com hidróxido de sódio 1N intensifica a coloração amarelada da solução. Outro teste é colocar o extrato em contato com cloreto de alumínio 5%, onde ocorre o aparecimento da fluorescência ou mudança/intensificação da coloração amarelo-esverdeada indicará a presença dos flavonóides. Na reação de Shinoda os flavonóides em contato com HCl concentrado e fitas de magnésio metálico apresentará formação de cor róseo a vermelho.

✓ **Esteróides e triterpenóides:** os esteróides são caracterizados por uma coloração azul esverdeada e os triterpenos apresentam coloração parda até vermelha quando é tratada com anidro acético e gotas de ácido sulfúrico.

✓ **Saponinas:** produção de espuma abundante e persistente por agitação da solução aquosa.

✓ **Alcalóides:** caracterizados pela formação de precipitado floculoso em contato com HCl 3N e com o reagente de Dragendorf (iodobismutato de potássio).

✓ **Cumarinas:** apresentará fluorescência em manchas feitas em papel de filtro com solução alcalinizada (KOH).

✓ **Quinonas:** formará coloração rósea ou vermelho-cereja quando os extratos são tratados com NaOH 2N, HCl 2N, benzeno e ainda na presença de NH₄OH 6N, sob agitação e posterior repouso. O filtrado alcalino, ou seja, as quinonas na presença de NaOH em contato com FeCl₃ formará precipitado de coloração avermelhada.

4.5.2. Estudo Analítico - Cromatografia em Camada Delgada (CCD)

A cromatografia é um método moderno e útil de análise que permite efetuar separação, identificação e quantificação das espécies químicas por si mesmas ou em conjunto a outras formas instrumentais de análise, que também permite um isolamento bioguiado de compostos ativos.⁹⁰ A cromatografia em camada delgada (CCD) consiste na separação dos componentes de uma mistura através da migração diferencial sobre uma camada de adsorvente retido sobre uma superfície plana.⁹¹

A CCD é um método físico de separação, na qual os compostos a serem separados são distribuídos entre duas fases, uma fase fixa - sílica gel, de grande área superficial, denominada fase estacionária e outra, onde um fluido elui através dela, chamada fase móvel. Utiliza-se para fase móvel solventes com polaridades crescentes.⁹²

Para a realização da cromatografia em camada delgada foram utilizadas cromatoplasmas em alumínio sílicagel 60 F254 (Merck®). Os compostos testes, extratos metanólicos, hidroetanólicos, etanólicos e aquoso, foram dissolvidos em água destilada em concentração equivalente a 1000 µg/mL. As soluções testes foram aplicadas na placa de CCD com auxílio de uma micropipeta (20 µL) e em seguida submetidas à eluição em sistema de solventes apropriados: *Conyza bonariensis* folhas e raízes com clorofórmio/éter etílico (50:50 v/v) e *Macrosiphonia velame* com metanol (100 v/v)

Após a eluição, procedeu-se a revelação utilizando um revelador clássico, o iodo ressublimado, e observação sob luz U.V. em comprimento de onda 253 nm e 265 nm. As cromatoplasmas foram submetidas ao ensaio de bioautografia. Neste experimento foi utilizado como droga padrão o cloranfenicol (30 µg/mL), sendo a CCD desenvolvida com sistema eluente.^{91,92,93}

4.6. Bioautografia^{94,95}

A bioautografia é um método qualitativo útil para a localização de compostos com ação antimicrobiana em um cromatograma, de um extrato ou fração complexa de produtos naturais, permitindo o isolamento bioguiado de compostos ativos. A técnica bioautográfica pode ser denominada bioautografia por imersão, onde um meio de cultura sólido fundido inoculado é aplicado sobre a placa cromatográfica na qual foi eluído o extrato ou fração. Durante a incubação das placas, os compostos deverão passar para o meio por um processo de difusão, formando zonas de inibição bacteriana.

A atividade antibacteriana e antifúngica pelo método bioautográfico só foi realizada com os extratos metanólicos da *Conyza bonariensis* (folhas e raízes) e hidroetanólico da *Macrosiphonia velame* e o cloranfenicol (droga padrão), devido aos mesmos apresentarem boa atividade na técnica de disco difusão e MIC e por não possuírem estudos antimicrobianos. Para a realização da bioautografia utilizou-se como meio de cultura o ágar Muller-Hinton e Saubouraud, sendo este inoculado com as bactérias CGP, BGN e *Candida albicans*, que foi aplicado sobre a cromatoplasma e desenvolvido com uma fase móvel adequada para a separação dos seus componentes como descrito no item anterior.

A suspensão bacteriana e fúngica foi preparada em salina estéril ajustando a escala 1 de MacFarland (1×10^5 UFC/mL) e 100 µL do inóculo foi transferido para um tubo de ensaio

contendo caldo Muller-Hinton ou caldo Sabouraud (5 mL). O ágar foi mantido sob o estado líquido em banho-maria a 45 °C para proceder à inoculação antimicrobiana e homogeneizado. Em seguida, o ágar foi distribuído sobre as cromatoplasmas acondicionadas em câmara úmida (conjunto de placa de petri estéreis e algodão umedecido com água destilada estéril).

Após a solidificação do ágar, as cromatoplasmas foram submetidas à refrigeração por 4 horas (4°C) e em seguida incubadas a 37 °C por 24 horas. Decorrido esse período procedeu-se a leitura. A inibição do crescimento bacteriano é indicada por uma zona clara no cromatograma e sobre as bandas formadas. Como um dos possíveis inconvenientes desta técnica é a dificuldade na visualização do halo de inibição por contraste, foram utilizados reveladores para auxiliar na leitura dos resultados obtidos. Foi usado, sobre a placa bioautográfica o corante vital cloridrato de metiltiazolotetrazólico (MTT: 1 mg/mL) e em seguida incubadas à 37 °C por mais 30 minutos, procedendo-se a leitura.

Os resultados foram indicados como positivos ou negativos de acordo com a cor desenvolvida pelo corante. Resultado positivo (inibição de crescimento da bactéria) foi apresentado pela formação de halo claro de cor amarelo-acastanhada, o qual indica que o extrato inibiu o crescimento bacteriano, pois houve redução do corante (MTT). A observação da coloração azul-violeta à roxo indica ausência da inibição do crescimento bacteriano, ou seja, presença do metabolismo bacteriano. As placas bioautográficas do cloranfenicol foram reveladas com a eosina (2 mg/mL), observando uma coloração amarelo a laranja e halo claro indicando inibição do crescimento bacteriano.⁹³

4.7. Avaliação Toxicológica Aguda

4.7.1. Bioensaio com *Artemia Salina* Leach⁹⁶

Os cistos de *Artemia salina* Leach foram acondicionados em um recipiente contendo água marinha artificial (sal marinho 3%), mantidos ao abrigo da luz à temperatura de 25°C e com aeração contínua, por meio de uma bomba de ar de aquário. Decorridos 48 h, procedeu-se a contagem das larvas em estágio de náuplio, colocando-as em recipiente próximo a uma fonte de luz, e com a ajuda de pipeta pasteur, foram retiradas aquelas larvas com bastante movimentos, depositando-as em tubos de ensaio (10 larvas/tubo). Foram preparados tubos de ensaio, em triplicata, num volume final de 10 mL, para teste dos extratos *Conyza bonariensis* folhas e raízes e *Macrosiphonia velame* nas concentrações de 0,1, 10, 60, 100, 300, 600, 1.000, 2.500 e 5.000 µg/mL usando-se como padrão o sulfato de quinidina (controle positivo), e o próprio sal marinho 3% como controle negativo.

Após 24 h, com auxílio de uma lupa estereoscópica, realizou-se a contagem das larvas mortas (sem movimentos) e vivas (com movimentos), para cálculo da percentagem de larvas mortas, usando-se a média de cada triplicata e assim determinar a Concentração Letal Mediana 50 - CL₅₀, com intervalo de confiança de 95%.

4.8. Teste hipocrático^{97,98}

Foram utilizados camundongos albinos Swiss Webster pesando entre 25-30g. Testou-se quatro doses de cada planta (500, 1.000, 2.000 e 5.000 mg/kg), para avaliação de cada dose utilizou-se um grupo com quatro animais cada, sendo que três deles receberam por via oral o extrato e o quarto recebeu o veículo (10 mL/kg). Todos os animais foram observados individualmente em campo aberto após a administração do extrato, nos tempos 0 (antes) e 15,

30 min. 1, 2, 4 e 8 h e, uma vez, a cada dia, por um período de 14 dias, de acordo com a resolução - RE N° 90 de 2004 da Anvisa.⁹⁹ Os resultados das observações comportamentais gerais foram anotados em tabela adaptada do trabalho de Malone.⁹⁷

4.9. Infecção Sistêmica em Camundongos^{100,101}

Para os experimentos de infecção sistêmica foram usadas as plantas *Conyza bonariensis* (folhas e raízes) e *Macrosiphonia velame* e duas cepas bacterianas, *Staphylococcus aureus* (bactéria gram-positiva) e a *Escherichia coli* (bactéria gram-negativa). Foram separados 10 grupos de 10 camundongos cada, Swiss albinos machos e fêmeas, pesando entre 25-30 gramas. O grupo controle recebeu água destilada (veículo) via oral e o grupo padrão recebeu meropenem (Biochimico[®]) 20 mg/kg, via subcutânea, como tratamento. Nos grupos testes, diferentes doses (0,01; 0,1; 1; 10; 50; 100; 200; 300 e 500 mg/kg) do EHMv e dos EMCb foram testadas via oral. As cepas bacterianas foram repicadas 24 horas antecedentes ao experimento em ágar Nutritivo (Biobrás[®]).

O inóculo bacteriano da *S. aureus* foi ajustado à escala 6 (21×10^8 UFC/mL) e da *K. pneumonia* à escala 3 (9×10^8 UFC/mL) de MacFarland, sendo estas as concentrações bacterianas capazes de induzir a infecção sistêmica nos animais. A infecção bacteriana foi induzida pela administração intraperitoneal (0,2 mL) da suspensão bacteriana em caldo BHI (Biobrás[®]). O tratamento dos animais foram feitos imediatamente e 4 horas após a inoculação dos animais. Os animais foram observados por 14 dias, verificando a porcentagem de mortalidade dos animais. Foi determinado a dose efetiva mediana 50% (DE₅₀), segundo o método de probitos e regressão linear para a razão de sobrevivência após os 14 dias de observação dos animais.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os valores experimentais obtidos no modelo de infecção sistêmica em camundongos foram expressos como média \pm desvio padrão da média (D.P.M.) segundo o método de probitos e regressão linear.

RESULTADOS

6.1. Determinação dos pesos secos e rendimentos dos extratos das plantas

Na **Tabela 3** são mostrados os pesos secos e rendimentos dos extratos brutos das folhas e caule de *Anacardium humille*, e das folhas de *Cecropia pachystachyaa*, *Gossypium barbadense* e *Plantago major*. Os pesos secos variaram entre 87,45 a 93,22 % com rendimento entre 0,11 a 1,35 %.

TABELA 3 - Pesos secos e rendimentos dos extratos das folhas e caule de *Anacardium humille*, e das folhas de *Cecropia pachystachyaa*, *Gossypium barbadense* e *Plantago major*.

Espécie	Parte da Planta	Extrato	Rendimento (%)	Peso seco (mg %)
<i>Anacardium humille</i>	Folhas	Metanol	1,35	92,44
<i>Anacardium humille</i>	Caule	Metanol	0,86	89,7
<i>Cecropia pachystachyaa</i>	Folhas	Metanol	0,75	87,45
<i>Gossypium barbadense</i>	Folhas	Metanol	0,43	92,43
<i>Plantago major</i>	Folhas	Metanol	0,11	93,22

6.2. Ensaio de Difusão em Disco

Os resultados antibacterianos do ensaio de difusão em disco estão apresentados nas **Tabelas de 4 a 18**. O cloranfenicol (30 µg/disco), droga padrão utilizada como controle positivo para as bactérias gram positivas e gram negativas, exibiu larga zona de inibição de crescimento (25 - 33 mm). A anfotericina B utilizada como controle positivo para os fungos exibiu zona de inibição de crescimento (11 - 25 mm). Os extratos metanólicos das plantas *Cariniana rubra*, *Stryphnodendron obovatum*, *Anacardium humile* (folhas) e *Strychnos pseudoquina* nas doses de 0,009 a 20 µg/disco foram inativos (**Tabelas 4, 5, 6 e 7**).

TABELA 4 - Triagem da atividade antibacteriana do extrato metanólico das folhas da *Cariniana rubra* (Jequitibá) pelo método de difusão em disco.

	Dose (µg/disco)	Diâmetro dos halos de inibição (mm)								
		Bactérias								
		<i>Ef</i>	<i>Sa</i>	<i>Sp</i>	<i>Ec</i>	<i>Kp</i>	<i>Pa</i>	<i>Sf</i>	<i>Pm</i>	<i>Ea</i>
<i>Cariniana rubra</i>	20	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b
	10	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b
	5	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b
	2,5	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b
	0,615	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b
	0,313	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b
	0,156	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b
	0,077	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b
	0,039	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b
	0,019	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b
0,009	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	
Cloranfenicol	30	30	30	30	28	25	25	30	28	28

Ef = *Enterococcus faecalis*; *Sa* = *Staphylococcus aureus*; *Sp* = *Streptococcus pyogenes*; *Ec* = *Escherichia coli*; *Kp* = *Klebsiella pneumoniae*; *Pa* = *Pseudomonas aeruginosa*; *Sf* = *Shigella flexneri*; *Pm* = *Proteus mirabilis*; *Ea* = *Enterobacter aerogenes*; --b = ausência crescimento bacteriano

TABELA 5 - Triagem da atividade antibacteriana do extrato metanólico da entrecasca do *Stryphnodendron obovatum* (barbatimão) pelo método de difusão em disco.

	Dose (µg/disco)	Diâmetro dos halos de inibição (mm)								
		Bactérias								
		<i>Ef</i>	<i>Sa</i>	<i>Sp</i>	<i>Ec</i>	<i>Kp</i>	<i>Pa</i>	<i>Sf</i>	<i>Pm</i>	<i>Ea</i>
<i>Stryphnodendron obovatum</i>	20	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b
	10	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b
	5	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b
	2,5	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b
	0,615	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b
	0,313	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b
	0,156	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b
	0,077	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b
	0,039	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b
	0,019	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b
0,009	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	
Cloranfenicol	30	30	30	30	28	25	25	30	28	28

Ef = *Enterococcus faecalis*; *Sa* = *Staphylococcus aureus*; *Sp* = *Streptococcus pyogenes*; *Ec* = *Escherichia coli*; *Kp* = *Klebsiella pneumoniae*; *Pa* = *Pseudomonas aeruginosa*; *Sf* = *Shigella flexneri*; *Pm* = *Proteus mirabilis*; *Ea* = *Enterobacter aerogenes*; --b = ausência crescimento bacteriano

TABELA 6 - Triagem da atividade antibacteriana do extrato metanólico das Folhas do *Anacardium humile* (Cajuzinho do Campo) pelo método de difusão em disco.

	Dose (µg/disco)	Diâmetro dos halos de inibição (mm)								
		Bactérias								
		<i>Ef</i>	<i>As</i>	<i>Sp</i>	<i>Ec</i>	<i>Kp</i>	<i>Pa</i>	<i>Sf</i>	<i>Pm</i>	<i>Ea</i>
<i>Anacardium humile</i>	20	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	10	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	5	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	2,5	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	0,615	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	0,313	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	0,156	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	0,077	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	0,039	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	0,019	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	0,009	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
Cloranfenicol	30	30	30	30	28	25	25	30	28	28

Ef = *Enterococcus faecalis*; *Sa* = *Staphylococcus aureus*; *Sp* = *Streptococcus pyogenes*; *Ec* = *Escherichia coli*; *Kp* = *Klebsiella pneumoniae*; *Pa* = *Pseudomonas aeruginosa*; *Sf* = *Shigella flexneri*; *Pm* = *Proteus mirabilis*; *Ea* = *Enterobacter aerogenes*; --b = ausência crescimento bacteriano

TABELA 7 - Triagem da atividade antibacteriana do extrato hidroetanólico da entrecasca da *Strychnos pseudoquina* (Falsa quina) pelo método de difusão em disco.

	Dose (µg/disco)	Diâmetro dos halos de inibição (mm)								
		Bactérias								
		<i>Ef</i>	<i>As</i>	<i>Sp</i>	<i>Ec</i>	<i>Kp</i>	<i>Pa</i>	<i>Sf</i>	<i>Pm</i>	<i>Ea</i>
<i>Strychnos pseudoquina</i>	20	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	10	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	5	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	2,5	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	0,615	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	0,313	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	0,156	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	0,077	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	0,039	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	0,019	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	0,009	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
Cloranfenicol	30	30	30	30	28	25	25	30	28	28

Ef = *Enterococcus faecalis*; *Sa* = *Staphylococcus aureus*; *Sp* = *Streptococcus pyogenes*; *Ec* = *Escherichia coli*; *Kp* = *Klebsiella pneumoniae*; *Pa* = *Pseudomonas aeruginosa*; *Sf* = *Shigella flexneri*; *Pm* = *Proteus mirabilis*; *Ea* = *Enterobacter aerogenes*; --b = ausência crescimento bacteriano

O extrato metanólico da entrecasca da *Lafoensia pacari* mostrou-se ativo para *S. aureus* e *E. aerogenes* formando zona de inibição de 10 e 11 mm (**Tabela 8**). Enquanto que o extrato metanólico do caule da *Anacardium humile* mostrou-se ativo somente para *E. coli* formando zona de inibição de 10 mm (**Tabela 9**).

O extrato metanólico da entrecasca da *Tabebuia impetiginosa* mostrou-se ativo para *E. faecalis*, *E. coli* formando zona de inibição de 10 e 12 mm nas doses de 0,009 a 20 µg/disco (**Tabela 10**).

TABELA 8 - Triagem da atividade antibacteriana do extrato metanólico da entrecasca da *Lafoensia pacari* (Mangava brava) pelo método de difusão em disco.

	Dose (µg/disco)	Diâmetro dos halos de inibição (mm)								
		Bactérias								
		<i>Ef</i>	<i>Sa</i>	<i>Sp</i>	<i>Ec</i>	<i>Kp</i>	<i>Pa</i>	<i>Sf</i>	<i>Pm</i>	<i>Ea</i>
<i>Lafoensia pacari</i>	20	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	10	-- b	10 mm	-- b						
	5	-- b	10 mm	-- b	11 mm					
	2,5	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	0,615	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	0,313	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	0,156	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	0,077	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	0,039	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	10 mm
	0,019	-- b	10 mm	-- b						
	0,009	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
Cloranfenicol	30	30	30	30	28	25	25	30	28	28

Ef = *Enterococcus faecalis*; *Sa* = *Staphylococcus aureus*; *Sp* = *Streptococcus pyogenes*; *Ec* = *Escherichia coli*; *Kp* = *Klebsiella pneumoniae*; *Pa* = *Pseudomonas aeruginosa*; *Sf* = *Shigella flexneri*; *Pm* = *Proteus mirabilis*; *Ea* = *Enterobacter aerogenes*; --b = ausência crescimento bacteriano

TABELA 9 - Triagem da atividade antibacteriana do extrato metanólico do Caule do *Anacardium humile* (Cajuzinho do Campo) pelo método de difusão em disco.

