



**BAHIANA**  
ESCOLA DE MEDICINA E SAÚDE PÚBLICA

**ESCOLA BAHIANA DE MEDICINA E SAÚDE PÚBLICA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIAS EM SAÚDE**

**ALZEIR SANTANA SANTOS**

**AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIBACTERIANAS E ANTIFÚNGICAS E  
TRIAGEM FITOQUÍMICA DE EXTRATOS HIDROALCOÓLICOS DE ESPÉCIES  
VEGETAIS COLETADAS NO BIOMA CAATINGA**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**SALVADOR - BA**

**2018**

**ALZEIR SANTANA SANTOS**

**AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIBACTERIANAS E ANTIFÚNGICAS E  
TRIAGEM FITOQUÍMICA DE EXTRATOS HIDROALCOÓLICOS DE ESPÉCIES  
VEGETAIS COLETADAS NO BIOMA CAATINGA**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação *Stricto Sensu* em Tecnologias em Saúde da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Tecnologias em Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Diego Menezes

Co-orientador: Prof. Dr. Luiz E. Rodrigues

**SALVADOR - BA**

**2018**

S237

Santos, Alzeir Santana.

Avaliação das atividades antibacterianas e antifúngicas e triagem fitoquímica de extratos hidroalcoólicos de espécies vegetais coletadas no bioma caatinga: / Alzeir Santana Santos. - 2018.

, 78 f. : il. color. ; 30 cm.

Orientador: Diego Menezes.

Co-orientador: Luiz E. Rodrigues.

Título de Mestre em Tecnologias em Saúde 2018.

Inclui bibliografia.

1. Antimicrobianos. 2. Triagem fitoquímica. 3. Extratos vegetais.

I. Título.

CDU 58.083

ALZEIR SANTANA SANTOS

**"AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIBACTERIANAS E ANTIFÚNGICAS  
E TRIAGEM FITOQUÍMICA DE EXTRATOS HIDROALCOÓLICOS DE  
ESPÉCIE VEGETAIS DO BIOMA CAATINGA"**

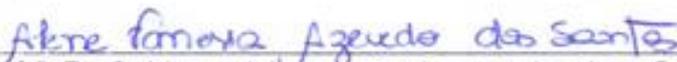
Dissertação apresentada à Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre em Tecnologias em Saúde.

Salvador, 26 de outubro de 2017.

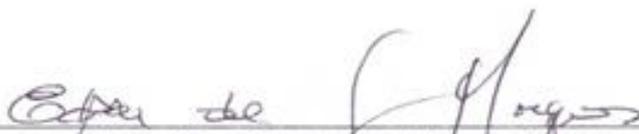
**BANCA EXAMINADORA**



Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Suzana Ramos Ferrer  
Doutora em Saúde Pública  
Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, EBMSP



Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Alene Vanessa Azevedo dos Santos  
Doutora em Biotecnologias em Saúde e Medicina Investigativa  
Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, EBMSP



Prof. Dr. Edson de Jesus Marques  
Doutor em Química  
Universidade do Estado da Bahia, UNEB

Dedico a minha mãe e irmãs que estiveram  
juntas comigo, me apoiando e incentivando  
no processo de construção desse trabalho.

## AGRADECIMENTOS

À Deus por ser a mola propulsora da minha vida.

Ao Prof. Dr. Diego Menezes por ter aceitado o desafio de me orientar nessa longa caminhada.

À Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Lourdes Cardoso Neta pelo acolhimento afetuoso, pela disponibilidade e condução nesse processo de pesquisa.

Aos colegas Luiz e Tiago Leal pelo companheirismo.

À Luíza Macedo, aluna da Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Lourdes pelos ensaios fitoquímicos.

À colega Marianna Soares pelo compartilhamento de todo seu conhecimento técnico e apoio no desenvolvimento deste trabalho.

Às minhas chefas, Sandra Santana Pimentel Solla e Mirian Meireles Matsumoto, pela compreensão da relevância do desenvolvimento deste trabalho.

Aos colegas de trabalho pelo incentivo e apoio.

Aos órgãos de fomento, a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia – FAPESB e o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro concedido para aquisição dos insumos e equipamentos, fundamentais para realização do presente trabalho.

À Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública (EBMSP) e a Universidade do Estado da Bahia (UNEB), em especial, ao Instituto de Química, por propiciarem toda infraestrutura necessária para a realização da presente dissertação.

“A mente que se abre a uma nova ideia,  
jamais volta ao seu tamanho original”  
(Albert-Einstein)

## RESUMO

Esta pesquisa tem como objetivo principal realizar a triagem fitoquímica e a avaliação das atividades antibacterianas e antifúngicas, *in vitro*, das espécies: *Canavalia brasiliensis* Mart, *Cassia excelsea* Schrader, *Genipa americana* L., *Copernicia cerifera* Mart., *Celtis iguanaea* Sarg., *Azadeirata indica*, *Myracrodruon urundeuva* Allemão, *Anadenanthera colubrina* Vell., *Bromelia laciniosa* Mart. e *Schinopsis brasiliensis* Engl. Os extratos hidroalcoólicos de diferentes partes destas plantas foram obtidos por extração a frio. As folhas e os caules foram secos ao ar. Em seguida, moídos e submetidas à extração, por 72 horas (3x) com solvente alcoólico (etanol e metanol). As soluções alcoólicas obtidas foram submetidas à destilação, à pressão reduzida, para obtenção dos respectivos extratos, que foram utilizados no ensaio de microdiluição em caldo para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM), conduzido segundo as normas do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), com modificações. Foram utilizadas bactérias Gram-positivas: *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus* e Gram-negativas: *Salmonella choleraesuis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosas* e o fungo *Candida albicans*. Além disso, foi determinada a Concentração Bactericida Mínima (CBM) e realizada a triagem fitoquímica. Observou-se que dos extratos das folhas, das partes aéreas e dos caules das espécies testados, 14.81% apresentaram atividade antimicrobiana, não havendo diferença entre os percentuais de atividade entre os extratos das folhas e dos caules. Os extratos hidroalcoólicos apresentaram mais atividade contra microrganismos Gram-positivos (12.04%) do que contra os Gram-negativos (2.78%). Nenhum extrato apresentou atividade contra a *Candida albicans*. Dos 18 extratos das 10 espécies testadas, 94,44% (17) apresentaram resultado positivo para taninos, excetuando-se apenas o extrato etanólico do caule da *Genipa americana* L.. Os extratos etanólico da folha da *Celtis iguanaea* Sarg. e do caule da *Genipa americana* e os extratos metanólicos das partes aéreas da *Bromelia laciniosa* Mart., do caule da *Canavalia Brasiliensis* Mart., da *Celtis iguanaea* Sarg. e da *Myracrodruon urundeuva* Allemão deram positivo para esteroides, correspondendo a 33.33 % dos extratos testados. A presença de alcaloides foi identificada nos extratos etanólicos do caule da *Genipa americana* L., da *Copernicia cerifera* Mart.. e da *Anadenanthera colubrina* Vell. e metanólico da *Azadirachta indica*, da *Myracrodruon urundeuva* Allemão e da *Celtis iguanaea* Sarg., o que corresponde a 33,33 % dos extratos. Os triterpenos foram identificados nos extratos etanólicos das folhas da *Genipa americana* L., da *Celtis iguanaea* Sarg., do caule da *Genipa americana* L. e metanólico das folhas da *Cassia excelsea* Schrader, da *Schinopsis brasiliensis* Engl. e do caule da *Celtis iguanaea* Sarg., estando, portanto, presente em 38,89% dos extratos testados.

**Palavras-chave:** Antimicrobianos. Triagem fitoquímica. Extratos vegetais.

## ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate, *in vitro*, antibacterial and antifungal activities and carry out phytochemical screening of the species: *Canavalia brasiliensis* Mart, *Cassia excelsea* Schrader, *Genipa americana* L., *Copernicia cerifera* Mart., *Celtis iguanaea* Sarg., *Azadeirata indica*, *Myracroduon urundeuva* Allemão, *Anadenanthera colubrina* Vell., *Bromelia laciniosa* Mart. And *Schinopsis brasiliensis* Engl. Hydroalcoholic extracts from different parts of plants were obtained by cold extraction, as follows: the leaves and stems were air dried. Then, ground was subjected to extraction, for 72 hours (3x) with alcoholic solvent (ethanol and methanol). The alcoholic solutions obtained were subjected to distillation under reduced pressure, to obtain the respective extracts, which were used in the broth microdilution assay to determine the minimum inhibitory concentration (MIC), conducted according to the standards of the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), with modifications. The microorganisms used were Gram-positive bacteria: *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus* and Gram-negative: *Salmonella choleraesuis*, *Escherichia coli* and, the fungus *Candida albicans*. In addition, the minimum bactericidal concentration (MBC) and phytochemical screening were conducted. It was observed that, of the extracts of the leaves, aerial parts and stems of the species tested, 14.81% presented antimicrobial activity, and there was no difference between the percentage of activity between leaf and stem extracts. The tests showed more activity against gram-positive microorganisms (12.04%) than against Gram-negative microorganisms (2.78%). No extract showed activity against *Candida albicans*. Out of the 18 extracts of the 10 tested species, 94.44% (17) presented positive results for tannins, except for the ethanolic extract from the stem of *Genipa americana* L. The ethanolic extracts from the leaf of *Celtis iguanaea* Sarg. and the stem of the *Genipa American* and the methanolic extracts of the aerial parts of the *Bromelia laciniosa* Mart., from the stem of the *Canavalia Brasiliensis* Mart, of *Celtis iguanaea* Sarg. and *Myracroduon urundeuva* Allemão were positive for steroids, corresponding to 33.33% of the extracts tested. The presence of alkaloids was identified in the ethanolic extracts of *Genipa americana* L., *Copernicia cerifera* Mart. and *Anadenanthera colubrina* Vell and methanolic from *Azadirachta indica*, *Myracroduon urundeuva* Allemão and *Celtis iguanaea* Sarg., 33.33% of the extracts. The triterpenes were identified in the ethanolic extracts of leaves of *Genipa americana* L., *Celtis iguanaea* Sarg., the stem of *Genipa americana* L. and methanolic extracts of leaves of *Cassia excelsea* Schrader, *Schinopsis brasiliensis* Engl. and the stem of *Celtis iguana and Sarg.*, being, therefore, present in 38.89% of the extracts tested.

