



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

CHRISTIAN MIRANDA RIBEIRO

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE PLANTAS UTILIZADAS
NA MEDICINA POPULAR DA AMAZÔNIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Pará como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Área de Concentração: Fármacos e Medicamentos

Orientador: Prof. Dr. José Maria dos Santos Vieira

Co-orientador: Prof. Dr. Davi de Jesus Oliveira

Belém
2008

FICHA CATALOGRÁFICA

Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Pará

Ribeiro, Christian Miranda.

Avaliação da atividade antimicrobiana de plantas medicinais da Amazônia/ Christian Miranda Ribeiro - Belém, 2008. 70p.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Instituto de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Pará.

Área de concentração: Fármacos e Medicamentos.

Linha de Pesquisa: Avaliação Biológica de Produtos Naturais e Sintéticos.

Orientador: Vieira, José Maria dos Santos.

Versão do título para o inglês: Antimicrobial avaliation of medicinal plants of Amazonia.

Descritores: 1. Plantas medicinais. 2. Atividade antimicrobiana. 3. Extratos vegetais. 4. Antimicrobianos. 5. *Uncaria guianensis*. 6. Medicina popular.

UFPA/ICS/PPGCF/2008

Autor: Christian Miranda Ribeiro

Título: Avaliação da atividade antimicrobiana de plantas utilizadas na medicina popular da Amazônia.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Pará como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêutica.

Área de Concentração: Fármacos e Medicamentos

APROVADA EM :/...../.....

Banca Examinadora:

Profa. Dra. KARLA TEREZA SILVA RIBEIRO – ICB/UFPA

Prof. Dr. JOSÉ OTÁVIO CARRÉRA SILVA JUNIOR – ICS/UFPA

Prof. Dr. JOSÉ MARIA DOS SANTOS VIEIRA – ICS/UFPA

Belém
2008

DEDICATÓRIA

Este trabalho dedico:

Aos meus pais Sydney Itauran Ribeiro e Maria Raimunda Miranda Ribeiro.
Com vocês aprendi que todo sonho é possível. Pelo apoio, incentivo e amor integral, meu muito obrigado!

AGRADECIMENTOS

À Deus pela saúde

Ao orientador, Prof. Dr. José Maria dos Santos Vieira, pela orientação e pela amizade construída durante esta caminhada.

Ao Prof. Dr. Davi de Jesus Oliveira pela competente co-orientação.

Ao Prof. Dr. Wagner Luiz Ramos Barbosa por conceder o espaço físico e estrutura para obtenção dos extratos e análises fitoquímicas

A farmacêutica e amiga Lúcia Karla Vasconcelos pela paciência e carinho.

A farmacêutica Kaira Souza pela ajuda e amizade.

Aos professores da Faculdade de Farmácia da UFPA por suas contribuições para a melhoria deste trabalho.

Aos meus pais, Sydney Itauran Ribeiro e Maria Raimunda Miranda Ribeiro e irmãos Sydney Junior e Rafaela Ribeiro, cujo amor e incentivo ajudaram na realização deste trabalho.

Ao meu amigo Alan Barroso Araújo por me guiar e escolher os caminhos certos.

Aos meus amigos, Anderson Bentes, Luciana Pinto, Tânia Mara, Daniella Paternostro, Solange Regina, Mariana Muller e Mauro por me ajudarem nesse trabalho através do apoio e respeito que mantiveram por mim.

Aos amigos do mestrado que participaram do processo de desenvolvimento desse trabalho.

A Universidade Federal do Pará pela oportunidade concedida.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES – pela bolsa concedida.

E, a todos aqueles que contribuíram de modo direto ou indireto, na realização desta dissertação.

“Uma coletânea de pensamentos deve ser uma farmácia
onde se encontrem remédios para todos os males”

Voltaire

RESUMO

O estudo de plantas medicinais possibilita a descoberta de novos compostos bioativos na procura de drogas promissoras. O aumento de infecções e o aparecimento da resistência microbiana reforçam essa pesquisa. O objetivo do trabalho foi avaliar a atividade antimicrobiana de extratos de seis espécies de plantas medicinais que ocorrem na Amazônia: *Psidium guajava* (goiabeira), *Bryophyllum calycinum* Salisb (pirarucu), *Eleutherine plicata* Herb (marupazinho), *Uncaria guianensis* (unha-de-gato), *Arrabidaea chica* (pariri) e *Mansoa alliacea* (Lam.) A.H. Gentry (cipó d'alho) frente a cepas ATCC de bactérias e fungos. A coleta e a identificação das plantas foram realizadas na EMBRAPA/CPATU e a análise fitoquímica no Laboratório de Fitoquímica da FACFAR/UFPA e CESUPA obedecendo às metodologias estabelecidas nestes laboratórios. Os extratos etanólicos seco das folhas frescas das plantas e bulbo do marupazinho foram submetidos à avaliação da atividade antimicrobiana pelo método de disco difusão em ágar e determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) através do método de microdiluição em placas e disco difusão em ágar. Os extratos foram utilizados em concentrações de 500, 250, 125, 62,5 e 31,25 mg/mL utilizando como solvente o Dimetil-Sulfóxido (DMSO). O extrato de goiabeira teve atividade frente a *S. aureus*, *P. aeruginosa* e *C. albicans* (CIM 125mg/mL), o de pirarucu frente a *S. aureus* (CIM= 500 mg/mL) e *P. aeruginosa* (CIM= 250 mg/mL), o de marupazinho para *S. aureus* (CIM= 500mg/mL) e *C. albicans* (CIM= 250mg/mL), o de unha-de-gato contra *S. aureus* (CIM= 62,5 mg/mL) e o de pariri inibiu *S. aureus* (62,5 mg/mL), *E. coli* (250 mg/mL) e *C. albicans* (500 mg/mL). O fracionamento do EEB de *U. guianensis* através da técnica de dissolução fracionada demonstrou que a fração metanólica teve ação antimicrobiana. Os resultados comprovaram que estas plantas possuem atividade antimicrobiana. Estes extratos abrem uma possibilidade de descobertas de novos compostos antimicrobianos clinicamente efetivos.

ABSTRACT

The study of medicinal plants it makes possible the discovery of new bioactive components in the search for promising drugs. The increase of infections and the appearance of the microbial resistance strengthen this research. The Objective of this study it was evaluate the antimicrobial activity of the extracts of six medicinal plants of the Amazonia: *Psidium guajava* (guava), *Bryophyllum calycinum* Salisb (pirarucu), *Eleutherine plicata* Herb (marupazinho), *Uncaria guianensis* (Cat's claw), *Arrabidaea chica* (pariri) e *Mansoa alliacea* (Lam.) A.H. Gentry (cipó d'alho) against ATCC strains of fungi and bacteria. The collection and the identification of the plant were performed in EMBRAPA/CPATU and the phytochemical analysis in the Laboratory of FACFAR/UFGA and CESUPA in agreement with the methodologies established in these laboratories. The crude ethanolic extract of leaves and the underground parts of marupazinho were submitted to the antimicrobial activity evaluation through the ágar disc diffusion method and determination of minimum inhibitory concentration (MIC) through microdilution in plate and ágar disc diffusion methods. The extracts were used in concentrations of 500, 250, 125, 62,5 and 31,25 mg/mL using as solvent Dimethyl Sulfoxide (DMSO). The Guava extract was effective against *S. aureus*, *P. aeruginosa* and *C. albicans* (MIC 125mg/mL), pirarucu was effective against *S. aureus* (MIC= 500 mg/mL) and *P. aeruginosa* (MIC= 250 mg/mL), marupazinho against *S. aureus* (MIC= 500mg/mL) and *C. albicans* (MIC= 250mg/mL), Cat's claw against *S. aureus* (MIC= 62,5mg/mL) and pariri was effective against *S. aureus* (MIC= 62,5 mg/mL), *E. coli* (MIC=250 mg/mL) and *C. albicans* (MIC 500 mg/mL). The fractions of *U. guianensis* extracts was obtained through fractioned dissolution methods and show that only the methanolic fraction presented antimicrobial activity. The results show that Amazonia medicinal plants presents antimicrobial activity and. This promissory extracts open the possibility of finding new clinically effective antimicrobial compounds

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. REVISÃO DA LITERATURA	14
2.1. <i>Psidium guajava</i>	14
2.2. <i>Bryophyllum calycinum</i>	15
2.3. <i>Eleutherine plicata</i>	17
2.4. <i>Uncaria guianensis</i>	18
2.5. <i>Arrabidaea chica</i>	19
2.6. <i>Mansoa alliacea</i>	21
3. OBJETIVOS	23
3.1. Geral.....	23
3.2. Específicos.....	23
4. MATERIAL E MÉTODOS	24
4.1. Coleta e Identificação do Material Vegetal.....	24
4.2. Obtenção do extrato etanólico bruto (EEB)	30
4.3. Abordagem fitoquímica.....	30
4.3.1 Utilizando como solvente água destilada.....	31
4.3.2 Utilizando como solvente metanol.....	32
4.3.3 Utilizando Clorofórmio como solvente.....	33
4.3.4 Utilizando éter etílico.....	34
4.3.5 Antraquinonas.....	35
4.3.6 Alcalóides.....	35
4.3.7 Purinas.....	35
4.4. Microrganismos.....	35
4.5. Avaliação Preliminar da Atividade Antimicrobiana.....	36
4.6. Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM).....	36
4.7 Critérios para aceitação da atividade antimicrobiana de extratos brutos de plantas.....	37
4.8 Fracionamento do Extrato Etanólico Bruto de <i>Uncaria guianensis</i>	38
4.8.1 Dissolução Fracionada.....	38
4.8.2 Avaliação da atividade antimicrobiana das frações de <i>Uncaria guianensis</i>	38

4.8.3 Perfil comparativo entre a atividade antimicrobiana do extrato bruto de <i>Uncaria guianensis</i> e a fração metanólica.....	39
4.9 Fluxograma da metodologia.....	39
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
5.1. Abordagem Fitoquímica dos Extratos Etanólicos Brutos.....	40
5.2. Atividade antimicrobiana dos EEBs das plantas.....	43
5.3. Atividade antimicrobiana das frações de <i>Uncaria guianensis</i>	49
5.4 Perfil comparativo entre o extrato bruto de <i>Uncaria guianensis</i> e fração metanólica.....	50
6. CONCLUSÃO.....	54
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Critérios para aceitação da atividade antimicrobiana de extratos brutos de plantas.....	38
Tabela 2 - Abordagem Fitoquímica dos extratos etanólicos brutos de <i>Psidium guajava</i> (goiabeira), <i>Bryophyllum calycinum</i> (pirarucu), <i>Eleutherine plicata</i> (marupazinho), <i>Uncaria guianensis</i> (unha-de-gato), <i>Arrabidaea chica</i> (pariri) e <i>Mansoa alliacea</i> (cipó d'alho).....	42
Tabela 3 - Avaliação preliminar da atividade antimicrobiana dos extratos etanólicos brutos (concentração de 500 mg/mL) de <i>Psidium guajava</i> (goiabeira), <i>Bryophyllum calycinum</i> (pirarucu), <i>Eleutherine plicata</i> (marupazinho), <i>Uncaria guianensis</i> (unha-de-gato), <i>Arrabidaea chica</i> (pariri) e <i>Mansoa alliacea</i> (cipó d'alho).....	44
Tabela 4 - Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos extratos etanólicos brutos de <i>Psidium guajava</i> (goiabeira), <i>Bryophyllum calycinum</i> (pirarucu), <i>Eleutherine plicata</i> (marupazinho), <i>Uncaria guianensis</i> (unha-de-gato) e <i>Arrabidaea chica</i> (pariri) pelos métodos de disco difusão em ágar e de microdiluição em placas.....	46
Tabela 5 - Avaliação da atividade antimicrobiana das frações de <i>Uncaria guianensis</i> (unha-de-gato).....	49
Tabela 6 – Atividade antimicrobiana do EEB de <i>Uncaria guaianensis</i> (unha-de-gato) por disco difusão em ágar.....	50
Tabela 7 – Atividade antimicrobiana da fração metanólica de <i>Uncaria guianensis</i> (unha-de-gato) por disco difusão em ágar.....	51

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Folhas de <i>Psidium guajava</i> L. (Goiabeira). Exsicata doada pelo Laboratório de Botânica da EMBRAPA-Amazônia Oriental (Determinador: Miguel Pastana do Nascimento).....	24
Figura 2 – Folhas de <i>Bryophyllum calycinum</i> Salisb (Pirarucu). Exsicata doada pelo Laboratório de Botânica da EMBRAPA-Amazônia Oriental (Determinador: Miguel Pastana do Nascimento).....	25
Figura 3 – Folhas de <i>Eleutherine plicata</i> Herb. (Marupazinho). Exsicata preparada no Laboratório de Fitoquímica e identificada no Departamento de Botânica do Museu Paraense Emílio Goeldi pelo Dr. Mário Augusto Gonçalves Jardim do Departamento de Botânica (registro MG123511).....	26
Figura 4 – Folhas de <i>Uncaria guianensis</i> (Aubl.) Gmelin (unha-de-gato). Exsicata preparada no Laboratório de Botânica da EMBRAPA-Amazônia Oriental (Determinador: Miguel Pastana do Nascimento).....	27
Figura 5 – Folhas de <i>Arrabidaea chica</i> (HKB) Verlot. (pariri). Exsicata preparada no Laboratório de Botânica da EMBRAPA-Amazônia Oriental (Determinador: Miguel Pastana do Nascimento).....	28
Figura 6 – Folhas de <i>Mansoa alliacea</i> (Lam.) A.H. Gentry (Cipó d'alho). Exsicata doada pelo Laboratório de Botânica da EMBRAPA-Amazônia Oriental (Determinador: Miguel Pastana do Nascimento).....	29
Figura 7 – Atividade antimicrobiana da fração metanólica de <i>Uncaria guianensis</i> com ação na concentração de 100 mg (halo de 8 mm).....	50
Figura 8 – Atividade antimicrobiana do EEB de <i>Uncaria guianensis</i> por disco difusão em ágar.....	51
Figura 9 – Atividade antimicrobiana da ração metanólica de <i>Uncaria guianensis</i> por disco difusão em ágar.....	52
Figura 10 – Atividade antimicrobiana da fração metanólica e do EEB de <i>Uncaria guianensis</i> (unha-de-gato) por disco difusão em ágar.....	53

1. INTRODUÇÃO

As substâncias antimicrobianas representam um dos principais avanços da farmacoterapia nas últimas décadas com progressos sem limites dentro da terapêutica medicamentosa. O referido grupo de medicamentos condiciona, de forma efetiva, o efeito de espécies microbianas patogênicas e oportunistas responsáveis pelas mais variadas patologias que tanto provocaram a incapacidade prolongada ou óbito de seres humanos, sem restrição de faixa etária, situação financeira ou estado de saúde do indivíduo atingido (ROBERT et al., 1997; TAVARES, 1984).

Atualmente, os termos antibiótico e antimicrobiano são considerados como sinonímia, designando assim toda substância oriunda de seres vivos, microrganismos ou vegetais, como também aquelas sintetizadas em laboratório com a capacidade de em pequenas concentrações apresentarem atividade letal ou inibitória contra espécies microbianas e prevenir o desenvolvimento de microrganismos resistentes (AMATO NETO et al., 1994; ROBERTS et al., 1997).