	Dose ($\mu\text{g}/\text{disco}$)	Diâmetro dos halos de inibição (mm)								
		Bactérias								
		<i>Ef</i>	<i>Sa</i>	<i>Sp</i>	<i>Ec</i>	<i>Kp</i>	<i>Pa</i>	<i>Sf</i>	<i>Pm</i>	<i>Ea</i>
<i>Anacardium humile</i>	20	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b
	10	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b
	5	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b
	2,5	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b
	0,615	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b
	0,313	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b
	0,156	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b
	0,077	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b
	0,039	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b
	0,019	--b	--b	--b	10 mm	--b	--b	--b	--b	--b
0,009	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	
Cloranfenicol	30	30	30	30	28	25	25	30	28	28

Ef = *Enterococcus faecalis*; *Sa* = *Staphylococcus aureus*; *Sp* = *Streptococcus pyogenes*; *Ec* = *Escherichia coli*; *Kp* = *Klebsiella pneumoniae*; *Pa* = *Pseudomonas aeruginosa*; *Sf* = *Shigella flexneri*; *Pm* = *Proteus mirabilis*; *Ea* = *Enterobacter aerogenes*; --b = ausência crescimento bacteriano

TABELA 10 - Triagem da atividade antibacteriana do extrato metanólico da entrecasca da *Tabebuia impetiginosa* (Ipê roxo) pelo método de difusão em disco.

	Dose ($\mu\text{g}/\text{disco}$)	Diâmetro dos halos de inibição (mm)								
		Bactérias								
		<i>Ef</i>	<i>Sa</i>	<i>Sp</i>	<i>Ec</i>	<i>Kp</i>	<i>Pa</i>	<i>Sf</i>	<i>Pm</i>	<i>Ea</i>
<i>Tabebuia impetiginosa</i>	20	10 mm	--b							
	10	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b
	5	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b
	2,5	10 mm	--b							
	0,615	10 mm	--b	--b	12 mm	--b	--b	--b	--b	--b
	0,313	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b
	0,156	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b
	0,077	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b
	0,039	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b
	0,019	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b
	0,009	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b	--b
Cloranfenicol	30	30	30	30	28	25	25	30	28	28

Ef = *Enterococcus faecalis*; *Sa* = *Staphylococcus aureus*; *Sp* = *Streptococcus pyogenes*; *Ec* = *Escherichia coli*; *Kp* = *Klebsiella pneumoniae*; *Pa* = *Pseudomonas aeruginosa*; *Sf* = *Shigella flexneri*; *Pm* = *Proteus mirabilis*; *Ea* = *Enterobacter aerogenes*; --b = ausência crescimento bacteriano

O extrato metanólico das folhas do *Gossypium barbadense* mostrou-se ativo para *E. faecalis*, *S. aureus*, *E. coli* e *P. aeruginosa* formando zona de inibição de 10 a 12 mm (**Tabela 11**). Entretanto o extrato metanólico das folhas da *Plantago major* mostrou-se ativo para *E. faecalis* e *E. aerogenes* formando zona de inibição de 10 a 16 mm (**Tabela 12**).

O extrato metanólico das folhas da *Cecropia pachystachyaa* mostrou-se ativo para *S. aureus* formando zona de inibição de 10 e 12 mm (**Tabela 13**).

No entanto o extrato etanólico da vagem + semente da *Caesalpinia ferrea* mostrou-se ativo para *E. faecalis*, e *E. coli*, formando zona de inibição de 10 a 14 mm (**Tabela 14**).

TABELA 11 - Triagem da atividade antibacteriana do extrato metanólico das folhas do *Gossypium barbadense* (Algodão) pelo método de difusão em disco.

	Dose (µg/disco)	Diâmetro dos halos de inibição (mm)								
		Bactérias								
		<i>Ef</i>	<i>Sa</i>	<i>Sp</i>	<i>Ec</i>	<i>Kp</i>	<i>Pa</i>	<i>Sf</i>	<i>Pm</i>	<i>Ea</i>
<i>Gossypium barbadense</i>	20	12 mm	-- b	-- b	-- b	-- b	10 mm	-- b	-- b	-- b
	10	10 mm	10 mm	-- b						
	5	10 mm	10 mm	-- b						
	2,5	-- b	10 mm	-- b						
	0,615	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	0,313	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	0,156	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	0,077	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	0,039	-- b	-- b	-- b	12 mm	-- b				
	0,019	-- b	-- b	-- b	11 mm	-- b				
	0,009	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
Cloranfenicol	30	30	30	30	28	25	25	30	28	28

Ef = *Enterococcus faecalis*; *Sa* = *Staphylococcus aureus*; *Sp* = *Streptococcus pyogenes*; *Ec* = *Escherichia coli*; *Kp* = *Klebsiella pneumoniae*; *Pa* = *Pseudomonas aeruginosa*; *Sf* = *Shigella flexneri*; *Pm* = *Proteus mirabilis*; *Ea* = *Enterobacter aerogenes*; --b = ausência crescimento bacteriano

TABELA 12 - Triagem da atividade antibacteriana do extrato metanólico das folhas do *Plantago major* (Tanchagem) pelo método de difusão em disco.

	Dose (µg/disco)	Diâmetro dos halos de inibição (mm)								
		Bactérias								
		<i>Ef</i>	<i>Sa</i>	<i>Sp</i>	<i>Ec</i>	<i>Kp</i>	<i>Pa</i>	<i>Sf</i>	<i>Pm</i>	<i>Ea</i>
<i>Plantago major</i>	20	16 mm	-- b							
	10	15 mm	-- b							
	5	13 mm	-- b	10 mm						
	2,5	11 mm	-- b							
	0,615	10 mm	-- b							
	0,313	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	0,156	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	0,077	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	0,039	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	0,019	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	0,009	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
Cloranfenicol	30	30	30	30	28	25	25	30	28	28

Ef = *Enterococcus faecalis*; *Sa* = *Staphylococcus aureus*; *Sp* = *Streptococcus pyogenes*; *Ec* = *Escherichia coli*; *Kp* = *Klebsiella pneumoniae*; *Pa* = *Pseudomonas aeruginosa*; *Sf* = *Shigella flexneri*; *Pm* = *Proteus mirabilis*; *Ea* = *Enterobacter aerogenes*; --b = ausência crescimento bacteriano

TABELA 13 - Triagem da atividade antibacteriana do extrato metanólico das folhas do *Cecropia pachystachyaa* (Embaúba) pelo método de difusão em disco.

	Dose (µg/disco)	Diâmetro dos halos de inibição (mm)								
		Bactérias								
		<i>Ef</i>	<i>Sa</i>	<i>Sp</i>	<i>Ec</i>	<i>Kp</i>	<i>Pa</i>	<i>Sf</i>	<i>Pm</i>	<i>Ea</i>
<i>Cecropia pachystachyaa</i>	20	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	10	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	5	-- b	10 mm	-- b						
	2,5	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	0,615	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	0,313	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	0,156	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	0,077	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	0,039	-- b	12 mm	-- b						
	0,019	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	0,009	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
Cloranfenicol	30	30	30	30	28	25	25	30	28	28

Ef = *Enterococcus faecalis*; *Sa* = *Staphylococcus aureus*; *Sp* = *Streptococcus pyogenes*; *Ec* = *Escherichia coli*; *Kp* = *Klebsiella pneumoniae*; *Pa* = *Pseudomonas aeruginosa*; *Sf* = *Shigella flexneri*; *Pm* = *Proteus mirabilis*; *Ea* = *Enterobacter aerogenes*; --b = ausência crescimento bacteriano

Tabela 14. Triagem da atividade antibacteriana do extrato etanólico da vagem + semente do *Caesalpinia ferrea* (Jucá) pelo método de difusão em disco.

	Dose (µg/disco)	Diâmetro dos halos de inibição (mm)								
		Bactérias								
		<i>Ef</i>	<i>As</i>	<i>Sp</i>	<i>Ec</i>	<i>Kp</i>	<i>Pa</i>	<i>Sf</i>	<i>Pm</i>	<i>Ea</i>
<i>Caesalpinia ferrea</i>	20	10 mm	-- b							
	10	-- b	-- b	-- b	12 mm	-- b				
	5	-- b	-- b	-- b	12 mm	-- b				
	2,5	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	0,615	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	0,313	-- b	-- b	-- b	10 mm	-- b				
	0,156	-- b	-- b	-- b	10 mm	-- b				
	0,077	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	0,039	-- b	-- b	-- b	11 mm	-- b				
	0,019	-- b	-- b	-- b	14 mm	-- b				
0,009	-- b	-- b	-- b	12 mm	-- b					
Cloranfenicol	30	30	30	30	28	25	25	30	28	28

Ef = *Enterococcus faecalis*; *Sa* = *Staphylococcus aureus*; *Sp* = *Streptococcus pyogenes*; *Ec* = *Escherichia coli*; *Kp* = *Klebsiella pneumoniae*; *Pa* = *Pseudomonas aeruginosa*; *Sf* = *Shigella flexneri*; *Pm* = *Proteus mirabilis*; *Ea* = *Enterobacter aerogenes*; --b = ausência crescimento bacteriano

Enquanto que o extrato aquoso vagem + semente desta planta mostrou-se ativo para *P. aeruginosa* e *E. faecalis*, formando zona de inibição de 11 a 12 mm (**Tabela 15**).

O extrato hidroetanólico do xilopódio da *Macrosiphonia velame* mostrou-se ativo para *E. faecalis*, formando zona de inibição de 10 a 22 mm nas doses de 0,009 a 20 µg/disco (**Tabela 16**).

O extrato metanólico das folhas da *Conyza bonariensis* mostrou-se ativo para *E. faecalis* e *S. pyogenes*, formando zona de inibição de 10 a 16 mm (**Tabela 17**), porém o extrato metanólico da raízes desta planta mostrou-se ativo para *E. faecalis* e *E. aerogenes*, formando zona de inibição de 10 a 13 mm (**Tabela 18**).

TABELA 15 - Triagem da atividade antibacteriana do extrato aquoso da vagem + semente do *Caesalpinia ferrea* (Jucá) pelo método de difusão em disco.

	Dose (µg/disco)	Diâmetro dos halos de inibição (mm)								
		Bactérias								
		<i>Ef</i>	<i>Sa</i>	<i>Sp</i>	<i>Ec</i>	<i>Kp</i>	<i>Pa</i>	<i>Sf</i>	<i>Pm</i>	<i>Ea</i>
<i>Caesalpinia ferrea</i>	20	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	11 mm	-- b	-- b	-- b
	10	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	5	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	2,5	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	0,615	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	0,313	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	0,156	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	0,077	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	0,039	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	0,019	12 mm	-- b							
0,009	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	
Cloranfenicol	30	30	30	30	28	25	25	30	28	28

Ef = *Enterococcus faecalis*; *Sa* = *Staphylococcus aureus*; *Sp* = *Streptococcus pyogenes*; *Ec* = *Escherichia coli*; *Kp* = *Klebsiella pneumoniae*; *Pa* = *Pseudomonas aeruginosa*; *Sf* = *Shigella flexneri*; *Pm* = *Proteus mirabilis*; *Ea* = *Enterobacter aerogenes*; --b = ausência crescimento bacteriano

TABELA 16 - Triagem da atividade antibacteriana do extrato hidroetanólico do xilopódio da *Macrosiphonia velame* (Velame) pelo método de difusão em disco.

	Dose (µg/disco)	Diâmetro dos halos de inibição (mm)								
		Bactérias								
		<i>Ef</i>	<i>Sa</i>	<i>Sp</i>	<i>Ec</i>	<i>Kp</i>	<i>Pa</i>	<i>Sf</i>	<i>Pm</i>	<i>Ea</i>
<i>Macrosiphonia velame</i>	20	22 mm	-- b							
	10	13 mm	-- b							
	5	15 mm	-- b							
	2,5	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	0,615	22 mm	-- b							
	0,313	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	0,156	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	0,077	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	0,039	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	0,019	10 mm	-- b							
	0,009	15 mm	-- b							
Cloranfenicol	30	30	30	30	28	25	25	30	28	28

Ef = *Enterococcus faecalis*; *Sa* = *Staphylococcus aureus*; *Sp* = *Streptococcus pyogenes*; *Ec* = *Escherichia coli*; *Kp* = *Klebsiella pneumoniae*; *Pa* = *Pseudomonas aeruginosa*; *Sf* = *Shigella flexneri*; *Pm* = *Proteus mirabilis*; *Ea* = *Enterobacter aerogenes*; --b = ausência crescimento bacteriano

TABELA 17 - Triagem da atividade antibacteriana do extrato do extrato metanólico das folhas da *Conyza bonariensis* (Margaridinha do Campo) pelo método de difusão em disco.

	Dose (µg/disco)	Diâmetro dos halos de inibição (mm)								
		Bactérias								
		<i>Ef</i>	<i>Sa</i>	<i>Sp</i>	<i>Ec</i>	<i>Kp</i>	<i>Pa</i>	<i>Sf</i>	<i>Pm</i>	<i>Ea</i>
<i>Conyza bonariensis</i>	20	14 mm	-- b	16 mm	-- b					
	10	13 mm	-- b	15 mm	-- b					
	5	-- b	-- b	12 mm	-- b					
	2,5	-- b	-- b	10 mm	-- b					
	0,615	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	0,313	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	0,156	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	0,077	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	0,039	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	0,019	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
0,009	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	
Cloranfenicol	30	30	30	30	28	25	25	30	28	28

Ef = *Enterococcus faecalis*; *Sa* = *Staphylococcus aureus*; *Sp* = *Streptococcus pyogenes*; *Ec* = *Escherichia coli*; *Kp* = *Klebsiella pneumoniae*; *Pa* = *Pseudomonas aeruginosa*; *Sf* = *Shigella flexneri*; *Pm* = *Proteus mirabilis*; *Ea* = *Enterobacter aerogenes*; --b = ausência crescimento bacteriano

TABELA 18 - Triagem da atividade antibacteriana do extrato do extrato metanólico da raízes da *Conyza bonariensis* (Margaridinha do Campo) pelo método de difusão em disco.

	Dose (µg/disco)	Diâmetro dos halos de inibição (mm)								
		Bactérias								
		<i>Ef</i>	<i>As</i>	<i>Sp</i>	<i>Ec</i>	<i>Kp</i>	<i>Pa</i>	<i>Sf</i>	<i>Pm</i>	<i>Ea</i>
<i>Conyza bonariensis</i>	20	11 mm	-- b	13 mm						
	10	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	5	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	10 mm
	2,5	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	0,615	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	0,313	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	0,156	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	0,077	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	0,039	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
	0,019	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b
0,009	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	-- b	
Cloranfenicol	30	30	30	30	28	25	25	30	28	28

Ef = *Enterococcus faecalis*; *Sa* = *Staphylococcus aureus*; *Sp* = *Streptococcus pyogenes*; *Ec* = *Escherichia coli*; *Kp* = *Klebsiella pneumoniae*; *Pa* = *Pseudomonas aeruginosa*; *Sf* = *Shigella flexneri*; *Pm* = *Proteus mirabilis*; *Ea* = *Enterobacter aerogenes*; --b = ausência crescimento bacteriano

Os resultados antifúngicos do ensaio de difusão em disco estão apresentados nas **Tabelas de 19 a 33**. A anfotericina B, droga padrão quando utilizada como controle positivo para as *Candidas*, exibiu zona de inibição de crescimento de 11 e 25 mm.

Os extratos metanólicos das plantas *Stryphnodendron obovatum*, *Anacardium humile* (folhas), *Tabebuia impetiginosa*, *Cecropia pachystachya*, *Conyza bonariensis* e o extrato etanólico da *Caesalpinia ferrea*, nas doses de 0,009 a 20 µg/disco foram inativos. (**Tabelas 19, 20, 21, 22, 23, 24 e 25**).

TABELA 19 - Triagem da atividade antifúngica do extrato metanólico da entrecasca do *Stryphnodendron obovatum* (barbatimão) pelo método de difusão em disco.

		Diâmetro do halo de inibição (mm)				
		Fungos				
	Dose (µg/disco)	<i>Candida kruzei</i> ATCC 6258	<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 40058	<i>Candida glabrata</i> ATCC 90030	<i>Candida albicans</i> ATCC 64550	<i>Candida albicans</i> ATCC10231
<i>Stryphnodendron obovatum</i>	20	--b	--b	--b	--b	--b
	10	--b	--b	--b	--b	--b
	5	--b	--b	--b	--b	--b
	2,5	--b	--b	--b	--b	--b
	0,615	--b	--b	--b	--b	--b
	0,313	--b	--b	--b	--b	--b
	0,156	--b	--b	--b	--b	--b
	0,077	--b	--b	--b	--b	--b
	0,039	--b	--b	--b	--b	--b
	0,019	--b	--b	--b	--b	--b
0,009	--b	--b	--b	--b	--b	
Anfotericina B	100	11	20	18	18	25

TABELA 20 - Triagem da atividade antifúngica do extrato metanólico das folhas do *Anacardium humile* (Cajuzinho do Campo) pelo método de difusão em disco.

	Diâmetro do halo de inibição (mm)					
	Fungos					
	Dose (µg/disco)	<i>Candida kruzei</i> ATCC 6258	<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 40058	<i>Candida glabrata</i> ATCC 90030	<i>Candida albicans</i> ATCC 64550	<i>Candida albicans</i> ATCC10231
<i>Anacardium humile</i>	20	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	10	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	5	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	2,5	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,615	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,313	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,156	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,077	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,039	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,019	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
0,009	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	
Anfotericina B	100	11	20	18	18	25

TABELA 21 - Triagem da atividade antifúngica do extrato metanólico do caule do *Anacardium humile* (Cajuzinho do Campo) pelo método de difusão em disco.

	Diâmetro do halo de inibição (mm)					
	Fungos					
	Dose (µg/disco)	<i>Candida kruzei</i> ATCC 6258	<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 40058	<i>Candida glabrata</i> ATCC 90030	<i>Candida albicans</i> ATCC 64550	<i>Candida albicans</i> ATCC10231
<i>Anacardium humile</i>	20	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	10	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	5	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	2,5	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,615	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,313	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,156	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,077	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,039	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,019	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
0,009	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	
Anfotericina B	100	11	20	18	18	25

TABELA 22 - Triagem da atividade antifúngica do extrato metanólico da entrecasca da *Tabebuia impetiginosa* (Ipê roxo) pelo método de difusão em disco.