**Keywords:** Bioprospection. Natural products. Infection. Phytochemical screening.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1 – Grupos químicos dos antibióticos e seus respectivos alvos de ação.....	8
Quadro 2 – Atividade Antimicrobiana de Plantas da Caatinga.....	41
Quadro 3 – Número de Registro no Herbário da Universidade do Estado da Bahia.....	48
Quadro 4 – Plantas estudadas classificadas de acordo com a família e a espécie, com as respectivas partes.....	49
Quadro 5 – Microrganismos utilizados .....	50
Figura 1 – Fatores relacionados à ação dos antimicrobianos.....	17
Figura 2 – Mecanismos de ação dos antibióticos e seus alvos nas células bacterianas.....	19
Figura 3 – Mecanismos de ação dos antifúngicos e nos seus alvos.....	19
Figura 4 – <i>Myracrodruon urundeuva</i> Allemão.....	29
Figura 5 – <i>Genipa americana</i> L. ....	30
Figura 6 – <i>Azadirachta indica</i> A. Juss.....	31
Figura 7 – <i>Schinopsis brasiliensis</i> .....	32
Figura 8 – <i>Copernicia cerifera</i> .....	33
Figura 9 – <i>Celtis iguanaea</i> .....	34
Figura 10 – <i>Canavalia brasiliensis</i> .....	35
Figura 11 – <i>Cassia excelsa</i> Schrad. ....	36
Figura 12 – <i>Anadenanthera colubrina</i> .....	36
Figura 13 – <i>Bromelia laciniosa</i> .....	37
Figura 14 – Atividade antimicrobiana dos extratos.....	53
Figura 15 – Extrato por grupo químico.....	57

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Valores das concentrações inibitórias mínimas dos extratos etanólicos e metanólicos das folhas das plantas estudadas.....	54
Tabela 2 – Valores das concentrações inibitórias mínimas dos extratos etanólicos e metanólico dos caules das plantas estudadas.....	55
Tabela 3 – Valores das concentrações bactericidas mínimas dos extratos ativos.....	56
Tabela 4 – Triagem fitoquímica dos extratos de plantas da Catinga por CCDC.....	58

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Anvisa	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CBM	Concentração Bactericida Mínima
CCDC	Cromatografia de Camada Delgada Comparativa
CDC	Center for Disease Control
CIM	Concentração Inibitória Mínima
DMSO	Dimetilsulfóxido
DTCS	Departamento de Tecnologias e Ciências Sociais
EUA	Estados Unidos da América
HIV/AIDS	Human Immunodeficiency Virus/Acquired Immunodeficiency Syndrome
HUNEB	Herbário da Universidade do Estado da Bahia
LPS	Lipopolissacarídeo
MYSTIC	Meropenem Yearly Susceptibility Information Collection
UNEB	Universidade do Estado da Bahia

## LISTA DE SÍMBOLOS

® Marca registrada

µg Micrograma

mL mililitro

FeCl<sub>3</sub> Cloreto férrico

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>13</b>
<b>2</b>	<b>O IMPACTO DAS INFECÇÕES POR MICRORGANISMOS PARA A SAÚDE PÚBLICA</b> .....	<b>15</b>
<b>2.1</b>	<b>Infecção bacteriana fúngica</b> .....	<b>16</b>
<b>3</b>	<b>BIOPROSPECÇÃO E O DESENVOLVIMENTO DE FÁRMACOS A PARTIR DE SUBSTÂNCIAS NATURAIS</b> .....	<b>26</b>
<b>3.1</b>	<b>Espécies vegetais</b> .....	<b>28</b>
<b>4</b>	<b>ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE ESPÉCIES VEGETAIS E DOS SEUS METABÓLITOS SECUNDÁRIOS</b> .....	<b>38</b>
<b>5</b>	<b>OBJETIVO GERAL</b> .....	<b>47</b>
<b>5.1</b>	<b>Objetivos específicos</b> .....	<b>47</b>
<b>6</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>48</b>
<b>6.1</b>	<b>Coleta e identificação dos espécimes vegetais</b> .....	<b>48</b>
<b>6.2</b>	<b>Ensaio antibacterianos e antifúngicos</b> .....	<b>48</b>
<b>6.3</b>	<b>Microrganismos</b> .....	<b>49</b>
<b>6.4</b>	<b>Avaliação da Atividade Antimicrobiana</b> .....	<b>50</b>
<b>6.4.1</b>	<b>Ensaio de microdiluição em caldo</b> .....	<b>50</b>
<b>6.4.2</b>	<b>Determinação da concentração bactericida mínima</b> .....	<b>51</b>
<b>6.5</b>	<b>Triagem fitoquímica</b> .....	<b>51</b>
<b>7</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>53</b>
<b>8</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	<b>59</b>
<b>9</b>	<b>LIMITAÇÕES E PERSPECTIVAS</b> .....	<b>63</b>
<b>10</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>64</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>65</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Os avanços tecnológicos das últimas décadas contribuíram para que houvesse um forte declínio na disseminação das doenças infecciosas e parasitárias. Apesar disso, a morbimortalidade decorrente destas doenças continua sendo um problema de saúde pública<sup>1-4</sup>. Nos últimos anos, têm se visto no mundo a emergência e re-emergências de doenças, tais como a dengue, tuberculose, *Human Immunodeficiency Virus / Acquired Immunodeficiency Syndrome (HIV/AIDS)*, *Severe Acute Respiratory Syndrome (SARs)*, coléra, *Chikungunya*, febre tifoide, salmonelose, ebola dentre outras<sup>5</sup>.

As principais razões para que estas doenças ainda sejam consideradas problemas de saúde pública são: a alta capacidade de transmissibilidade e de letalidade de algumas delas; bem como, a falta de alternativas terapêuticas para determinadas doenças, além do desenvolvimento de mecanismos de resistência pelos patógenos às alternativas terapêuticas disponíveis e a capacidade de causar um grande impacto econômico mundial<sup>6</sup>.

O uso indiscriminado de antibióticos tem sido um dos principais motivos do surgimento de microrganismos resistentes a estes medicamentos. Assim como, a falta de adesão ou a adesão inadequada ao tratamento que, também, desempenha papel fundamental no processo de resistência. Muitos pacientes não conseguem aderir ao tratamento devido aos efeitos colaterais ou até mesmo por consequência do esquema posológico complexo. O tratamento para a tuberculose é um exemplo desta situação<sup>6,7</sup>.

Diante deste cenário, a busca por novos fármacos tendo sido uma preocupação constante de pesquisadores e de órgãos governamentais. É neste contexto que a biodiversidade se configura em um campo promissor na descoberta de fármacos, tais como: agentes antimicrobianos, antitumorais, anti-inflamatórios, antinociceptivos e outros. A biodiversidade do Brasil se destaca para prospecção de moléculas bioativas, já que é uma das mais diversas do mundo, por possuir dimensão continental, abarcando uma grande variedade de espécies<sup>7</sup>.

No Brasil, são encontrados os biomas Amazônia, Cerrado, Mata Atlântica, Pampa, Pantanal e a Caatinga, bioma que será destacado no presente estudo. A Caatinga está situada entre os paralelos 3° e 17° S e meridianos 35° e 45° W, ocupando uma

área de cerca de 844.453 Km<sup>2</sup>, o equivalente a 11% do território nacional, sua extensão territorial excede a área ocupada pela Espanha e Portugal juntos. A Caatinga ocupa parte dos estados Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Pernambuco, Paraíba, Rio Grande do Norte, Piauí, Sergipe e Minas Gerais, abrigando uma rica biodiversidade relevante no ponto de vista científico por tratar-se de um dos únicos biomas que têm distribuição restrita ao Brasil, com pelo menos 932 espécies vegetais já registradas, das quais 380 são endêmicas, além de 178 espécies de mamíferos, 591 de aves, 177 de répteis, 79 de anfíbios, 241 de peixes e 221 de abelhas<sup>8</sup>.

Neste contexto, a Caatinga tem um imenso potencial para a bioprospecção por ser uma fonte rica para a busca de novas moléculas com potencial farmacológico<sup>8</sup>. Diante da grande variedade de espécies, é preciso ter uma abordagem adequada que permita selecionar as plantas que apresentam uma atividade biológica potencial. Ou seja, é necessária a realização de uma triagem que permita identificar as espécies que apresentem atividade biológica, bem como identificar os grupos que pertencem os metabólitos biotivos e, posteriormente, o(s) possível(is) mecanismo(s) de ação.

O uso de plantas medicinais, até então, tem ocorrido, principalmente, pela maior parte da população com base no senso comum. Muitas espécies vegetais ainda não possuem a atividade biológica comprovada ou refutada cientificamente. Considerando a singularidade do bioma Caatinga e a grande disponibilidade, as espécies *Canavalia brasiliensis* Mart, *Cassia excelsea* Schrader, *Genipa americana* L., *Copernicia cerifera* Mart., *Celtis iguanaea* Sarg., *Azadirachta indica*, *Myracrodruon urundeuva* Allemão, *Anadenanthera colubrina* Vell., *Bromelia laciniosa* Mart., *Schinopsis brasiliensis* Engl foram selecionadas para prospecção quanto as atividades antibacteriana sobre *Escherichia coli*, *Salmonella choleraesuis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* e antifúngica sobre a *Candida albicans*.

## **2 O IMPACTO DAS INFECÇÕES POR MICROORGANISMOS PARA A SAÚDE PÚBLICA**

A descoberta, nos anos 50, que determinados microrganismos eram capazes de produzir substâncias que inibiam o crescimento ou eram letais para outros microrganismos, culminou no surgimento das primeiras alternativas terapêuticas para o tratamento das doenças infecciosas<sup>7</sup>. Desde desta época, são relatadas evidências de diferentes espécies de bactérias do gênero *Bacillus* capazes de produzir substâncias com atividade antimicrobiana, tais quais a subtilisina e as termolisinas<sup>7</sup>.

A necessidade de se desenvolver pesquisas que identifiquem novos fármacos que possam tratar doenças infectocontagiosas se deve ao fato delas terem um forte impacto sobre a saúde pública por desempenharem um papel importante no curso da história da humanidade, interferindo de forma significativa na dinâmica das populações, nos seus hábitos e na sua demografia.

Um arsenal terapêutico amplo que trate estas enfermidades, também é importante para diminuir o risco de que grandes epidemias, como as que aconteceram no passado, que dizimaram populações, limitando o crescimento demográfico e que mudaram o curso da história, venham a se repetir<sup>9-10</sup>.

Embora, nas décadas de 50 e 60, tenha havido consideráveis avanços tecnológicos, ainda é necessário buscar novas alternativas terapêuticas, primeiro por causa dos danos potenciais que uma grande epidemia teria no seio da nossa sociedade e segundo devido a crescente onda de resistência bacteriana que tem surgido nos últimos tempos.