Por um longo período de tempo, plantas têm sido uma das fontes de produtos naturais para a manutenção da saúde humana. As mais diversas enfermidades têm sido tratadas com chás (infuso, decocto, macerados), sucos, tinturas, banhos, cataplasmas e unguentos, preparados a partir de parte das plantas. A referida conduta terapêutica remonta, principalmente, aos antigos povos da China, Egito, Ásia e Roma, em que os eruditos, com base em seus conhecimentos, classificaram numerosas espécies vegetais, com a respectiva indicação do uso medicinal. Posteriormente, os gregos instituíram o emprego “racional” das plantas na prática médica, sendo seguido pelos clínicos da Europa Ocidental (FERNANDEZ et al., 1982; ROBERTS et al., 1997).

As observações populares sobre o uso e a eficácia de plantas medicinais contribuem, de forma relevante, para a divulgação das virtudes terapêuticas dos vegetais, prescritos com freqüência, pelos efeitos medicinais que produzem, apesar de não terem seus constituintes químicos conhecidos, mas tornando válidas informações terapêuticas que foram sendo acumuladas

durante séculos (MACIEL et al., 2002). Porém, desde o advento dos antibióticos, o uso de derivados de plantas como antimicrobianos tem sido virtualmente inexistente (COWAN, 1999).

Embora as indústrias químicas e farmacêuticas tenham produzido uma imensa variedade de diferentes antibióticos nos últimos tempos, cada vez mais tem sido observado o aumento de microrganismos resistentes aos antimicrobianos disponíveis no mercado, incentivando a busca de novas fontes de substâncias com atividades antimicrobianas. Além disso, a alta incidência de infecções, principalmente em indivíduos imunocomprometidos, aumenta a importância da procura e da descoberta de compostos terapêuticos alternativos. De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), plantas medicinais deveria ser a melhor fonte para obter-se uma variedade de drogas (PRASHAR et al., 2003).

Sendo assim, pesquisas voltadas para o estudo e a avaliação de produtos naturais como terapêuticos e principalmente com atividade antimicrobiana devem ser estimulados no intuito de criar novas drogas. Dentro desse contexto, os estudos com plantas utilizadas na medicina popular representam prioridade na Amazônia, pela variedade e riqueza de sua flora.

No Brasil encontram-se cerca de 20% das 250 mil espécies medicinais catalogadas pela Organização das Nações Unidas (ONU), facilitando o aproveitamento do potencial curativo dos vegetais para o tratamento de doenças (DRUMOND et al., 2004). Na Amazônia existe grande diversidade vegetal, onde se encontram muitas plantas com propriedades medicinais e, que durante milênios são utilizadas pelas comunidades nativas.

O projeto “PADRONIZAÇÃO DE PREPARAÇÕES TRADICIONAIS À BASE DE PLANTAS MEDICINAIS PARA O DESENVOLVIMENTO DE FITOTERÁPICOS” realizado pelo Setor de Insumos Farmacêuticos – (SINFARM) – do Programa Pobreza e Meio Ambiente – (POEMA) – do Núcleo de Meio Ambiente – (NUMA) – da Universidade Federal do Para – (UFPA) caracterizou algumas espécies vegetais de uso medicinal tradicional visando o aproveitamento em fitoterápicos. A triagem das plantas através de questionário etnofarmacêutico, selecionou espécies vegetais utilizadas para doenças que possam ter como agentes bactérias ou fungos (BARBOSA & PINTO, 2001).

A partir desta seleção foi avaliada, no presente trabalho, a atividade antimicrobiana de seis espécies utilizadas na medicina popular da Amazônia,: *Psidium guajava* L. (goiabeira), *Bryophyllum calycinum* Salisb (pirarucu), *Eleutherine plicata* Herb (marupazinho), *Uncaria guianensis* (Aubl.) Gmelin (Unha de gato), *Arrabidaea chica* (HKB) Verlot (pariri) e *Mansoa alliacea* (Lam.) A.H. Gentry (cipó d'alho).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. *Psidium guajava*

A família *Myrtaceae* inclui cerca de 130 gêneros e aproximadamente 4.620 espécies arbustivas e arbóreas, bem representada em regiões tropicais e subtropicais, com centros de dispersão na Austrália, oeste da Índia e América (MABBERLEY, 1997; JUDD et al., 1999). É considerada nativa da América tropical, em especial do Brasil e das Antilhas. Essa família inclui gêneros como *Myrtus*, *Psidium*, *Pimenta*, *Eugenia*, *Pseudocaryophyllus*, *Syzygium*, *Eucalyptus*, *Leptospermum* e *Melaleuca*, sendo representada por várias espécies medicinais, dentre elas, a espécie *Psidium guajava* L, denominada comumente de goiabeira, *guava* em inglês e *guayabo* em espanhol. É conhecida na região Amazônica como Goiaba, no entanto, existem registros para a espécie como Goiabeira, Araçá-goiaba, Araçá-guaiaba, Araçá-guaçu, Guaiaba, Guaiava, Araçá-vaçu no Rio grande do Sul, e Goiabeira Branca em Minas Gerais (LOZOYA et al., 2002).

Apresenta excelentes condições para exploração em escala comercial, em função de seus frutos atingirem bons preços no mercado e serem muito apreciados pelas suas características, tanto para o consumo de mesa como para a fabricação de produtos industrializados (MANICA et al., 2000; CAÑIZARES et al., 2003). Dentre as frutas tropicais brasileiras, a goiaba ocupa lugar de destaque, não só pelo seu aroma e sabor, como também pelo seu valor nutricional, é frequentemente cultivada em razão dos frutos comestíveis em pomares domésticos ou plantações comerciais para a indústria alimentícia (LORENZI, 1992) colocando o Brasil na posição de maior produtor mundial de goiabas vermelhas (IEA, 2007).

É um arbusto ou árvore de pequeno porte, galhada, com caule tortuoso e casca lisa, frutífera de copa aberta, de aproximadamente 8,0 m de altura, apresentando folhas opostas, curto-pecioladas, ovadolanceoladas, glabras ou ligeiramente pubescentes na face superior, aromáticas e de textura coriácea, de 8-12cm de comprimento por 3-6cm de largura (LORENZI, 1992); botões florais tomentosos ou glabros, com cálice membranoso; flores hermafroditas, diclamídeas, actinomorfas, brancas e com numerosos estames. Apresentam flores alvas, solitárias ou em grupos de 2-3 nas axilas das folhas, fruto com baga amarela, de polpa abundante apresentando duas variedades mais comuns, as de frutos com polpa vermelha (*P. guajava* var. *pomifera*) e a de polpa branca (*P. guajava* var. *pyrifera*) (LORENZI, 1992; ROBINEAU, 1995).

Na região Amazônica, as folhas de *P. guajava* são empregadas popularmente no tratamento caseiro de distúrbios gastrintestinais, prática herdada originalmente da medicina asteca no México (LOZOYA et al., 2002). Infusos ou decoctos preparados com folhas frescas ou desidratadas são indicados para diarreia, disenteria, flatulência e cólica abdominal. É muito utilizado o chá em bochechos e gargarejo no tratamento de inflamações da boca e da garganta ou em lavagens locais de úlceras e na leucorréia (CARRICONDE, 2000; MATOS, 2002). Adicionalmente, comprovaram-se as atividades antimicrobiana, antitussígena (JAIARJ et al., 1999), sedativa (LUTTERODT & MALEQUE, 1988), antioxidante (MARTIN et al., 1998; WANG, 2000; NADERI et al., 2003; ANJANEYULU & CHOPRA, 2004; WOODMAN & CHAN, 2004) e antiproliferativa para células cancerígenas (MANOSROI et., 2005).

Para fins medicinais, a planta deve ser podada e regada frequentemente para estimular a produção de gomos foliares terminais (MATOS, 2002).

2.2. *Bryophyllum calycinum*

Bryophyllum calycinum Salisb (*B. pinnatum*, *Kalanchoe pinnata*) é uma planta silvestre pertencente à família *Crassulaceae* e ao gênero *Bryophyllum*, possuindo várias sinonímias como: Pirarucu (nome mais conhecido popularmente no estado do Pará), coirama, erva-da-costa, folha-da-costa, folha-grossa, orelha-de-monge, paratudo ou folha da fortuna roxo, saião, São Raimundo (BALBACH, 1995). Trata-se de um subarbusto com até 50 cm de

altura, de ramos herbáceos cobertos de penugem, ereto, com haste suculenta e bastante enrijecida, com folhas vivíparas opostas, pinadas, com um a cinco folíolos muito suculentos, com ápice arredondado, base arredondada, glaberrimas, nervação imersa, brilhosas e com aspecto sedoso. Apresenta inflorescências terminais cimosas, alongadas, com cerca de 30 cm de comprimento, flores com cálice gamossépalo inflado, com 5 dentes, com 2-2,5 cm de comprimento, corola tubulosa basifixas; gineceu com 4 carpelos ligeiramente concrecidos na base, folículos multispermos, sementes minúsculas com testa reticulada (BERG, 1982). As suas flores de coloração rósea apresentam-se em cachos no ápice dos ramos, as folhas são ovais, arredondadas na base e serrilhadas nas bordas. Os frutos são constituídos de pequenas cápsulas contendo sementes (LORENZI & MATOS, 2002).

As folhas frescas de pirarucu são amplamente utilizadas na fitoterapia, na qual são descritas propriedades medicinais: analgésica, antialérgica, antiartrítica, antibacteriana, antidiabética, antifúngica, antiinflamatória tópica, antilítica, anti-séptica, bactericida, cicatrizante, depurativa, diurética, emoliente e hemostática (ALMEIDA et al., 2000).

Planta cicatrizante e refrescante, as folhas frescas e tostadas são úteis nas cefalalgias, sendo que a infusão das mesmas serve para combater os ergogitamentos linfáticos e as inchações erisipelatosas das pernas. O suco parece ser eficaz contra calos, frieiras e queimaduras (ALBUQUERQUE, 1989).

As propriedades medicinais da planta pirarucu são evidenciadas por diversas substâncias químicas, como flavonóides, cálcio, ácido succínico, ácido málico, triterpeno, esteróis, ácido cítrico e ácido láctico (GAIND, 1971; GUPTA, 1973). Além desses constituintes químicos existem aminoácidos como arginina, que é anticancerígeno, glicina que diminui a quantidade de ácido úrico no organismo e histidina. Os bufadienólídeos que estão presente nas folhas promovem uma atividade anti-tumoral, dentre eles destacam-se o 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato e a briofilina (SUPRATMAN et al., 2001).

A planta possui também atividade relatada contra a leishmaniose (DA SILVA et al., 1995; DA SILVA et al., 1999; TORRES-SANTOS et al., 2003; MUZITANO et al., 2006).

2.3. *Eleutherine plicata*

A *Eleutherine plicata* Herb. (marupazinho) é uma planta herbácea bulbosa e rizomatosa, acaule, entourecida, de 20-30 cm de altura, nativa da América tropical, incluindo os campos secos da Amazônia brasileira. Os bulbos apresentam escamas semelhantes à cebola, de coloração vinho e exsudando látex branco quando cortados. Caracterizam-se por folhas simples, inteiras, plissadas longitudinalmente, de cerca de 25 cm de comprimento. Flores brancas ou rosadas, dispostas numa panícula ampla no ápice de um longo escapo rígido acima da folhagem, que se abrem apenas ao por do sol. Multiplica-se facilmente por bulbos, tornando-se persistente em muitas áreas a ponto de ser considerada “planta daninha” (ALBUQUERQUE, 1989; VIEIRA 1992). Nas regiões do sul e sudeste perde a parte aérea durante o inverno e na região Nordeste formam touceiras decumbentes.

Pertencente a família Iridaceae, essa planta possui vários nomes populares, sendo os principais marupazinho, marupá, marupá – piranga, marupaí, em Cuba “lágrimas de la virgen”.

Esta planta é amplamente utilizada na medicina caseira de quase todo país, principalmente na região Amazônica, hábito iniciado pelas populações indígenas desta região. Não há, porém, comprovação científica de sua eficácia nem da segurança de suas preparações. De acordo com o uso popular, os rizomas são empregados contra gastralgia, histeria, diarreia e vermes intestinais (SCHULTES, 1990; MORS, 2000). Há relatos também de possuir ação antifertilidade, sendo empregada no Haiti como contraceptivo (WENIGER, 1982; GRENAND, 1987). Ao extrato dessa planta são atribuídas propriedades antimicrobianas e ação dilatadora coronária, potencialmente útil no tratamento de doenças cardíacas (DIG, 1982). Como medicação caseira, na Amazônia, é usada para o tratamento de diarreia e amebíase, fervendo-se 2 bulbos cortados em pequenos pedaços durante 15 minutos em 500 mL de água e ingerindo-se uma xícara antes das refeições. Os indígenas das Guianas empregam seus bulbos para o preparo de emplastro em aplicações externa contra contusões e ferimentos visando acelerar a cicatrização, já o suco com sal, é usado como medicação interna contra epilepsia (GRENAND, 1987). São citados na sua composição química a presença de naftoquinonas (NGUYEN, 1983),

antraquinonas do tipo crisofanol (GRENAND, 1987), além de uma saponina esteroidal. (ALBUQUERQUE, 1989; VIEIRA, 1992).

2.4. *Uncaria guianensis*

Uncaria guianensis (Aubl) Gmelin pertence ao gênero *Uncaria* que é representado por cerca de 60 espécies de lianas distribuídas principalmente na África e Ásia, ocorrem em amplas áreas da Amazônia brasileira e em países da América Central (Guatemala, Belize, Honduras, El Salvador, Nicarágua, Costa Rica, Panamá) e do Sul (Colômbia, Venezuela, Guiana, Equador, Peru e Bolívia), indicadas como seu centro de origem (POLLITO; TOMAZELLO, 2006).

As plantas são arbustos vigorosos e robustos, pouco ramificado, de ramos escandentes ou trepadores com um espinho em forma de gancho em cada axila foliar, de 30 m de comprimento (quando cresce isolado fora da mata forma uma pequena touceira de hastes mais ou menos verticais de até 5 m de altura). A espécie é nativa da Amazônia, principalmente na parte central e noroeste, quase sempre em matas de várzeas inundáveis ou não, com um par de espinhos, originados de pedúnculos abortivos, utilizados para galgar a copa das árvores denominadas de “unha de gato”

Possui folhas simples, opostas, pecioladas, membranáceas, de 5-10 cm de comprimento, lâmina ovada, elíptica, consistência cartácea ou papirácea e um par de estípulas interpeciolares, livres na base, deltóide, obovada com coloração verde claro. O caule com textura fibrosa-laminar coloração mesclada de marrom avermelhado e creme, tem uma peculiaridade de armazenar água para satisfazer suas próprias necessidades vitais, quando as chuvas são escassas, este líquido armazenado é um poderoso energizante oferecido pela natureza para saciar a sede, fome e cansaço na selva, deixando um discreto sabor amargo. Inflorescências em glomérulos axilares, pedunculados, de forma perfeitamente globosa, com flores branco amareladas (POLLITO; TOMAZELLO, 2006)

Existem na América tropical pelo menos 50 espécies deste gênero. Na Amazônia ocidental, nos estados do Amazonas, Acre e Rondônia, ocorre a espécie *Uncaria tomentosa* (Willd) DC, com características e propriedades mais ou menos semelhantes e uma das mais utilizadas na medicina tradicional principalmente fora do Brasil. Diferencia-se de *Uncaria guianensis*

principalmente pelos espinhos menos curvos, pelas hastes mais anguladas e pelas folhas um pouco menores (3-5 cm). Multiplica-se por sementes e por meios vegetativos. (TAYLOR 1998, REVILLA 2001).