	Diâmetro do halo de inibição (mm)					
	Fungos					
	Dose (µg/disco)	<i>Candida kruzei</i> ATCC 6258	<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 40058	<i>Candida glabrata</i> ATCC 90030	<i>Candida albicans</i> ATCC 64550	<i>Candida albicans</i> ATCC10231
<i>Tabebuia impetiginosa</i>	20	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	10	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	5	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	2,5	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,615	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,313	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,156	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,077	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,039	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,019	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,009	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
Anfotericina B	100	11	20	18	18	25

TABELA 23 - Triagem da atividade antifúngica do extrato metanólico das folhas do *Cecropia pachystachya* (Embaúba) pelo método de difusão em disco

	Diâmetro do halo de inibição (mm)					
	Fungos					
	Dose (µg/disco)	<i>Candida kruzei</i> ATCC 6258	<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 40058	<i>Candida glabrata</i> ATCC 90030	<i>Candida albicans</i> ATCC 64550	<i>Candida albicans</i> ATCC10231
<i>Cecropia pachystachya</i>	20	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	10	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	5	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	2,5	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,615	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,313	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,156	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,077	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,039	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,019	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,009	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
Anfotericina B	100	11	20	18	18	25

TABELA 24 - Triagem da atividade antifúngica do extrato etanólico da vagem + semente da *Caesalpinia ferrea* (Jucá) pelo método de difusão em disco.

	Diâmetro do halo de inibição (mm)					
	Fungos					
	Dose (µg/disco)	<i>Candida kruzei</i> ATCC 6258	<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 40058	<i>Candida glabrata</i> ATCC 90030	<i>Candida albicans</i> ATCC 64550	<i>Candida albicans</i> ATCC10231
<i>Caesalpinia ferrea</i>	20	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	10	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	5	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	2,5	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,615	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,313	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,156	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,077	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,039	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,019	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,009	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
Anfotericina B	100	11	20	18	18	25

TABELA 25 - Triagem da atividade antifúngica do extrato metanólico da raízes da *Conyza bonariensis* (Margaridinha do Campo) pelo método de difusão em disco

	Diâmetro do halo de inibição (mm)					
	Fungos					
	Dose (µg/disco)	<i>Candida kruzei</i> ATCC 6258	<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 40058	<i>Candida glabrata</i> ATCC 90030	<i>Candida albicans</i> ATCC 64550	<i>Candida albicans</i> ATCC10231
<i>Conyza bonariensis</i>	20	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	10	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	5	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	2,5	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,615	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,313	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,156	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,077	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,039	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,019	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,009	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
Anfotericina B	100	11	20	18	18	25

O extrato metanólico das folhas da *Cariniana rubra* mostrou-se ativo para *C. albicans* ATCC 63540 formando zona de inibição de 13 mm (**Tabela 26**).

O extrato metanólico da entrecasca da *Lafoensia pacari* mostrou-se ativo para *C. parapsilosis* e *C. albicans* ATCC 10131 formando zona de inibição de 10 e 13 mm (**Tabela 27**).

O extrato metanólico das folhas do *Gossypium barbadense* mostrou-se ativo para *C. kruzei*, *C. parapsilosis* e *C. glabrata* formando zona de inibição de 10 mm (**Tabela 28**).

TABELA 26 - Triagem da atividade antifúngica do extrato metanólico das folhas da *Cariniana rubra* (Jequitibá) pelo método de difusão em disco.

	Diâmetro do halo de inibição (mm)					
	Dose (µg/disco)	Fungos				
		<i>Candida kruzei</i> ATCC 6258	<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 40058	<i>Candida glabrata</i> ATCC 90030	<i>Candida albicans</i> ATCC 64550	<i>Candida albicans</i> ATCC10231
<i>Cariniana rubra</i>	20	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	10	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	5	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	2,5	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,615	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,313	-- ^b	-- ^b	-- ^b	13 mm	-- ^b
	0,156	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,077	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,039	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,019	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,009	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
Anfotericina B	100	11	20	18	18	25

TABELA 27 - Triagem da atividade antifúngica do extrato metanólico da entrecasca da *Lafoensia pacari* (Mangava brava) pelo método de difusão em disco.

	Diâmetro do halo de inibição (mm)					
	Fungos					
	Dose (µg/disco)	<i>Candida kruzei</i> ATCC 6258	<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 40058	<i>Candida glabrata</i> ATCC 90030	<i>Candida albicans</i> ATCC 64550	<i>Candida albicans</i> ATCC10231
<i>Lafoensia pacari</i>	20	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	10	-- ^b	10 mm	-- ^b	-- ^b	10 mm
	5	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	2,5	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,615	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	10 mm
	0,313	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,156	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,077	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,039	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,019	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	13 mm
	0,009	-- ^b	10 mm	-- ^b	-- ^b	10 mm
Anfotericina B	100	11	20	18	18	25

TABELA 28 - Triagem da atividade antifúngica do extrato metanólico das folhas do *Gossypium barbadense* (Algodão) pelo método de difusão em disco.

	Diâmetro do halo de inibição (mm)					
	Fungos					
	Dose (µg/disco)	<i>Candida kruzei</i> ATCC 6258	<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 40058	<i>Candida glabrata</i> ATCC 90030	<i>Candida albicans</i> ATCC 64550	<i>Candida albicans</i> ATCC10231
<i>Gossypium barbadense</i>	20	10 mm	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	10	10 mm	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	5	10 mm	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	2,5	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,615	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,313	-- ^b	-- ^b	10 mm	-- ^b	-- ^b
	0,156	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,077	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,039	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,019	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,009	-- ^b	10 mm	-- ^b	-- ^b	-- ^b
Anfotericina B	100	11	20	18	18	25

O extrato metanólico das folhas da *Plantago major* mostrou-se ativo somente para *C. parapsilosis* formando zona de inibição de 15 mm (**Tabela 29**). O extrato aquoso da vagem + semente da *Caesalpinia ferrea* mostrou-se ativo para *C. parapsilosis*, *C. glabrata* e *C. albicans* ATCC 10131, formando zona de inibição de 10 a 13 mm nas doses de 0,009 a a 20 µg/disco (**Tabela 30**). No entanto o extrato hidroetanólico do xilopódio da *Macrosiphonia velame* mostrou-se ativo para *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. albicans* ATCC 10131, formando zona de inibição de 10 e 11 mm (**Tabela 31**).

Enquanto o extrato metanólico das folhas da *Conyza bonariensis* mostrou-se ativo para *C. kruzei*, *C. parapsilosis*, *C. albicans* ATCC 63540 e *C. albicans* ATCC 10131 formando zona de inibição de 10 a 15 mm (**Tabela 32**). Já o extrato hidroetanólico da entrecasca da *Strychnos pseudoquina* mostrou-se ativo para *C. kruzei*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata* e *C. albicans* ATCC 10131, formando zona de inibição de 10 a 13 mm (**Tabela 33**).

TABELA 29 - Triagem da atividade antifúngica do extrato metanólico das folhas do *Plantago major* (Tanchagem) pelo método de difusão em disco.

	Dose (µg/disco)	Diâmetro do halo de inibição (mm)				
		Fungos				
		<i>Candida kruzei</i> ATCC 6258	<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 40058	<i>Candida glabrata</i> ATCC 90030	<i>Candida albicans</i> ATCC 64550	<i>Candida albicans</i> ATCC10231
<i>Plantago major</i>	20	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	10	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	5	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	2,5	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,615	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,313	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,156	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,077	-- ^b	15 mm	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,039	-- ^b	15 mm	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,019	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,009	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
Anfotericina B	100	11	20	18	18	25

TABELA 30 - Triagem da atividade antifúngica do extrato aquoso da vagem + semente da *Caesalpinia ferrea* (Jucá) pelo método de difusão em disco.

	Diâmetro do halo de inibição (mm)					
	Fungos					
	Dose (µg/disco)	<i>Candida kruzei</i> ATCC 6258	<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 40058	<i>Candida glabrata</i> ATCC 90030	<i>Candida albicans</i> ATCC 64550	<i>Candida albicans</i> ATCC10231
<i>Caesalpinia ferrea</i>	20	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	10	-- ^b	11 mm	10 mm	-- ^b	-- ^b
	5	-- ^b	11 mm	10 mm	-- ^b	10 mm
	2,5	-- ^b	10 mm	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,615	-- ^b	11 mm	10 mm	-- ^b	-- ^b
	0,313	-- ^b	10 mm	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,156	-- ^b	10 mm	10 mm	-- ^b	12 mm
	0,077	-- ^b	-- ^b	10 mm	-- ^b	-- ^b
	0,039	-- ^b	12 mm	10 mm	-- ^b	-- ^b
	0,019	-- ^b	10 mm	-- ^b	-- ^b	12 mm
	0,009	-- ^b	10 mm	13 mm	-- ^b	10 mm
Anfotericina B	100	11	20	18	18	25

TABELA 31 - Triagem da atividade antifúngica do extrato hidroetanólico do xilopódio da *Macrosiphonia velame* (Velame) pelo método de difusão em disco.

	Diâmetro do halo de inibição (mm)					
	Fungos					
	Dose (µg/disco)	<i>Candida kruzei</i> ATCC 6258	<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 40058	<i>Candida glabrata</i> ATCC 90030	<i>Candida albicans</i> ATCC 64550	<i>Candida albicans</i> ATCC10231
<i>Macrosiphonia velame</i>	20	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	10	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	5	-- ^b	-- ^b	11 mm	-- ^b	10 mm
	2,5	-- ^b	10 mm	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,615	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,313	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,156	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,077	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,039	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,019	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,009	-- ^b	10 mm	10 mm	-- ^b	-- ^b
Anfotericina B	100	11	20	18	18	25

TABELA 32 - Triagem da atividade antifúngica do extrato metanólico das folhas da *Conyza bonariensis* (Margaridinha do Campo) pelo método de difusão em disco.

	Diâmetro do halo de inibição (mm)					
	Fungos					
	Dose (µg/disco)	<i>Candida kruzei</i> ATCC 6258	<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 40058	<i>Candida glabrata</i> ATCC 90030	<i>Candida albicans</i> ATCC 64550	<i>Candida albicans</i> ATCC10231
<i>Conyza bonariensis</i>	20	10 mm	15 mm	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	10	10 mm	15 mm	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	5	15 mm	14 mm	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	2,5	15 mm	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,615	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	10 mm
	0,313	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,156	-- ^b	10 mm	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,077	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,039	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,019	-- ^b	-- ^b	-- ^b	10 mm	-- ^b
0,009	-- ^b	-- ^b	-- ^b	10 mm	-- ^b	
Anfotericina B	100	11	20	18	18	25

TABELA 33 - Triagem da atividade antifúngica do extrato hidroetanólico da entrecasca da *Strychnos pseudoquina* (Falsa quina) pelo método de difusão em disco

	Diâmetro do halo de inibição (mm)					
	Fungos					
	Dose (µg/disco)	<i>Candida kruzei</i> ATCC 6258	<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 40058	<i>Candida glabrata</i> ATCC 90030	<i>Candida albicans</i> ATCC 64550	<i>Candida albicans</i> ATCC10231
<i>Strychnos pseudoquina</i>	20	10 mm	10 mm	10 mm	-- ^b	-- ^b
	10	10 mm	10 mm	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	5	-- ^b	10 mm	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	2,5	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	11 mm
	0,615	-- ^b	10 mm	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,313	-- ^b	11 mm	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,156	-- ^b	10 mm	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,077	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,039	-- ^b	10 mm	-- ^b	-- ^b	-- ^b
	0,019	-- ^b	13 mm	-- ^b	-- ^b	-- ^b
0,009	-- ^b	10 mm	-- ^b	-- ^b	11 mm	
Anfotericina B	100	11	20	18	18	25

6.3. Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

Este ensaio avaliou a capacidade das drogas testes em inibir o desenvolvimento microbiano *in vitro* (**Figura 8**).



FIGURA 8 - Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos extratos metanólicos, hidroetanólicos, etanólico e aquoso das plantas e das drogas padrões Cloranfenicol e Anfotericina, pelo método de diluição em microplaca.

Na **Tabela 34** são apresentados os resultados da determinação da atividade antibacteriana dos extratos metanólicos das plantas *Anacardium humile caule*, *Anacardium humile folhas*, *Cariniana rubra*, *Cecropia pachystachyaa*, *Conyza bonariensi folhas*, *Conyza bonariensi raízes*, *Gossypium barbadense*, *Lafoensia pacari*, *Plantago major*, *Stryphnodendron adstringens*, *Tabebuia impetiginosa*. O cloranfenicol foi usado como droga padrão para todos os ensaios antimicrobianos, contra as bactérias gram-positivas e gram-negativas.

A partir dos resultados apresentados pelos extratos metanólicos, *Anacardium humile caule* mostrou atividade antibacteriana moderada para *S. pyogenes*, *E. coli* e *E. aerogenes*

(CIM=250 µg/mL), e *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* e *S. flexineri* (CIM=500 µg/mL), e baixa atividade para *E. faecalis* e *P. mirabilis* (CIM=1000 µg/mL). *Anacardium humile* folhas mostrou atividade antibacteriana moderada para *S. flexineri* (CIM=250) , *S. pyogenes*, *E. aerogenes*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *P. mirabilis* (CIM=500 µg/mL), e baixa atividade para *E. faecalis* e *S. aureus* (CIM=1000 µg/mL). Enquanto *Cariniana rubra* mostrou atividade antibacteriana moderada para *P. aeruginosa* (CIM=250 µg/mL), *E. faecalis*, *S. pyogenes* (CIM=500 µg/mL), e baixa atividade para *S. aureus*, *E. aerogenes*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis* e *S. flexineri* (CIM=1000 µg/mL).

Cecropia pachystachyaa mostrou atividade antibacteriana moderada para *P. aeruginosa* (CIM=250 µg/mL), *S. pyogenes*, *E. aerogenes*, *E. coli*, *K. pneumoniae* e *P. mirabilis* (CIM=500 µg/mL), e baixa atividade para *E. faecalis*, *S. aureus* e *S. flexineri* (CIM=1000 µg/mL); porém, a *Conyza bonariensi* folhas mostrou atividade antibacteriana moderada para *E. faecalis* (CIM=250 µg/mL), *S. pyogenes*, *E. aerogenes*, *P. aeruginosa* (CIM=500 µg/mL), e baixa atividade para *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis* e *S. flexineri* (CIM=1000 µg/mL); e a *Conyza bonariensi* raízes mostrou atividade antibacteriana moderada para *E. faecalis*, *S. pyogenes*, *P. aeruginosa* (CIM=500 µg/mL), e baixa atividade para *S. aureus*, *E. aerogenes*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis* e *S. flexineri* (CIM=1000 µg/mL).

Gossypium barbadense mostrou atividade antibacteriana moderada para *E. faecalis*, *S. pyogenes*, *E. aerogenes* (CIM=250 µg/mL), *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* (CIM=500 µg/mL), e baixa atividade para *S. aureus*, *E. coli*, *P. mirabilis* e *S. flexineri* (CIM=1000 µg/mL). *Lafoensia pacari* mostrou atividade antibacteriana moderada para *S. pyogenes*, *P. aeruginosa* (CIM=5000 µg/mL), e baixa atividade para *E. faecalis*, *S. aureus*, *E. aerogenes*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis* e *S. flexineri* (CIM=1000 µg/mL). Mas, *Plantago major* mostrou atividade antibacteriana moderada para *E. faecalis*, *S. aureus*, *S. pyogenes* (CIM=500

µg/mL), e baixa atividade para *E. aerogenes*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *P. mirabilis* e *S. flexineri* (CIM=1000 µg/mL).

Stryphnodendron obovatum mostrou atividade antibacteriana moderada para *E. aerogenes* (CIM=125 µg/mL), *E. faecalis*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *P. mirabilis*, *S. flexineri* (CIM=500 µg/mL), e baixa atividade para *S. aureus*, *S. pyogenes* (CIM=1000 µg/mL), e *Tabebuia impetiginosa* mostrou atividade antibacteriana moderada para *E. faecalis* (CIM=250 µg/mL), *S. aureus*, *S. flexineri* (CIM=500 µg/mL), e baixa atividade para *S. pyogenes*, *E. aerogenes*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* e *P. mirabilis* (CIM=1000 µg/mL).

TABELA 34 - Atividade antibacteriana dos extratos metanólicos das plantas no ensaio de microdiluição em caldo.

Plantas	CIM (µg/mL)								
	<i>Ef</i>	<i>Sa</i>	<i>Sp</i>	<i>Ea</i>	<i>Ec</i>	<i>Kp</i>	<i>Pa</i>	<i>Pm</i>	<i>Sf</i>
Cloranfenicol (µg/mL)	2.0	1.0	1.0	0.5	1.0	2.0	2.0	1.0	1.0
<i>Anacardium humile caule</i>	1000	500	250	250	250	500	500	1000	500
<i>Anacardium humile folhas</i>	1000	1000	500	500	500	500	500	500	250
<i>Cariniana rubra</i>	500	1000	500	1000	1000	1000	250	1000	1000
<i>Cecropia pachystachyaa</i>	1000	1000	500	500	500	500	250	500	1000
<i>Conyza bonariensi folhas</i>	250	1000	500	500	1000	1000	500	1000	1000
<i>Conyza bonariensi raízes</i>	500	1000	500	1000	1000	1000	500	1000	1000
<i>Gossypium barbadense</i>	250	1000	250	250	1000	500	500	1000	1000
<i>Lafoensia pacari</i>	1000	1000	250	1000	1000	1000	250	1000	1000
<i>Plantago major</i>	500	500	500	1000	1000	1000	1000	1000	1000
<i>Stryphnodendron obovatum</i>	500	1000	1000	125	500	500	500	500	500
<i>Tabebuia impetiginosa</i>	250	500	1000	1000	1000	1000	1000	1000	500

Boa atividade: < 100 µg/mL; Atividade Moderada: 100 - 500 µg/mL;

Baixa atividade: > 500 - 1000 µg/mL; Inativo: > 1000 µg/mL.

Na **Tabela 35** são apresentados os resultados da determinação da atividade antibacteriana dos extratos hidroetanólicos das plantas *Macrosiphonia velame* que mostrou atividade antibacteriana moderada para *E. faecalis* (CIM=250 µg/mL) e *S. pyogenes* (CIM=500 µg/mL), e baixa atividade para *S. aureus*, *E. aerogenes*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *P. mirabilis* e *S. flexineri* (CIM=1000 µg/mL), e também da planta *Strychnos pseudoquina* com moderada atividade *E. faecalis* (CIM=250 µg/mL), *S. aureus*, *S. pyogenes*, *P. aeruginosa* (CIM=500 µg/mL), e baixa atividade para *E. aerogenes*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis* e *S. flexineri* (CIM=1000 µg/mL).

TABELA 35 - Atividade antibacteriana dos extratos hidroetanólicos das plantas no ensaio de microdiluição em caldo.