Portanto, é precipitado acreditar que o problema das doenças infecciosas é algo superado e, que, elas naturalmente serão erradicadas. As ações de prevenção e controle não podem ser subestimadas na agenda de prioridades em saúde. Pois isto trará evidentes prejuízos para o desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas que sejam capazes de combater os microrganismos resistentes que têm surgido nas últimas décadas<sup>11</sup>.

## 2.1 Infecção Bacteriana e Fúngica

Dentre as doenças que podem acometer o homem, as infecciosas causadas por bactérias são umas das mais preocupantes, não só pelo impacto econômico e social que elas representam, mas também pela transmissibilidade e mortalidade. Tudo isso demonstra a necessidade do conhecimento e constante monitoramento sobre os principais patógenos que causam danos à saúde humana, da epidemiologia das doenças causadas por eles, da ocorrência de microrganismos resistentes, de aspectos relevantes da sua patogenicidade, além de dados socioecológicos que possibilitem traçar medidas de prevenção e ou controle.

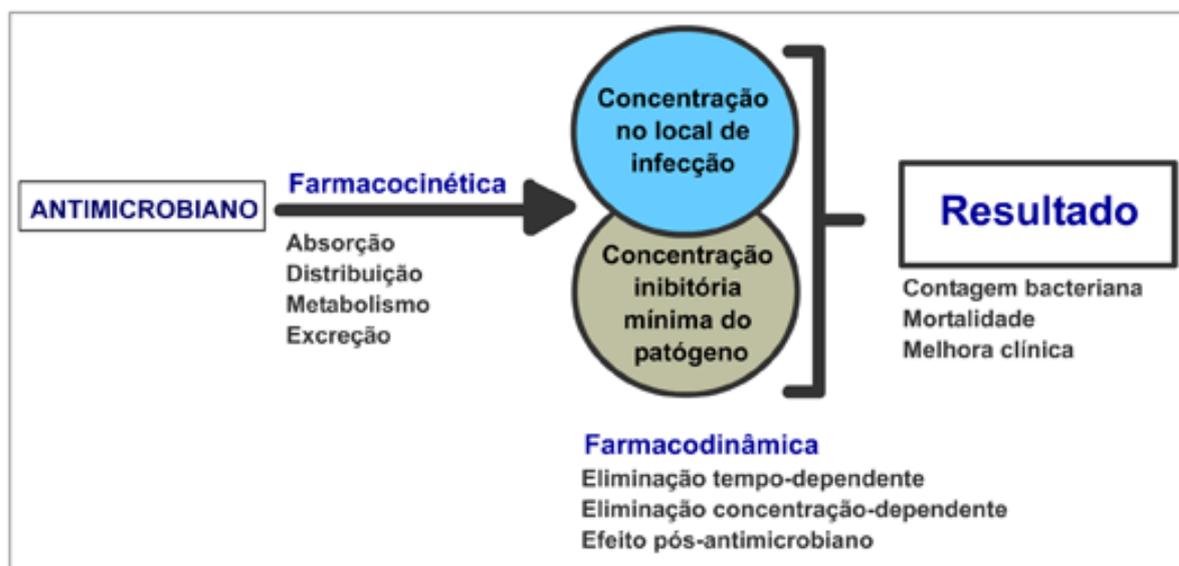
As infecções ocorrem quando um microrganismo penetra e desenvolve-se ou multiplica-se em um organismo vivo<sup>12</sup>. A transmissão de alguns microrganismos pode ser através de alimentos contaminados (*Salmonella spp*, *P. aeruginosas*, *B subtilis* e *E. coli*)<sup>13-16</sup>, de objetos e através de inalação de gotículas e/ou aerossóis contaminados<sup>17</sup>. Outra via relevante que persiste é através do contato com mãos contaminadas de profissionais de saúde, forma comumente associada à transmissão de *P. aeruginosa* e, conseqüente, disseminação em ambientes hospitalares<sup>14</sup>.

Além das bactérias, as leveduras, como a *Candida albicans*, também podem causar infecções. Isto pode ocorrer quando pessoas saudáveis entram em contato com as secreções provenientes da boca, pele, vagina ou objetos contaminados por portadores. A transmissão vertical (mãe para recém-nascidos) na hora do parto também é uma forma de infecção, porém menos frequente<sup>18</sup>.

Uma vez que o microrganismo penetra o hospedeiro, o quadro infeccioso pode se instalar em decorrência das lesões induzidas pelo agente e pela resposta imunológica do hospedeiro através de manifestações clínicas e alterações fisiológicas, bioquímicas e histopatológicas tais como a ação mecânica, ação de toxinas, reações inflamatórias, hipersensibilidade e destruição tissular<sup>19</sup>. Entretanto, o quadro clássico de infecção, no qual as manifestações clínicas são as principais características da doença, pode não ser deflagrado, caracterizando-se assim a infecção subclínica, inaparente ou assintomática, formas que dificulta a identificação do quadro e, conseqüentemente, o tratamento<sup>19</sup>.

As substâncias que se destinam a tratar as doenças causadas por bactérias precisam ser capazes de matar ou inibir o crescimento dos microrganismos sem afetar, de forma significativa, as células do hospedeiro, ou seja, estes medicamentos devem agir seletivamente. Para que estas drogas consigam agir desta maneira, é necessário que haja um controle rígido da sua concentração, de modo a lesar os microrganismos, sem grandes danos ao hospedeiro<sup>20-24</sup>.

Para que o antimicrobiano exerça sua atividade, primeiramente, deverá atingir concentração ideal no local da infecção. Para muitos destes medicamentos, é ainda necessário apresentar a capacidade de atravessar, de forma passiva ou ativa, a parede celular, terem afinidade pelo sítio de ligação no interior da bactéria ou na superfície dela e permanecer tempo suficiente para exercer seu efeito inibitório<sup>23</sup> (Figura 1). Os antimicrobianos podem também agir diretamente na parede celular sem precisar adentrar a mesma.



**Figura 1.** Fatores relacionados à ação dos antimicrobianos

Fonte: Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Anvisa, 2007<sup>24</sup>.

Os principais alvos de ação conhecidos dos antibióticos são: a enzima transpeptidase; a enzima  $\beta$ -lactamase; a subunidade 50S ribossômica; a subunidade 30S ribossômica; a porção terminal do peptidoglicano; a membrana plasmática, a RNA polimerase dependente de DNA; as enzimas DNA girase e a di-hidropteroato sintetase<sup>6,23</sup>.

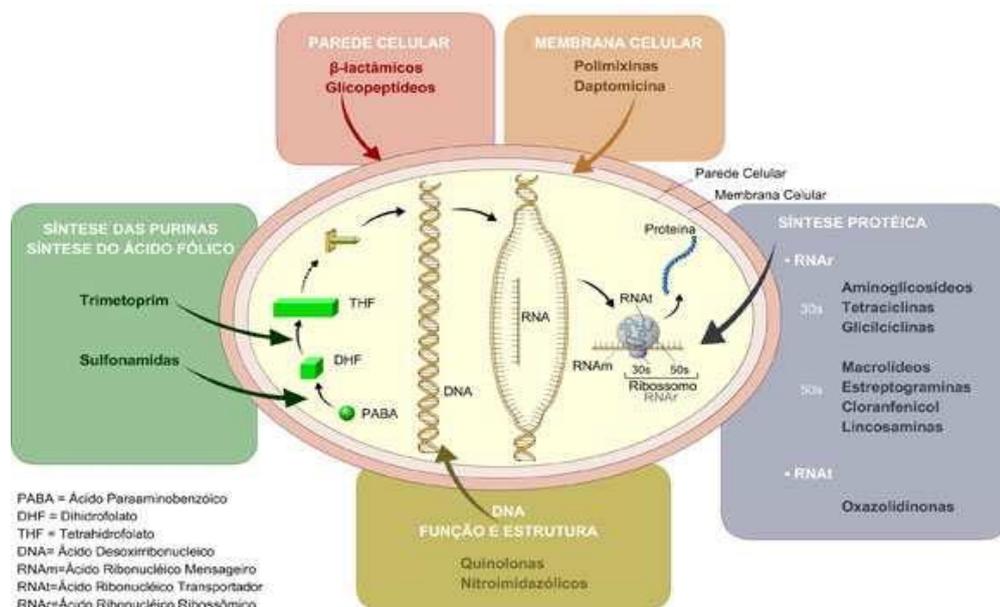
Entre os diversos critérios adotados na classificação de antibióticos, os principais são: a) origem; b) biossíntese; c) ação predominante; d) mecanismo de ação; e e) estrutura química. Nenhuma delas é totalmente satisfatória, no Quadro 1, os antibióticos são agrupados de acordo com o local de ação e o grupo químico presentes.

**Quadro 1.** Grupos químicos dos antibióticos e seus respectivos locais de ação.

Grupos químicos	Local de ação	Exemplos
$\beta$ -lactâmicos, glicopeptídeos	Parede celular	Penicilina cristalina, penicilina V, cefalotina, cefazolina, meropenem, aztreonam, vancomicina e teicoplanina.
Polimixinas, daptomicina	Membrana celular	Polimixina B e daptomicina
Trimetroprin, sulfonamidas	Síntese das purinas, síntese do ácido fólico	Trimetroprina e sulfametoxazol
Aminoglicosídeos, tetraciclina e glicicicinas	Síntese proteica (subunidade 30s ribossomal)	Amicacina, gentamicina, tetracilina e
Estreptograminas, cloranfenicol e lincosaminas	Síntese proteica (subunidade 50s ribossomal)	Cloranfenicol, lincomicina, quinopristina e dalfonopristina
Oxazolidinonas	Síntese proteica (RNAt)	linezolida
Quinolonas e nitroimidazólicos	DNA	Norfloxacin, ciprofloxacina e metronidazol.

Outra classificação admissível é a baseada no mecanismo de ação e no alvo nas células das bactérias (Figura 2), como:  $\beta$ -lactâmicos, quinolonas, glicopeptídeos,

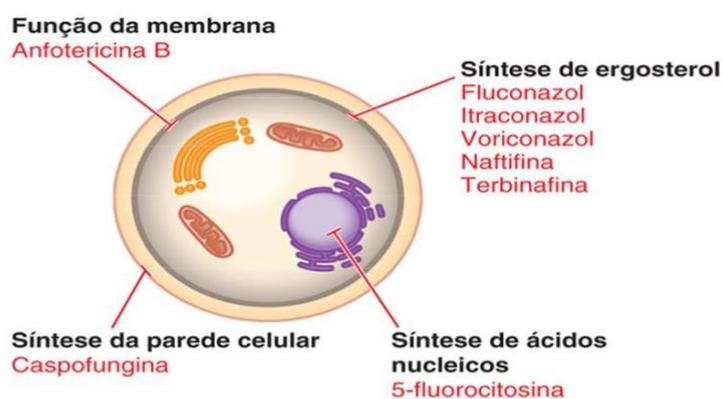
oxazolidinonas, aminoglicosídeos, liconsaminas, nitromidazóidicos, cloranfenicol, sulfonamidas, tetracilinas e macrolídeos<sup>23</sup>.