A sua anatomia demonstra pertencer à família Rubiaceae, com a exceção dos elementos vasculares solitários, arredondados, largos e freqüentes, parênquima axial difuso e largura dos raios, que correspondem a plantas de hábito lianescente. A casca, lenho e folhas dessas plantas têm sido usadas pelos povos amazônicos para o tratamento de inúmeras enfermidades (gastrite, úlcera, diarreia, artrite, câncer, etc.) e como abortivo além de aumentar a resistência dos tecidos. A seiva da unha de gato, pelas suas propriedades energéticas e nutritivas, é utilizada pelos povos das florestas (AQUINO et al., 1989).

A maior atenção dispensada a esta planta até hoje é relativo a presença em suas raízes e cascas de alcalóides oxindólicos, com vários estudos relatando o poder de estimular o sistema imunológico em até 50% (MATTA, 1976; KEPLINGER et al., 1990,). Isto induziu, em todo mundo, o seu amplo uso como adjuvante no tratamento da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS), do câncer e de outras doenças que afetam o sistema imunológico (GONTUZZO, 1993). Outra propriedade desta planta que vem merecendo ampla atenção dos cientistas atualmente é a antiinflamatória, principalmente os “glicosídeos do ácido quinóico”, considerados os mais potentes antiinflamatórios encontrados em plantas, capazes de inibir inflamações em até 69% (AQUINO 1991; YEPEZ 1991, RECIO 1995; CERRI 1998).

2.5. *Arrabidaea chica*

A família Bignoniaceae pertence à ordem Scrophulariales, subclasse Asteridae, e reúne aproximadamente 120 gêneros e 650 espécies geralmente tropicais espontâneas da América do Sul, incluindo árvores, lianas, arbustos e raramente ervas. Em levantamento etnofarmacológico realizado na região Amazônica, algumas espécies dessa família mostraram-se amplamente utilizadas com fins medicinais entre elas estão a *Arrabidaea chica* (HKB) Verlot e *Mansoa alliacea* (Lam.) A.H. Gentry (TAKEMURA et al 1995).

A espécie *Arrabidaea chica* (H&B) Verlot é conhecida popularmente como cipó-pau, cipó-cruz, carajuru, carapiranga (CORREA, 1984), além de

pariri, carajirú, crajirú, carajerú, crejer, entre outras e pertence à família das Bignoniaceae, conhecida como a família do Ipê. Apresenta dois grandes centros de distribuição geográfica, o Brasil e o continente Africano, observa-se que o Brasil é, provavelmente, a região onde a família apresenta-se com o maior número de espécies, ocorrendo desde a Amazônia até o Rio Grande do Sul, não possuindo um habitat único (PAULETTI et al., 2003).

É caracterizada morfológicamente como uma planta arbustiva ascendente com aproximadamente 2,5 m de altura, de ramos subtetragonos, que possuem folhas compostas, bi ou trilobadas, de folíolos oblongo-lanceolados, cartáceos, de 8 -13 cm de comprimento e com fitotaxia tipo oposta dística. As flores são campanuladas róseo-lilacinas em panículas terminais (ALBUQUERQUE, 1989; VIEIRA, 1992). Os frutos são síliquas deiscentes. Possui como princípios ativos o ácido anisíaco, carujina, taninos, ferro assimilável e cianocobalamina (ALBUQUERQUE, 1989). É comum a presença de folhas modificadas denominadas gavinhas (órgão de suporte), auxiliando na fixação ao substrato (CORREA, 1984).

Na espécie *Arrabidaea chica*, há identificado vários pigmentos como a bixina, genipina e derivados da cajurina, que produzindo um corante vermelho-escuro servem para tingir toda variedade de fibras artesanais, sendo supostamente eficazes contra dermatoses e impinges (CORREA, 1984, TAYLOR 1998, MORS 2000) e são comumente utilizados pelos indígenas da Amazônia na sua pintura corporal, para tingir seus enfeites, utensílios e vestuários, bem como para tatuagem, na arte, magia e até como método profilático contra picada de mosquitos e como protetor solar. Os estudos químicos demonstraram presença de fitosteróis, flavonóides e pigmentos utilizados em cosméticos como: carajurona, carajurina e 3-deoxiantocianidina (ESTRELA, 1995), taninos, ácido anísico, ferro assimilável e cianocobalamina. (ALBUQUERQUE, 1989; VIEIRA, 1998). As propriedades tintoriais dessa planta são devido a dois pigmentos flavônicos: a carajurina, que é o pigmento principal e a carajurona (GRENARD et al., 1987).

É uma planta trepadeira com atributos ornamentais, é amplamente utilizada na medicina caseira, principalmente na região Amazônica é usada como anti-inflamatória, antimicrobiana (TAYLOR, 1998) e para o tratamento de cólicas intestinais, diarreias, anemias, uterinas, hemorragias, impinges, micose

e lavagem de ferimentos na pele (CORRÊA,1984) além de um agente adstringente, sendo seu extrato usado na cosmética em forma de sabonete cremoso produzindo um efeito anti-acne (TAKEMURA,1995) e atividade antifúngica (BARBOSA & QUIGNARD,1998).

2.6. *Mansoa alliacea*

Conhecida popularmente como cipó-alho, alho, cipó-de-alho, alho-d'água (DI STASI & HIRUMA-LIMA, 2002) e cipó d'alho (LORENZI & MATOS, 2002) a planta é uma Bignoniaceae nativa em quase todas as regiões tropicais do Brasil, principalmente na região Amazônica.

É uma espécie de arbusto trepador, de ramos cilíndricos e glabros, com gavinhas; folhas normalmente 2-3 folioladas, curto pecioladas, com folíolos peciolados, elípticos e coriáceos, podendo chegar a até 16 cm de comprimento, inflorescência em racemo com cálice campanulado ou tubular e corola amarela e afunilada; anteras glabras e ovário oblongo; fruto do tipo capsular largo, oblongo-linear, contendo sementes oblongas. O caule lenhoso e as folhas possuem um odor fortíssimo de alho, o que gera o nome popular atribuído a espécie. Essa característica permite o uso da planta em substituição ao alho. O nome do gênero deriva do grego *aden* = “glândula” e *kalymma* = “invólucro”, significando “coberta de glândulas” e referindo-se ao cálice e às brácteas florais.

Em levantamento etnofarmacêutico foi constatado que as folhas, cascas e raízes de *Mansoa alliacea* (Lam.) A.H. Gentry (sinonímia: *Adenocalymna alliaceum* Miers) são empregadas na medicina caseira em muitas regiões do país, principalmente como analgésica, antipirética e antireumática via oral ou tópica (LORENZI & MATOS, 2002). O macerado alcoólico da casca da raiz e o emplasto das folhas aplicado na zona afetada são considerados antireumáticos e antiartríticos. A infusão de suas folhas é empregada contra febres e resfriados e, a maceração aquosa das raízes, é usada como tônico constituinte (REVILLA, 2001). Na Amazônia ocidental o chá da planta inteira moída é empregado no tratamento de doenças respiratórias (SCHULTES & RAFFAUT, 1990). Nas Guianas o debuto dos ramos e folha é empregado em lavagens externas como tratamento caseiro de dores e cansaço muscular. Entre os

indígenas esta planta é também empregada de maneira mística para espantar maus espíritos (GRENAND,1987).

O seu aroma de alho é atribuído à presença de compostos do tipo allisevenol, derivados do enxofre (ZOGHBI, 1984). Um estudo preliminar com a casca do caule indicou a presença de alcalóides e ácidos do tipo dialil sulfídrico, comparáveis aos encontrados no alho (APPARATO, 1981).

Os dados de espécie vegetal, família, nome vulgar, órgão testado e uso popular das plantas utilizadas neste trabalho estão resumidos no quadro 1.

Quadro1: Espécie vegetal, família, nome local, órgão testado e uso popular.

Espécie vegetal	Família	Nome vulgar	Órgão testado	Uso popular
<i>Psidium guajava</i> L	Myrtaceae	Goiabeira, Araçá-goiaba, Araçá-guaiaba, Araçá-guaçu, Guaiaba, Guaiava	Folhas	Inflamações da boca e da garganta, Desordens intestinais, Diarréias
<i>Bryophyllum calycinum</i> Salisb	Crassulaceae	Pirarucu Saião roxo Folha da fortuna	Folhas	Analgésica, antialérgica, antiartrítica, antibacteriana, antidiabética, antifúngica
<i>Eleutherine plicata</i> Herb	Iridaceae	marupazinho, marupá, marupá – piranga, marupaí	Bulbo	Diarréias e infecções causadas por amebas
<i>Uncaria guianensis</i> (Aubl.) Gmelin	Rubiaceae	Unha-de-gato	Folhas	Gastrite, úlcera, diarréia, artrite
<i>Arrabidaea chica</i> (HKB) Verlot	Bignoniaceae	pariri, crajiru, cipó-cruz	Folhas	Antiinflamatório, agente adstringente, anemia
<i>Mansoa alliacea</i> (Lam.) A.H. Gentry	Bignoniaceae	Cipó d'alho cipó-alho alho-d'água	Folhas	Anti-reumáticos e antiartríticos Contra resfriados

3. OBJETIVOS

3.1 Geral

Avaliar a atividade antimicrobiana *in vitro* de extratos de plantas utilizadas na medicina popular na Amazônia visando o seu aproveitamento na utilização de fitoterápicos.

3.2 Específicos

1. Avaliar a atividade antimicrobiana *in vitro* de extratos etanólicos brutos de folhas de *Psidium guajava* L.(goiabeira), *Bryophyllum calycinum* Salisb (pirarucu), *Uncaria guianensis* (Aubl.) Gmelin. (Unha de gato), *Arrabidaea chica* (HKB) Verlot (pariri) e *Mansoa alliacea* (Lam.) A.H. Gentry (cipó d'alho)
2. Avaliar a atividade antimicrobiana *in vitro* de extratos de bulbos de *Eleutherine plicata* Herb (marupazinho)
3. Proceder o fracionamento do extrato etanólico bruto de *Uncaria guianensis* (Aubl.) Gmelin. (Unha de gato).
4. Avaliar a atividade antimicrobiana *in vitro* das frações obtidas do extrato de *Uncaria guianensis* (Aubl.) Gmelin. (Unha de gato).
5. Determinar a concentração inibitória mínima, frente a cepas de fungos e bactérias, dos extratos e frações das plantas que apresentarem atividade antimicrobiana.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Coleta e identificação do material vegetal

As folhas frescas da goiabeira (337,3g) foram coletadas dia 23/01/2007 no Horto de Plantas Medicinais da Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuárias (EMBRAPA-Amazônia Oriental) e identificadas no Laboratório de Botânica desta Instituição (Determinador: Miguel Pastana do Nascimento) sendo uma exsicata depositada no Herbário da EMBRAPA Amazônia Oriental (Figura 1).



Figura 1 – Folhas de *Psidium guajava* L. (Goiabeira). Exsicata doada pelo Laboratório de Botânica da EMBRAPA-Amazônia Oriental (Determinador: Miguel Pastana do Nascimento).

As folhas frescas de Pirarucu (550g) foram coletadas dia 30/04/2007 no Horto de plantas medicinais da EMBRAPA Amazônia Oriental e identificadas no Laboratório de Botânica desta Instituição pelo Botânico Miguel Pastana do Nascimento sendo uma exsicata (Figura 2) depositada no Herbário IAN (EMBRAPA Amazônia Oriental).



Figura 2 – Folhas de *Bryophyllum calycinum* Salisb (Pirarucu). Exsicata doada pelo Laboratório de Botânica da EMBRAPA-Amazônia Oriental (Determinador: Miguel Pastana do Nascimento).

O bulbo de Marupazinho (970,79g) foi coletado dia 16/02/2007 no Horto do EMAÚS localizado no Bairro do Benguí, em Belém-PA. A exsicata (Figura 3) foi preparada e enviada ao Museu Paraense Emílio Goeldi para ser analisada pelo Dr. Mário Augusto Gonçalves Jardim do Departamento de Botânica sendo identificada com o de numero de registro MG123511.



Figura 3 – Folhas de *Eleutherine plicata* Herb. (Marupazinho). Exsicata preparada no Laboratório de Fitoquímica e identificada no Departamento de Botânica do Museu Paraense Emílio Goeldi pelo Dr. Mário Augusto Gonçalves Jardim do Departamento de Botânica (registro MG123511).

As folhas frescas de unha-de-gato (484,68g) (Figura 5) foram coletadas dia 26/01/2007 no Horto de plantas medicinais, cedida pelo pesquisador Dr. Osmar Alves Lameira. As plantas foram identificadas no Laboratório de Botânica desta Instituição (Determinador: Miguel Pastana do Nascimento) sendo uma exsicata de cada espécie depositada no Herbário da EMBRAPA-Amazônia Oriental e outra no Laboratório de Fitoquímica da Faculdade Farmácia do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Pará (LAFIT/FF/ICS/UFPa).



Figura 4 – Folhas de *Uncaria guianensis* (Aubl.) Gmelin (unha-de-gato). Exsicata preparada no Laboratório de Botânica da EMBRAPA-Amazônia Oriental (Determinador: Miguel Pastana do Nascimento).

As folhas frescas de pariri (160,23g) (Figura 4) foram coletadas dia 23/01/2007 na Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuária (EMBRAPA-AMAZÔNIA ORIENTAL). O pariri teve como procedência a área do Laboratório de Botânica, em Belém-PA, cedido pelo pesquisador Dr. Joaquim Ivanir Gomes.



Figura 5 – Folhas de *Arrabidaea chica* (HKB) Verlot. (pariri). Exsicata preparada no Laboratório de Botânica da EMBRAPA-Amazônia Oriental (Determinador: Miguel Pastana do Nascimento).

As folhas frescas de cipó d'alho (356,7g) foram coletadas dia 16/03/2007 no Horto de plantas medicinais da EMBRAPA Amazônia Oriental e identificadas no Laboratório de Botânica desta Instituição (Determinador: Miguel Pastana do Nascimento) sendo uma exsicata depositada no Herbário IAN da EMBRAPA Amazônia Oriental (Figura 6).



Figura 6 – Folhas de *Mansoa alliacea* (Lam.) A.H. Gentry (Cipó d'alho). Exsicata doada pelo Laboratório de Botânica da EMBRAPA-Amazônia Oriental (Determinador: Miguel Pastana do Nascimento).

4.2. Obtenção do extrato etanólico bruto (EEB)

As análises foram realizadas segundo as metodologias utilizadas pelo Laboratório de Fitoquímica do Departamento de Farmácia (BARBOSA et al., 2004).

Para a obtenção do EEBs as folhas frescas de goiabeira, pirarucu, unha-de-gato, pariri, cipó d'alho e bulbos de marupazinho, após a limpeza, foram deixadas por 7 dias à temperatura ambiente e 2 dias em estufa de circulação de ar forçado, separadamente, para secagem. O material vegetal seco foi então triturado e macerado por duas semanas, isoladamente, em 1500 mL de etanol a 95%. Em seguida, os macerados foram filtrados em papel filtro Whatman qualitativo e concentrados à baixa pressão a 50^oC, em evaporador rotatório, até a evaporação completa do solvente. O concentrado foi colocado em estufa por 24 h a 45^oC e posteriormente pesado, obtendo-se 16,7808 g de EEB seco de goiabeira, 30,39 g de pirarucu, 300,20 g de marupazinho, 7,2235 g de pariri, 59,9510 g de unha-de-gato e 24,1948 g de cipó d'alho. A partir destes concentrados foram preparadas as soluções para testes de atividade antimicrobiana.