Plantas	CIM (µg/mL)								
	Bactérias								
	<i>Ef</i>	<i>As</i>	<i>Sp</i>	<i>Ea</i>	<i>Ec</i>	<i>Kp</i>	<i>Pa</i>	<i>Pm</i>	<i>Sf</i>
Cloranfênicol (µg/ml)	2.0	1.0	1.0	0.5	1.0	2.0	2.0	1.0	1.0
<i>Macrosiphonia velame</i>	125	1000	500	1000	1000	1000	1000	1000	1000
<i>Strychnos pseudoquina</i>	250	500	500	1000	1000	1000	500	1000	1000

Na **Tabela 36** são apresentados os resultados da determinação da atividade antibacteriana dos extratos aquoso e etanólico da vagem + semente da planta *Caesalpinia ferrea* que mostraram atividade antibacteriana moderada somente para *S. pyogenes* (CIM=500 µg/mL), e baixa atividade para *E. faecalis*, *S. aureus*, *E. aerogenes*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *P. mirabilis* e *S. flexineri* (CIM=1000 µg/mL).

O cloranfênicol apresentou boa atividade para todas as bactérias testadas com a CIM variando entre 0,5 e 2,0 µg/mL. A partir dos resultados apresentados, as plantas que

apresentaram melhores atividades antibacterianas foram: *Anacardium humile* caule, *Gossypium barbadense*, *Stryphnodendron obovatum* e *Macrosiphonia velame*.

TABELA 36 - Atividade antibacteriana dos extratos da vagem + semente da planta *Caesalpinia ferrea* no ensaio de microdiluição em caldo.

Plantas	CIM ($\mu\text{g/mL}$)								
	Bactérias								
	<i>Ef</i>	<i>Sa</i>	<i>Sp</i>	<i>Ea</i>	<i>Ec</i>	<i>Kp</i>	<i>Pa</i>	<i>Pm</i>	<i>Sf</i>
Cloranfenicol ($\mu\text{g/ml}$)	2.0	1.0	1.0	0.5	1.0	2.0	2.0	1.0	1.0
Extrato aquoso	1000	1000	500	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Extrato etanólico	1000	1000	500	1000	1000	1000	1000	1000	1000

Na **Tabela 37** são apresentados os resultados da determinação da atividade antifúngica dos extratos metanólicos das plantas *Anacardium humile caule*, *Anacardium humile folhas*, *Cariniana rubra*, *Cecropia pachystachyaa*, *Conyza bonariensi folhas*, *Conyza bonariensi raízes*, *Gossypium barbadense*, *Lafoensia pacari*, *Plantago major*, *Stryphnodendron adstringens*, *Tabebuia impetiginosa*. A anfotericina B foi usada como droga padrão para todos os ensaios antimicrobianos, contra os fungos candidas.

A partir dos resultados apresentados pelos extratos metanólicos, *Anacardium humile caule* mostrou atividade antifúngica moderada para *C. albicans* ATCC 63540 (CIM=250 $\mu\text{g/mL}$), e *C. albicans* ATCC 10131 e *C. glabrata* (CIM=500 $\mu\text{g/mL}$), e baixa atividade para *C. kruzei* e *C. parapsilosis* (CIM=1000 $\mu\text{g/mL}$). *Anacardium humile* folhas mostrou atividade antifúngica moderada para todas as cepas *C. albicans* ATCC 10132, *C. albicans* ATCC 63540, *C. glabrata*, *kruzei* e *C. parapsilosis* (CIM=500 $\mu\text{g/mL}$). *Cariniana rubra* mostrou atividade antifúngica moderada somente para *C. albicans* ATCC 10132 (CIM=250 $\mu\text{g/mL}$), e

baixa atividade para *C. albicans* ATCC 63540, *C. glabrata*, *kruzei* e *C. parapsilosis* (CIM=1000 µg/mL).

Cecropia pachystachyaa mostrou atividade antifúngica moderada para *C. albicans* ATCC 10132, *C. albicans* ATCC 63540, *C. glabrata* e *C. parapsilosis* (CIM=500 µg/mL), e baixa atividade para *C. kruzei* (CIM=1000 µg/mL); e *Conyza bonariensi* folhas mostrou atividade antifúngica moderada para *C. parapsilosis* (CIM=125 µg/mL), *C. albicans* ATCC 10132, *albicans* ATCC 63540 e *C. kruzei* (CIM=500µg/mL), e baixa atividade para *C. glabrata*, (CIM=1000 µg/mL); no entanto a *Conyza bonariensi* raízes mostrou atividade antifúngica moderada para *C. albicans* ATCC 10132, *C. parapsilosis* (CIM=125 µg/mL), *C. albicans* ATCC 63540 e *C. glabrata* (CIM=500µg/mL), e baixa atividade para *C. kruzei* (CIM=1000 µg/mL).

Gossypium barbadense mostrou atividade antifúngica moderada para *C. kruzei* e *C. parapsilosis* (CIM=250 µg/mL), *C. albicans* ATCC 10131, *C. albicans* ATCC 63540 e *C. glabrata* (CIM=500µg/mL); *Lafoensia pacari* mostrou atividade antifúngica moderada para *C. albicans* ATCC 10131, *C. kruzei* e *C. parapsilosis* (CIM=250 µg/mL), *C. albicans* ATCC 63540, (CIM=500µg/mL), e baixa atividade para *C. glabrata* (CIM=1000 µg/mL). Enquanto *Plantago major* mostrou atividade antifúngica moderada para *C. parapsilosis* (CIM=250 µg/mL), *C. albicans* ATCC 10131, *C. albicans* ATCC 63540, *C. glabrata* e *C. kruzei* (CIM=500µg/mL).

Stryphnodendron obovatum mostrou atividade antifúngica moderada para *C. glabrata* (CIM=125 µg/mL), *C. albicans* ATCC 10131, *C. albicans* ATCC 63540 e *C. kruzei* (CIM=500µg/mL), e baixa atividade para *C. parapsilosis* (CIM=1000µg/mL); já *Tabebuia impetiginosa* mostrou atividade antifúngica moderada para *C. albicans* ATCC 10131 (CIM=125 µg/mL), *C. parapsilosis* (CIM=250 µg/mL), *C. glabrata* e *C. kruzei* (CIM=500µg/mL) e baixa atividade para *C. albicans* ATCC 63540 (CIM=1000 µg/mL).

TABELA 37 - Atividade antifúngica dos extratos metanólicos das plantas no ensaio de microdiluição em caldo.

Plantas	CIM ($\mu\text{g/mL}$)				
	Fungos				
	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. kruzei</i>	<i>C. parapsilosis</i>
Anfotericina B	1.0	1.0	0.5	1.0	0.25
<i>Anacardium humile caule</i>	500	250	500	1000	1000
<i>Anacardium humile folhas</i>	500	500	500	500	500
<i>Cariniana rubra</i>	250	1000	1000	1000	1000
<i>Cecropia pachystachyaa</i>	500	500	500	1000	500
<i>Conyza bonariensi folhas</i>	500	500	1000	500	125
<i>Conyza bonariensi raízes</i>	250	500	500	1000	250
<i>Gossypium barbadense</i>	500	500	500	250	250
<i>Lafoensia pacari</i>	250	500	1000	250	250
<i>Plantago major</i>	500	500	500	500	250
<i>Stryphnodendron obovatum</i>	500	500	125	500	1000
<i>Tabebuia impetiginosa</i>	125	1000	500	500	250

Na **Tabela 38** são apresentados os resultados da determinação da atividade antifúngica dos extratos hidroetanólicos das plantas *Macrosiphonia velame* que mostrou boa atividade antifúngica para *C. albicans* ATCC 63540 (CIM=061 $\mu\text{g/mL}$), moderada para *C. glabrata* (CIM=125 $\mu\text{g/mL}$), *C. albicans* ATCC 10131 e *C. parapsilosis* (CIM=250 $\mu\text{g/mL}$), e baixa atividade para *C. kruzei* (CIM=1000 $\mu\text{g/mL}$), e também da planta *Strychnos pseudoquina* com moderada atividade para *C. glabrata* (CIM=125 $\mu\text{g/mL}$), *C. albicans* ATCC 10131, *C. albicans* ATCC 63540, *C. kruzei* e *C. parapsilosis* (CIM=250 $\mu\text{g/mL}$).

TABELA 38 - Atividade antifúngica dos extratos hidroetanólicos das plantas no ensaio de microdiluição em caldo.

Plantas	CIM ($\mu\text{g/mL}$)				
	Fungos				
	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. kruzei</i>	<i>C. parapsilosis</i>
Anfotericina B	1.0	1.0	0.5	1.0	0.25
<i>Macrosiphonia velame</i>	250	062	125	1000	250
<i>Strychnos pseudoquina</i>	250	250	125	250	250

Na **Tabela 39** são apresentados os resultados da determinação da atividade antifúngica dos extratos aquoso e etanólico da vagem + semente da planta *Caesalpinia ferrea* que mostraram atividade antifúngica moderada para *C. albicans* ATCC 63540, *C. glabrata*, *C. kruzei* e *C. parapsilosis* (CIM=250 $\mu\text{g/mL}$), e *C. albicans* ATCC 10131 (CIM=500 $\mu\text{g/mL}$).

O cloranfenicol apresentou boa atividade para todas as bactérias testadas com a CIM variando entre 0,5 e 2,0 $\mu\text{g/mL}$. A partir dos resultados apresentados, as plantas que apresentaram melhores atividades antibacterianas foram: *Anacardium humile* caule, *Gossypium barbadense*, *Stryphnodendron obovatum* e *Macrosiphonia velame* e as com melhores atividades antifúngicas foram: *Macrosiphonia velame*, *Conyza bonariensi* folhas, *Stryphnodendron obovatum*, *Tabebuia impetiginosa* e *Strychnos pseudoquina*.

TABELA 39 - Atividade antifúngica dos extratos da vagem + semente da planta *Caesalpinia ferre* no ensaio de microdiluição em caldo.

Plantas	CIM ($\mu\text{g/mL}$)				
	Fungos				
	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. kruzei</i>	<i>C. parapsilosis</i>
Anfotericina B	1.0	1.0	0,5	1.0	0.25
Extrato aquoso	500	250	250	250	250
Extrato etanólico	500	500	250	500	250

6.4. Estudo fitoquímico

6.4.1. Abordagem Fitoquímica Preliminar

A análise fitoquímica realizada com os extratos metanólicos revelaram no extrato do *Anacardium humile* caule a presença de taninos, antraquinonas reduzido, cumarinas e esteróides livres. *Anacardium humile* folhas flavonóides, taninos, antraquinonas reduzido, sanponina, cumarina e esteróides livres. *Cariniana rubra* flavonóides, taninos, antraquinonas reduzido, saponinas, cumarinas e triterpenóides. *Cecropia pachystachyaa* flavonóides, taninos, antraquinonas reduzido, cumarinas e esteróides livres (**Quadro 4**).

QUADRO 4 - Análise fitoquímica preliminar dos extratos metanólicos das plantas *Anacardium humile* (caule), *Anacardium humile* (folhas), *Cariniana rubra* e *Cecropia pachystachyaa*.

Análise fitoquímica preliminar das plantas em estudo				
Metabólito secundário	<i>A. humille</i> (caule)	<i>A. humille</i> (folhas)	<i>C. rubra</i>	<i>C. pachystachya</i>
Flavonóides	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
Taninos	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
Antraquinonas reduzido	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
Antraquinonas livres	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Alcalóides	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Saponinas	Negativo	Positivo	Positivo	Negativo
Cumarinas	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
Triterpenóides	Negativo	Negativo	Positivo	Negativo
Esteróides livres	Positivo	Positivo	Negativo	Positivo

A análise fitoquímica realizada com os extratos metanólicos revelaram: *Conyza bonariensis* folhas a presença de flavonóides, cumarinas e esteróides livres. *Conyza*

bonariensis raízes flavonóides, taninos, antraquinonas reduzido, cumarinas e esteróides livres. *Gossypium barbadense* taninos, antraquinonas reduzido, cumarinas e esteróides livres. *Lafoensia pacari* flavonóides, taninos, antraquinonas reduzido, alcalóides, saponinas e cumarinas (**Quadro 5**).

QUADRO 5 - Análise fitoquímica preliminar dos extratos metanólicos das plantas *Conyza bonariensis* (folhas e raízes), *Gossypium barbadense* e *Lafoensia pacari*.

Análise fitoquímica preliminar das plantas em estudo				
Metabólito secundário	<i>C. bonariensis</i> (folhas)	<i>C. bonariensis</i> (raízes)	<i>G. barbadense</i>	<i>L. pacari</i>
Flavonóides	Positivo	Positivo	Negativo	Positivo
Taninos	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
Antraquinonas reduzido	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
Antraquinonas livres	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Alcalóides	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo
Saponinas	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo
Cumarinas	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
Triterpenóides	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Esteróides livres	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo

A análise fitoquímica realizada com os extratos metanólicos revelaram: *Plantago major* a presença de flavonóides, antraquinonas reduzido, cumarinas e esteróides livres. *Stryphnodendron obovatum* flavonóides, taninos, antraquinonas reduzido, saponinas, cumarinas e esteróides livres. *Tabebuia heptaphylla* flavonóides, antraquinonas reduzido e cumarinas (**Quadro 6**).

QUADRO 6 - Análise fitoquímica preliminar dos extratos metanólicos das plantas *Plantago major*, *Stryphnodendron obovatum* e *Tabebuia heptaphylla*.

Análise fitoquímica preliminar das plantas em estudo			
Metabólito secundário	<i>P. major</i>	<i>S. obovatum</i>	<i>T. heptaphylla</i>
Flavonóides	Positivo	Positivo	Positivo
Taninos	Negativo	Positivo	Negativo
Antraquinonas reduzido	Positivo	Positivo	Positivo
Antraquinonas livres	Negativo	Negativo	Negativo
Alcalóides	Negativo	Negativo	Negativo
Saponinas	Negativo	Positivo	Negativo
Cumarinas	Positivo	Positivo	Positivo
Triterpenóides	Negativo	Negativo	Negativo
Esteróides livres	Positivo	Positivo	Negativo

A análise fitoquímica realizada com os extratos hidroetanólicos revelaram: *Macrosiphonia velame* a presença de flavonóides, taninos, alcalóides, saponinas, cumarinas e triterpenóides. *Strychnos pseudoquina* flavonóides, taninos, antraquinonas reduzido, alcalóides, cumarinas e esteróides livres. O extrato aquoso da *Caesalpinia ferrea* apresentou taninaquinonas reduzido, cumarinas e esteróides livres. O extrato etanólico da planta *Caesalpinia ferrea* flavonóides, taninos, antraquinonas reduzido, cumarinas e esteróides livres (**Quadro 7**).

QUADRO 7 - Análise fitoquímica preliminar dos extratos hidroetanólicos das plantas *Macrosiphonia velame* e *Strychnos pseudoquina*, e dos extratos aquoso e etanólico da planta *Caesalpinia ferrea*.

Análise fitoquímica preliminar das plantas em estudo				
Metabólito secundário	<i>M. velame</i> Ext. hidroetanólico	<i>S. pseudoquina</i> Ext. hidroetanólico	<i>C. férrea</i> Ext. aquoso	<i>C. férrea</i> Ext. etanólico
Flavonóides	Positivo	Positivo	Negativo	Positivo
Taninos	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
Antraquinonas reduzido	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
Antraquinonas livres	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
Alcalóides	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo
Saponinas	Positivo	Negativo	Negativo	Negativo
Cumarinas	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
Triterpenóides	Positivo	Negativo	Negativo	Negativo
Esteróides livres	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo

6.4.2. Estudo Analítico - Cromatografia em camada delgada (CCD)

A cromatoplaça desenvolvida do extrato metanólico da *Conyza bonariensis* folhas com cloroformio/éter etílico (50:50 v/v) apresentou a separação de quatro bandas com Rfs (fator de retenção) de 0,16, 0,28, 0,39 e 0,65. Enquanto na cromatoplaça do extrato metanólico da *Conyza bonariensis* raízes usando o mesmo sistema eluente apresentou a separação de apenas uma banda com Rfs de 0,39 (**Figura 9**). A cromatoplaça desenvolvida do extrato hidroetanólico da *Macrosiphonia velame* com metanol (50:50 v/v) apresentou a separação de duas bandas com Rfs (fator de retenção) de 0,19 e 0,58.

De acordo com os resultados obtidos referentes às bandas separadas da planta *Conyza bonariensis* folhas e raízes, apresentaram um composto de natureza e polaridade aparentemente iguais em conjunto aos valores de Rf, as folhas apresentaram mais compostos

de natureza e polaridades diferentes. Em relação à planta *Macrosiphonia velame* indicam que o extrato hidroetanólico apresenta compostos de natureza e polaridades diferentes (**Tabela 40**).

TABELA 40 - Valores dos fatores de retenção do extrato metanólico da planta *Conyza bonariensis* folhas e raízes e do extrato hidroetanólico da planta *Macrosiphonia velame*.

Plantas	Extratos	Valores dos fatores de retenção (Rf's)
<i>Conyza bonariensis</i> folhas	Metanólico	0,16; 0,28; 0,39 e 0,64
<i>Conyza bonariensis</i> raízes	Metanólico	0,39
<i>Macrosiphonia velame</i>	Hidroetanólico	0,19 e 0,57

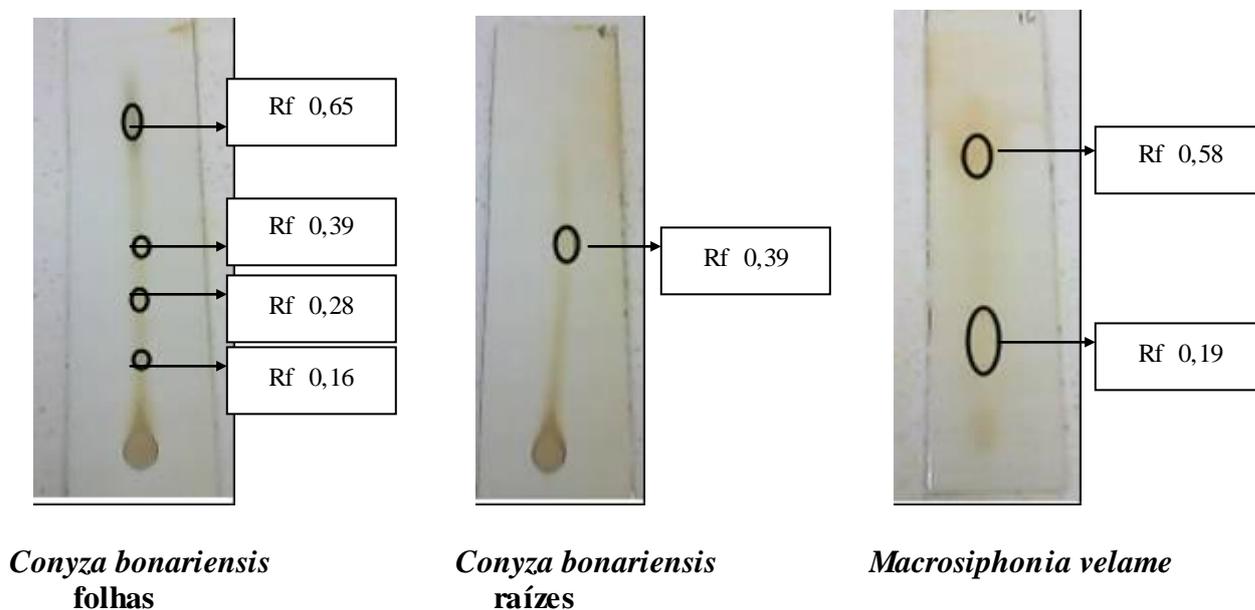


FIGURA 9 - Perfil cromatográfico do extrato metanólico da planta *Conyza bonariensis* folhas e raízes e do extrato hidroetanólico de *Macrosiphonia velame*. Rf: fator de retenção.