**Figura 2.** Mecanismos de ação dos antibióticos e seus alvos nas células bacterianas

Fonte: Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Anvisa, 2007<sup>24</sup>

Os antifúngicos têm como principais alvos de ação a parede celular, membrana, síntese do ergosterol e dos ácidos nucleicos (Figura 3).



*Anfotericina B* e outros polienos, como a *nistatina*, ligam-se ao ergosterol nas membranas celulares fúngicas e aumentam a permeabilidade da membrana. Os imidazóis e triazóis, como o *itraconazol* e o *fluconazol*, inibem a 14- $\alpha$ -esterol demetilase, impedindo a síntese do ergosterol e levando ao acúmulo de 14- $\alpha$ -metilesteróis. As alilaminas, como a *naftifina* e a *terbinafina*, inibem a esqualeno epoxidase e impedem a síntese do ergosterol. As equinocandinas, como a *caspofungina*, inibem a formação de glicanos na parede celular fúngica.

**Figura 3.** Mecanismos de ação dos antifúngicos e seus alvos nos fungos

Fonte: <http://atualizacaofarmaceutica.com/sitios-de-acao-dos-farmacos-antifungicos-relembrando/>. Acessado em 12/09/2016.

Embora haja várias alternativas terapêuticas para tratar as infecções microbianas como vista no Quadro 1, ainda é necessário se buscar novos fármacos. Já que, recentemente, se tem identificado microrganismos patogênicos resistentes, resultante em grande parte da falta de adesão ao tratamento e do uso indiscriminado destes medicamentos. Este fato vem despertando a atenção do setor industrial para o desenvolvimento de novos medicamentos.

Esta busca pode ser realizada através da bioprospecção de produtos naturais que é um método que visa localizar, avaliar e explorar legalmente de maneira sistemática a diversidade de vida existente em um determinado local. Este processo, que tem se demonstrado eficaz no âmbito científico para obtenção de novos compostos terapêuticos, é focada principalmente na identificação de recursos genéticos e bioquímicos que possam atuar como novos compostos terapêuticos.

É, em virtude disso, que os metabólitos secundários de espécies vegetais têm se destacado como alternativas terapêuticas. Na década de 80, foram identificados 121 compostos de origem vegetal, provenientes de 95 espécies, os quais têm sido usualmente empregados como terapêuticos nos países ocidentais. Apesar da descoberta de um número relativamente significativo de substâncias de origem vegetal, o total de medicamentos aprovados no período 1983 a 1994, obtidos diretamente de espécies vegetais foi de apenas 6%, 24% foram compostos derivados e 9% foram desenvolvidos a partir de compostos vegetais cuja estrutura molecular serviu como unidade precursora em processo de síntese <sup>25</sup>. O que demonstra que estes recursos, apesar do grande potencial ainda são pouco explorados.

Neste trabalho, a bioprospecção das atividades antimicrobianas foi realizada com extratos metanólicos da folha da *Schinopsis brasiliensis* Eng., *Copernicia cerifera* Mart., *Cassia excelsea* Schrader, *Anadenanthera colubrina*; do caule da *Myracrodruon urundeuva* Allemão, *Celtis Iguanaea* (Jacq.) Sarg., *Canavalia brasiliensis* Mart. ex. Benth, *Cassia excelsea* Schrader, *Azadirachta indico* A. juss., extratos etanólicos das folhas da *Myracrodruon urundeuva* Allemão, da *Celtis Iguanaea* (Jacq.) Sarg., da *Genipa americana* L., extratos dos caules da *Schinopsis brasiliensis* Eng., da *Copernicia cerifera* Mart., da *Anadenanthera colubrina* (Vell.), da *Genipa americana* L., e das partes aéreas da *Bromelia laciniosa* Mart. ex. Schult. f. de plantas coletadas na caatinga contra os microrganismos alvo: três bactérias Gram-positivas (*M. luteus*,

*B. subtilis* e *S. aureus*), três Gram-negativas (*S. choleraesuis*, *P. aeruginosas* e *E. coli*) e um fungo *C. albicans*.

A *S. choleraesuis* foi selecionada para submetido à avaliação quanto à atividade antimicrobiana dos extratos das plantas deste estudo porque as espécies deste gênero tem um grande impacto sobre a saúde dos seres humanos. Elas costumam colonizar o trato intestinal do homem e dos animais, sendo estes últimos os principais reservatórios naturais deste microrganismo. Os alimentos de origem aviária são importantes vias de transmissão<sup>13</sup>. Estima-se que a *Salmonella spp* não tifoide causa um milhão de doenças transmitidas por alimentos nos Estados Unidos da América (EUA), sendo responsável por 1,2 milhões de doentes, 450 mortes, 23.000 hospitalizações com custos médicos diretos estimados em \$ 365.000.000 anualmente<sup>13</sup>.

Os principais sintomas da salmonelose são diarreia, febre e cólicas abdominais de 12 a 72 horas após a infecção<sup>13, 26,27, 29,30</sup>. A doença, geralmente, dura entre 4 a 7 dias, e a maioria das pessoas se recupera sem tratamento. No entanto, em algumas pessoas a diarreia pode ser tão grave que o paciente tem de ser hospitalizado. As doenças bacterianas causadas pela *Salmonella*, de acordo com a sintomatologia, podem ser divididas em: febre tifoide, entérica e salmoneloses<sup>13</sup>.

Outras salmonelas (*S. choleraesuis*) causam quadros de infecção gastrointestinal, tendo como sintomas dores abdominais, diarreia, febre baixa e vômito, sendo raros os casos clínicos fatais. Os sintomas aparecem com cerca de 12 a 36 horas após a infecção, podendo durar até 72 horas<sup>30,31</sup>.

As infecções por *Salmonella* têm grande relevância devido ao tropismo da bactéria por tecidos sanguíneo e ósseo, articulações, cérebro, sistema nervoso e outros órgãos internos, podendo evoluir para quadros de bacteremia (infecção sistêmica do sangue), meningite (infecção das membranas que revestem o cérebro e medula espinal), osteomielite (infecção do osso), a artrite séptica (infecção de uma articulação)<sup>13</sup>.

Também foi selecionada para fazer parte deste estudo a *Escherichia coli* que é um microrganismo que frequentemente pode habitar o intestino de humanos e outros animais, tendo, no primeiro, um papel relevante no trato intestinal saudável ao atuar

como comensal, inibindo por competição o crescimento de outros microrganismos patogênicos<sup>32</sup>. No entanto, algumas *E. coli* apresentam patogenicidade e podem causar doenças no trato digestório ou fora dele. Os tipos de *E. coli* capazes de induzir infecções gastrointestinais podem ser transmitidas através de água ou alimentos contaminados, ou através do contato com animais ou indivíduos portadores<sup>33-34</sup>.

Por possuírem a capacidade de se fixar ao tecido humano devido à presença de fímbrias ou adesinas, a eliminação desses microrganismos pela urina ou pelas fezes decorrentes do quadro diarreico é bastante limitada. As exotoxinas produzidas também são responsáveis pelo quadro infeccioso sintomático. Como todas as bactérias Gram-negativas, as *E. coli* possuem lipopolissacarídeo (LPS), esse fator de virulência estimula a produção de citocinas que, por sua vez, ativam o sistema imunológico de forma desproporcional acarretando numa vasodilatação excessiva, podendo culminar em choque séptico e morte nos casos de septicemia e é, em virtude da possibilidade de causar estes danos a saúde humana que eles são amplamente utilizados como marcadores negativos no controle de qualidade da água<sup>35</sup>.

Dentre as *E. coli*, as capazes de induzir o quadro clínico gastrointestinal destaca-se o sorotipo tipo *E. coli* (O157:H7), o mais patogênico devido a sua capacidade de provocar diarreia sanguinolenta podendo também causar insuficiência renal e, até mesmo, a morte<sup>15</sup>. Este sorotipo produz uma toxina chamada de Shiga (to<sub>2</sub> 24 verotoxigênica) responsável por grandes danos à saúde do hospedeiro<sup>33</sup>.

Devido a grande importância como agente patogênico nosocomial e por apresenta crescente resistência aos antibióticos, em isolados clínicos, a *Pseudomonas aeruginosa* também será abordada neste trabalho. Estas bactérias podem provocar infecções dos tratos urinário e respiratório, dermatite, infecções dos tecidos moles, bacteremia, infecções ósseas e articulares, infecções gastrintestinais e uma variedade de infecções sistêmicas, principalmente em pacientes com queimaduras graves e em pacientes imunodeprimidos, como indivíduos com câncer e AIDS. Infecção por *P. aeruginosa* é também um problema grave para pacientes hospitalizados com úlcera cancroide ou fibrose cística, alcançando uma taxa de letalidade próxima a 50%<sup>36,37</sup>.

Cerca de 8% das infecções associadas aos cuidados de saúde relatadas aos *Centers for Disease Control* (CDC) foram causadas por *P. aeruginosa*. Estima-se que 51.000

infecções por *P. aeruginosa* associada aos cuidados de saúde ocorrem nos EUA todos os anos. Em mais de 6000 (ou 13%) destes casos são observados microrganismos multirresistentes, causando cerca de 400 mortes<sup>27</sup>.

No Brasil, o *Antimicrobial Surveillance Program* (SENTRY), avaliou os microrganismos de 3.728 isolados em pacientes hospitalizados, obtidos de 12 centros hospitalares de quatro estados. A *P. aeruginosa* foi responsável por 496 (13,3%) dos casos sendo terceiro microrganismo mais frequente, com 30,2% de resistência ao fármaco imipenem. No estudo epidemiológico específico realizado pelo *Meropenem Yearly Susceptibility Information Collection* (MYSTIC) no Brasil, em unidades de tratamento intensivo, avaliou-se 1.550 amostras de bactérias Gram-negativas, provenientes de 20 centros hospitalares, *P. aeruginosa* estava envolvida em 30,3% (470 isolados) das infecções de corrente sanguínea/cateter, trato respiratório, trato urinário, pele/tecidos moles, com 36,6% de resistência ao imipenem<sup>38, 39</sup>.