4.3. Abordagem Fitoquímica

Os extratos foram submetidos a uma investigação dos constituintes químicos por classe metabólica. As classes de metabólitos secundários testados foram: saponinas, ácidos orgânicos, açúcares redutores, alcalóides, polissacarídeos, proteínas e aminoácidos, fenóis e taninos, flavonóides, purinas, glicosídeos cardíacos, azulenos, catequinas, sesquiterpenolactonas e outras lactonas, esteróides e tripernóides, azulenos, carotenóides, depsídeos e depsidonas, derivados de cumarina, antraquinonas e antraquinonas. Estes testes foram realizados em triplicata e seguiram as condições estabelecidas no Manual para Análise Fitoquímica e Cromatográfica de Extratos Vegetais (BARBOSA, 2001) e descritas abaixo.

4.3.1 Utilizando como solvente água destilada

Uma solução mãe foi preparada com 420mg de cada extrato seco e 84 mL de água destilada separadamente. A solubilização do extrato ao solvente foi realizada em sonicador. Após este procedimento, foi realizada uma filtração simples. Alíquotas desta solução foram retiradas para a realização de testes para identificação de saponina espumídica, ácidos orgânicos, polissacarídeos, fenóis e taninos redutores, proteína e aminoácidos.

a) Saponina Espumídica

Retirou-se da solução mãe, uma alíquota de 15 mL que foram distribuídos em três tubos de ensaio, de modo que, cada recipiente apresentasse 5 mL desta solução. Em seguida adicionou-se 15 mL de água destilada em cada recipiente. Procedeu-se agitação vigorosa durante 2 minutos em tubo fechado. Se a camada de espuma permanecer estável por mais de meia hora, o resultado é considerado positivo para saponina espumídica

b) Ácidos Orgânicos

Foi colocado 1 mL de solução mãe em cada um dos poços de uma placa escavada. Posteriormente, em cada amostra, foram adicionadas nove gotas de reativo de Pascová A e 1 gota de reativo de Pascová B. Se houver descoloração do reativo, a reação é positiva.

c) Polissacarídeos

Em três tubos de ensaio foram colocados 5 mL de solução-mãe e adicionados 2 gotas de lugol em cada. O aparecimento de coloração azul indica resultado positivo.

d) Fenóis e Taninos

Em três tubos de ensaio adicionou-se 5 mL de solução-mãe e posteriormente 2 gotas de solução alcoólica de FeCl_3 a 1%. Qualquer mudança na coloração ou formação de precipitado é indicativo de reação positiva, quando comparado com o teste em branco (água + Sol. de FeCl_3).

e) Açúcares Redutores

Adicionou-se 5 mL da solução mãe em três tubos de ensaio. Foram acrescentados 2 mL de reativo FEHLING A e 2 mL de reativo FEHLING B. Estes recipientes foram levados à aquecimento em banho Maria por cinco minutos. O aparecimento de um precipitado vermelho tijolo, indica presença de açúcares redutores.

f) Proteínas e Aminoácidos

Foram transferidos 3 mL de solução mãe para 3 tubos de ensaio. Acrescentaram-se 0,5mL de solução aquosa de Nihidrina a 1%, sendo esses recipientes levados a aquecimento até ebulição. O aparecimento de coloração violeta persistente indica reação positiva.

4.3.2 Utilizando como solvente metanol

Uma solução mãe foi preparada com 360 mg dos extratos secos e 72 mL de metanol. Utilizou-se um bastão de vidro para solubilizar o extrato ao solvente. Por conseguinte, foi realizada uma filtragem simples. Esta solução foi utilizada nos testes para identificação de flavonóides, glicosídeos cardíacos, catequinas, derivados benzaquinonas, sesquiterpenolactonas e outras lactonas.

a) Flavonóides

Mediu-se 10 mL de solução mãe e colocou-se em três tubos de ensaio. Adicionaram-se 5 gotas de HCl concentrado, em cada um dos tubos. Acrescentaram-se raspas de magnésio em cada tubo. O surgimento de uma coloração rósea na solução indica reação positiva.

b) Glicosídeos Cardíacos

Em três tubos de ensaio foram colocados 2mL de solução mãe. Em cada tubo foram postas 2 gotas do reativo de Keede A e 2 gotas do reativo de Keede B. Coloração azul ou violeta indica reação positiva.

c) Catequinas

Transferiu-se 3 mL da solução mãe para três tubos de ensaio. Adicionou-se 1 mL da solução aquosa de vanilina a 1% e 1 mL de HCl concentrado. O aparecimento de cor vermelha indica presença de catequinas.

d) Derivados Benzaquinonas; Naftoquinonas e Fenantraquinonas

Mediu-se 3 mL da solução mãe e transferiu-se para três tubos de ensaio. Em cada tubo foram acrescentados 2 gotas de Na_2CO_3 a 25%, 2 gotas de formaldeído a 4% e 2 gotas de Orto-dinitrobenzeno a 5%. A mistura foi levada ao banho maria. Coloração violeta indica reação positiva.

e) Sesquiterpenolactonas e outras lactonas

Colocou-se 3 mL da solução mãe em três tubos de ensaio. Adicionaram-se aos tubos doze gotas de solução alcoólica de cloridrato de hidroxilamina a 10% e duas gotas de solução metanólica de KOH a 10%. Levou-se ao banho maria por dois minutos. O aparecimento de coloração violeta, indica reação positiva.

4.3.3 Utilizando Clorofórmio como solvente

Como nos testes anteriormente descritos fez-se necessária a preparação de uma solução mãe. Esta solução foi preparada com 250 mg dos extratos secos e 50 mL de clorofórmio. Esta solução foi usada para identificar substâncias como: esteróides e triterpenóides, azulenos e carotenóide.

a) Esteróides e Triterpenóides

Foram retirados da solução mãe 30 mL. Esta alíquota foi filtrada em carvão ativado. O filtrado foi distribuído de maneira uniforme em três tubos de ensaio. Aos tubos, foi adicionado 1 mL de anidrido acético seguido de agitação. Adicionaram-se três gotas de H_2SO_4 concentrado. Tornou-se a agitar o recipiente. Os procedimentos foram realizados em capela. Observe se há rápido desenvolvimento de cores, que vão do azul evanescente, ao verde persistente que indicam resultado positivo.

b) Azulenos

Foram colocados 2 mL da solução mãe em três tubos de ensaio. Levados ao banho maria para concentrar até 0,5mL e, em seguida, adicionados 2,5 mL de solução de p-dimetilaminobenzaldeído. Os tubos de ensaio foram aquecidos durante 5 minutos em banho maria. Após esfriar, acrescentou-se 10 mL de éter de petróleo em cada recipiente. Podendo ser observadas duas fases distintas. Quando há presença de proazulenos, a fase aquosa adquire coloração azul, porém, quando estes estão em pequena quantidade, a coloração observada é esverdeada.

c) Carotenóides

Transferiu-se 3 mL de solução mãe para três tubos de ensaio. Adicionaram-se gotas de ácido trifluoracético. A observação de coloração azul indica reação positiva.

4.3.4 Utilizando éter etílico

Foi preparada uma solução mãe com 200 mg dos extratos secos e 40 mL de éter etílico. Esta solução foi utilizada para identificação de depsídeos e depsidonas, e derivados da cumarina.

a) Depsideos e depsidonas

Transferiu-se para um tubo de ensaio 5 mL da solução mãe. Todo o éter foi evaporado em banho maria e ao resíduo foram acrescentados 3 mL de metanol. Agitaram-se e adicionaram-se 3 gotas de cloreto férrico (FeCl_3) 1%. O aparecimento de coloração verde, azul ou cinza, indica reação positiva.

b) Derivados da Cumarina

Colocou-se em tubo de ensaio 5 mL da solução mãe. Concentrou-se em banho maria até uma quantidade de 0,5 mL. Em papel filtro foram aplicadas gotas de solução etérea, de modo a formar duas manchas de aproximadamente 1 centímetro de diâmetro cada. A uma destas, juntou-se 1 gota de solução NaOH 1N. O papel filtro foi levado à câmara de UV, onde a metade da mancha que continha NaOH 1N estava coberta com papel escuro. Fluorescência azul na parte exposta da mancha indica reação positiva.

4.3.5 Antraquinonas

Dissolveu-se 25 mg dos extratos secos em 5 mL de tolueno. Adicionou-se 2 mL de solução de NH_4OH a 10%. Agitou-se suavemente. O aparecimento de coloração rósea, vermelha ou violeta na fase aquosa, indica reação positiva.

4.3.6 Alcalóides

Dissolveu-se 25 mg de extrato seco em 5 mL de HCl a 5%. Por filtração simples, separaram-se quatro porções de 1 mL em tubos de ensaio e adicionaram-se gotas de reativo de Bouchardat, de reativo de Dragendorff e reativo de Mayer. Na presença de alcalóides ocorre:

- a) Reativo de Bouchardat: precipitado laranja avermelhado
- b) Reativo de Dragendorff: precipitado vermelho tijolo
- c) Reativo de Mayer: precipitado branco

4.3.7 Purinas

Em uma cápsula de porcelana, juntou-se 5 mg de extrato seco, 3 gotas de solução de HCl 6N e 2 gotas de H_2O_2 concentrado. Evaporou-se em banho maria. Adicionou-se 3 gotas de solução de NH_4OH 6N. O surgimento de coloração violeta indica reação positiva.

4.4. Microrganismos Testados

Os microrganismos testados foram cepas padrão ATCC (*American Type Culture Collection*) recomendadas para testes de suscetibilidade aos antimicrobianos (CLSI, 2003). Em resumo, os microrganismos testados apresentam as seguintes características:

Staphylococcus aureus (ATCC 25923): Bactéria Gram-positiva, responsável por inúmeras e variadas infecções e síndromes em humanos e com resistência a vários tipos de antimicrobianos.

Escherichia coli (ATCC 25922): Bactéria Gram-negativa, agente de infecções gastrintestinal e principal responsável de infecções urinárias em mulheres. Apresenta facilidade na aquisição e transferência de plasmídeos de resistência à antimicrobianos.

Pseudomonas aeruginosa (ATCC 10145): Bactéria Gram-negativa, importante agente de infecções nosocomiais e resistente a uma grande variedade de antimicrobianos.

Candida albicans (ATCC 10231): Fungo leveduriforme, principal agente de infecções fúngicas oportunistas, principalmente no trato vaginal e oral.

4.5. Avaliação Preliminar da Atividade Antimicrobiana

Foram preparados inóculos do microrganismo a testar tomando-se 3 a 4 colônias da cepa isolada em ágar Muller-Hinton e diluídas em solução salina a 0,85% até atingir a turbidez correspondente ao tubo 0,5 da escala de MacFarland correspondendo aproximadamente 1 a 2×10^8 UFC/mL de *E. coli* ATCC 25922 (BAUER et al., 1966; CLSI, 2003a; KARTAL et al., 2003).

Cada suspensão de microrganismo foi semeada (em triplicata), com auxílio de um *swab* descartável, em toda a superfície de meio ágar Muller Hinton. Em seguida foram adicionados discos de papel filtro (Whatman – tipo 3), de 6 mm de diâmetro, impregnados com 10 μ L de cada extrato das plantas testadas em uma concentração de 500 mg/mL dissolvidos em Dimetil-Sulfóxido (DMSO).

Após incubação das placas a 35°C por 24 h foi realizada a leitura dos resultados medindo-se o halo, em mm, formado ao redor dos discos contendo os extratos. Foi considerado como resultado final de cada extrato a média das 3 medidas e como suscetível halo igual ou acima de 8 mm de diâmetro de acordo com os critérios de PAREKH & CHANDA, 2007; SANTOS et al., 2007. Discos com cloranfenicol e nistatina foram utilizados como controle positivo e de DMSO como controle negativo.

4.6. Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

Os extratos testados que apresentaram atividade antimicrobiana na avaliação preliminar (halo de inibição igual ou acima de 8 mm) foram submetidos a determinação da CIM pela técnica de disco difusão em ágar acima citada e pela técnica de microdiluição em caldo (CLSI, 2002; CLSI 2003b; BERTINI et al., 2005; LIMA et al., 2006; SANTOS et al., 2007). As concentrações testadas foram 500, 250, 125, 62,5 e 31,25 mg/mL

Os testes foram realizados em caldo Muller Hinton contidos em placa “Sensitive microtiter” de 96 poços esterilizadas, e utilizadas em análises de ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*). Uma alíquota de 10 µL de cada extrato nas concentrações de 500, 250, 125, 62,5, e 31,25 mg/mL foi depositada em cada poço da placa contendo caldo Muller Hinton e suspensão de microrganismos para um volume final de 200 µL em cada poço. Foi realizado controle da absorvância do extrato, do caldo Muller Hinton, das suspensões de microrganismos, de cloranfenicol e de nistatina.

As placas foram cobertas com parafilme e incubadas a 35^oC por 24 horas. A leitura foi realizada em leitor de ELISA no comprimento de onda de 650 nm (LIMA et al., 2006) comparando-se a absorvância dos poços com extrato e do orifício controle. Foi considerada como CIM a menor concentração do extrato capaz de inibir o crescimento microbiano.

4.7 Critérios para aceitação da atividade antimicrobiana de extratos brutos de plantas

Foram utilizados os critérios sugeridos por HOLETZ et al., 2002 conforme tabela 1.

Tabela 1 – Critérios para aceitação da atividade antimicrobiana de extratos brutos e plantas (HOLETZ et al., 2002).

CIM DO EXTRATO	RESULTADO
Abaixo de 100 mg/mL	Boa atividade antimicrobiana
Entre 100 e 500 mg/mL	Moderada atividade antimicrobiana
Entre 500 e 1000 mg/mL	Fraca atividade antimicrobiana
Acima de 1000 mg/mL	Inativo

4.8 Fracionamento do Extrato Etanólico Bruto de *Uncaria guianensis*

4.8.1 Dissolução Fracionada

O EEB de *Uncaria guianensis* (Unha-de-gato) foi fracionado pela técnica de dissolução fracionada com solventes de polaridade crescentes (hexano, diclorometano, acetato de etila, acetona e metanol). Neste processo, os solventes retiram da mistura, em etapas sucessivas, grupos de substâncias de solubilidade semelhante.

Uma alíquota de 5 g de EEB de *Uncaria guianensis* foi pesado e transferido para erlenmayer de 250 mL onde posteriormente o material foi lavado 2 vezes com 125 mL de hexano e colocado para agitar em agitador automático para dissolução e filtrado por papel de filtro qualitativo. O filtrado foi então recolhido em outro erlenmeyer de 250 mL para posterior concentração. O resíduo obtido foi lavado com diclorometano, utilizando-se o mesmo procedimento acima, o qual também foi recolhido para posterior concentração. O mesmo procedimento foi realizado para acetato de etila, acetona e metanol onde por fim, recolheu-se o resíduo final.

As frações obtidas foram concentradas à baixa pressão a 50⁰C, em evaporador rotatório, até a evaporação completa do solvente. O concentrado foi posteriormente pesado, obtendo-se 0,360 g de fração hexânica, 0,205 g da fração diclorometano, 0,102 g da fração acetato de etila, 0,215 g da fração acetona e por fim 3,17 g de fração metanólica representando o maior rendimento de 63,4%.