6.5. Bioautografia

A CCD do extrato metanólico da *Conyza bonariensis* folha apresentou a separação de quatro bandas com Rfs 0,16, 0,28, 0,39 e 0,65. A banda com Rf 0,16 e 0,28 mostrou atividade frente à bactéria *S. aureus*, não apresentou atividade frente à *E. coli* e *C. albicans* (**Figura 10**). As plantas *Conyza bonariensis* raízes e *Macrosiphonia velame* neste ensaio bioautográfico não apresentaram atividade frente às bactérias *S. aureus*, *E. coli* e *C. albicans* (**Figura 11 e Figura 12**). Para este bioensaio utilizou-se o cloranfenicol como droga padrão, o qual mostrou atividade frente às bactérias testadas.

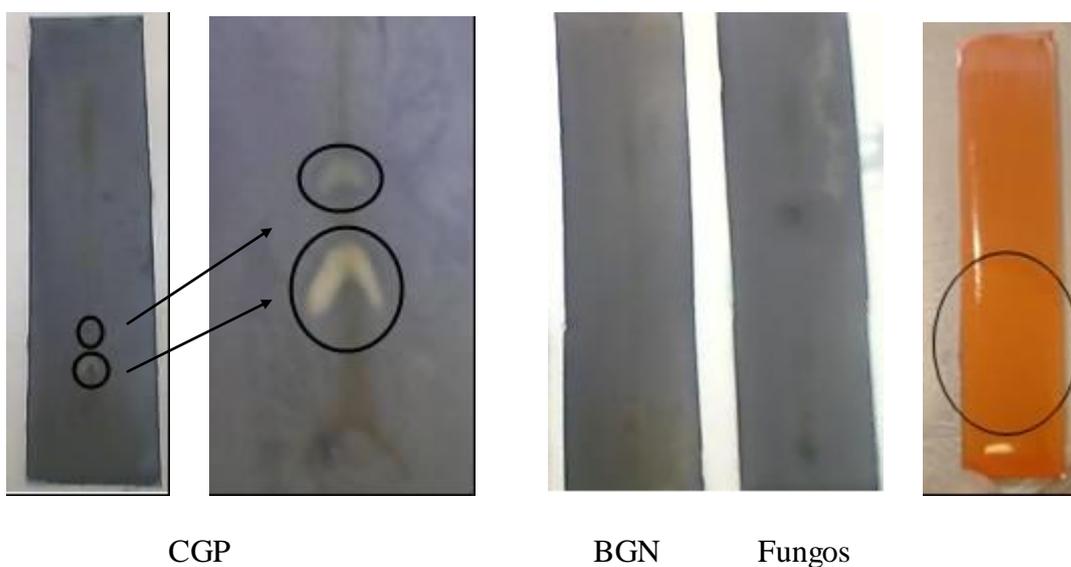


FIGURA 10 - Atividade antibacteriana e antifúngica do EMCb folhas da *Conyza bonariensis* e a droga padrão cloranfenicol (C) pelo método de bioautografia

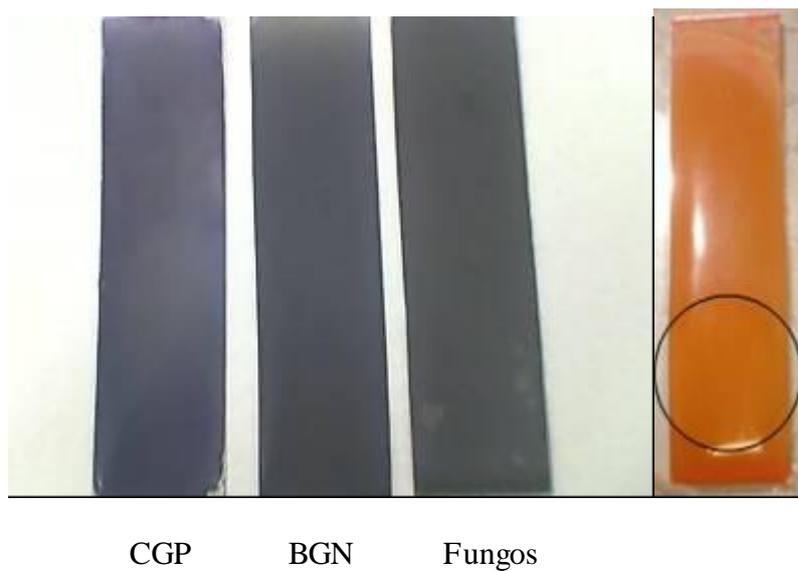


FIGURA 11 - Atividade antibacteriana e antifúngica do EMCb raízes e a droga padrão cloranfenicol (C) pelo método de bioautografia.

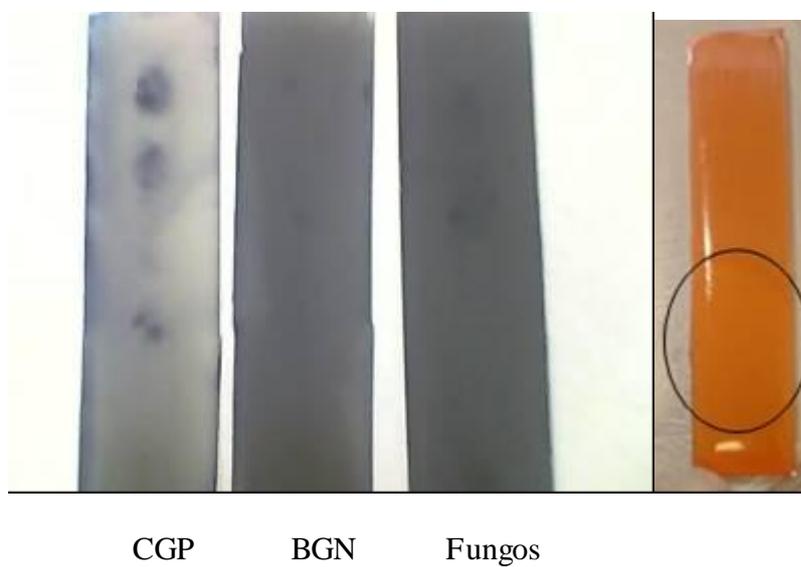


FIGURA 12 - Atividade antibacteriana e antifúngica do EHMv xilopódio.

6.6. Toxicidade Aguda

6.6.1. Bioensaio com *Artemia Salina* Leach

A **Tabela 41** mostra a comparação entre os grupos tratados com os diferentes extratos e sulfato de quinidina no ensaio com *Artemia salina* Leach, onde é demonstrada a concentração letal para 50% das larvas (CL_{50}). O sal marinho 3 % serviu de controle negativo e não causou morte de nenhuma das larvas de *A. salina*.

Entre os extratos testados, o EHMv foi o que promoveu maior letalidade das larvas dos crustáceos com CL_{50} de 299 ± 78 $\mu\text{g/mL}$, valor mais próximo ao do sulfato de quinidina, padrão, apresentando uma CL_{50} de $163,5 \pm 14$ $\mu\text{g/mL}$. Por outro lado, os EMCb folhas e raízes mostraram-se menos letais, com uma CL_{50} de $2.639,7 \pm 514,3$ $\mu\text{g/mL}$ e $3.693,9 \pm 474,6$ $\mu\text{g/mL}$ respectivamente.

TABELA 41 - Determinação da CL_{50} do EHMv e EMCb folhas e raízes frente ao modelo de bioensaio por *Artemia salina*.

Planta/Extrato	CL_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
<i>Macrosiphonia velame</i> (EHMv) ⁵⁶	299 ± 78
<i>Conyza bonariensis</i> folhas	$2.639,7 \pm 514,3$
<i>Conyza bonariensis</i> raízes	$3.693,9 \pm 474,6$
Sulfato de quinidina	$163,5 \pm 14$

Análise de Probitos. IC de 95%. Fonte: Ribeiro, R. V.⁵⁶

6.6.2. Teste hipocrático

O *EHMv* não promoveu qualquer alteração com as doses de 500 e 1000 mg/kg, porém com a dose de 2000 mg/kg, os animais apresentaram reduções da mobilidade e frequência respiratória. A dose de 5000 mg/kg produziu analgesia discreta e intensificou os efeitos anteriores levando 2/3 dos animais á óbito com até 24 h após o tratamento. Esses efeitos começaram a aparecer após 30 minutos do tratamento e se prolongaram durante as primeiras 24 h. Todos os efeitos observados foram reversíveis, exceto com os animais que receberam *EHMv* na dose de 5.000 mg/kg, que levou a óbito 2/3 animais nas primeiras 24 h.⁵⁶ O *EMCb* tanto folhas quanto raízes não promoveram qualquer alteração com as doses de 500, 1000, 2000 e 5000 mg/kg.

TABELA 42 - Efeito da administração oral do *EHMv* e do *EMCb* usada na triagem antiedematogênica sobre as atividades comportamentais gerais em camundongos.

Grupo	Dose (mg/kg)	Efeitos Comportamentais	Mortes
<i>EHMv</i> ⁵⁶	500	Sem alterações	0/3
	1.000	Sem alterações	0/3
	2.000	Diminuição da mobilidade e da frequência respiratória.	0/3
	5.000	Analgesia discreta e intensificação dos efeitos anteriores, com morte em até 24 h.	2/3
<i>EMCb</i> folhas	500	Sem alterações	0/3
	1.000	Sem alterações	0/3
	2.000	Sem alterações	0/3
	5.000	Sem alterações	0/3
<i>EMCb</i> raízes	500	Sem alterações	0/3
	1.000	Sem alterações	0/3
	2.000	Sem alterações	0/3
	5.000	Sem alterações	0/3

Fonte: Ribeiro, R.V.⁵⁶

6.7. Modelo de infecção sistêmica em camundongos

A eficácia do extrato metanólico da planta *Conyza bonariensis* folhas e raízes e o extrato hidroetanólico da *Macrosiphomia velame* xilopódio na proteção dos animais quanto à morte causada pela infecção bacteriana induzida pelas bactérias gram-positiva e gram-negativa é mostrada na **Tabela 43**.

No experimento de infecção sistêmica, a infecção causada pelo microrganismo *S. aureus* foi repetido com camundongos Swiss albinos fêmeas e os resultados encontrados foram: nas doses de 10, 50, 100 e 500 mg/kg para infecção causada pelo *S. aureus*, o EMCb folhas preveniu a morte dos animais em 100%; enquanto que o EMCb raízes protegeu melhor os animais somente nas doses de 10 e 50 mg/kg com sobrevida de 85%, nas doses se 100 mg/kg só sobreviveram 43% e nas doses de 500 mg/kg a proteção foi ainda menor, sobrevivendo apenas 29% dos animais. A proteção de 50% dos animais para o EMCb raízes seria entre as doses de 50 e 100 mg/kg, como mais doses não foram testadas, a dose mediana efetiva (DE₅₀) calculada para o EMCb raízes foi de 232,1± 153,3 mg/kg. O EHMv assim como o EMCb, nas doses de 10, 50 e 100 mg/kg protegeu os animais em 100% só diminuindo sua proteção nas doses de 500 mg/kg com sobrevida de 85%. O meropenem, droga padrão (20 mg/kg) protegeu 100 % dos animais.

Nas doses de 10 e 50 mg/kg para infecção causada pela *E. coli* realizaddo com camundongos Swiss albinos machos, o EMCb folhas conseguiu prevenir a morte dos animais nas doses de 10, 50, 100 e 500 mg/kg em 50, 50, 60 e 30%, respectivamente. Com as doses de 10 e 50 mg/kg a proteção foi de 50% dos animiais, apresentando a DE₅₀ de 106,9 ± 188,7; aumentando a sobrevida dos animais na dose de 100 mg/kg com 60% de vida e diminuindo a proteção com o aumento da dose para 500 mg/kg com somente 30% de sobrevida; o EMCb raízes para esta bactéria, somente preveniu a morte dos animais na dose de 10mg/kg, com

apenas 10% dos animais vivos, e nas maiores doses 50, 100 e 500 mg/kg o extrato não apresentou atividade profilática em relação à morte causada pela infecção. Os resultados para o EHM_v foram os seguintes, nas doses de 10 e 50 mg/kg a sobrevivência dos animais foram de 30 e 50% respectivamente, enquanto que nas doses de 100 e 500 mg/kg o extrato não conseguiu prevenir a morte dos animais, portanto com a dose de 50 mg/kg houve a proteção de 50% dos animais, apresentando a DE₅₀ de 106,9 ±188,7. Meroponem, droga padrão (20 mg/kg) protegeu 100 % dos animais.

A droga padrão mostrou eficácia profilática de 100% para os animais infectados tanto pela *S. aureus* quanto pela *E. coli*, apresentando a DE₅₀ de 7,3 ± 0,7 e 5,2 ± 1,1 mg/kg, respectivamente.

TABELA 43 - Atividade antibacteriana *in vivo* do extrato metanólico das folhas e raízes de *Conyza bonariensis* e do extrato hidroetanólico do xilopódio da *Macrosiphonia velame* no modelo de infecção sistêmica em camundongos induzida pela *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.

Plantas	Doses (mg/kg, v.o.)	Sobrevida (%)		DE ₅₀ ± D.P.M. (mg/kg)	
		<i>Sa</i>	<i>Ec</i>	<i>Sa</i>	<i>Ec</i>
<i>Conyza bonariensis</i> folhas	10	100	50		
	50	100	50		106,9 ± 188,7
	100	100	60		
	500	100	30		
<i>Conyza bonariensis</i> raízes	10	85	10		
	50	85	00	232,1 ± 153,3	
	100	43	00		
	500	29	00		
<i>Macrosiphonia velame</i>	10	100	30		
	50	100	50		106,9 ± 188,7
	100	100	00		
	500	85	00		
Meropenem	20	100	100	7,3 ± 0,7	5,2 ± 1,1

DE₅₀ = dose mediana efetiva 50 %; D.P.M. = desvio padrão da média.

DISCUSSÃO

No Brasil, de acordo com o Ministério da Saúde, mais de 70% das bactérias que causam infecções hospitalares são resistentes a pelo menos um dos antimicrobianos comumente utilizados para o tratamento dos pacientes. Ainda, pessoas infectadas com esses patógenos apresentam maior permanência hospitalar e requerem tratamento com fármacos de segunda e terceira geração, que podem ser menos efetivos, mais tóxicos ou mais caros.¹⁰²

Geralmente, a atividade antimicrobiana de produtos naturais, são estudadas, avaliadas e confirmadas através de ensaios biológicos *in vitro* em testes de susceptibilidade ou sensibilidade.¹⁰³ Para os ensaios usados na avaliação da atividade antimicrobiana *in vitro* muitas metodologias tem sido proposta. Os métodos comumente usados são os de difusão em disco e em ágar, diluição em ágar e em caldo para a determinação da concentração inibitória mínima (CIM). Os resultados obtidos por cada um desses métodos podem diferir devido a fatores variáveis entre os testes, como o crescimento microbiano, microorganismos testados, exposição do microorganismo ao extrato teste, a sua solubilidade, a concentração testada e o agente solubilizante.¹⁰⁴

Várias plantas foram selecionadas em estudo etnobotânico, mas somente as plantas *Conyza bonariensis* e *Macrosiphonia velame* tiveram seus estudos aprofundados devido aos poucos trabalhos realizados quanto à sua avaliação antimicrobiana, os quais trazem poucas informações, e de acordo com seu uso popular em ferimentos, inflamações e infecções, fundamentaram-se assim, a realização dessa pesquisa como contribuição ao estudo das espécies.

Inicialmente foi realizada uma triagem da atividade antibacteriana *in vitro*, pelos métodos de difusão em disco e microdiluição em caldo, considerados os mais comumente utilizados para a triagem de extratos de plantas com potencial antibacteriano.¹⁰⁵

Na triagem utilizando o método de difusão em disco, os extratos *EMLp*, *EMAh* caule, *EMTi*, *EMGb*, *EMPm*, *EACp*, *EECf*, *EACf*, *EECf*, *EHMv* e *EMCb* folhas e raízes apresentaram atividade antibacteriana. A atividade antifúngica foram os extratos *EMCr*, *EMLp*, *EMGb*, *EMPm*, *EACf*, *EHMv*, *EMCb* folhas e *EHSp* enquanto que, para a determinação da concentração inibitória mínima (CIM), os extratos *EMAh* caule e folhas, *EMCr*, *EMCp*, *EMCb* folhas e raízes, *EMGb*, *EMLp*, *EMSo*, *EMTi*, *EHMv*, *EHSp* e *EACf*, *EECf*, apresentaram melhores atividades antibacterianas e os extratos *EMAh* caule e folhas, *EMCr*, *EMCp*, *EMCb* folhas e raízes, *EMGb*, *EMLp*, *EMPm*, *EMSo*, *EMTi*, *EHMv*, *EHSp*, *EACf* e *EECf* apresentaram atividade antifúngica. A partir destes resultados somente os extratos *EHMv* e *EMCb* foram selecionados para continuação dos experimentos.

A triagem da atividade antibacteriana inicial foi realizada de *Conyza bonariensis* e *Macrosiphonia velame* pelo método de difusão em disco. O *EHMv* apresentou potente ação antibacteriana contra *E. faecalis* formando zona de inibição de 10-22 mm (0,019 e 20 µg/disco) tabela 15; o *EMCb* folhas apresentou maior espectro de ação para as bactérias gram positivas com potência para a *E. faecalis* e *S. pyogenes* formando zonas de inibição de 10-16 mm (2,5 e 20 µg/disco) tabela 16; o *EMCb* raízes apresentou espectro de ação com potência para a *E. faecalis* e *E. aerogenes* formando zonas de inibição de 10-13 mm (5 e 20 µg/disco) tabela 17. Chaudhry e colaboradores (2001)¹⁰⁶, avaliaram a atividade antibacteriana do extrato metanólico e diclorometânico das folhas de *Conyza bonariensis* utilizando o método de difusão em ágar frente à *E. coli* e o mesmo apresentou atividade para o microrganismo testado, em contraposição ao resultado deste trabalho cujo *EMCb* folhas foi inativo para *E. coli*.