Outro patógeno de alta relevância médica é o *Staphylococcus aureus*, um dos principais causadores de diversas de infecções hospitalares e comunitárias, podendo provocar doenças, que vão desde quadro infeccioso mais brando (espinhas, furúnculos e celulites) até infecções graves (pneumonia, meningite, endocardite, síndrome do choque tóxico, septicemia e outras)<sup>40</sup>. As doenças provocadas pelo *S. aureus* podem ser decorrentes da invasão direta dos tecidos, de bacteremia primária ou, exclusivamente, serem decorrentes da exposição às toxinas produzidas pelo patógeno<sup>40</sup>. O uso indiscriminado de antibióticos tem conduzido a uma seleção de linhagens de *S. aureus* resistentes aos medicamentos, sendo atualmente o principal problema destas infecções em pacientes hospitalizados ou indivíduos com fatores favoráveis a infecções<sup>34</sup>.

*Micrococcus luteus*, geralmente, é um microrganismo não patogênico, mas em pacientes imunocomprometidos, pode causar quadros graves de doenças. Estes podem ser encontrados na pele, mucosa, e, às vezes, na orofaringe. *M. luteus* tem sido associado com várias infecções e com quadros clínicos de bacteremia, peritonite, infecções de cateteres venosos centrais, abscessos intracranianos, pneumonia, artrite séptica, endocardite e meningite<sup>17</sup>.

O *Bacillus subtilis* possui acentuada importância para as áreas: médica, agrícola e farmacêutica. Os *Bacillus spp* são amplamente utilizados na produção de antibióticos, tais como: bacitracina por *B. licheniformis* ou *B. subtilis*, polimixina por *B. polymyxa* e gramicidina por *B. brevis*. Certas espécies de *Bacillus* são muito utilizadas como controle biológico em bioensaios<sup>41</sup>.

Os efeitos benéficos de esporos de *B. subtilis* sobre o equilíbrio da microflora intestinal, é a razão para a sua utilização como probiótico para tratamento ou prevenção de doenças intestinais<sup>42</sup>. Os dados sobre a importância geral de infecções devido a *B. subtilis* são não robustos, uma vez que é uma prática geral da maioria dos laboratórios microbiológicos descartar estas espécies ou relata como contaminantes. Há poucos relatos de infecções causadas por *B. subtilis* descritos na literatura, com apenas um estudo retrospectivo que descreve o isolamento de *B. subtilis* resistente aos antibióticos<sup>42</sup>.

A *Candida albicans* compõe a flora normal do trato gastrointestinal e regiões mucocutâneas, incluindo boca e vagina. Por ser um organismo que faz parte da microbiota humana, culturas de sangue positivas são frequentemente atribuídas à contaminação, o que pode levar a um atraso no diagnóstico de uma infecção por *Candida*<sup>43</sup>.

Há aproximadamente 1,5 milhões de espécies diferentes de fungos na Terra, mas apenas cerca de 300 destes causam doenças. Dentre os fungos de importância clínica, a *C. albicans* tem relevância por ser uma das principais causadoras de micoses invasivas. Além disso, ela pode causar também a candidíase oral, vaginal e até mesmo endoftalmite<sup>43,44</sup>.

O uso indiscriminado de antibióticos e antifúngicos que alteram a microbiota intestinal dos pacientes associado ao aumento expressivo do número de imunodeprimidos em decorrência da emergência da AIDS, são fatores que têm contribuído para o que número de infecções invasivas causadas por fungos, a exemplo de *C. albicans*, cresça significativamente. O cenário preocupante com a ocorrência do aumento do número de infecções causadas por cepas de microrganismo resistente impõe um quadro de atenção epidemiológica em países como os Estados Unidos<sup>27</sup>. Estima-se cerca de 46.000 infecções por *Candida* associados aos cuidados de saúde em pacientes hospitalizados a cada ano neste país<sup>43,45</sup>.

Muitas infecções sistêmicas causadas por *Candida* são refratárias aos medicamentos e apresentam alta taxa de mortalidade durante a internação. Uma estimativa do CDC indica que cada caso de infecção por *Candida* resulta em 3-13 dias de internação adicional, e um total de US \$ 6.000 \$ 29.000 em custos diretos em cuidados de saúde. Percebe-se, portanto que as infecções por cepas de *Candida* resistentes adicionam milhões de dólares aos custos com despesas de saúde a cada ano<sup>27</sup>.

A prospecção de produtos de origem natural tem importante papel no avanço e na descoberta de novas alternativas terapêuticas para tratar as doenças infecciosas, haja vista que um percentual elevado de todas as moléculas (aproximadamente 80%) utilizadas como medicamento antimicrobiano entre 1981 e 2002 tiveram origem natural<sup>46,47</sup>.

A grande diversidade estrutural encontrada na natureza e a pré-seleção evolutiva durante milhões de anos que permitiram o desenvolvimento de atividades biológicas pela interação dos organismos são os principais motivos para que tantos medicamentos tenham origem natural. Apesar de medicamentos, tais como os antibióticos terem salvado milhões de vidas, houve na última década, especialmente nas grandes indústrias farmacêuticas, diminuição ou até mesmo interrupção dos investimentos nas pesquisas de novos antibióticos de produtos naturais.

Entretanto, o fato das doenças infecciosas serem uma das principais causa de morte no mundo, evidencia que ainda é necessário investir na pesquisa de novos medicamentos oriundos de produtos naturais. A grande diversidade da flora brasileira e as recentes descobertas científicas viabilizadas devido aos recursos tecnológicos existentes deveriam incentivar novas pesquisas que identifiquem extratos, frações<sup>27</sup> componentes bioativos para serem utilizados terapêuticamente<sup>47,48,49</sup>.

### 3 BIOSPROPECÇÃO E O DESENVOLVIMENTO DE FÁRMACOS A PARTIR DE SUBSTÂNCIAS NATURAIS

O Brasil é um país que apresenta uma grande diversidade de espécies de seres vivos, o que favorece a bioprospecção de produtos naturais, definida como a busca racional e sustentável por organismos, genes, enzimas, compostos, processos e partes provenientes de seres vivos em geral, que apresentem um potencial econômico, podendo levar ao desenvolvimento de um produto que tem relevância ampla para vários setores e atividades, por exemplo, biotecnologia, agricultura, nutrição, indústria farmacêutica e de cosméticos, biorremediação, biomonitoramento, produção de combustível por meio de biomassa, dentre outros. Os seus alvos são coletivamente chamados de recursos genéticos. Este conjunto constitui o patrimônio genético nacional<sup>50,51,52,53</sup>.

O conhecimento das propriedades terapêuticas das espécies vegetais pelos povos primitivos e pelos indígenas pode ser considerado fator fundamental para a descoberta de substâncias tóxicas e medicamentosas que iriam ocorrer ao longo dos tempos <sup>48</sup>.

Um grande avanço na produção de fármacos de origem natural foi a descoberta da penicilina, por Alexander Fleming, em 1928, que possuía atividade superior à das sulfas, além disso, a constatação de que fungos produziam substâncias capazes de inibir o crescimento bacteriano motivou uma nova frente de pesquisas na busca de antibióticos, a exemplo da prospecção em culturas de microrganismos, especialmente fungos e actinobactérias<sup>7</sup>.

Entre as décadas de 40 e 60 houve um grande avanço nas pesquisas que culminaram com o incremento de produtos naturais de origem microbiana, em sua maioria, eficazes para o tratamento de bactérias Gram positivas:  $\beta$ -lactâmicos (cefalosporina), aminoglicosídeos (estreptomicina), tetraciclina (clortetraciclina), macrolídeos (eritromicina), peptídeos (vancomicina) e outros (cloranfenicol, rifamicina B, clindamicina e polimixina B). As décadas que se seguiram, entre os anos 60-80, foram marcadas pela descoberta dos agentes antibacterianos semissintéticos, sendo que grande parte destes tiveram como base os protótipos naturais microbianos, como derivados  $\beta$ -lactâmicos (análogos de penicilina e cefalosporina, ácido clavulânico,

aztreonam), análogos da tetraciclina, derivados aminoglicosídicos (gentamicina, tobramicina, ampicacina)<sup>7</sup>.

Se consideramos: (i) o papel que os produtos naturais tiveram na bioprospecção de antineoplásicos, (ii) que as doenças infecciosas perfazem como uma das maiores causas de mortalidade no mundo, (iii) as alternativas terapêuticas disponíveis que já não apresentam as respostas terapêuticas adequadas e, que, (iv) novos fármacos com ação antimicrobiana não têm sido aprovados pelas agências reguladoras mundiais, concluímos que a busca por novos agentes antimicrobianos é uma necessidade mundial<sup>49</sup>.

Soma-se a essas questões o tempo gasto desde o momento da descoberta, quer seja por síntese quer seja pelo isolamento de substâncias a partir do extrato de plantas, até a disponibilização no mercado de um novo medicamento, que é extenso, podendo durar décadas. Isto ocorre porque há uma série de etapas, que buscam garantir a eficácia e a segurança do princípio ativo que se deseja usar como agente no diagnóstico, no tratamento, na cura ou na prevenção de doenças humanas e de animais, que precisam ser cumpridas<sup>50</sup>.

Embasada no grande potencial que a biodiversidade apresenta como fonte para a descoberta de novos fármacos, juntamente, com um cenário de crescente número de microrganismos resistentes às alternativas terapêuticas, a bioprospecção surge como uma interessante alternativa na descoberta de substâncias bioativas.

A bioprospecção é um campo investigativo promissor do ponto de vista sociológico e muito propício às abordagens reconhecidas na literatura como *Actor-network-theory*. A natureza multidimensional, altamente complexa e que envolve um conjunto bastante novo de estruturas, processos e relações técnicas e sociais, levando em conta o conhecimento tradicional e o conhecimento científico, faz com que a bioprospecção seja parte importante das agendas de sociólogos, antropólogos, geógrafos, historiadores e economistas, dentre outros<sup>52</sup>.

A biodiversidade tornou-se parte de estudos e projeções da economia como um fator de crescimento e geração de novos modelos de sustentabilidade social, já que esta representa um potencial de recursos disponíveis com agregação de valor ao conhecimento científico<sup>53</sup>.

A biodiversidade brasileira é a maior do mundo com mais de 103.870 espécies de animais e 43.020 espécies de vegetais conhecidas no país<sup>54</sup>. Essa biodiversidade tem um potencial econômico ainda imensurável, se consideramos a sua capacidade de fornecer substratos para o desenvolvimento de novos fármacos<sup>55</sup>. Estes fatores fazem com que ela seja alvo de biopirataria<sup>1,55</sup>.

Embora o Brasil seja o país com a maior biodiversidade do planeta, países como os EUA apresentaram o maior número de publicações, o que sinaliza que os países com uma vasta biodiversidade, à exemplo do Brasil, precisam conhecer cientificamente melhor seu patrimônio natural. Para tanto, faz-se necessário a criação de um marco regulatório robusto que garanta tanto o manejo sustentável, quanto o impulsionamento das pesquisas, bem como a inibição do crescimento da pirataria no Brasil<sup>53,55</sup>.