4.8.2 Avaliação da atividade antimicrobiana das frações de *Uncaria guianensis*.

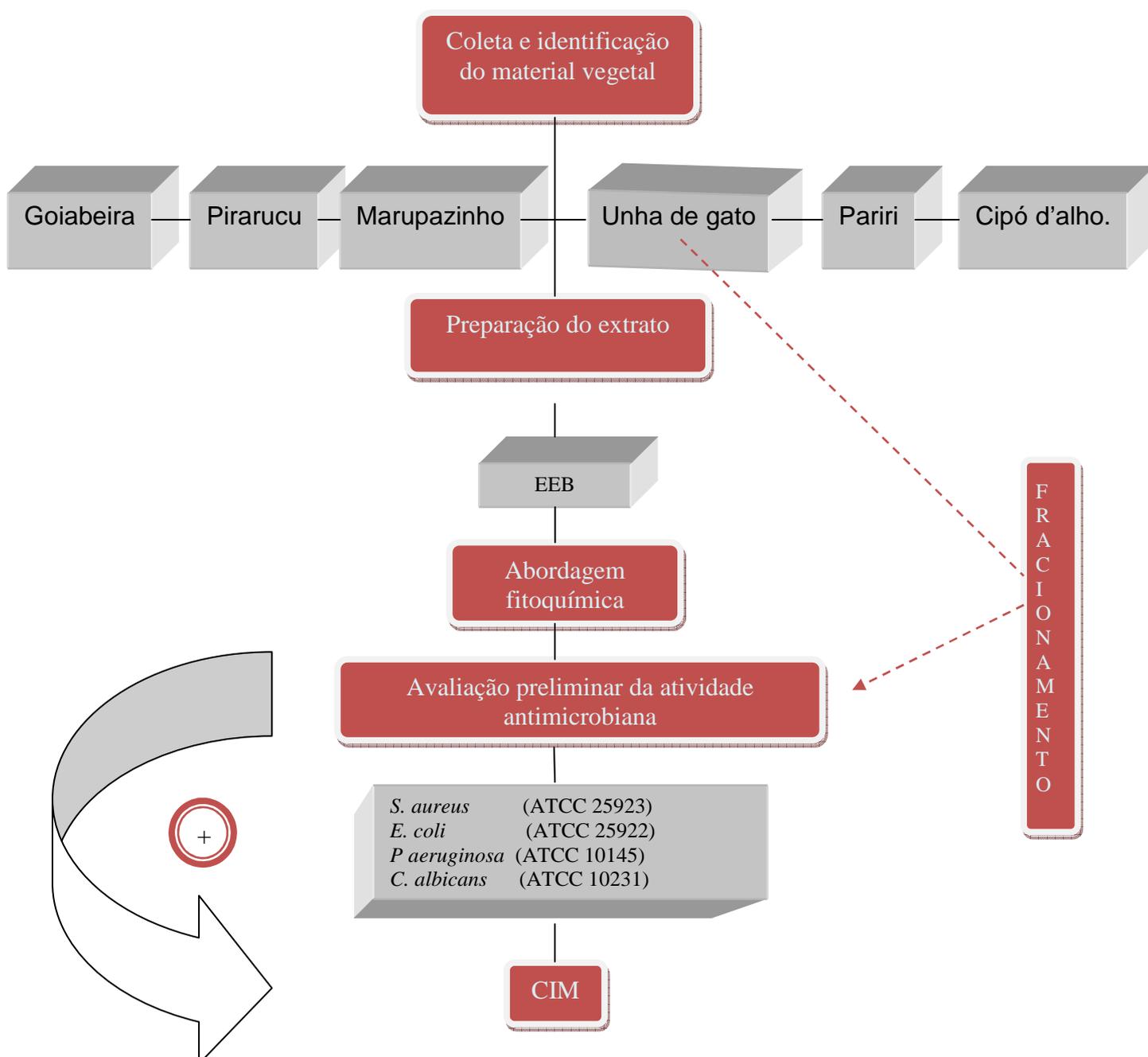
A partir das frações obtidas, foram realizados testes de suscetibilidade antimicrobiana pelo método de disco difusão em ágar já descrito anteriormente.

As frações hexano, diclorometano, acetato de etila, acetona e metanol foram testadas frente à cepa ATCC 25923 de *Staphylococcus aureus*. Para isso foram preparadas, a partir dos concentrados obtidos de cada fração, soluções em concentrações de 100, 50, 25 e 12,5 mg/mL dissolvidas em DMSO que foram utilizadas para impregnar os discos e realizar os testes.

4.8.3 Perfil comparativo entre a atividade antimicrobiana do extrato bruto de *Uncaria guianensis* e a fração metanólica.

Após análise antimicrobiana das frações de *Uncaria guianensis*, foi possível estabelecer um perfil comparativo entre o extrato etanólico bruto (EEB) de *Uncaria guianensis* e a fração que apresentou atividade (fração metanólica). Nesta etapa foram utilizadas diferentes concentrações das amostras numa escala crescente de 100, 200, 300, 400 e 500 mg/mL dissolvidos em DMSO. A partir dessas soluções foram realizados os testes de disco difusão em Ágar.

4.9 Fluxograma da metodologia



5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Abordagem Fitoquímica dos Extratos Etanólicos Brutos

Os resultados obtidos na abordagem fitoquímica das 06 espécies utilizadas neste estudo, estão representados na Tabela 2.

A abordagem fitoquímica no EEB de *Psidium guajava* L. (goiabeira), revelou a presença de saponinas espumicídicas, fenóis e taninos, flavonóides, catequinas, carotenóides e alcalóides. Segundo MORALES & LOZOYA (1994), o efeito espasmolítico e antidiarréico está relacionado com o conteúdo em flavonóides, em particular de derivados de quercetina, que atuam como antagonistas do cálcio nas fibras musculares lisas.

Nas folhas de *Bryophyllum calycinum* Salisb (pirarucu) foi observada a presença de ácidos orgânicos, açúcares redutores, fenóis e taninos, flavonóides, catequinas, lactonas, esteróides e triterpenóides, azulenos, carotenóides, depsídeos e depsidonas e derivados de cumarina. GAIND & GUPTA, (1971) e (1973) relataram a presença de flavonóides, esteróides e triterpenóides presentes em folhas, alguns constituintes presentes possuem propriedades medicinais já comprovadas, como os azulenos, flavonóides e ácidos orgânicos.

A presença de taninos, catequinas e flavonóides podem conferir atividade antimicrobiana às folhas de goiabeira e do pirarucu (SCALBERT, 1991; DJIPA et al., 2000; HARBONE, 2000; BYLKA et al., 2004; VELURI et al., 2004) Nas folhas de *Eleutherine plicata* Herb (marupazinho) foram detectados açúcares redutores, fenóis e taninos, esteróides e terpenóides, azulenos, carotenóides, depsídeos e depsidonas e derivados de cumarina. ALVES et al., 2003 relataram a presença de naftoquinonas em extratos preparados a partir de bulbos de marupazinho. A presença de taninos no extrato pode ser responsável pela atividade antimicrobiana da planta (DJIPA et al 2000).

A abordagem fitoquímica do EEB de *Uncaria guianensis* revelou a presença de saponinas, açúcares redutores, catequinas, sesquiterpenolactonas e outras lactonas, derivados de cumarina e indicação de purinas e alcalóides.

KEPLINGER (1990) e MATTA (1976) comprovaram a presença de alcalóides oxindólicos em cascas e raízes, resultados semelhantes ao de GONTUZZO (1993). Já AQUINO (1991), YEPEZ (1991), RECIO (1995) e CERRI (1998) relataram a presença de “glicosídeos do ácido quinóico” considerados uns dos mais potentes anti-inflamatórios encontrados em plantas.

O EEB de *Arrabidaea chica* caracterizou a presença de saponinas fenólicas e taninos, glicosídeos cardíacos, derivados de benzaquinonas, naftoquinonas e fenantraquinonas, esteróides e triterpenóides, carotenóides, antraquinonas e purinas, assim como indicação de flavonóides, depsídeos e depsidonas. ESTRELA (1995) demonstrou a presença de taninos flavonóides e fitosteróis na planta. VIEIRA (1998) e ALBUQUERQUE (1989) encontraram taninos, ácido anísico e cianocobalamina.

A abordagem fitoquímica de *Mansoa alliacea* (cipó d'alho) revelou a presença de açúcares redutores, fenólicas e taninos, flavonóides, esteróides e triterpenóides, azulenos, carotenóides e alcalóides dados que também sugerem uma possível atividade antimicrobiana, entretanto, em nosso estudo, *Mansoa alliacea* (cipó d'alho) não apresentou atividade contra os microrganismos testados.

Tabela 2 - Abordagem Fitoquímica dos extratos etanólicos brutos de *Psidium guajava* (goiabeira), *Bryophyllum calycinum* (pirarucu), *Eleutherine plicata* (marupazinho), *Uncaria guianensis* (unha-de-gato), *Arrabidaea chica* (pariri) e *Mansoa alliacea* (cipó d'alho).

SUBSTÂNCIAS PESQUISADAS	P. guajava	B. calycinum	E. plicata	U. guianensis	A. chica	M. alliacea
Saponina espumicídica	+	-	-	+	+	-
Ácidos Orgânicos	-	+	-	-	-	-
Açucares Redutores	-	+	+	+	-	+
Polissacarídeos	-	-	-	-	-	-
Proteínas e Aminoácidos	-	-	-	-	-	-
Fenóis e Taninos	+	+	+	-	+	+
Flavonóides	+	+	-	-		+
Glicosídeos Cardíacos	-	-	-	-	+	-
Catequinas	+	+	-	+	-	-
Derivados de Benzaquinonas, Naftoquinonas e Fenantraquinonas	-	-	-	-	+	-
Sesquiterpenolactonas e outras lactonas	-	+	-	+	-	-
Esteródes e Triterpenóides	-	+	+	-	+	+
Azulenos	-	+	+	-	-	+
Carotenóides	+	+	+	-	+	+
Depsídeos e Depsidonas	-	+	+	-	+	-
Derivados de Cumarina	-	+	+	+	-	-
Antraquinonas	-	-	-	-	+	-
Alcalóide	+	-	-		-	+
Purinas	-	-	-		+	-

+ Presença

- Ausência

| Indiativo

5.2. Atividade antimicrobiana dos EEBs das plantas

Os microrganismos usados (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC -25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145 e *Candida albicans* ATCC 10231) foram escolhidos por serem recomendados como microrganismos padrões para testes de suscetibilidade antimicrobiana, sendo responsáveis por várias formas de infecções em humanos e adquirirem, com mais freqüência, resistência aos antimicrobianos (OPLUSTIL et al., 2000).

Não existe um consenso sobre o nível aceitável para extratos de plantas quando comparados com antibióticos padrões. Alguns autores consideram somente resultados similares aos de antibióticos conhecidos, desde que se trabalhe com uma fração já determinada (ALIGIANIS et al., 2001). Entretanto, como trabalhamos com extrato bruto das plantas, seguimos o critério sugerido por HOLETZ et al., (2002) baseado nos resultados de CIM (Tabela 1). Entretanto, a maior concentração de extrato empregada no presente trabalho, foi de 500 mg/mL, uma vez que em concentrações mais altas, as soluções dos extratos não permitiram uma absorção total nos discos, além da intensa coloração que prejudicava a leitura dos resultados. Para HOLETZ et al., (2002) extratos vegetais que apresentam atividade antimicrobiana em concentrações acima de 500 mg/mL possuem fraca atividade, sendo de difícil aproveitamento farmacêutico no tratamento de infecções bacterianas ou fúngicas.

Apenas o extrato de *Mansoa alliacea* (Lam.) A.H. Gentry (cipó d'alho) não apresentou atividade contra nenhum dos organismos testados (Tabela 3), não justificando, portanto, sua utilização no tratamento de doenças infecciosas causadas por estes microrganismos (*S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* e *C. albicans*). É possível que esta planta não possua efeito antimicrobiano ou que o extrato da planta contenha constituintes antibacterianos em concentrações não suficientes para ser considerado efetivo. Entretanto, novos testes devem ser conduzidos utilizando outras espécies bacterianas e cepas padronizadas para comprovação da ausência de atividade antimicrobiana desta planta.

Na verificação preliminar da atividade antimicrobiana das folhas de *Psidium guajava* L. (goiabeira) foi observada atividade antibacteriana contra *S. aureus* e *P. aeruginosa* e antifúngica frente à levedura *C. albicans*. Na determinação da concentração inibitória mínima, o EEB de goiabeira foi ativo

até a concentração de 125 mg/mL frente aos microrganismos testados (Tabelas 3 e 4).

Tabela 3 - Avaliação preliminar da atividade antimicrobiana dos extratos etanólicos brutos (concentração de 500 mg/mL) de *Psidium guajava* (goiabeira), *Bryophyllum calycinum* (pirarucu), *Eleutherine plicata* (marupazinho), *Uncaria guianensis* (unha-de-gato), *Arrabidaea chica* (pariri) e *Mansoa alliacea* (cipó d'alho).

Espécie Vegetal	Microrganismo	Avaliação preliminar da atividade antimicrobiana	Halo (mm)
<i>Psidium guajava</i> (goiabeira)	<i>S. aureus</i>	+	(13 mm)
	<i>E. coli</i>	-	-
	<i>P. aeruginosa</i>	+	(11 mm)
	<i>C. albicans</i>	+	(17 mm)
<i>Bryophyllum calycinum</i> (pirarucu)	<i>S. aureus</i>	+	(11 mm)
	<i>E. coli</i>	-	-
	<i>P. aeruginosa</i>	+	(14 mm)
	<i>C. albicans</i>	-	-
<i>Eleutherine plicata</i> (marupazinho)	<i>S. aureus</i>	+	(19 mm)
	<i>E. coli</i>	-	-
	<i>P. aeruginosa</i>	-	-
	<i>C. albicans</i>	+	(12 mm)
<i>Uncaria guianensis</i> (Unha de gato)	<i>S. aureus</i>	+	(12 mm)
	<i>E. coli</i>	-	-
	<i>P. aeruginosa</i>	-	-
	<i>C. albicans</i>	-	-
<i>Arrabidaea chica</i> (pariri)	<i>S. aureus</i>	+	(14 mm)
	<i>E. coli</i>	+	(10mm)
	<i>P. aeruginosa</i>	-	-
	<i>C. albicans</i>	+	(10 mm)
<i>Mansoa alliacea</i> (cipó d'alho)	<i>S. aureus</i>	-	-
	<i>E. coli</i>	-	-
	<i>P. aeruginosa</i>	-	-
	<i>C. albicans</i>	-	-

Embora o extrato de goiabeira possa ter apresentado CIM na mesma concentração contra todos os microrganismos testados, os halos formados nos testes de difusão contra *C. albicans* foram maiores, sugerindo uma melhor ação contra fungos. Desse modo, sugere-se a realização de testes contra outros fungos leveduriformes (como o *Cryptococcus neoformans*) e filamentosos (como os dermatófitos e o *Aspergillus fumigatus*), considerando a diversidade de uso da planta na medicina popular em vários tipos de doenças (CARRICONDE, 2000; MATOS, 2002).