Em relação à ação antifúngica, o *EHMv* apresentou ação para *C. parapsilosis*, *C. glabrata* e *C. albicans* ATCC 10231 formando zona de inibição de 10-11 mm (0,009 e 5 µg/disco) tabela 30; o *EMCb* folhas apresentou espectro de ação para os fungos testados: *C.*

kruzei, *C. parapsilosis*, e *C. albicans* 64550 e 10231 formando zonas de inibição de 10-15 mm (0,019 e 20 µg/disco) tabela 31; o EMCb raízes não apresentou espectro de ação fúngica.

No teste de difusão em disco o EHMv apresentou atividade antibacteriana com espectro de ação e potência maiores que a atividade apresentada pelos EMCb folhas e raízes. Quanto à ação antifúngica o extrato com melhor ação foi do EMCb folhas.

Os resultados da CIM na tabela 34 mostra que o EMCb folhas apresentou atividade antibacteriana moderada para *E. faecalis* (CIM=250 µg/mL) e *S. pyogenes*, *E. aerogenes* e *P. aeruginosa* (CIM=500 µg/mL); enquanto que o EMCb raízes teve atividade antibacteriana moderada para *E. faecalis*, *S. pyogenes* e *P. aeruginosa* (CIM=500 µg/mL). Esses extratos apresentaram maior potência para as bactérias gram-positivas.

Enquanto que o EHMv na tabela 35 mostrou atividade antibacteriana moderada para *E. faecalis* (CIM=125 µg/mL) e *S. pyogenes* (CIM=500 µg/mL), também com maior potência para as bactérias gram positivas. Em estudos anteriores Araújo (2004)¹⁰⁷ no teste da CIM, o óleo de *Conyza bonariensis* apresentou sensibilidade para *S. aureus* e não apresentou ação antibacteriana para a bactéria gram negativa testada (*Salmonella* spp). Avancini (2008)¹⁰⁸, também pelo método de diluição (10^{-8} UFC mL⁻¹) do macerado hidro-alcoólico das partes aéreas de *Conyza bonariensis* apresentou atividade antibacteriana contra o microrganismo *S. aureus*. Estes resultados discordam dos resultados encontrados nesse trabalho, pois verificou-se que, os EMCb folhas e raízes apresentaram sensibilidade para microrganismos diferentes como as bactérias gram positivas (*E. faecalis* e *S. pyogenes*) e a bactéria gram negativa (*P. aeruginosa*).

Em relação à atividade antifúngica pela CIM o EMCb folhas na tabela 37 mostrou atividade antifúngica moderada para *C. parapsilosis* (CIM=125 µg/mL) e *C. albicans* ATCC 10231 e 64550 e *C. kruzei* (CIM=500 µg/mL); enquanto que o EMCb raízes teve atividade antifúngica moderada para *C. albicans* ATCC 10231 e *C. parapsilosis* (CIM=125 µg/m) e *C.*

albicans ATCC 64550 e *C. glabrata* (CIM=500 µg/mL). Dubey (1982)¹⁰⁹ em seus experimentos também confirma a atividade antifúngica da planta *Conyza bonariensis* folhas.

O EHMv na tabela 38 mostrou boa atividade antifúngica para *C. albicans* ATCC 64550 (CIM=062 µg/mL) e atividade moderada para *C. glabrata* (CIM=125 µg/mL), *C. albicans* ATCC 10231 e *C. parapsilosis* (CIM=250 µg/mL). O extrato com maior potência antifúngica foi o EHMv. Araújo (2004)¹⁰⁷ verificou atividade antifúngica na CIM do óleo de *Conyza bonariensis* para *C. albicans* e insensibilidade para *C. kruzei*, cepas de isolados clínicos. As nossas cepas nesse experimento foram todas ATCC, podendo ser um fator discordante, pois verificamos sensibilidade para os EMCb folhas frente a *C. albicans* e *C. kruzei* e ação do EMCb raízes para *C. albicans*, tendo resultados semelhantes na insensibilidade de *C. kruzei* para o EMCb raízes.

O EHMv apresentou boa atividade antifúngica contra *C. albicans* ATCC 64550 com CIM de 062 µm/mL embora não tenha apresentado ação no teste de disco difusão. Isso se deve ao fato de o método de microdiluição em caldo apresentar maior sensibilidade às drogas do que o método de difusão em disco, pois permite um contato direto entre a droga, o meio de cultura e os fungos, que são incubados sob agitação contínua, de acordo com Oliveira (2007).¹⁰⁴ O mesmo extrato nos dois testes confirma sua inatividade quanto à ação antifúngica frente à *C. kruzei*.

O EHMv confirma sua ação antibacteriana nos dois testes, tanto disco difusão quanto MIC apresentaram boa inibição do crescimento bacteriano de *E. faecalis*. O EMCb folhas também confirma sua ação antibacteriana nos testes de difusão em disco e MIC para *E. faecalis* e *S. pyogenes*, ou seja com boa ação contra os cocos gram positivos. Diverge nos testes tendo ação somente na CIM para *E. aerogenes* e *P. aeruginosa*. O EMCb raízes no método de difusão em disco só teve ação antibacteriana para *E. faecalis* e *E. aerogenes*, não tendo ação para *E. aerogenes* na CIM. O mesmo extrato teve ação antibacteriana na CIM para

E. faecalis confirmando sua ação no teste de difusão em disco e ainda teve ação para *S. pyogenes* e *P. aeruginosa*, confirmando sua ação contra cocos gram positivos e gram negativos.

O EMCb folhas não apresentou atividade antifúngica no método de difusão em disco e CIM para *C. glabrata*; e o EMCb raízes não apresentou atividade no método de difusão em disco para nenhum fungo testado, discordando da CIM que foi ativa para os fungos *C. albicans* ATCC 10231 e 64550, *C. glabrata* e *C. parapsilosis*; e não tem ação antifúngica para *C. kruzei*.

Neste estudo ocorrem algumas divergências nos experimentos de difusão em ágar e CIM, como exemplo tem-se a insensibilidade ao método pela bactéria *S. aureus* e a sensibilidade por bactérias gram negativas como *E. aerogenes* e *P. aeruginosa*, tais fatos podem ser devido a alguns fatores como:

1º) Na avaliação da atividade antibacteriana pelo método de difusão em disco ocorre variação da zona de inibição formada, pois o tamanho da zona de inibição de crescimento é influenciado pela velocidade de difusão das substâncias no ágar de acordo com Virtuoso (2005).¹¹⁰

2º) Difusão negativa / MIC positiva = difusão do extrato no disco é mais lenta, a solubilidade em caldo é mais rápida, e neste trabalho, a concentração usada na MIC foi maior do que a usada no difusão em disco.

3º) Difusão positiva / MIC negativa = sinergismo x antagonismo

Dose dependente, com o aumento da dose pode ocorrer: dessensibilização dos receptores por excesso de estimulação; aparecimento em doses altas do extrato de compostos que não apresentam quantidades suficientes da atividade antimicrobiana para produzirem seus efeitos; perda da especificidade do efeito com estimulação vias antagônicas em virtude das concentrações elevadas do agonista; intoxicação que inibe qualquer efeito.

4º) Difusão positiva / MIC positiva = início da ação do extrato imediata, seria a ação esperada em todos os experimentos realizados nesse trabalho.

Muitos estudos estão focados na determinação da atividade antimicrobiana de plantas associadas à medicina popular, assim como é de interesse identificar as substâncias responsáveis por esta atividade, direcionando-as à identificação de compostos como os óleos essenciais ou o isolamento de substâncias como os alcalóides, flavonóides, lactonas sesquiterpênicas, diterpenos, triterpenos ou naftoquinonas.

A fitoquímica realizada do *EHMv* revelou a presença de flavonóides, taninos, alcalóides, saponinas, cumarinas e triterpenóides, sendo alguns metabólitos secundários dotados de atividade antimicrobiana, segundo Simões (1999).¹¹¹ O *EMCb* folhas revelou somente a presença de flavonóides, cumarinas e esteróides livres, enquanto que o *EMCb* raízes revelou a presença de mais metabólitos secundários como: flavonóides, taninos, antraquinonas reduzido, cumarinas e esteróides livres, de acordo com Favila (2007)⁴¹ que em seus estudos também evidenciou-se a presença de vários metabólitos secundários, sugestivos de ação antimicrobiana.

Todos os resultados apresentados na abordagem fitoquímica pelos *EMCb* e *EHMv* apresentaram a presença dos flavonóides; de acordo com Violante (2009)¹¹² os flavonóides na biologia vegetal é, por vezes, aproveitado para explorar suas atividades terapêuticas como, por exemplo, antifúngica e bactericida, antioxidante e protetora dos raios ultravioletas.

De acordo com Salisbury (1992)¹¹³ os metabólitos secundários das plantas são compostos micromoleculares evolutivamente selecionados para conferir vantagens adaptativas, essas substâncias participam diretamente das interações bioquímicas de convivência e comunicação entre as plantas e os vários organismos vivos no sistema ambiental. Ao longo do processo evolutivo as plantas desenvolveram mecanismos de defesa para sua sobrevivência. Dentre as formas de proteção adquiridas, foram desenvolvidas rotas

biossintéticas – hoje conhecidas como metabolismo secundário - para a produção de substâncias nocivas e tóxicas aos inúmeros parasitas e predadores.

Os flavonóides são substâncias hidroxiladas fenólicas que constituem a mais ampla família de fenóis naturais. São conhecidas por serem sintetizadas pelas plantas em respostas as infecções bacterianas. Esta atividade é provavelmente devida a sua capacidade em formar complexos com proteínas solúveis extracelulares e com a parede celular de forma similar as quinonas. E ainda seu caráter lipofílico pode ser responsável pela ruptura da membrana celular dos microorganismos. Lopes, et al (1998)¹¹⁴ observaram a atividade fúngica de flavonóides de isolados de plantas, que apresentaram ação 10 vezes mais potente que a nistatina,¹⁰⁴ sendo atribuída a eles uma série de efeitos contra microorganismos com ação antibacteriana de acordo com Wang (2000).¹¹⁵ Havsteen (2002)¹¹⁶ diz que a atividade antibacteriana dos flavonóides parece estar relacionada com sua interferência com os canais de íons, alterando o metabolismo do microorganismo. Várias espécies de plantas ricas em flavonóides relatam ter propriedades terapêuticas e preventivas às doenças segundo Abu-Dhab (2007).¹¹⁷

Os taninos constituem um grupo de substâncias fenólicas poliméricas e podem-se dividir em hidrolizáveis ou condensados. Plantas ricas em taninos são empregadas na medicina tradicional para o tratamento de diversas moléstias orgânicas, como diarreia, reumatismo, hemorragia, feridas, queimaduras, inflamação, dentre outras. Tem-se descrito mais de 30 taninos que são capazes de inibir crescimento de fungos e bactérias de acordo com Cowan (1999)³² e Simões (2002)³⁶.

Os alcalóides recebem esta denominação por serem compostos nitrogenados heterocíclicos que apresentam atividade microbicida, incluindo espécies de *Giardia* e *Entamoeba* e também atividade contra Tripanossoma. O mecanismo de ação dos alcalóides

parece estar relacionado com a sua interação com a parede celular e o DNA dos microorganismos, segundo Oliveira (2007).¹⁰⁴

O comportamento anfifílico das saponinas e a capacidade de formar complexos com esteróides, proteínas e fosfolipídeos de membranas determinam um número variado de propriedades biológicas, destacando ação sobre as membranas celulares, alterando a sua permeabilidade, ou causando a sua destruição. Relacionando com essa ação estão às atividades hemolítica, ictiotóxica, molusquicida, anti-helmíntica, hipocolesteremiante, antifúngica, antiviral, espermicida, expectorante, diurética e antiinflamatória.^{104, 107}

As Cumarinas constituem uma classe de metabólitos secundários derivados do ácido cinâmico, amplamente distribuídos no reino vegetal, podendo também ser encontrados em fungos e bactérias. A esses compostos atribui-se uma grande variedade de atividades biológicas, como a antimicrobiana, antiviral, antiinflamatória, antiespasmódica, antitumoral e antioxidante, as quais podem estar relacionadas com a inibição da atividade de enzimas, por exemplo, daquelas envolvidas no metabolismo do ácido araquidônico, e com a sua atividade “scavenger” de espécies reativas de oxigênio. Cerca de 1290 cumarinas já foram isoladas de fontes naturais. Suas propriedades farmacológicas, bioquímicas e aplicações terapêuticas dependem de seus padrões de substituição.¹¹⁸ Absorbâncias de frequências de infravermelho de derivados cumarínicos podem ser utilizadas como parâmetros exclusivos para modelos de previsão de atividade biológica (atividade antifúngica), de acordo com Coberllini, 2004.¹¹⁹

Os triterpenos originam-se da ciclização do esqualeno e podem ser triterpenos comuns, esteróides e saponinas, por exemplo, enquanto que os esteróides podem ser considerados metabólitos dos triterpenos. Dentre os triterpenos e esteróides de origem vegetal de importância estão as saponinas.¹¹¹

Com base nos resultados apresentados pelo EMCb preparado a partir das folhas, sugere-se que os princípios ativos presentes nas folhas tenham maior polaridade e

possivelmente se tratam de flavonóides. O mesmo acontecendo com o extrato, mais polar, o EHM_v preparado a partir do xilopódio, que apresentou atividade antibacteriana ainda mais significativa. Sendo estes solventes bons extratores de substâncias ativas como flavonóides, alcalóides e terpenos, conforme Cowan (1999).³²

O perfil cromatográfico em conjunto aos resultados obtidos no ensaio antimicrobiano de bioautografia dos EHM_v e EMC_b folhas e raízes sugerem que diferentes substâncias ou grupos de substâncias químicas e de diferentes polaridades sejam responsáveis pela atividade antimicrobiana apresentada. Nos resultados obtidos na bioautografia observaram-se halos de inibição de tamanhos variados para diferentes R_fs. Para o EHM_v e o EMC_b raízes o sistema eluente (fase móvel) foi capaz de separar duas e uma bandas respectivamente, as quais não apresentaram atividade antimicrobiana, indicando que as substâncias ativas sejam de grupos químicos e polaridades distintas. Já com relação ao EMC_b folhas o sistema eluente foi capaz de separar 4 bandas, as quais duas apresentaram atividade antibacteriana, somente para os cocos gram positivos, indicando que as substâncias ativas sejam de grupos químicos distintos e polaridades semelhantes. De acordo com Favila (2007)⁴¹ o seu extrato bruto e frações testadas da *Conyza bonariensis* não inibiram significativamente o crescimento das bactérias gram-negativas, gram-positivas e os fungos; no método não foi detectado essa atividade, pelo pressuposto que as substâncias estão separadas em CCD, com suas substâncias bioativas separadas uma das outras, resultando em pequena ou nenhuma atividade. Nossos resultados discordam tendo atividade antibacteriana para o EMC_b folhas frente ao microrganismo *S. aureus*.

Esses resultados podem estar relacionados com os grupos de metabólitos secundários identificados na abordagem fitoquímica. A partir desta bioautografia, pode-se direcionar um isolamento bio guiado das plantas aqui testadas e de acordo com os R_fs apresentados pelas drogas testes, mostram que as mesmas podem ser posteriormente isoladas, exceto para a

banda que apresentou um curto e um longo valor de R_f (R_f 0,16 e 0,65) respectivamente.¹²³ Muitos destes compostos podem ser isolados ou obtidos por ensaio bio guiado após detecção prévia da atividade antimicrobiana da planta em estudo.¹⁰⁴

Neste ensaio bioautográfico é observado à possível existência de substâncias ou grupos de substâncias químicas capazes de inibir o crescimento bacteriano, desta forma mostrando que a planta possui este potencial a ser explorado. A bioautografia permite a determinação da polaridade dos compostos ativos, como mostra os resultados obtidos, sugerindo que as substâncias ou classes de substâncias ativas presentes no EMCb folhas sejam de características polares.¹⁰⁴ Os flavonóides, as cumarinas e os esteróides identificados na abordagem fitoquímica preliminar e que apresentam características polares podem ser responsáveis pela atividade apresentada frente às bactérias gram positivas envolvidas neste estudo. Em contrapartida, Favila (2007),⁴¹ no ensaio de bioautografia com óleos voláteis das raízes da *Conyza bonariensis* apresentaram ação antimicrobiana frente aos microrganismos gram-negativos *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* e ao fungos *Candida albicans*, não apresentando sensibilidade ao método pelas bactérias gram positivas.

O bioensaio de toxicidade com *Artemia salina* oferece numerosas vantagens, por ser, em geral bem simples, rápido, sensível e barato. É definido como a estimativa da concentração ou potência de uma substância através da medida de uma resposta biológica produzida.⁵³

Em estudo realizado por Dolabela (1997),¹²¹ estabeleceu-se critério de classificação toxicológica de extratos brutos hidroetanólicos com base nos níveis de CL_{50} em *Artemia salina*, em que: $CL_{50} < 80$ mg/mL, altamente tóxicos; CL_{50} entre 80 mg/mL e 250 mg/mL, moderadamente tóxicos; e $CL_{50} > 250$ mg/mL, com baixa toxicidade ou não tóxicos. Com base nesta classificação, observou-se que o sulfato de quinidina apresentou toxicidade moderada nos dois experimentos, o EHMv tem baixa toxicidade e os EMCb mostrou-se não tóxicos

para *A. salina*, discordando do resultado encontrado por Favila (2007)⁴¹ onde o extrato bruto de *Conyza bonariensis* e suas frações clorofórmica, acetato de etila e butanólica demonstraram um alto índice de citotoxicidade frente à *Artemia salina*, uma vez que a CL_{50} foi menor que 1000 µg/mL e próxima ao padrão Cloridrato de Berberina. Azevedo (1999)¹²² também discorda dos nossos resultados dizendo em sua pesquisa que a *Conyza bonariensis* como ação antibiótica é restringida pela sua toxicidade.

O teste hipocrático consiste de uma avaliação qualitativa e preliminar das propriedades tóxicas de uma substância. Os testes foram realizados em concordância com a RE nº 90 da ANVISA de 2004, que orienta como devem ser procedidos os estudos de toxicidade pré-clínica de fitoterápicos.⁹⁹ O teste verificou a toxicidade aguda dos extratos administrados por via oral em doses crescentes (500, 1.000, 2.000 e 5.000 mg/kg), mediante observações das principais alterações comportamentais manifestadas pelos animais, no período de 14 dias.