Houve, nos últimos anos, um aumento significativo no número de famílias e espécies de plantas estudadas. Mas, considerando-se que existem mais de 300.000 espécies, percebe-se que ainda há muito por fazer. Esse cenário se agrava quando se avalia o caráter fragmentado da maioria dos estudos, que abordam apenas uma das partes da planta, como folha, raiz ou caule, ou somente um tipo de preparação como óleo essencial ou extrato<sup>55,56</sup>.

É preciso considerar que o “Brasil é formado por seis biomas de características distintas: Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica, Pampa e Pantanal”<sup>57</sup>. As características de cada um destes biomas são tão singulares que a prospecção realizada em apenas um deles não representa a biodiversidade do país<sup>58, 59</sup>.

### 3.1 Espécies Vegetais

- *Myracrodruon urundeuva* Allemão

Popularmente, a *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Figura 4), pertencente à família Anacardiaceae, é conhecida como aroeira, aroeira-do-sertão, urundeúva ou aroeira preta. Esta espécie possui os sinônimos: *Astronium juglandifolium* Griseb. e *Astronium urundeuva* Engl. e é caracterizada por ser decídua, heliófita e xerófita. Apresenta distribuição natural que se estende pelas Regiões Nordeste, Sudeste e Centro-Oeste do Brasil até algumas regiões da Bolívia, Paraguai e Argentina<sup>65</sup>.

A aroeira chega a atingir 30 m de altura, dependendo da região de sua ocorrência. Entre julho e setembro, costuma ocorrer a floração desta espécie, já a maturação dos frutos ocorre de setembro a outubro. A sua polinização é realizada por abelhas e a dispersão dos diásporos é anemocórica. Seus frutos são do tipo drupa globosa ou ovoide, com cálice persistente, considerado um fruto-semente. A semente é única (0,2 a 0,4 cm de diâmetro), globosa, desprovida de endosperma, com epicarpo castanho-escuro, mesocarpo castanho, carnoso, resinífero, com odor característico e tegumento membranáceo.



**Figura 4.** *Myracrodruon urundeuva* Allemão

Fonte: [http://www.cnip.org.br/banco\\_img/Aroeira/myracrodruonurundeuvaallemo6.html](http://www.cnip.org.br/banco_img/Aroeira/myracrodruonurundeuvaallemo6.html)

A entrecasca desta planta é amplamente utilizada por possuir propriedades farmacológicas, tais como: anti-inflamatórias, adstringentes, antialérgicas e cicatrizantes. No tratamento do reumatismo, a parte utilizada são as raízes e as folhas são indicadas para o tratamento de úlceras. Além disso, sua madeira, em função da durabilidade e dificuldade de putrefação, é comumente usada na construção civil como postes ou dormentes para cercas, na confecção de móveis de luxo e adornos torneados. No entanto, devido aos seus princípios alergênicos, a árvore não deve ser cultivada em locais de fácil acesso ao público<sup>65,66</sup>.

Em decorrência desses múltiplos usos, a aroeira vem sofrendo um processo de exploração intensa, de forma predatória, causando a devastação de suas populações naturais. Além disso, deve-se salientar que a exploração seletiva da aroeira para uso na indústria madeireira praticamente extinguiu os espécimes de grande porte, sendo, portanto, considerada ameaçada de extinção e categorizada como vulnerável<sup>66-68</sup>.

- *Genipa americana* L.

*Genipa americana* L. (Figura 5) é uma espécie da família Rubiaceae, que apresenta importância econômica<sup>69</sup>, sendo muito utilizada na produção de alimentos, com distribuição geográfica no Brasil que se estende desde a Guiana e Marajó até São Paulo e Mato Grosso. Fora do Brasil, sua distribuição também é vasta, estendendo-se do México às Antilhas.

É uma árvore que pode atingir 10 a 12m de altura com caule reto de 60 cm de diâmetro, com copa grande e arredondada de ramos numerosos e fortes, sempre glabros, de casca lisa, espessa, cinzento esverdeada e com manchas cinzas mais claras. Suas folhas são simples, opostas, pecioladas, de 20 a 42 cm de comprimento por 9 a 16 cm de largura, glabras em ambas as faces. Inflorescências em ráceros axilares ou terminais, com flores hermafroditas amarelo-ouro contendo 5 pétalas.

Os frutos, do tipo baga subglobosa, apresentam comprimento que variam entre 8 a 10 cm e diâmetro de 6 a 7 cm, casca mole, parda ou pardacento-amarelada, membranosa, fina e enrugada com polpa adocicada, contendo numerosas sementes compridas, cinzento-escuras<sup>69</sup>.



**Figura 5.** *Genipa americana* L.

**Fonte:** <https://sobasombradasarvores.wordpress.com/arvores-frutiferas-e-aromaticas/jenipapo-genipa-americana/>

Nas cascas e nos frutos verdes, encontra-se uma substância corante violeta ou azul-escuro, denominada genipina, que é solúvel em água e no álcool, que adquire

tonalidade preta em contato com ar, isolada pela 1ª vez em 1960. Foi durante muito tempo utilizada pelos índios para se pintarem de negro e, ainda hoje é empregada na marcação de peças de roupas, pintura de tecidos de palha e outros utensílios domésticos<sup>69,70</sup>.

- *Azadirachta indica*

*Azadirachta indica* (Figura 6), conhecida popularmente como Nim, é uma planta de áreas de clima tropical, subtropical e semiárido, pertencendo à família Meliaceae, sendo hoje conhecida pelo nome botânico *Azadirachta indica* A. Juss. O seu porte pode variar de 15 a 20 m de altura, com tronco semi-reto a reto, de 30 a 80 cm de diâmetro, relativamente curto e duro, com fissuras e escamas, de coloração marrom-avermelhada. O diâmetro da copa varia de 8 a 12 m, podendo atingir 15 m.



**Figura 6.** *Azadirachta indica* A. Juss

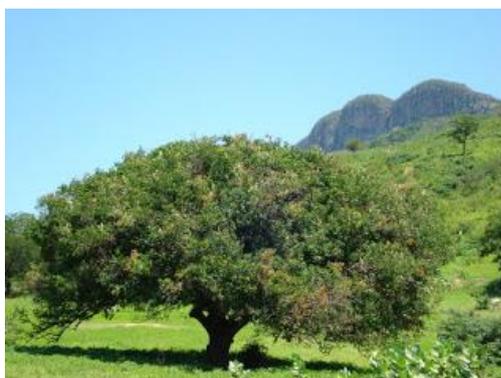
Fonte: [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Starr\\_0609280472\\_Azadirachta\\_indica.jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Starr_0609280472_Azadirachta_indica.jpg)

Esta espécie costuma apresentar flores pequenas, brancas, bissexuadas que brotam em feixes axiais, arranjando-se em inflorescências de cerca de 25 cm de comprimento; possuem um perfume semelhante ao mel e atraem muitas abelhas. Os frutos são lisos, glabros, elipsoides, com 1,5 cm x 2 cm de comprimento, de cor amarelada quando maduros, com uma polpa doce envolvendo as sementes, que são compostas por uma casca e um ou mais caroços. As sementes e as folhas são usualmente empregadas no controle de pragas.

Esta planta tem sido usada por séculos no Oriente como: planta medicinal (no tratamento de inflamações, infecções virais, hipertensão e febre), repelente, material para construção, combustível, lubrificante, adubo e mais recentemente como praguicida<sup>71</sup>.

- *Schinopsis brasiliensis*

A *Schinopsis brasiliensis* Engler (Figura 7), conhecida popularmente como braúna ou baraúna, é uma espécie típica da Caatinga, que pode chegar até 12 m de altura, com cerca de 60cm de diâmetro e presença de espinhos fortes, ocorrendo em quase todas as áreas deste bioma, da Bahia à Paraíba, com poucos espécimes do Rio Grande do Norte ao Piauí. É uma planta de grande valor econômico, por apresentar cerne duro, resistência a fungos xilófagos. O fruto da baraúna é uma sâmara com as camadas do pericarpo marcadamente diferenciadas: epicarpo membranoso, mesocarpo esponjoso e endocarpo lenhoso. O endocarpo envolve a semente e não se desprende facilmente, formando o que definiram como pirênio. Essa camada funciona como uma barreira, dificultando a germinação e, sob condições naturais, essa pode ser uma estratégia para que a espécie escape da seca<sup>72</sup>.



**Figura 7.** *Schinopsis brasiliensis*

Fonte: <https://belezadacaatinga.blogspot.com.br/2013/08/brauna-do-sertao-schinopsis-brasiliensis.html>

- *Copernicia cerifera*

A *Copernicia cerifera* (sinonímia *Copernicia prurifera*; Figura 8), que pertence à família da Arecaceae, é conhecida comumente como carnaúba. As folhas desta espécie acumulam uma cera que apresenta na sua composição ésteres, álcoois e ácidos graxos de massa molecular alta. Esta cera é utilizada na fabricação de cosméticos e produtos de limpeza, filmes plásticos e fotográficos. É usada ainda, na composição de revestimentos, impermeabilizantes, lubrificantes, vernizes, papel carbono, dentre outros, em virtude disto, apresenta grande importância econômica. A raiz da carnaúba é popularmente utilizada na forma de elixir, para o tratamento de sífilis e afecções cutâneas<sup>73</sup>.



**Figura 8.** *Copernicia Cerifera*

Fonte: <https://www.truthinaging.com/ingredients/copernicia-cerifera-wax>

- *Celtis iguanaea*

*Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent, da família Cannabaceae (Figura 9) é popularmente conhecida como esporão-de-galo. O gênero *Celtis* possui aproximadamente 70 espécies com distribuição na região temperada do Cerrado. Esta espécie apresenta como suas principais características a presença de espinhos, altura elevada, coroa arredondada e ramos aderindo verticalmente dando uma forma piramidal para o dossel. Tem um tronco ereto e cilíndrico de 15-30 cm de diâmetro. Estudos etnofarmacológicos mostraram o uso de suas folhas na forma de infusão para o tratamento da asma e distúrbios digestivos. Flavonóides, cumarinas e mucilagem foram identificados em análise fitoquímica das folhas e caule<sup>74</sup>.