O extrato de *P. guajava* foi relatado com atividade antimicrobiana para *S. aureus*, *Bacillus subtilis*, *E. coli*, *P. aeruginosa* e *C. albicans* por GNAN & DEMELLO (1999) e por HOLETZ et al., (2002). Já os resultados de GONÇALVES et al., (2005) constataram ação contra *Streptococcus pyogenes*, *Proteus mirabilis* e *S. aureus*, não constando ação frente à *E. coli* e *P. aeruginosa*. Resultados semelhantes encontraram SANCHES et al., (2005), com atividade do extrato etanólico e aquoso de várias partes da planta contra *S. aureus* e *B. subtilis* e sem atividade contra *E. coli* e *P. aeruginosa*. Os trabalhos de VIEIRA et al., (2001), revelaram ação do extrato etanólico de brotos da goiabeira contra cepas de *S. aureus* e *E. coli* isoladas de amostras de camarões e peixes oceânicos.

Mesmo sendo diferentes as cepas, a concentração dos extratos, a metodologia e a origem das plantas utilizadas nos trabalhos acima citados, os resultados são aceitáveis. Segundo HOOD et al., (2003) a falta de padronização de testes de susceptibilidade antimicrobiana tem sido um dos entraves encontrados para a realização desse tipo de estudo.

Na verificação preliminar da atividade antimicrobiana o extrato de *Bryophyllum calycinum* Salisb apresentou atividade contra *S. aureus* e *P. aeruginosa*, entretanto, não revelou atividade contra a bactéria Gram-negativa *E. coli* e contra o fungo leveduriforme *Candida albicans*.(Tabela 3).

Quando realizada a determinação da concentração inibitória mínima, o extrato de pirarucu foi ativo até a concentração de 250 mg/mL frente a *P. aeruginosa* e 500 mg/mL contra *S. aureus* (Tabela 4). DA SILVA (2007) também demonstrou atividade antibacteriana da folha de pirarucu frente a *S. aureus* resistente a metilicina. Estes resultados justificam a continuação de estudos fitoquímicos e microbiológicos com a planta na tentativa de obter frações ativas que possam ser utilizados em fitoterápicos antimicrobianos. A planta possui também atividade relatada contra *Lesichmania brasiliensis* (DA SILVA et al., 1995; DA SILVA et al 1999; TORRES-SANTOS et al 2003 e MUZITANO et al., 2006).

Tabela 4 – Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos extratos etanólicos brutos de *Psidium guajava* (goiabeira), *Bryophyllum calycinum* (pirarucu), *Eleutherine plicata* (marupazinho), *Uncaria guianensis* (unha-de-gato) e *Arrabidaea chica* (pariri) pelos métodos de disco difusão em ágar e de microdiluição em placas.

Planta	Microorganismo	Disco Difusão em Ágar					Microdiluição em Placas				
		500 mg/mL	250 mg/mL	125 mg/mL	62,5 mg/mL	31,25 mg/mL	500 mg/mL	250 mg/mL	125 mg/mL	62,5 mg/mL	31,25 mg/mL
<i>P. guajava</i> (Goiabeira)	<i>S. aureus</i>	13 mm*	11 mm	9 mm	-	-	+	+	+	-	-
	<i>P. aeruginosa</i>	11 mm	10 mm	10 mm	-	-	+	+	+	-	-
	<i>C. albicans</i>	17 mm	16 mm	11 mm	-	-	+	+	+	-	-
<i>B. calycinum</i> (Pirarucu)	<i>S. aureus</i>	11 mm	-	-	-	-	+	-	-	-	-
	<i>P. aeruginosa</i>	14 mm	11 mm	-	-	-	+	+	-	-	-
<i>E. plicata</i> (Marupazinho)	<i>S. aureus</i>	19 mm	17 mm	15 mm	10 mm	-	+	+	+	+	-
	<i>C. albicans</i>	12 mm	10 mm	-	-	-	+	+	-	-	-
<i>U. guianensis</i> (Unha-de-gato)	<i>S. aureus</i>	15 mm	12 mm	10 mm	9 mm	-	+	+	+	+	-
<i>A. chica</i> (Pariri)	<i>S. aureus</i>	14 mm	12 mm	11 mm	10 mm	-	+	+	+	+	-
	<i>E. coli</i>	10 mm	9 mm	-	-	-	+	+	-	-	-
	<i>C. albicans</i>	10 mm	-	-	-	-	+	-	-	-	-

* - Medida do Halo de Inibição

Na verificação preliminar da atividade antimicrobiana o extrato de *Eleutherine plicata* Herb (marupazinho) apresentou atividade contra *S. aureus* e *C. albicans*. O marupazinho mostrou melhor atividade contra a bactéria Gram-positiva *S. aureus* com CIM de 62,5 mg/mL. A CIM contra *C. albicans* foi de 250 mg/mL (Tabelas 3 e 4). O extrato diclorometano de bulbos de *Eleutherine plicata* foi relatado com forte ação antifúngica frente a *Cladosporium sphaerospermum* (ALVES et al., 2003).

Na verificação da atividade antimicrobiana do extrato de *Uncaria guianensis* (Aubl.) Gmelin (unha-de-gato) foi observada atividade antibacteriana contra *S. aureus* apresentando CIM de 62,5 mg/mL (Tabelas 3 e 4). Foi relatada atividade antimicrobiana para *Uncaria tomentosa* micropulverizada frente a *Streptococcus mutans* e *Staphylococcus* spp da cavidade oral por VASQUEZ et al., (2007), não exibindo efeito inibitório sobre *P. aeruginosa* e *C. albicans*. Estes resultados diferem de SILVA et al., (1998) que observaram inibição de isolados de *C. albicans*. KLOUCEK et al., (2005) apresentou resultados positivos para *B. cereus*, *B. subtilis*, *E. faecalis*, *S. aureus*, *S. epidermidis* e *E. coli*. Mesmo sendo *Uncaria tomentosa* e *Uncaria guianensis* de espécies diferentes estes resultados reforçam a idéia de atividade antimicrobiana da unha-de-gato.

Já o extrato etanólico bruto de *Arrabidaea chica* (HKB) Verlot (pariri) apresentou atividade antibacteriana contra *S. aureus* e *E. coli*, e antifúngica frente à levedura *C. albicans*. Com CIM de 62,5 mg/mL para *S. aureus*, de 250 mg/mL para *E. coli* e de 500 mg/mL para *C. albicans* (Tabelas 3 e 4).

Considerando os critérios sugeridos por HOLETZ et al., (2002) os melhores resultados obtidos foram contra *S. aureus*, para *Eleutherine plicata*, *Uncaria guianensis* e *Arrabidaea chica* representando uma CIM abaixo de 100 mg/mL (62,5mg/mL). Estes resultados sugerem que estes extratos possuem boa atividade antimicrobiana, portanto, têm potencial para serem usados na produção de fitoterápicos de aplicação tópica contra infecções causadas por bactérias Gram-positivas.

A diferença entre os efeitos antimicrobianos das plantas estudadas, se justifica pelas propriedades fitoquímicas distintas entre as espécies. Com exceção de *Mansoa alliacea* (Lam.) A.H. Gentry (cipó d'alho) que não apresentou nenhuma atividade frente aos quatro microrganismos testados, todas as outras espécies vegetais apresentaram-se positivas para um microrganismo em comum, o *Staphylococcus aureus*. Segundo VLIETINCK et al., (1995), RABE et al., (1997), LIN et al., (1999) e KELMANSON et al., (2000), muitas das plantas com atividade antimicrobiana que já foram estudadas por diversos pesquisadores são ativas apenas contra cepas de bactérias Gram positivas. URZUA et al., (1998) sugerem que a membrana externa das bactérias Gram negativas poderia agir como uma barreira contra as substâncias ativas presente nos extratos de plantas. No entanto, extratos de folhas de goiabeira, de pirarucu e de pariri avaliados neste estudo mostraram-se ativos contra cepas de bactérias Gram positivas e Gram negativas.

Não encontramos na literatura consultada qualquer referência quanto à atividade antimicrobiana de *Uncaria guianensis* e *Mansoa alliacea*. Segundo DUARTE (2006) apesar da rica biodiversidade de plantas no Brasil, somente estão disponíveis dados sobre 44 espécies de plantas pertencentes a 20 famílias com atividade antimicrobiana positiva, incluindo espécies nativas e exóticas. Estes dados não incluem os resultados de divulgação em reuniões científicas e teses da comunidade acadêmica, que geralmente não são publicados. Além do mais, para a maioria das plantas, somente uma das partes, como folha, raiz ou caule, ou somente um tipo de preparação como óleo essencial ou extrato foram estudados.

A técnica de microdiluição em caldo utilizada para determinação da CIM apresentou dificuldades na observação da turvação, devido à intensa coloração dos extratos, principalmente o extrato de pirarucu. Assim, foi realizada a técnica de disco difusão em ágar para confirmação dos resultados. Entretanto, esta técnica não é recomendável para este fim, mas os resultados foram semelhantes (Tabela 4). Uma alternativa a ser seguida em futuros experimentos é a utilização da técnica de ELOFF, (1998) a qual utiliza um sal (*p-iodonitrotetrazolium violet*) para revelar o crescimento. Segundo os autores, esta técnica foi mais sensível que a técnica de ágar difusão em disco nos experimentos realizados com vários tipos de extratos vegetais.

5.3. Atividade antimicrobiana das frações de *Uncaria guianensis*

A técnica de fracionamento é uma estratégia que proporciona investigar as diversas substâncias presentes no extrato bruto, possibilitando a separação dos componentes do extrato segundo suas solubilidades nos solventes utilizados. (BARBOSA et al., 2001).

Dentre os extratos que apresentaram atividade antimicrobiana foi escolhida, para determinar a fração responsável pela atividade, a planta *Uncaria guianensis* (unha-de-gato) por ainda não ter relatos na literatura quanto a esta atividade e por ser bastante utilizada na medicina popular da Amazônia, particularmente no estado do Pará. Ressalta-se também que as demais plantas (goiabeira, marupazinho, pariri e pirarucu) estão sendo estudadas quanto à esse item em outros projetos do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da UFPA.

Após obtenção de 5 frações apenas a fração metanólica do extrato bruto de *Uncaria guianensis* na concentração de 100 mg apresentou inibição de crescimento frente à cepa de *Staphylococcus aureus* (Tabela 5) apresentando um halo de inibição de 8 mm (figura 7), o que sugere que a ação antimicrobiana do extrato de unha-de-gato está nesta fração e não em substâncias de baixa e média polaridade como hexano, diclorometano, acetato de etila e acetona. As concentrações de 50, 25, e 12 mg/mL não apresentaram atividade antimicrobiana pelos padrões estabelecidos.

Tabela 5 - Avaliação da atividade antimicrobiana das frações de *Uncaria guianensis* (unha-de-gato).

Fração testada	Concentração			
	100mg/mL	50mg/mL	25mg/mL	12,5mg/mL
Hexano	-	-	-	-
Diclorometano	-	-	-	-
Acetato de etila	-	-	-	-
Acetona	-	-	-	-
Metanólica	+	-	-	-

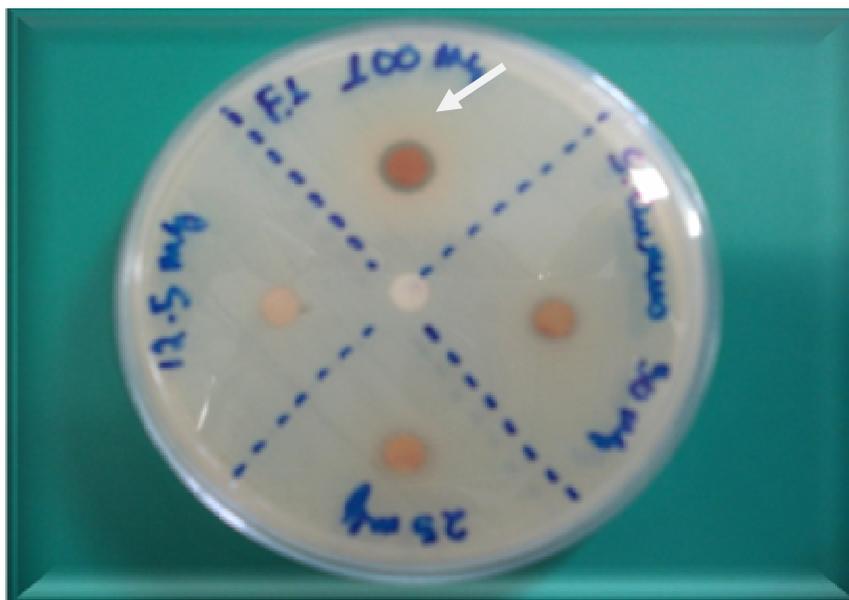


Figura 7 – Atividade antimicrobiana da fração metanólica de *Uncaria guianensis* com ação na concentração de 100mg (halo de 8 mm).

5.4 Perfil comparativo entre o extrato bruto de *Uncaria guianensis* e fração metanólica

A partir desse resultado foi possível realizar um perfil comparativo entre o EEB de *Uncaria guianensis* e sua fração metanólica, já que ambas apresentaram atividade frente *Staphylococcus aureus*.

Os resultados da tabela 6 mostram que o EEB apresentou-se de maneira dose-dependente, pois ocorreu um halo de 12 mm na concentração de 500 mg/mL de 11 mm em 400 mg/mL de 10 mm em 300 mg/mL, 9 mm em 200 mg/mL e de 8 mm em 100 mg/mL (figura 8).

Tabela 6– Atividade antimicrobiana do EEB de *Uncaria guianensis* (unha-de-gato) por disco difusão em ágar.

Amostra testada	Concentração	Halo de inibição (mm)
EEB	500 mg/mL	12 mm
	400 mg/mL	11 mm
	300 mg/mL	10 mm
	200 mg/mL	9 mm
	100 mg/mL	8 mm

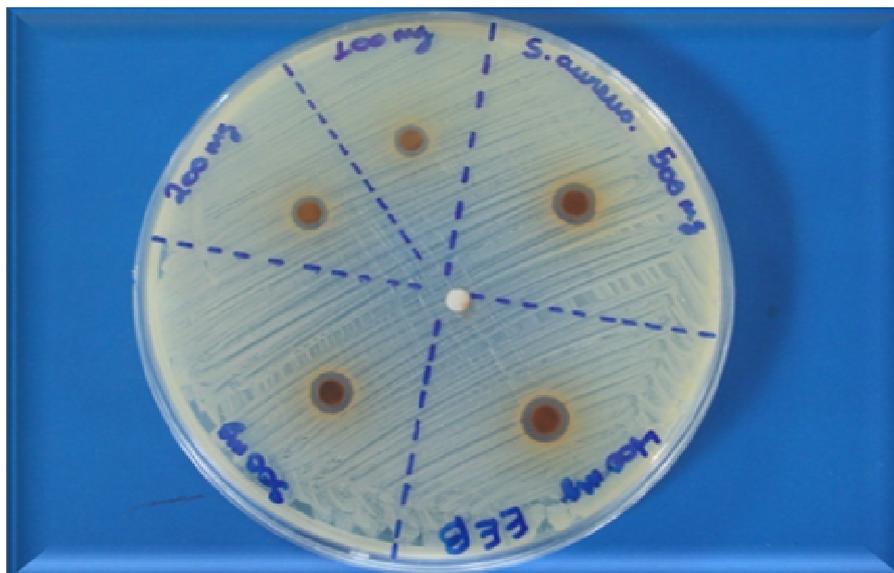


Figura 8 – Atividade antimicrobiana do EEB de *Uncaria guianensis* por disco difusão em ágar.