Nesse experimento, apenas os EHM_v produziu sinais comportamentais agudos dignos de nota, a partir da dose de 2.000 mg/kg. Sendo observados sinais de depressão central através diminuição da motilidade e da frequência respiratória. Na dose mais elevada (5.000 mg/kg) foi verificado o aumento da passividade e moderada analgesia, seguida de perda de apreensão das patas e culminando com a morte de 2/3 dos animais que receberam EHM_v. Estes sinais indicam tanto a possibilidade de uma atividade antinociceptiva ao nível central ou periférico, quanto uma possível ação depressora do SNC, dose dependente, com possibilidade de respostas antagônicas a mediada que se eleva a dose.⁵³ No mesmo experimento, os EMC_b folhas e raízes não produziram sinais comportamentais diferenciados, apresentando baixo grau de toxicidade, resultado que se encontra de acordo com Abu-Dahab (2007).¹¹⁷ O estudo da toxicidade aguda demonstrou que os extratos aquosos e etanólicos 70% da planta *Conyza bonariensis* também não ocasionaram toxicidade, por via oral, em camundongos no trabalho de Favila (2007).⁴¹

Confirmando o indício de baixa toxicidade oral aguda, sugerido pelos testes de *Artemia salina* e hipocrático, a DL_{50} , calculada para o EHM v foi de $4.146 \pm 218,5$ mg/kg. A legislação brasileira classifica os produtos de origem natural em 5 classes: produtos altamente tóxicos (I), produtos tóxicos (II), produto de média toxicidade (III), produtos de baixa toxicidade (IV) e produtos praticamente não tóxicos (V). Portanto, a partir dos dados obtidos, podemos admitir que o EHM v enquadra-se como “Produtos Fitossanitários da Classe IV”, segundo a Portaria n.04 – DISAD/MS de 30 de abril de 1980, que classifica como produtos de baixa toxicidade as formulações que apresentem DL_{50} oral entre 4.000 e 6.000 mg/kg.⁵³

Neste trabalho foi reproduzido o modelo experimental de infecção sistêmica em camundongos para avaliação da atividade *in vivo* dos EHM v e EMC b folhas e raízes.^{100,101}

No modelo de infecção sistêmica induzida em camundongos, os resultados obtidos pelos EMC b folhas e raízes e EMM v mostraram atividade antibacteriana, com atividade profilática as infecções causadas pelos microrganismos gram-positivo e gram-negativo (*S. aureus* e *E. coli*). Na infecção induzida pelo *S. aureus* o EMC b folhas apresentou boa atividade em todas as doses de 10, 50, 100 e 500 mg/kg, com prevenção de morte superior a 100 % dos animais. Não sendo marcante a diferença protetora entre essas doses. Na infecção induzida pelo *S. aureus* o EMC b raízes apresentou melhor atividade nas doses de 10 e 50 mg/kg, com prevenção de morte superior a 50 % dos animais. Na infecção induzida pelo *S. aureus* o EHM v xilopódio apresentou melhor atividade nas doses de 10, 50 e 100 mg/kg, com prevenção de morte superior a 100 % enquanto que na dose de 500 mg/kg a prevenção de morte foi superior a 85% dos animais.

No caso da infecção induzida pela *E. coli*, os melhores resultados foram obtidos nas menores doses. O EMC b folhas apresentou boa atividade nas doses de 10, 50 e 100 mg/kg, com prevenção de morte entre 50 e 60 % dos animais. O EMC b raízes não apresentou boa

atividade, não prevenindo a morte dos animais. O EHM_v xilopódio apresentou melhor atividade na dose de 50 mg/kg, com prevenção de morte de 50 %.

De acordo com Oliveira (2006)¹²³, há interferência dos óleos essenciais presente nas plantas medicinais de uso popular sobre a ação antibacteriana de antibióticos utilizados na clínica. O óleo essencial de *C. bonariensis* apresentou sinergismo com a maioria dos antibióticos testados. A alcoolatura desta planta tem sido usada topicamente no tratamento de dermatoses. Azevedo (1999)¹²² evidenciou que vários compostos acetilênicos presentes na planta *C. bonariensis* possuem atividade antibiótica, nematicida, fungicida e larvicida.

De acordo com Souza (2003)¹²⁴, o óleo da *Conyza bonariensis* foi capaz de inibir a inflamação induzida por LPS incluindo a migração celular, com um efeito semelhante observado para limoneno puro, confirmando sua ação antiinflamatória.

Há poucos estudos em relação à ação antimicrobiana da planta *Macrosiphomia velame*, mas já há comprovação da sua ação antiinflamatória no estudo do Ribeiro (2009)⁵³ e várias plantas pertencentes à família Apocynaceae com ação antimicrobiana comprovada dentre elas destacam algumas como: *Tabernaemontana stapfiana* Britten,¹²⁵ *Landolphia owariensis*,¹²⁶ *Nerium indicum* Mill,¹²⁷ *Himatanthus lancifolius*.¹²⁸ *Rhazya stricta* Dene.¹²⁹

Em relação à planta *Conyza bonariensis*, há um pouco mais de trabalhos publicados quando comparado com a *Macrosiphomia velame*. Há várias plantas pertencentes à família Asteraceae com ação antimicrobiana comprovada, eis apenas algumas em destaque: *Chamomilla recutita* L.¹³⁰ *Pteronia onobromoides*,¹³¹ *Vernonia cinerea* Less,¹³² *Baccharis dracunculifolia* e *Baccharis uncinella*.¹³³

De forma geral os resultados obtidos nos ensaios antimicrobianos realizados, os extratos testados apresentaram atividade antibacteriana e frente às bactérias gram-positivas e gram negativas, embora com maior ênfase nas gram positivas; e ainda apresentaram atividade antifúngica frente às *Candidas* testadas. O perfil de seletividade em relação às bactérias gram-

positivas tem sido geralmente encontrado nos testes de atividade antimicrobiana com plantas, entretanto é um fenômeno também observado para a maioria dos agentes antimicrobianos sintéticos.⁵⁷ A resistência intrínseca das bactérias gram-negativas aos agentes antimicrobianos tem sido associada à presença de enzimas e outras estruturas na membrana externa que são capazes de bular a atividade antibiótica. Com isso o agente antimicrobiano não consegue penetrar na célula, ou quando consegue a concentração não é suficiente para apresentar o resultado esperado.^{57,59}

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos no desenvolvimento do trabalho permitiram concluir que:

❖ Das 12 plantas selecionadas os extratos que apresentaram melhores resultados foram das plantas *Conyza bonariensis* e *Macrosiphonia velame*;

❖ Na triagem da atividade antibacteriana pelo ensaio de difusão em disco as plantas testadas apresentaram atividade antibacteriana com os melhores resultados observados para o extrato hidroetanólico de *Macrosiphonia velame* xilopódio, seguido pelos extratos metanólicos de *Conyza bonariensis* folhas e raízes; já na triagem da atividade antifúngica os melhores resultados foram para o extrato metanólico da *Conyza bonariensis* folhas, seguido pelo extrato hidroetanólico da *Macrosiphonia velame* xilopódio e não apresentou atividade antifúngica para o extrato metanólico da *Conyza bonariensis* raízes;

❖ No teste de sensibilidade, na determinação da CIM dos extratos selecionados os extratos metanólico da *Conyza bonariensis* folhas e extrato hidroetanólico da *Macrosiphonia velame* apresentaram atividade antibacteriana, enquanto que o extrato metanólico da *Conyza bonariensis* raízes não apresentou boa sensibilidade ao método. Na atividade antifúngica o extrato hidroetanólico da *Macrosiphonia velame* apresentou melhor atividade, enquanto que os extratos metanólicos da *Conyza bonariensis* folhas e raízes apresentaram pouca atividade antifúngica;

❖ O perfil fitoquímico apresentado pelos extratos metanólicos da *Conyza bonariensis* folhas e raízes e extrato hidroetanólico da *Macrosiphonia velame* xilopódio, revelaram a presença de grupos de metabólitos secundários, substâncias bioativas, como alcalóides, flavonóides, saponinas, taninos e esteróides, que são grupos de substâncias dotadas de atividade antimicrobiana;

❖ O perfil cromatográfico em conjunto aos resultados obtidos no ensaio antimicrobiano de bioautografia dos extratos metanólicos da *Conyza bonariensis* folhas e raízes e extrato hidroetanólico da *Macrosiphonia velame* xilopódio sugerem que os mesmos apresentam diferentes classes de metabólitos secundários, de polaridades distintas, possuidoras de atividade antimicrobiana; principalmente o extrato metanólico da *Conyza bonariensis* folhas que teve bioautografia positiva para a bactéria *S. aureus*;

❖ No bioensaio com *Artemia salina* a Concentração Letal (CL₅₀) foi melhor com os extratos metanólicos da *Conyza bonariensis* folhas e raízes, do que com o extrato hidroetanólico da *Macrosiphonia velame*. O teste hipocrático mostra que realmente os extratos metanólicos da *Conyza bonariensis* folhas e raízes apresentam menor toxicidade quando comparado com o extrato hidroetanólico da *Macrosiphonia velame*;

❖ No modelo de infecção sistêmica, extrato metanólico da *Conyza bonariensis* folhas e o extrato hidroetanólico da *Macrosiphonia velame* xilopódio apresentaram atividade antibacteriana *in vivo*, com ação profilática, prevenindo os animais contra a morte causada pela infecção sistêmica induzida por *S. aureus* e *E. coli*;

❖ Os extratos metanólicos da *Conyza bonariensis* e extrato hidroetanólico da *Macrosiphonia velame* apresentaram atividade antimicrobiana *in vitro* e antibacteriana *in vivo*, nos modelos antimicrobianos frente a bactérias gram-positivas e gram-negativas, justificando o uso destas plantas como antiinfeciosas.

REFERÊNCIAS

1. Guarim Neto G, Morais RG. Recursos medicinais de espécies do cerrado de Mato Grosso: um estudo bibliográfico. *Acta Botânica Brasílica*. São Paulo Oct./Dez 2003; 17 (4):561-584.
2. Calixto JB. Biodiversidade como fonte de medicamentos. *Ciência e Cultura*. 2003; (55): 37-38.
3. Carvalho AR. Popular use, chemical composition and trade of cerrado's medicinal plants (Goiás, Brazil). *Environment, Development and Sustainability*. 2004; (6): 307-316.
4. Mauro RA, Aguiar L.M.S, Silva M.P, Pott A, Pott VJ. Fauna e Flora do Cerrado, Campo Grande, 2004. Disponível em: < [http:// www.cnpqg.embrapa.br/~rodiney/series/](http://www.cnpqg.embrapa.br/~rodiney/series/) acessado em 15/10/2009, 9:00 horas.
5. Guarim Neto G. O bioma cerrado: uma riqueza a preservar. In: Mauricio, J. Flores do Cerrado. Cuiabá-MT: Edição do autor. 2002; 120.
6. Biomas brasileiros, com destaque para o Cerrado (em verde). Fonte: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia16/AG01/arvore/AG0123911200585232.html>, em 01/11/2009, 18:00 horas.
7. De La Cruz MGF. Plantas Medicinais Utilizadas por Raizeiros: Uma abordagem Etnobotânica no contexto da saúde e doença. Cuiabá –MT, Dissertação para obtenção de título de mestre em Saúde e Ambiente. Instituto de Saúde Coletiva., Cuiabá –MT, 1997.
8. Gonçalves MIA. Plantas usadas pela população do município de Santo Antônio do Leverger, Mato-Grosso, Brasil. *Ver. Bras. Farm*, 1998; v.7, n.3/4, p.56-61.
9. Somavila NS. Utilização de plantas medicinais por uma comunidade garimpeira do sudeste mato-grosses, Alto Coité- Poxoréo-MT (Dissertação de Mestrado) ISC/UFMT. 1998; 100.
10. Mendonça RC, Felfili JM, Walter BMT, et al. Flora vascular do cerrado. In: Sano, S. M.; Almeida, S. P. (eds.). *Cerrado: ambiente e flora*. Planaltina: EMBRAPA-CPAC. 1998; 289-539.
11. Gurib-Fakim A. Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Mol.Aspects Med*. 2006; 1(27): 1-93.
12. Rates SM. Plants as source of drugs. *Toxicon*. 2001; 5(39): 603-613.
13. Lapa AJ, Soucar C, Landman-Lima MTR, Godinho RO, Lima TCM. Farmacologia e Toxicologia de Produtos Naturais. In: *Farmacognosia da Planta ao Medicamento*. Florianópolis-SC Editora da EFSC. 2000; 1981-196.
14. Caballero N J. Etnobotânica. In: Barrera, A. (ed.). *La Etnobotânica: tres puntos de vista y una perspectiva*. Xalapa: Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Bióticos. 1983.
15. Maciel M, Guarim Neto G. Um olhar sobre as benzedadeiras de Juruena (Mato Grosso, Brasil) e as plantas usadas para benzer e curar. *Bol. Mus. Para. Emílio Goeldi, Ciências Humanas*, Belém. set-dez 2006; 3 (2): 61-77.
16. Li Y, Ohizumi Y. Search for constituents with neurotrophic factor-potentiating activity from the medicinal plants of paraguay and Thailand. *Yakugaku Zasshi*. 2004; 7 (124): 417-424.
17. Kinghorn A. D. The role of pharmacognosy in modern medicine. *Expert Opin. Pharmacother*. 2002; 2(3): 77-79.
18. Cechinel Filho V, Yunes RA. Breve análise histórica da química de plantas medicinais: sua importância na atual concepção de fármaco segundo os paradigmas ocidental e

- oriental. In: YUNES RA, CALIXTO JB. Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna. Chapecó, SC: Argos, 2001; 17-46.
19. Yunes RA, Pedrosa RC, Cechinel Filho V. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. *Quim. Nova*. São Paulo. 2001; 1(24): 147-152.
 20. Butler MS. Natural products to drugs: natural product derived compounds in clinical trials. *Nat. Prod. Rep.* 2005; 22: 162-195.
 21. Veiga Junior VF, Pinto AC, Maciel MA. Plantas medicinais: cura segura? *Quim. Nova*. 2005; 3 (28):.519-528.
 22. Diegues AO, Viana VM. Comunidades Tradicionais e Manejo dos Recursos Naturais da Mata Atlântica. São Paulo: NUPAUB-USP. 2000; 273.
 23. Alzugaray D. Plantas que curam. São Paulo: Três Livros e Fascículo, 1983; v 1 e 3.
 24. Martins ER, De Castro DM, Castelona DC, Dias JE. Plantas Medicinais. 1 ed. Viçosa, Minas Gerais, Universidade Federal de Viçosa. Imprensa Universitária, 1994.
 25. Chandrasekaran M, Venkatesalu V. Antibacterial and antifungal activity of *Syzygium jambolonum* seeds. *J Ethnopharmacol*, 2004; 91: 105-108.
 26. Portillo A, Vila R, Freixa B, Adzet T, Cañigueral S. Antifungal activity of Paraguayan plants used in traditional medicine. *J Ethnopharmacol*. 2001; 76: 93-98.
 27. Salvador MJ, Pereira PS, França SC, Candido RC, Ito IY, Dias DA. Comparative study of antibacterial and antifungal activity of callus culture and adult plants extracts from *Alternanthera maritima* (Amaranthaceae). *Brazilian Journal of Microbiology*. 2003; 34: 131-136, oct.
 28. Ahmad I, Mehmood Z, Mohammad F. Screening of some Indian medicinal plants for their antimicrobials properties. *J Ethnopharmacol*. 1998; 62: 183-193
 29. Michelin DC, Moreschi PE, Lima AC, Nascimento GGF, Paganelli MO, Chaud MV. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos vegetais. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. out/dez 2005; 4 (15):316-320.
 30. Packer JF, Luz MMS. Método para avaliação e pesquisa da atividade antimicrobiana de produtos de origem natural. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*. jan/mar 2007; 1 (17):102-107.
 31. Ishida K, Mello JCP, Cortez DAG, Filho BPD, Ueda-Nakamura T, Nakamura CV. Influence of tannins from *Stryphnodendron adstringens* on growth and virulence factors of *Candida albicans*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. sept 2006; 58: 942-949.
 32. Cowan MM. Plant Product as Antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, Washington. 1999; 12: 564-82.
 33. Robbers JE, Speedie MK, Tyler VE. *Pharmacognosy and Pharmacobiotechnology*. Baltimore: Willians & Wilkins. 1996; 1-14.
 34. Corrêa AD, Siqueira-Batista R, Quinta LEM. Plantas Medicinais - do cultivo à terapêutica, 2ª edição. Petrópolis: Ed. Vozes, 1998.
 35. Cechinel Filho V, Yunes RA. Estratégias para obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade *Quim. Nova*, 1998; 1 (21): 99-105.
 36. Simões CMO. et al. Farmacognosia da planta ao medicamento. 4ª ed. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS, 2002; 833.
 37. Ríos JL, Recio MC. Medicinal plants and Antimicrobial activity. *Journal of Ethnopharmacology*. 2005; 100: 80-84.
 38. Pinto CN, Dantas AP, De Moura KC, Emery FS, Polequevitch PF, Pinto MC, et al. Chemical reactivity studies with naphthoquinones from *Tabebuia* with anti-trypanosomal efficacy. *Arzneim-Forsch/ Drug Res*. 2000; 50:1120-1128.