**Figura 9.** *Celtis iguanaea*

Fonte: [http://www.ufrgs.br/fitoecologia/florars/open\\_sp.php?img=8846](http://www.ufrgs.br/fitoecologia/florars/open_sp.php?img=8846)

- *Canavalia brasiliensis*

A *Canavalia brasiliensis* da família Legumisoae (Fabaceae) é popularmente conhecida como feijão bravo do Ceará (Figura 10). Esta se caracteriza por ser uma leguminosa herbácea frágil, perene e prostrada com folhas trifolioladas, folíolos ovados com ápice agudo, 12-15 cm de comprimento e 8-10 cm de largura, quase glabros. As inflorescências são racemos axilares, 20-26 cm de comprimento, com flores roxas de 2-2.5 cm de comprimento. As suas sementes são castanho claro a castanho com aprox. 11 mm de comprimento e 8 mm de largura, com um hilo preto, 6 mm de comprimento<sup>75</sup>.

O fato desta espécie do Novo Mundo ser muito tolerante a seca contribui com a sua ampla distribuição geográfica, no Cerrado brasileiro, por exemplo, pode ser cultivada com sucesso como adubo verde durante a estação seca. Sobrevive ao período seco de 5 meses (maio-setembro) mesmo em anos muito secos e é muito produtivo sob condições mais favoráveis. *C. brasiliensis* cresce bem em uma ampla gama de solos, desde muito ácido (pH 4,3) até alcalino (pH 8,0) e está adaptado a condições de baixa fertilidade<sup>75</sup>.



**Figura 10.** *Canavalia brasiliensis*

**Fonte:** [http://chalk.richmond.edu/flora-kaxil-kiuic/c/canavalia\\_brasiliensis.html](http://chalk.richmond.edu/flora-kaxil-kiuic/c/canavalia_brasiliensis.html)

- *Cassia excelsa* (Schrad)

A *Cassia excelsa* Schrad. (Figura 11), conhecida popularmente como Cássia do Nordeste, São Oão e pau de velha, é uma espécie arbórea do cerrado e da caatinga do Nordeste brasileiro, utilizada no paisagismo. Também é empregada na arborização urbana no Sudeste brasileiro, e pode ser indicada para plantios associados a outras espécies, destinadas à recomposição de áreas degradadas. Porém, suas sementes apresentam baixa taxa de germinação devido à restrição imposta pelo tegumento impermeável, o que restringe seu uso direto ou sob condições adversas, sem a utilização de tratamento pré-germinativos<sup>76</sup>. Esta espécie tem porte entre 5 a 10m, com tronco 30-40 cm de diâmetro, revestido por casca fina e lisa. O seu fruto é um legume alongado não comestível, cilíndrico, indeiscente, negro, com sementes amareladas. As folhas são ovaladas com base arredondada e ápice agudo, glabros, de 2-4 cm de comprimento.

- *Anadenanthera colubrina*

*Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan (Figura 12), conhecida no Nordeste do Brasil como angico, é amplamente utilizada em construções rurais, como fonte de energia, bem como em medicamentos populares. Esta espécie pertencente à família *Mimosaceae* é amplamente distribuída na caatinga. A árvore cresce entre 5 e 20 metros de altura e o tronco tem um grande número de espinhos visíveis. Na medicina tradicional, é usada para tratar problemas respiratórios e inflamações<sup>77</sup>.



**Figura 11.** *Cassia excelsa*

**Fonte:** <http://www.elsalvador.com/articulo/comunidades/proteja-ambiente-con-flores-follaje-88026>

Esta espécie que é da família Leguminosae e subfamília Mimosoideae, é uma planta arbórea com altura que pode variar 12-15 m e tronco de 30-50 cm de diâmetro. No Nordeste, esta árvore é muito comum, sendo bastante conhecida pelo teor de tanino de sua casca (32%). Em virtude disso, é amplamente utilizada na indústria de curtume dos Estados nordestinos. Sua madeira é útil para construção civil, obras hidráulicas, confecção de dormentes, tabuado, podendo ainda ser aproveitada para arborização de parques e praças e para plantio em florestas mistas destinadas à recomposição de áreas degradadas de preservação.



**Figura 12.** *Anadenanthera colubrina*

**Fonte:** <http://arvores.brasil.nom.br/new/angicobranco/index.htm>

- *Bromelia laciniosa*

Popularmente, a *Bromelia laciniosa* (Figura 13) é conhecida como macambira, uma planta da família das Bromeliaceas, do gênero *Bromelia*, encontrada nas áreas secas do Nordeste, desde a Bahia até o Piauí, apresentando raízes finas, caule de forma cilíndrica e folhas (constituídas de duas partes distintas: base dilatada e limbo) distribuídas em torno do caule.

O tamanho da planta é variado e o seu fruto é uma baga de três a cinco centímetros de comprimento e diâmetro variando de 10 a 20 milímetros. Ao amadurecer, as bagas tornam-se amarelas, lembrando um cacho de pequenas bananas. A macambira cresce debaixo de outras árvores ou nas clareiras.

Aproveitada na alimentação dos animais ou até mesmo do homem durante os longos períodos de seca. Da base das folhas é extraída uma massa, da qual se fabrica um tipo de pão.

*B. laciniosa* apresenta folhas dispostas na forma de roseta, onde se acumula água; tem raiz tipo fasciculada e, por conta dessa característica pode ser utilizada no combate a erosão<sup>78</sup>.



**Figura 13. *Bromelia laciniosa***

**Fonte:** <https://belezadacaatinga.blogspot.com.br/2011/03/macambira-bromelia-laciniosa.html>

#### 4 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE ESPÉCIES VEGETAIS E DOS SEUS METABÓLITOS SECUNDÁRIOS

Neste trabalho foram estudadas algumas espécies coletadas na Caatinga, por este ser um bioma exclusivamente brasileiro e porque em um estudo etnobotânico conduzido por MACEDO ET AL., (2014), se detectou a ocorrência de 116 espécies com fins medicinais nesta localidade. Ademais, estudo tratando especificamente sobre o uso medicinal de espécies nativas ocorrentes nesta região são escassos<sup>61</sup>. Outro fato importante que motivou esta pesquisa é que plantas medicinais deste espaço geográfico são amplamente utilizadas na medicina popular pelas comunidades locais e pouco se sabe sobre uso destes recursos naturais, seus efeitos terapêuticos e seus princípios ativos<sup>62</sup>.

O uso de plantas medicinais tem um papel importante para a saúde pública, haja vista que para algumas comunidades, esta, ainda, é a única alternativa terapêutica disponível, apesar de todos os grandes avanços na área de saúde. Tudo isso fez com que o conhecimento popular das várias espécies brasileiras fosse se aprofundado. Só nos últimos anos, o interesse científico, frente a tantas evidências do conhecimento popular começou a crescer<sup>62, 63</sup>.

O levantamento bibliográfico das espécies descritas acima (Quadro 3) revelou que as espécies *Schinopsis brasiliensis*, *Anandenathera colubrina*, *Myracrodruon urundueva* e *Celtis iguanea*, apresentaram atividade antimicrobianas. Este levantamento demonstra ainda que é incipiente a avaliação antimicrobiana destas espécies e, além disso, muito dos testes conduzidos foram qualitativos<sup>66, 67</sup>.

A *M. urundueva*, por exemplo, tem sido descrita como uma espécie que apresenta propriedades curativas contra inflamação, úlceras, lesões da pele, tosse dentre outros. Extratos hidroalcoólicos da casca desta planta demonstram atividade antimicrobiana contra vários microrganismos patogênicos importantes, a exemplo, *P. aeruginosa* e *S. aureus* dentre outros<sup>67-69</sup>.

*A. colubrina*, encontrada particularmente no nordeste brasileiro, é uma espécie botânica nativa da Caatinga que apresenta considerável potencial terapêutico reconhecido. Apesar dos questionamentos de ordem científica sobre a sua utilização,

mecanismo de ação, posologia e indicações de tratamento. Esta planta é amplamente utilizada na medicina tradicional pelos nativos da região no tratamento da tosse, da congestão nasal, na expectoração e em infecções em geral, tratando-se de uma planta promissora, explorada do ponto de vista etnobotânico e econômico, mas ainda pouco explorada farmacologicamente<sup>67, 70</sup>.

A presença de taninos nesta espécie tem sido muito associada à atividade antimicrobiana observada<sup>71</sup>. Constatou-se que os extratos hidroalcoólicos de diferentes partes de *A. colubrina* tem atividade contra determinados patógenos, a exemplo do *P. aeruginosa*, *B. subtilis* e *M. luteus*<sup>72,73</sup>.

A *S. brasiliensis* Engl, conhecida popularmente com braúna, tem sido usada como tratamento para tosse, gripe, diarreia, fraturas e impotência sexual. Esta espécie demonstrou um grande potencial como agente antibacteriano contra vários patógenos, tais como *P. aeruginosa*, *S. aureus*, dentre outros<sup>75-76</sup>.

Os bioensaios realizados com extratos hidroalcoólicos de *B. laciniosa* atestam que eles possuem ação contra o *E. coli*, *P. aeruginosa*, dentre outros. Embora a atividade inibitória das plantas testadas sugira a presença de substâncias ativas contra microrganismos, estudos farmacológicos devem ser empreendidos a fim de identificá-las<sup>76</sup>.

A *C. iguanaea*, conhecida popularmente como esporão de galo, tem sido vastamente estudada quanto a sua atividade antiulcerativa e fitotóxica<sup>86-91</sup> devido ao amplo uso na medicina popular no tratamento de dispepsia, dores no corpo, reumatismo, dores no peito, asma, cólicas e como diurético<sup>81</sup>. No entanto, há poucos trabalhos científicos que avaliam a atividade antimicrobiana desta espécie. Os extratos das folhas e dos caules mostraram atividade contra a *Flavobacterium columnare*<sup>82</sup>. A presença de cumarinas e flavonoides foram constatadas em estudos fitoquímicos.

As cumarinas são conhecidas por apresentarem ação anti-inflamatória, anticoagulante, antimicrobiana, vasodilatadora, anti-helmíntica, sedativa, hipnótica, analgésica, hipotérmica e antitumoral. Enquanto que os flavonoides têm ação anti-inflamatória, analgésica, antialérgica, hepatoprotetora, antimicrobiana, antiviral e anticarcinogênica. A presença dessas substâncias justifica um aprofundamento nos estudos desta espécie<sup>78</sup>.

O levantamento bibliográfico realizado mostra a grande relevância que as diferentes espécies da Caatinga têm para a bioprospecção de agentes antibacterianos, considerando que muitas delas apresentaram ação contra certos microrganismos. Cabe ainda destacar que o perfil de resposta pode variar de acordo com a parte da planta estudada, o que significa que a resposta terapêutica pode divergir, aumentando assim o espectro terapêutico.