Na fração metanólica (tabela 7), as concentrações de 500 e 400 mg/mL apresentaram um halo de inibição de 12 mm, a de 300mg/mL ocorreu halo de 11 mm, em 200 mg/mL houve desenvolvimento de halo de 10 mm e em 100 mg/mL o halo foi de 8 mm. (figura 9)

Tabela 7 – Atividade antimicrobiana da fração metanólica de *Uncaria guianensis* (unha-de-gato) por disco difusão em ágar.

Amostra testada	Concentração	Halo de inibição (mm)
Fração metanólica	500mg/mL	12 mm
	400mg/mL	12 mm
	300mg/mL	11 mm
	200mg/mL	10 mm
	100mg/mL	8 mm

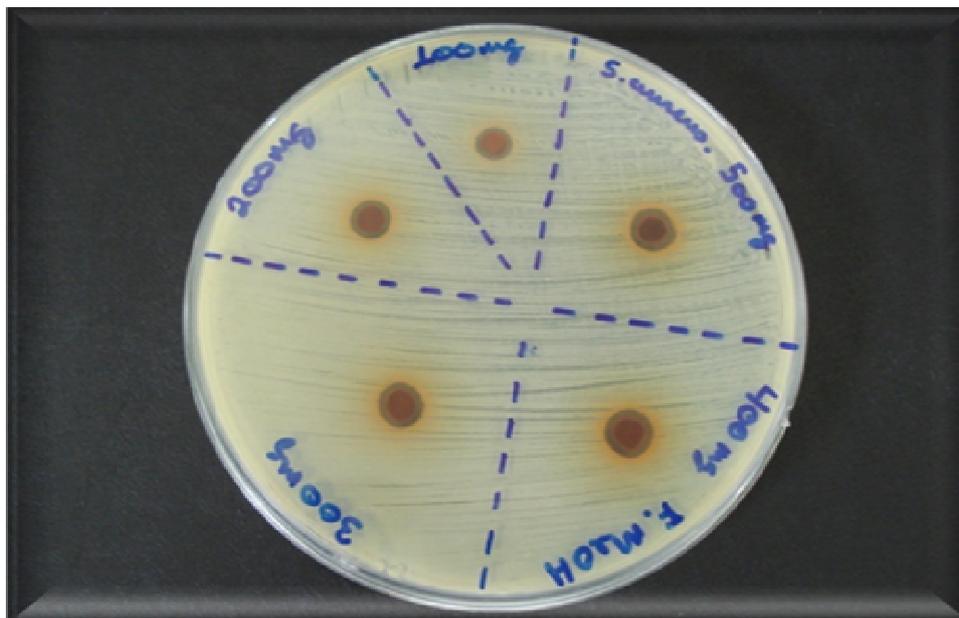


Figura 9 – Atividade antimicrobiana da fração metanólica de *Uncaria guianensis* por disco difusão em ágar.

Os resultados indicam uma ação mais efetiva da fração metanólica de unha-de-gato quando comparada com o extrato bruto (Figura 10). Isto se justifica pelo fato de que o extrato bruto apresenta maior mistura de substâncias, enquanto que, a fração já separa substâncias mais específicas, por semelhança de solubilidade. Isto permite sugerir que a ação antimicrobiana do extrato bruto de *Uncaria guianensis* é decorrente de substâncias de alta polaridade como as presentes na fração metanólica.

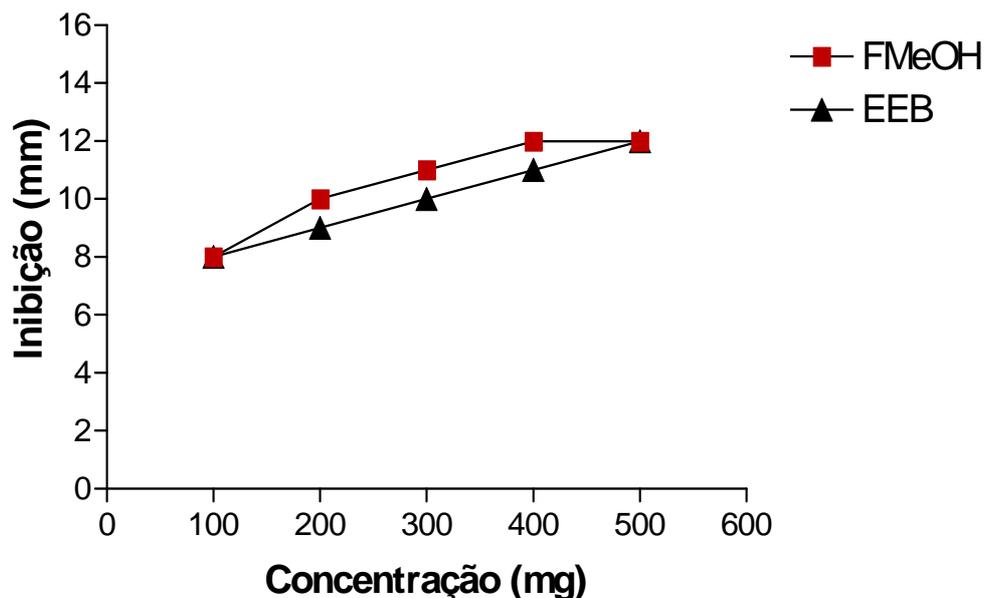


Figura 10 – Atividade antimicrobiana da fração metanólica e do EEB *Uncaria guianensis* (unha-de-gato) por disco difusão em ágar.

Embora os resultados encontrados suportem o uso das plantas goiabeira, pirarucu, marupazinho, pariri e unha-de-gato como antimicrobianos em terapêutica popular, não é recomendada, sem estudos mais avançados, a sua utilização no tratamento de infecções severas.

Os resultados contribuem para a caracterização da atividade antimicrobiana das plantas utilizados na medicina popular da Amazônia, colaborando com a busca por novas substâncias, a partir de fontes naturais, que ajudem a combater a expansão da resistência microbiana. Sugere-se a continuação de estudos contra microrganismos multiresistentes isolados de processos clínicos e a ação em menores concentrações associados com antibióticos, para observar o possível efeito sinérgico dessa associação.

6. CONCLUSÕES

- *Psidium guajava* (goiabeira) demonstrou moderada atividade antimicrobiana frente a *S. aureus*, *P. aeruginosa* e *C. albicans*.

- *Bryophyllum calycinum* Salisb (pirarucu) teve moderada atividade contra *S. aureus* e *P. aeruginosa*.

- *Eleutherine plicata* Herb (marupazinho) possui boa atividade frente a *S. aureus* e moderada contra *C. albicans*.

- *Arrabidaea chica* (pariri) possui boa atividade frente a *S. aureus*, e moderada contra *E. coli* e *C. albicans*.

- *Uncaria guianensis* (unha-de-gato) possui boa atividade contra *S. aureus*.

- *Mansoa alliacea* (cipó d'alho) não demonstrou atividade antimicrobiana frente aos microrganismos testados.

- Dentre as frações do extrato etanólico bruto de *Uncaria guianensis* testadas, somente a fração metanólica apresentou atividade antimicrobiana.

- A fração metanólica de *Unaria guianensis* teve ação antimicrobiana contra *S. aureus* mais efetiva que o extrato etanólico bruto da mesma planta.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, J.M., *Plantas Mediciniais de Uso Popular*. Brasília, ABEAS/MEC, 100pp, 1989.

ALIGIANIS, N.; KALPOUTZAKIS, E.; MITAKU, S.; CHINOU, I.B. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of two *Origanum* species. *J. Agric. Food Chem.* v.49, p.4168-4170. 2001.

ALMEIDA, A.P.; DA SILVA, S.A.; SOUZA, M.L.; LIMA, L.M.; ROSSIBERGMANN, B.; DE MORAES, V.L.; COSTA, S.S. Isolation and chemical analysis of a fatty acid fraction of *Kalanchoe pinnata* with a potent lymphocyte suppressive activity. *Planta Med*, v.66, n.2, p.134-137, 2000.

ALMEIDA, E.R. *Plantas Mediciniais Brasileiras*. São Paulo: Hemus, p.341. 1993.

ALVES, T.M.A.; KLOOS, H.; ZANI, C.L. Eleutherinone, a novel fungitoxic Naphtoquinone from *Eleutherine bulbosa*. (Iridaceae). *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v.98, n.5, p.709-712, 2003.

AMATO NETO, V.; LEVI, G.C. LOPES, H.V.; MENDONÇA, J.S.; BALDY, J.L.S. *Antibióticos na Prática Médica*. 4 ed. São Paulo: Roca, p.283. 1994.

ANJANEYULU, M.; CHOPRA, K. Quercetin, an anti-oxidant bioflavonoid, attenuates diabetic nephropathy in rats. *Clin.Exp.Pharmacol.Physiol.*, Carlton, v.31, n.4, p.2448, 2004.

APPARARO, M.et al. Allin in the Garlicky Taxon *Adenocalymma alliaceum* (Bignoniaceae). *Phytochemistry*. v.28, n.4, p.822-823.1981

AQUINO, R.; DE FEO, V.; DE SIMONE, F.; PIZZA, C.; CIRINO, G. Plant metabolites: New Compounds and Anti-inflammatory Activity of *Uncaria tomentosa*. *Journal of Natural Products*. v.54, p.453-459. 1991.

AQUINO, R *et al.* Plant metabolites: structure and in vitro antiviral activity of quinovic acid glycosides from *Uncaria tomentosa* and *Guettarda platypoda*. *Journal of Natural Products*, v.52, p.679-685. 1989.

BALBACH, Alfonso. *A Flora Nacional na Medicina Doméstica*. Volume II, 12^a ed. 1995.

BARBOSA, W. L. R.; QUIGNARD, E. Projeto Integrado – Departamento de Farmácia / UFPA – *Relatório Final de Atividades*. Belém-Pa. 1997-1998.

BARBOSA, W.L.R.; QUINARD, E.; TAVARES, I.C.C.; PINTO, L.N.; OLIVEIRA, F.Q.; OLIVEIRA, R.M. *Manual para Análise Fitoquímica e Cromatográfica de Extratos Vegetais*. 2^a. Edição revisada. Revista Científica da UFPA <http://www.ufpa.br/rcientifica> Vol. 4, 2004.

BARBOSA, W.L.R; PINTO A.P. *Levantamento Etnofarmacêutico da Fitoterapia Tradicional de Igarapé-Miri*, IN: VII Reunião da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência, 2001, MANAUS – AM. CD-ROM VII SBPC. MANAUS: SBPC, 2001.

BAUER, A.W.; KIRBY, W.M.M.; SHERRIS, J.C.; TURCK, M. Antibiotic susceptibilities testing by standard single disc diffusion method. *American Journal of Clinical Pathology*, v.45, p.493-496, 1966.

BERG, M.E. VAN DEN. *Plantas Medicinais na Amazônia - Contribuição ao Seu Conhecimento Sistemático*. Belém: CNPq. 223 p. 1982.

BERTINI, L.M.; PERERIRA, F.A.; OLIVEIRA, C.L.L.; MENEZES, E.A.; MORAIS, S.M.; CUHA, F.A.; CAVALCANTI, E. Perfil de sensibilidade de

bactérias frente a óleos essenciais de algumas plantas do nordeste do Brasil. *Infarma*, v.17, n.3/4, p.80-83, 2005. LUCIANA MEDEIROS BERTINI,

BYLKA, W.; MATLAWSKA, I.; PILEWSKI, N.A. Natural flavonoids as antimicrobial agents. *J. Am. Nutraceutical Assoc.* v.7, p.24-31, 2004.

CAÑIZARES,A.; LAVERDE, D.; PUESME, R. Crecimiento y desarrollo del fruto de guayaba (*Psidium guajava* L.) en Santa Bárbara, Estado Monagas, Venezuela. *Revista Científica UDO Agrícola, Maturín*, v.3, n.1, p. 34-38, 2003.

CARRICONDE, C. *Introdução ao uso de fitoterápicos nas patologias de APS*. CNMP, Olinda, 2000.

CERRI, R.; AQUINO, R.; DE SIMONE, F.; PIZZA, C. New Quinovic Acid Glycosides from *Uncaria tomentosa*. *Journal of Natural Products*. v.51, p.257-261. 1998.

CLSI. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically: approved standard. CLSI document M7-A6 (ISBN 1-56238-486-4), Wayne, Pennsylvania. 2003b.

CLSI. Método de Referência para Testes de Diluição em Caldo para a Determinação da Sensibilidade a Terapia Antifúngica das Leveduras; Norma Aprovada—Segunda Edição. Norma M27-A2 do CLSI (ISBN 1-56238-469-4). 2002.

CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Eighth Edition. CLSI document M2-A8 [ISBN 1-56238-485-6]. CLSI. 2003a.

CORRÊA, M. P. Dicionário das Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas. Ministério da Agricultura, IBDF, vol. 1, 1984.

COWAN, M.M. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*. v.12, p.564-582. 1999.

DA SILVA, J.G. Avaliação do potencial farmacológico de *Kalanchoe brasiliensis* Cambess. Recife, 2007. 72p. [Dissertação (Mestrado) – Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco].

DA SILVA, S.A.; COSTA, S.S.; MENDONÇA, S.C.; SILVA, E.M.; MORAES, V.L.; ROSSI-BERGMANN, B. Therapeutic effect of oral *Kalanchoe pinnata* leaf extract in murine leishmaniasis. *Acta Trop.* 60(3):201-10, 1995.

DA-SILVA, S.A.; COSTA, S.S.; ROSSI-BERGMANN B. The anti-leishmanial effect of *Kalanchoe* is mediated by nitric oxide intermediates. *Parasitology* 118 (6):575-82, 1999.

DI STASI, L.C.; HIRUMA-LIMA, C.A. Plantas medicinais da Amazônia e na Mata Atlântica. 2 Edição. São Paulo, SP. 2002.

DIG, J.; HUANG, H. *Zhongcaoyao*. v.13, p.499. 1982.

DJIPA, C.D.; DELMÉE, M.; QUETIN-LECLERCQ, J. Antimicrobial activity of bark extracts of *Syzygium jambos* (L.) Alston (*Myrtaceae*). *Journal of Ethnopharmacology*, Limerick, v.71, n.1-2, p.307-313, 2000.

DRUMOND, M.R.S.; CASTRO, R.D. ; ALMEIDA, R.V.D.; PEREIRA, M.S.V.; PADILHA, W.W.N. Estudo comparativo *in vitro* da atividade antibacteriana de produtos fitoterápicos sobre bactérias cariogênicas. *Pesq Bras Odontoped Clin Integr*, v.4, n.1, p.33-38, 2004.

DUARTE M. C. T., LEME, E.E.; DELARMELINA, C.; SOARES, A.A., FIGUEIRA, G.M., SARTORATTO, A. Activity of Essential Oil from Brazilian Medicinal Plants on *Escherichia coli*. *J. of Ethnopharmacol.*v.97, p.305-311. 2006.

ELOFF, J.N. A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria. *Planta Medica*. v.64, p.711–713, 1998.

ESTRELA, E. Tratado de Cooperacion Amazonica – Secretaria Protempore, Plantas medicinales Amazonicas: Realidad Y Perspectivas, Lima: TCA, 302p. 1995.

FERNANDEZ, M.; NIETO, A. Plantas Medicinales. Pamplona: Navarra, 1982.

GAIND K.N.; GUPTA R.L. P Flavonoid glycosides from *Kalanchoe pinnata*. *Planta Med*. v.20, n.4, p.368-73, 1973.

GAIND K.N.; GUPTA R.L. P. Flavonoid glycosides from *Kalanchoe pinnata*. *Planta medica*. v.20, p.368-373, 1971.