39. Eloff JN. Wich extractant should be used for the screening and isolation of antimicrobial components from plants? *J Ethnopharmacol.* 1988; 60: 1-8.
40. Lazaroto CA, Fleck NG, Vidal RA. Biologia e ecofisiologia de buva (*Conyza bonariensis* e *Conyza canadensis*). *Ciência Rural*, Santa Maria, mai-jun, 2008; v.38, n. 3, p. 852 – 860.
41. Favila MAC. Estudo químico e biológico de *Conyza bonariensis* (L.) Cronquist (Asteraceae) -Dissertação de mestrado da Universidade Federal de Santa Maria – UFSM 2007
42. Lorenzi H, Matos FJ. A. Plantas Daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas. 3. ed. São Paulo: Nova Odessa, Ed. Instituto Plantarum, 2000; 608.
43. Leitão Filho FH. Plantas Invasoras de Culturas. São Paulo. HUCITEC: Ministério da Agricultura, Agiplan, Banco Interamericano de Desenvolvimento, 1972; (2) 362.
44. Lopes AMV, Álvares FA. EXE: Plantas Medicinais. Nossas Farmácias Vivas. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, O Museu Gama D'Eça está com a planta que você procura, 1996.
45. Asongalem EA, et al. Analgesic and antiinflammatory activities of *Erigeron floribundus*. *Journal of Ethnopharmacology.*, 2004; 91:301- 308.
46. Pacciaroni ADV, et al. Bioactive Constituents of *Conyza albida*. *Planta Médica.* 2000; 66:720-723
47. Kissman KG, Groth D. Plantas Infestantes e Nocivas – Tomo II. São Paulo: BASF, 1997; 2ª ed, 2
48. Pyon JY, et al. Differential levels of antioxidants in paraquat – resistant and –susceptible *Erigeron canadensis* biotypes in Korea. *Weed Biology and Management*, 2004; 4:75:80.
49. Barban JR. Revisão Taxonômica do Gênero *Macrosiphonia* Muell. – Arg. (Apocynaceae). (Dissertação de Mestrado) Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia. São Paulo, 1985
50. Rapini A. Sistemática: estudos em Asclepiadoideae (Apocynaceae) da Cadeia do Espinhaço de Minas Gerais (Tese de Doutorado), Universidade de São Paulo, Instituto de Biociências, São Paulo, 2000.
51. Rodrigues VEG, Carvalho DAC. Plantas medicinais no domínio dos cerrados. Lavras. 2001; 180.
52. Guarim Neto G, Morais RG. Recursos medicinais de espécies do cerrado de mato grosso: um estudo bibliográfico. *Acta bot. bras.* 2003; 17(4): 561-84.
53. Ribeiro RV. Estudo da atividade antiinflamatória e antinociceptiva do extrato hidroetanólico de *Macrosiphonia velame* (A. St.-Hil.) Müll. Arg. (Velame-branco). Tese de mestrado, UFMT; Cuiabá:2009.
54. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. *Microbiologia Médica.* 5ª ed. Elsevier: Rio de Janeiro, 2006.
55. Levinson W, Jawetz E. *Microbiologia Médica e Imunologia.* 7ª ed. Artmed: Porto Alegre, 2005.
56. Tortora GJ, Funke BR, CASE CL. *Microbiologia.* 8ª ed. Artmed: Porto Alegre, 2005.
57. Schaechter M, Engleberg NC, Eisenstein BI, Medoff G. *Microbiologia: Mecanismos das Doenças Infecciosas.* 3ª ed. Guanabara koogan: Rio de Janeiro, 2002.
58. Diferenças paredes bacterianas Gram positivas e Gram negativas. Fonte: http://images.google.com.br/imgres?imgurl=http://www.prof2000.pt/users/biologia/GramNeg.jpg&imgrefurl=http://www.prof2000.pt/users/biologia/tcolgram.htm&usg=__A_SVACP6OpAqJDaaH1p05kwuNW8=&h=325&w=360&sz=22&hl=ptBR&start=4&tbid=kqW9NjXR6warM:&tbnh=109&tbnw=121&prev=/images%3Fq%3Dparedes%2Bbacteriana%2BGram%2Bpositivos%26gbv%3D2%26ndsp%3D20%26hl%3DptBR%26sa%3DNem. Acessado em 01/11/2009 às 15:00 horas.

59. Murray PK, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. Microbiologia Médica. 4.ed. Guanabara Koogan:Rio de Janeiro, 2004.
60. Sartori MRK. "Atividade antimicrobiana de frações e extratos e compostos puros obtidos das flores de *Acmela brasiliensis* SPRENG". Dissertação de Mestrado, Universidade do Vale do Itajaí - SC. 2005; 81.
61. Mims C, Dockrell H, Goering RV, Roitt I, Wakelin D, Zucherman M. Microbiologia Médica. 3.ed. Elsevier:Rio de Janeiro, 2005.
62. Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Flower RJ. Farmacologia. 6.ed. Guanabara Koogan:Rio de Janeiro, 2007.
63. Trabulsi LR, Alterthum F, Gompertz OF, Candeias JAN. Microbiologia. 3 ed. São Paulo: Atheneu, 1999.
64. Zacchino SA, Gupta MP. Manual de técnicas *in vitro* para la detección de compuestos antifúngicos. 1ª ed. Corpus Editorial Distribuidora: Rosario, 2007.
65. Minami PS. Micologia – Métodos Laboratoriais de Diagnóstico das Micoses. Editora Manole, São Paulo – SP. 2003.
66. Sidrim JJC, Rocha MFG. Micologia Médica À Luz de Autores Contemporâneos. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 2004; 266.
67. Chen L, Cheng X, Shi W, Lu Q, Go VL, Heber D et al. Inhibition of growth of *Streptococcus mutans*, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, and vancomycin-resistant *Enterococci* by kurarinone, a bioactive flavonoid isolated from *Sophora flavescens*. J Clin Microbiol. 2005; 7:3574-3575.
68. Mims C, Playfair J, Roitt I, Wakelin D, Williams R. Microbiologia Médica. 2.ed. Manole:São Paulo, 1999; 584.
69. Patino DC. Por qué las bacterias se hacen resistentes a la acción de los antibióticos. Umbral Científico, 2003; 3: 48-56.
70. Cohen ML. Epidemiology of drug resistance: implications for a post-antimicrobial era. Science, Washington, 1992; 11 (257): 1050-1055.
71. Guzmán-Blanco M, Casellas JM, Sader HS. Bacterial resistance to antimicrobial agents in Latin America. Infectious Disease Clinical North America, 2000; 14: 67-81.
72. Pannuti CS, Grinbaun RS. An Overview of nosocomial infection control in Brazil. Infection Control Hospital Epidemiology, 1995; 16: 170-174.
73. Ryan MP, Rea MC, Hill C, Ross RP. An application in cheddar cheese manufacture for a strain of *Lactococcus lactis* producing a novel broad-spectrum bacteriocin, lacticin 3147. Applied and Environmental Microbiology. 1996; 62:612-619.
74. Loguercio AP, Battistin A, Vargas AC, Henzel A, Witt NM. Atividade antibacteriana de extrato hidro-alcóólico de folhas de jambolão (*Syzygium cumini* L. Skells). Ciência Rural. 2005; 35(2):371-376.
75. Catão RMR, Barbosa-Filho JM, Gutierrez SJC, Lima EOL, Pereira MSV, Arruda TA, Antunes RMP. Avaliação da atividade antimicrobiana de riparinas sobre cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* multirresistentes. RBAC. 2005; 4 (37): 247-249, jun.
76. Pereira MSV, Rodrigues OG, Feijó FM, Athayde ACR, Lima EQ, Sousa MRQ. Atividade antimicrobiana de extratos de plantas no Semi-Árido Paraibano. Agropecuária Científica no Semi-árido, Patos. 2006; 1 (2): set-dez.
77. Kerawala M, Ambler JE, Lee PYC, Drabu YJ. In vitro activity of gemifloxacin (SB-265805) compared to eleven other antimicrobial agents against streptococcal isolates, excluding *Streptococcus pneumoniae*. Eur J Microbiol Infect Dis. 2001; 20: 271-275.
78. Larson EL, McGinley KJ, Foglia AR, Talbot GH, Leyden JJ. Composition and antimicrobial resistance of skin flora in hospitalized and healthy adults. J Clin Microbiol. 1986; 23: 604-608.

79. Colombo AL, Barchiesi F, McGough DA, Rinaldi MG. Comparison of Etest and National Committee for Clinical Laboratory Standards broth macrodilution method for azole antifungal susceptibility testing. *J Clin Microbiol.* 1995; 33: 535-540.
80. Fenner R, Betti AH, Mentz LA, Rates SMK. Plantas utilizadas na medicina popular brasileira com potencial atividade antifúngica. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences.* 2006; 3 (42): 369-394, jul/set.
81. Barbour CK, Sharif M, Sagherian VK, Habre AN, Talhouk RS, Talhouk SN. Screening of selected indigenous of Lebanon for antimicrobial activity. *Journal of Ethnopharmacology.* 2004; 93: 1-7.
82. Penildon S. *Farmacologia.* 6ª edição. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 2002.
83. Zacchino S. Estratégias para a descoberta de novos agentes antifúngicos. In: Yunes RA, Calixto JB. *Plantas medicinais sob a ótica da moderna química medicinal.* Chapecó: Argos, 2001; 47-75.
84. Bauer AW, Perry MB, Kirby WMM. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal Clinical Pathology,* 1996; 45: 493-496.
85. Barry AL, Thirnsberry C, Gerlach EH, Hawkinson RWD. Methods of measuring zone of inhibition with the Bauer-Kirby disk susceptibility test. *Journal of Clinical Microbiologic,* 1979; 6: 885-889.
86. NCCLS, National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Test for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard – NCCLS document M7-A6; 6 ed.* Wayne, Pennsylvania- USA, 2003.
87. Holetz FB, Pessini GL, Sanches NR, Cortez DAG, Nakamura CV, Dias Filho BP. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. *Memórias Instituto Oswaldo Cruz.* 2002; 7 (9): 1027-1031.
88. Preto JB, Chechinel Filho V, Nieldin VF, Sartori MRK, Isaias EB, Bella Cruz A. Antimicrobial activity of fractions and compounds from *Calophyllum brasiliense*. *Zeitschrift Für Naturforsch.* 2004; 59: 657-662.
89. Matos FLA. *Introdução a Fitoquímica Experimental.* 2ª edição. Fortaleza: Edições UFC, 1997.
90. Costa AF. *Farmacognosia.* 2ª edição. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1982; 2.
91. Collins CH, Braga GL, Bonato PS. *Introdução a métodos cromatográficos.* 7ª ed. Editora da Unicamp: São Paulo. 1997; 47: 48, 52.
92. Chechinel Filho V, Yunes RA. Estudo químico de plantas medicinais orientado para análise biológica, obtenção, determinação e modificação estrutural de compostos bioativos. In: Yunes, R.A.; Calixto, J.B. *Plantas medicinais sob a ótica da moderna química medicinal.* Chapecó: Argos. 2001; 47-75.
93. Souza HCA, Barbosa WLR, Vieira JM. Investigação Fitoquímica e Isolamento da Substância Antibacteriana Presente na Espécie *Ananas erectifolius* (curauá). *Revista Científica da UFPA.* 2004; 4.
94. Rahalison L, Hamburger M, Monod M, Frenk E, Hostettman K. Antifungal tests in phytochemical investigations: comparison of bioautographic methods using phytopathogenic and human pathogenic fungi. *Planta Medica.* 1994; 60: 41-43.
95. Saxena G, Farmer S, Towers GHN, et al. Use of Specific Dyes in the Detection of antimicrobial Compounds from crude plant Extracts using a Thin Layer Chromatography agar Overlay Technique. *Phytochemical Analysis.* 1995; 6: 125-129.
96. Meyer BN, Ferrigini NR, Putnan JE, Jacobsen LB, Nichols DE, McLaughlin JL. *Planta Med.* 1982; 45: 31.
97. Malone MH. Pharmacological approaches to natural product and evaluating. In: *Natural products and plant drugs with pharmacological, biological or therapeutic activity.* Eds. Wasner, H. and Walff, L. P. Spring Verlag, Berlin. 1977; 23-56.

98. Malone MH. The pharmacological evaluation of natural products general and specific approaches to screening ethnopharmaceuticals. *J. Ethnopharmacol.* 1983; 8: 127-47.
99. Brasil. Ministério da Saúde. ANVISA (2004) Resolução N° 90 de 16 de março de 2004. Dispõe sobre o guia para realização de estudos de toxicidade pré-clínica de fitoterápicos. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, D.F., 18 mar. 2004.
100. Yamaguchi K, Domon H, Miyazaki S, Tateda K, Ohno A, Ishii K, Matsumoto T, Furuya N. In Vitro and In Vivo Antibacterial Activities of CS-834, a New oral carbapenem. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 1988; 555-563.
101. Koga T, Abe T, Inoue H, Takenouchi T, Kitayama A, Yoshida T, Masuda N, et al. In Vitro and In Vivo Antibacterial Activities of CS-023 (RO49008463), a Novel Parenteral carbapenem. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 2005; 3239-3250.
102. Oliveira AC, Silva RS. Desafios do cuidar em saúde frente à resistência bacteriana: uma revisão. *Revista Eletrônica de Enfermagem.* 2008; 10(1):189-197.
103. Souza MM, Bella Cruz A, Schumacher MB, krueger MRO, Freitas RA, Bella Cruz RC. Método de avaliação biológica de produtos naturais e sintéticos. In; Bresolin TMB, Cechinel Filho V. *Ciências farmacêuticas: Contribuição ao desenvolvimento de novos fármacos e medicamentos.* Itajaí: Editora Univali. 2003; 239.
104. Oliveira IS. Avaliação da Atividade Antimicrobiana *in vitro* e *in vivo* de *Croton urucurana* Baillon (Sangra D'Água). Tese de mestrado, UFMT; Cuiabá: 2007.
105. Alves EG, Vinholis HC, Casemiro LA, Jacometti NA, Furtado C, Silva MLA, et al. Estudo comparativo de técnicas de screening para avaliação da atividade antibacteriana de extratos brutos de espécies vegetais e de substâncias puras. *Quim Nova* 2007; Nota técnica).
106. Chaudhry BA, et al. Biological studies of *Conyza* and *Euphorbia* species. *Journal of Research Science*, 2001; 12(1): 85-88.
107. Araújo JCLV, Lima EO, Ceballos BSO, Freire KRL, Souza EL, Santos Filho L. Ação antimicrobiana de óleos essenciais sobre microrganismos potencialmente causadores de infecções oportunistas. *Rev. Patologia Tropical*, jan-jun 2004; 33(1): 55-64.
108. Avancini CAM, Wiest JM. Etnomedicina veterinária, etnonosotaxia e etnoterapêutica de doenças de pele como referência para seleção e avaliação preliminar da atividade antibacteriana de plantas nativas no sul do Brasil *Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu.* 2008; 1 (10): 21-28.
109. Dubey NK, Dixit SN, Bhargaba KS. Evaluation of leaf extracts of higher plants against some storage fungi. *Indian Journal of Botany.* 1982; 5: 20-22.
110. Virtuoso S, Davet A, Dias JFG, Cunico MM, Miguel MD, Oliveira AB, Miguel OG. Estudo preliminar da atividade antibacteriana das cascas de *Erythrina velutina* Willd., Fabaceae (Leguminosae). *Revista Brasileira de Farmacognosia.* 2005; 2 (15): 137-141.
111. Simões CMO, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrocick PR. *Farmacognosia da planta ao medicamento.* Editora UFSC, 2ª ed. Rio Grande do Sul. 1999.
112. Violante IMP, Souza IM, Venturini CL, Ramalho AFS, Santos RAN, Ferrari M. Avaliação *in vitro* da atividade fotoprotetora de extratos vegetais do cerrado de Mato Grosso *Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy.* Abr./Jun 2009; 19(2A): 452-457.
113. Salisbury FB, ROSS CW. *Plant Physiology.* 4ª edição. Wadsworth Publishing Company, Belmont, 1992.
114. Lopes NP, kato MJ, Yoshida M. antifungal constituents from roots of *Virola surinamensis*. *Phytochemistry.* 1998;1-5.
115. Wang HK. The therapeutic potential of flavonoids. *Expert Opin Investig Drugs.* 2000; 9: 2103-2119.

116. Havsteen BH. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol Ther.* 2002; 96: 67-202.
117. Abu-Dhab R, Afifi F. Antiproliferative activity of selected medicinal plants of Jordan against a breast adenocarcinoma cell line (MCF7) *Scientia Pharmaceutica (Sci. Pharm.)*. 2007; 75, 121-136.
118. Evans WC. *Trease and Evans' Pharmacognosy*. 14ª edição. London: WB Saunders, 1996.
119. Corbellini VA. Síntese e avaliação de propriedades fotofísicas e biológicas de 2-(2'-hidroxifenil) benzoxazolas e cumarinas em fungos de interesse clínico. *Tese de Doutorado*, UFRGS, 2004.
120. Collins CH, Braga GL, Bonato PS. *Introdução a métodos cromatográficos*. 7ed. Editora da Unicamp: São Paulo. 1997; 47, 48, 52.
121. Dolabela MF. Triagem *in vitro* para a atividade antitumoral e anti-*T.cruzi* de extratos vegetais, produtos naturais e substâncias sintéticas. Belo Horizonte. [Dissertação – Mestrado]: Universidade Federal de Minas Gerais, 1997.
122. Azevedo AS. Caracterização Anatômica e Análise do Óleo Essencial de *Conyza bonariensis* (L.) Cronquist (ASTERACEAE). Dissertação (Mestrado em Botânica), Universidade Federal de Viçosa, 1999.
123. Oliveira RAG, Lima EO, Vieira WL, Freire KRL, Trajano VN, Lima IO, Souza EL, Toledo MS, Silva-Filho RN. Estudo da interferência de óleos essenciais sobre a atividade de alguns antibióticos usados na clínica. *Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy*. jan./mar 2006; 16(1): 77-82.
124. Souza MC, Siani AC, Ramos MF, Menezes-de-Lima OJ, Henriques MG. Evaluation of anti-inflammatory activity of essential oils from two Asteraceae species. *Pharmazie*. aug. 2003;58(8):582-6.
125. Okemo PO, Ruttoh EK, Tarus PK, Bii CC, King A, Machochi O, Karimi LK. Antibacterial Activity of *Tabernaemontana stapfiana* Britten (Apocynaceae) Extracts. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative medicines (AJTCAM)*. 2009; 2 (6).
126. Nwaogu LA, Alisi CS, Igwe CU, Ujowundu CO. A comparative study of the antimicrobial properties of the ethanolic extracts of *Landolphia owariensis* leaf and root. *African Journal of Biotechnology*. 2007; 7 (4): 368-372.
127. Sengar NPS, Pathak AK, Mehta PD, Shirode D, Singh A. Comparative antimicrobial studies of ethanolic extract of leaves of *Nerium indicum* & *Martynia annua*. *Biosciences Biotechnology Research Asia*, 2006; 3 (1A): 254-255.
128. Souza WM, Stingenhen AEM, Santos CAM. Antimicrobial activity of alkaloidal fraction from barks of *Himatanthus lancifolius*. *Fitoterapia, Elsevier*. 2004; 75 (7-8): 750-753.
129. Ahmad S, Fatima K, Atiq-Ur-Rahman. Antibacterial Activity of Pakistani *Rhazya stricta*. *Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research*. 2004; 47 (1): 29-33.
130. Abdel-Hameed ES, El-Nahas HA, Abo-Sedera SA. Antischistosomal and Antimicrobial Activities of Some Egyptian Plant Species *Pharmaceutical Biology*. sept. 2008; 9 (46): 626-633.
131. Hulley IM, Viljoen AM, Tilney PM, Vuuren SF, Kamatou GPP, Van Wyk BE. Ethnobotany, leaf anatomy, essential oil composition and antibacterial activity of *Pteronia onobromoides* (Asteraceae) *South African Journal of Botany*. january 2010, 76 (1): 43-48.
132. Latha LY, Darah I, Jain K, Sasidharan S. Toxicity study of *Vernonia cinerea* *Pharmaceutical Biology (Formerly International Journal of Pharmacognosy)*. january 2010, 48 (1): 101-104.

133. Ferronato R, Marchesan ED, Pezenti E, Bednarski F, Onofre SB. Antimicrobial activity of essential oils produced by *Baccharis dracunculifolia* D.C. and *Baccharis uncinella* D.C. (Asteraceae) Rev. bras. farmacognosia, abr.-jun 2007; 17(2): 224-230.

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](#)