GNAN, S.O.; DEMELLO, M.T. Inhibition of *Staphylococcus aureus* by aqueous goiaba extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, v.68, p.103-108, 1999.

GONÇALVES. A.L.; ALVES FILHO, A.; MENEZES, H. Estudo Comparativo da Atividade Antimicrobiana de Extratos de Algumas Árvores Nativas. *Arq. Inst. Biol*. V.72, n 3, p. 353-358, jul/ set, 2005.

GONTUZZO, E. Em Marcha seria Investigacion: ~Una de Gato y Pacientes com el VIH. *De Ciência y Tecnologia* v.34.1993.

GRELAND, P.C. Pharmacopées. Traditionnelles em Guyane: Créoles, Palikur, Wayãpi. Editorial-1-ORSTROM, Coll. Mem No. 108. Paris, 1987.

HARBONE, J.B. Advances in flavonoids research since 1992. *Phytochemistry*, v. 55, p.481-504, 2000.

HOLETZ, F.B.; PESSINI, G.L.; SANCHES, N.R.; CORTEZ, D.A.G.; NAKAMURA, C.V.; DIAS FILHO, B.P. Screening of some plants used in the

Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.97, n.7, p.1027-1031, 2002.

HOOD, J.R.; WILKINSON, J.M.; CAVANAGH, H.M.A. Evaluation of common antibacterial screening methods utilized in essential oil research. *J Essent Oil Res.* v. 15, p.428-433. 2003.

IEA - Instituto de Economia Agrícola. Disponível em: <<http://www.iea.sp.gov.br/out/verTexto.php?codTexto=1902>>. Acesso em: 12 jul. 2007.

JAIARJ, P.; KHOOHASWAN, P.; WONGKRAJANG, Y.; PEUNGVICHA, P.; SURIYAWONG, P.; SUMAL SARAYA, M. L.; RUANGSOMBOON, O. Anticough and Antimicrobial activities of *Psidium guajava* Linn. Leaf Extract. *Journal of Ethnopharmacology* v.67, p.203-212. 1999.

JUDD, W.S.; CAMPBELL, C.S.; KELLOGG, E.A.; STEVENS, P.F. Plant Systematics: a phylogenetic approach. Sinauer Associates, Inc., Sunderland. 1999.

KARTAL, M.; YVLDZ, S.; KAYA, S.; KURUCU, S.; TOPÇU, G. Antimicrobial activity of propolis simples from two different regions of Anatolia. *Journal of Ethnopharmacology*, v.86, p.69-73, 2003.

KELMANSON, J.E.; JAGER, A.K.; VAN STADEN, J. Zulu Medicinal Plants with Antibacterial Activity. *J. Ethnopharmacology*. v.69, p.241-246. 2000.

KEPLINGER, H.; WAGNER, H.; KREUTZKAMP, K. Oxindole Alkaloids Having Properties Stimulating the Immunologic System and Preparation Containing the Same. United States Patent 5.302.611. 12 de Abril de 1990.

KLOUCEK, P.; POLESNY, Z. ; SVOBODOVA, B. ; VLKOVA, E.; KOKOSKA, L. Antimicrobial activity of some medicinal barks used in Peruvian Amazon. *J. Ethnopharmacology*. v.99, n.2005, p.309–31

LIMA, M.R.F.; LUNA, J.S.; SANTOS, A.F.; ANDRADE, M.C.; SANT'ANA, A.E.; GENET, J.P.; MARQUEZ, B.; NEUVILLE, L.; MOREAU, N. Anti-bacterial activity of some Brazilian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, v.105, p.137-147, 2006.

LIN, J.; OPOKU, A.R.; GEHEEB-KELLER, M.; HUTCHINGS, A.D.; TERBLANCHE, S.E.; JAGER, A.K.; VAN STADEN, J. Preliminary Screening of Some Tradicional Zulu Medicinal Plants for Anti-Inflamatory and anti-microbial activities. *Journal of Ethnopharmacology*. v.68, n.267-274.1999.

LORENZI, H. *Árvores brasileiras – Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas no Brasil*. Ed. Plantarum, Nova Odessa, 1992.

LORENZI, H.; MATOS, F.I.A. *Plantas medicinais no Brasil (nativas e exóticas)*. Nova Odessa, SP: Instituto Plautarum, 2002.

LOZOYA, X.; REYES-MORALES, H.; CHÁVEZ-SOTO, M. A.; MATÍNEZ-GARCÍA, M.C.; SOTO-GONZÁLEZ, Y.; DOUBOVA, S. V. Intestinal anti-spasmodic effect of a phytodrug of *Psidium guajava folia* in the treatment of acute diarrheic disease. *J.Ethnopharmacol.*, Limerick, v.83, p.19-24, 2002.

LUTTERODT. D.G.; MALEQUE. A. Effects on mice locomotor activity of a narcotic-likeprinciple from *Psidium guajava* leaves. *J. Ethnopharmacol.*, v.24, p.219-231, 1988.

MABBERLEY, D. J. (1997) *The Plant-Book* (2nd ed.). Cambridge University Press, Cambridge. ISBN 0 521 41421 0

MACIEL, M.A.M.; PINTO, A.C.; VEIGA, V.F.Jr.; GRYNBERG, N.F.; ECHEVARRIA, A. Plantas medicinais: A necessidade de estudos multidisciplinares. *Química Nova*. v.25, p.429-438, 2002.

MANICA, I.; ICUMA, I. M.; JUNQUEIRA, N. T. V.; SALVADOR, J. O.;

MOREIRA, A.; MALAVOLTA, E. Fruticultura tropical 6. Goiaba. Porto Alegre: Cinco Continentes. 2000.

MANOSROI, J.; DHUMTANOM, P.; MANOSROI, A. Anti-proliferative activity of essential oil extracted from Thai medicinal plants on KB and P388 cell lines. *Cancer Lett.*, Limerick, p.1-7, 2005.

MARTIN, M. J.; LA-CASA, C.; ALARCON-DE-LA-LASTRA, C.; CABEZA, J.; VILLEGAS, I.; MOTILVA, V. Anti-oxidant mechanisms involved in gastroprotective effects of quercetin. *J.Biosci.*, Bangalore, v.53, n.1/2, p.82-8, 1998.

MATOS, F.J. Farmácias Vivas – sistema de utilização de plantas medicinais projetado para pequenas comunidade, 4 . edição . Edições UFC, Fortaleza, 2002.

MATTA, S.M.; MONACHE, F.D.; FERRARR, F.; MARINI-BETTOLO, G.B. Alkaloids and Procyanidins of na Uncaria sp. From Peru. *Farmaco.* v.31, p.527-535.1976.

MORALES, M. A.; LOZOYA, X. Calcium-antagonist effects of quercetin on aortics mooth-muscle. *Planta Med.*, Stuttgart, v.60, n.4, p.313-7,1994.

MORS, W.B.; RIZZINI, C.T.; PEREIRA N.A. *Medicinal Plants of Brazil*. Reference Publications, Inc. Algonac, Michigan, 2000.

MUZITANO, M.F. ; CRUZ, E.A. ; ALMEIDA, A.P. ; DA SILVA, S.A. ; KAISER, C.R. ; GUETE, C. ; ROSSI-BERGMANN, B. ; COSTA, S.S. Quercitrin: an antileishmanial flavonoid glycoside from *Kalanchoe pinnata*. *Planta Med.* v.72, n.1, p.81-3, 2006.

NADERI, G. A.; ASGARY, S.; SARRAF-ZADEGAN, N.; SHIRVANY, H. Anti-oxidant effect of flavonoids on the susceptibility of LDL oxidation. *Mol.Cell.Biochem.*, *Hingham*, v.246, n.1/2, p.193-6, 2003.

NGUYEN, X.T.; NGUYEN, T.H.; DANG .H.P. *Rev. Pharm.* v.82. 1983.

OPLUSTIL, C.P.; ZOCOLI, C.M.; TOBUTI, N.R.; SINTO, S.I. *Procedimentos básicos em microbiologia clínica*. São Paulo: Sarvier. 2000.

PAREKH, J.; CHANDA, S.V. In vitro antimicrobial activity and phytochemical analysis of some Indian medicinal plants. *Turk J. Biol.* v.31, p.53-58. 2007

PAULLETTI, P.M.; BOLZANI, V.S.; YUNG, M.C.M. Constituintes químicos da *Arrabidaea* (Bignoniaceae). *Química Nova*, v.26, n.5, set/oct. 2003.

POLLITO, A.Z.; TOMAZELLO, M. – Anatomia do lenho de *Uncaria guianensis* *U. tomentosa* (Rubiaceae) do Estado do Acre Brasil. *ACTA Amazônia*, v.36, n.2, p.169-176. 2006.

PRASHAR, A. HILI, P.; VENESS, R. G.; EVANS, C. S. Antimicrobial action of palmarosa oil (*Cymbopogon martinii*) on *Saccharomyces cerevisiae*. *Phytochemistry*. v.63, p.569-575. 2003.

RABE, T.; VAN STADEN, J. Antimicrobial activity os South African Plants Used for Medicinal Purposes. *Journal of Ethnopharmacology* v.56, p.81-87. 1997.

RECIO, M.C.; GINER, R.M.; MANEZ, S.; RIOS, J.L. Structural Requirements for the anti-inflammatory activity of natural triterpenoids. *Planta medica*. v.61, n.2, p.182-185.1995.

REVILLA, J. *Plantas da Amazônia-Oportunidades Econômicas e Sustentáveis*. 2ed.SEBRAE/INPA. Manaus. 405pp. 2001.

ROBERTS, J.L.; SPEEDIE, M.K.; TYLER, V.E. *Farmacognósia e Farmacobiotecnologia*. São Paulo: Editorial Premier, 1997.

ROBINEAU, L. G. (ed.). Hacia una farmacopea caribena/ TRAMIL. Enda-caribe UAG & Universidade de Antioquia. Santo domingo, 1995.

SANCHES, N.R.; CORTEZ, D.A.G.; SCHIAVINI, M.S.; NAKAMURA, C.Y.; DIAS FILHO, B.P. An Evaluation of Antibacterial activities of *Psidium guajava* (L). *Braz. Arch. Biol. Technol.* v.8, n.3, p.429-436. 2005.

SANTOS, S.C.; FERREIRA, F.S.; ROSSI-ALVA, J.C.; FERNANDEZ, L.G. Atividade antimicrobiana *in vitro* do extrato de *Abarema cochiliocarpos* (Gomes) Barnaby & Grimes. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.17, n.2, p.215-219. 2007.

SCALBERT, A. Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, v.30, p.3875-3883, 1991.

SCHULTES, R.E.; R.F. RAFFAUT. The Healing Forest. *Medicinal and Toxic Plants of the Northwest Amazônia*. Dioscorides Press. Portland, OR, 1990.

SILVA, D.H, ALVARADO, D.R; HIDALGO, H.J, CERRUTI, S.T; GARCIA, R.J, DAVILA, M.W. Monografia de *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC. Iquitos, Peru: Instituto Peruano de Seguridad Social/Instituto de Medicina Tradicional; 1998.

SUPRATMAN, U.; FUJITA, T.; AKIYAMA, K.; HIDEO HAYASHI, H.; MURAKAMI, H.; SAKAI, H.; KOSHIMIZU, K.; OHIGASHI, H. Anti-tumor promoting activity of bufadienolides from *Kalanchoe pinnata* and *K. daigremontiana* x *tubiflora*. *Biosci Biotechnol Biochem*, v.65, n.4, p.947-949, 2001.

TAKEMURA, O.S.; LINUMA, M.; TOSA, H.; MIGUEL, O.G.; MOREIRA, E.A.; NOZAWA, Y. A flavone from leaves of *arrabidaea chica* f. *cuprea*. *Phytochemistry*, v.38, n.5, p.1299-1300, 1995.

TAVARES, W. *Manual de Antibióticos*. 3ed. São Paulo: Livraria Atheneu, 1984.

TAYLOR, L. *Herbal Secrets of the Rainforest*. Prima Publishing, Inc. Rocklin, Ca. 315pp. 1998.

TORRES-SANTOS E.C.; DA SILVA, S.A.; COSTA, S.S.; SANTOS, A.P.; ALMEIDA, A.P.; ROSSI-BERGMANN, B. Toxicological analysis and effectiveness of oral *Kalanchoe pinnata* on a human case of cutaneous leishmaniasis. *Phytother Res.* v.17, n.7, p.801-3, 2003.

URZUA, A.; CAROTI, M.; VASQUEZ, L.; MENDONZA, L.; WILKENS, M.; TOJO, E. Antimicrobial study of the resinous exudate and of Diterpenoids Isolated from *Eupatorium salvia* (Asteraceae). *Journal of Ethnopharmacology* v.46, p.31- 47. 1998.

VASQUEZ, R.A.C.; SANTOS, S.S.F; KOGA-ITO, C.Y.; JORGE, A.O.C. Antimicrobial Activity of *Uncaria tomentosa* against oral human pathogens. *Brazilian Oral Research.* v.21, n.1, p.46-50. 2007.

VELURI, T.L.; WEIR, H.P.; BAIS, F.R.; STERMITZ, J.M. Phytotoxic and antimicrobial activities of catechin derivatives. *J. Agric. Food Chem.* v.52, p.1077-1082, 2004.

VIEIRA, L.S. *Fitoterapia da Amazônia- Manual de Plantas Mediciniais*. Ed. Agr. Ceres, São Paulo. 350pp. 1992.

VIEIRA, L.S.; ALBUQUERQUE, J.M. *Fitoterapia Tropical Manual de plantas mediciniais*. Ed. Supercores, Belém, p.175, 1998.

VIEIRA, R.H.S.F.; RODRIGUES, D.P. ; GONÇALVES, F.A.; MENEZES, F.G.R.; ARAGÃO, J.S.; SOUSA, O.V. Microbicidal Effect of Medicinal Plant Extracts (*Psidium guajava* Linn. And *Carica papaya* Linn.), Upon Bacteria Isolated from Fish Muscle and Known to Induce Diarrhea in Children. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, v.43, n.3, p.145-148, 2001

VLIETINCK, A.J.; VAN HOOFF, L.; TOTTE, J.; LASURE, A.; VANDEN BERGHE D.; RWANGABO, P.C.; Mvukiyumwami J Screening of a Hundred Rwandese Medicinal Plants for Antimicrobial and Antiviral properties. *Journal of Ethnopharmacology* v.46, n.31-47.1995.

WANG, H.K. *The therapeutic potential of flavonoids. Expert Opin.Invest.Drugs.* 2000. London, v.9, n.9, p.2103-19, 2000.

WENIGER, B, Haag-Berrurier M, Anton R. Plants of Haiti used as antifertility agents. *J Ethnopharmacol.* v.6, p.67-84. 1982.

WOODMAN, O. L.; CHAN, E. C. Vascular and anti-oxidant actions of flavonols and flavones. *Clin.Exp.Pharmacol.Physiol.*, Carlton, v.31, n.11, p.786-90, 2004.

YEPEZ, P. A. M.; DE UGAZ, O. L.; ALVAREZ A. C. M.; DE FEO, V.; AQUINO, R.; DE SIMONE, F.; PIZZA, C.; *Phytochemistry.* v.30, p.1635. 1991.

ZOGHBI, M.G.B. et al. Volatile sulfides of the Amazonian Garlic Bush. *J. Agric. Food. Chem.* v.32, p.1009-1010.1984.