**Quadro 2:** Atividade Antimicrobiana de Plantas da Caatinga.

Espécie	Parte Extrato	Microorganismo <sup>1</sup>	Atividade Antimicrobiana	Método	Padrão Controle	Autor/Ano
<i>Schinopsis brasiliensis</i> (Braúna)	Casca Etanol	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	MIC=0,004µL.µL <sup>-1</sup>	Microdiluição em caldo	Clorexidina nistatina	Silva et al., 2012 <sup>75</sup>
		<i>Enterococcus faecalis</i>	MIC=1.000 µL.µL <sup>-1</sup>			
		<i>Staphylococcus aureus</i>	MIC=0,063 µL.µL <sup>-1</sup>			
		<i>Streptococcus oralis</i>	MIC=0,500 µL.µL <sup>-1</sup>			
<i>Schinopsis brasiliensis</i> (Braúna)	Folhas, Casca Álcool	--	--	Difusão em ágar	--	Formiga et al., 2015 <sup>76</sup>
<i>Anadenathera colubrina</i> (Angico)	Casca	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	MIC=2500 µg.mL <sup>-1</sup>	Microdiluição	Água gentamicina	Trentin et al., 2013 <sup>67</sup>
<i>Myracrodruon urundeuva</i> (Aroeira, Aroeira do sertão)	Casca	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	MIC=4000 µg.mL <sup>-1</sup>	Microdiluição	Água gentamicina	Trentin et al., 2013 <sup>67</sup>
<i>Celtis iguanea</i>	Casca Metanol	<i>Flavobacterium columnare</i>	MIC=187.5 µg.mL <sup>-1</sup>	Difusão em ágar Microdiluição	Florfenico DMSO	Castro et al., 2008 <sup>77</sup>
<i>Celtis iguanea</i>	Folhas Metanol	--	--	Difusão em ágar		Castro et al., 2008 <sup>77</sup>
<i>Bromelia laciniosa</i> (macambira de porco)	Etanol	<i>Escherichia coli</i>	MBC=125 µg.mL <sup>-1</sup>	Microdiluição		Sá et al., 2011 <sup>78</sup>
		<i>Enterococcus faecalis</i>	MBC=187,5 µg.mL <sup>-1</sup>			
		<i>Klebsiela spp</i>	MBC=187,5 µg.mL <sup>-1</sup>			
		<i>Salmonela spp</i>	MBC=250 µg.mL <sup>-1</sup>			

		<i>Staphylococcus aureus</i>	MBC=145,8 µg.mL <sup>-1</sup>			
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	MBC=187,5 µg.mL <sup>-1</sup>			
		<i>Rhodococcus equi</i>	MBC=187,5 µg.mL <sup>-1</sup>			
		<i>Listeria spp</i>	MBC=166,7 µg.mL <sup>-1</sup>			
		<i>Corynebacterium spp</i>	MBC=52.08 µg.mL <sup>-1</sup>			
		<i>Aeromonas spp.</i>	MBC=500 µg.mL <sup>-1</sup>			
		<i>Yersinia enterocolitica</i>	MBC=145,8 µg.mL <sup>-1</sup>			
		<i>S. epidermidis</i>	MBC=104,2 µg.mL <sup>-1</sup>			
		<i>S. intermedius</i>	MBC=62,5 µg.mL <sup>-1</sup>			
		<i>Streptococcus aereus</i>	MBC=250 µg.mL <sup>-1</sup>			
		<i>Streptococcus sanguis</i>	MBC=83.33 µg.mL <sup>-1</sup>			
		<i>Nocardia spp</i>	MBC=291,7 µg.mL <sup>-1</sup>			
		<i>Vibrio spp.</i>	MBC=72,92 µg.mL <sup>-1</sup>			
		<i>Micrococcus spp.</i>	MBC=104.2 µg.mL <sup>-1</sup>			
<i>Staphylococcus coprie</i>	MBC=208,3 µg.mL <sup>-1</sup>					
<i>Edwadiasiella spp</i>	MBC=104,2 µg.mL <sup>-1</sup>					
<i>Bromelia laciniosa</i> (macambira de porco)	Etanol Água	<i>Klebsiela spp</i>	MBC=6.250 µg.mL <sup>-1</sup>	Microdiluição		Silva et al., 2014 <sup>80</sup>
		<i>Acinobacter spp.</i>	MBC=8.333 µg.mL <sup>-1</sup>			
	Etanol Água	<i>Escherichia coli</i>	MBC=1.302,1 µg.mL <sup>-1</sup>			

		<i>Klebsiela spp</i>	MBC=1.041,7 µg.mL <sup>-1</sup>			
		<i>Enterobacter spp</i>	MBC=781.3 µg.mL <sup>-1</sup>			
		<i>Acinobacter spp.</i>	MBC=1.563 µg.mL <sup>-1</sup>			
<i>Bromelia laciniosa</i> (macambira de porco)	Etanol	<i>Escherichia coli</i>	MBC=500 µg.mL <sup>-1</sup>	Microdiluição		Cavalcante et al., 2008 <sup>81</sup>
		<i>Enterococcus faecalis</i>	MBC=500 µg.mL <sup>-1</sup>			
		<i>Klebsiela spp</i>	MBC=500 µg.mL <sup>-1</sup>			
		<i>Staphylococcus spp</i>	MBC=1000 µg.mL <sup>-1</sup>			
		<i>Staphylococcus aureus</i>	MBC=583,33 µg.mL <sup>-1</sup>			
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	MBC=500 µg.mL <sup>-1</sup>			
		<i>Corynebacterium spp</i>	MBC=208,33 µg.mL <sup>-1</sup>			
		<i>Rhodococcus equi</i>	MBC=500 µg.mL <sup>-1</sup>			
		<i>Listeria spp</i>	MBC=666,66 µg.mL <sup>-1</sup>			
		<i>Acinobacter Spp</i>	MBC=666,66 µg.mL <sup>-1</sup>			
		<i>Yersinia enterocolitica</i>	MBC=583,33 µg.mL <sup>-1</sup>			
		<i>S. epidermidis</i>	MBC=416,66 µg.mL <sup>-1</sup>			
		<i>S. intermedius</i>	MBC=259 µg.mL <sup>-1</sup>			
		<i>Streptococcus aereus</i>	MBC=1000 µg.mL <sup>-1</sup>			
		<i>Streptococcus suis</i>	MBC=333,33 µg.mL <sup>-1</sup>			
		<i>Nocardia spp</i>	MBC=1166,66 µg.mL <sup>-1</sup>			
<i>Vibrio spp.</i>	MBC=291,66 µg.mL <sup>-1</sup>					

<i>Anadenathera colubrina</i>	Casca/álcool	<i>Candida albicans</i>	MIC=31,25 µg.mL <sup>-1</sup> MBC=1000 µg.mL <sup>-1</sup>	Microdiluição	Clorexedina nistatina álcool	Lima et al., 2014 <sup>82</sup>
		<i>Streptococcus mutans</i>	MIC=2000 µg.mL <sup>-1</sup> MBC>2000 µg.mL <sup>-1</sup>			
		<i>Streptococcus.suis</i>	MIC=2000 µg.mL <sup>-1</sup> MBC>2000 µg.mL <sup>-1</sup>			
		<i>Enterococcus faecalis</i>	MIC=2000 µg.mL <sup>-1</sup> MBC>2000 µg.mL <sup>-1</sup>			
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	MIC=500 µg.mL <sup>-1</sup> MBC=1000 µg.mL <sup>-1</sup>			
<i>Anadenathera colubrina</i> (fração etil acetato)	Fração etil acetato	<i>Candida albicans</i>	MIC=31.25 µg.mL <sup>-1</sup> MBC=2000 µg.mL <sup>-1</sup>	Microdiluição		Lima et al., 2014 <sup>82</sup>
<i>Anadenathera colubrina</i> (fração hexano)	Fração hexano		MIC=62,5 µg.mL <sup>-1</sup> MBC=2000 µg.mL <sup>-1</sup>			Lima et al., 2014 <sup>82</sup>
<i>Anadenathera colubrina</i> (fração clorofórmio)	Fração clorofórmio		MIC=125 µg.mL <sup>-1</sup> MBC=2000 µg.mL <sup>-1</sup>			Lima et al., 2014 <sup>82</sup>
<i>Anadenathera colubrina</i> (fração aquosa)	Fração aquosa		MIC=10000 µg.mL <sup>-1</sup> MBC=2000 µg/mL			Lima et al., 2014 <sup>82</sup>
<i>Myracrodrun urundeuva</i>	Casca/metanol	<i>Staphylococcus aureus</i>	MIC=390 µg.mL <sup>-1</sup>	Microdiluição/ difusão em disco	Cloranfenicol, tetraciclina e nistatina	Jandu et al., 2013 <sup>68</sup>
		<i>Bacillus subtilis</i>	MIC= 780 µg.mL <sup>-1</sup>			
		<i>Micrococcus luteus</i>	MIC=390 µg.mL <sup>-1</sup>			
		<i>Enterococcus faecalis</i>	MIC=780 µg.mL <sup>-1</sup>			
		<i>Escherichia coli</i>	MIC=1560 µg.mL <sup>-1</sup>			
		<i>Klebsiella peunomoniae</i>	MIC=3130 µg.mL <sup>-1</sup>			
		<i>Candida albicans</i>	MIC=1560 µg.mL <sup>-1</sup>			
<i>Aeromonas hidrophila</i>	MIC=780 µg.mL <sup>-1</sup>					
<i>Myracrodrun urundeuva</i>	Folhas/hidroalco olico	<i>Staphylococcus aureus</i>	--	Difusão em ágar	lodo e água	Pinho et al., 2012 <sup>83</sup>

<i>Anadenanthera colubrina</i> (fração aquosa)	Frutos	--	--	Difusão em ágar	DMSO, Tetraciclina, vancomicina e penicilina	Silva et al., 2006 <sup>84</sup>
<i>Anadenanthera colubrina</i> (fração etanólica)	Frutos	--	--	Difusão em ágar	DMSO, tetraciclina vancomicina e penicilina	Silva et al., 2006 <sup>84</sup>
<i>Anadenanthera colubrina</i> (fração hidroalcolica)	Frutos	--	--			
<i>Anadenanthera colubrina</i> (fração aquosa)	Folhas	--	--	Difusão em ágar/ microdiluição	DMSO, tetraciclina vancomicina e penicilina	Silva et al., 2006 <sup>84</sup>
<i>Anadenanthera colubrina</i> (fração Etanólica)	Folhas	<i>Micrococcus luteus</i>	MIC=1560 µg.mL <sup>-1</sup> MBC=6250 µg.mL <sup>-1</sup>	Difusão em ágar/Microdiluição	DMSO, tetraciclina vancomicina e penicilina	Silva et al., 2006 <sup>84</sup>
<i>Anadenanthera colubrina</i> (fração hexano)	Folhas	<i>Bacillus subtilis</i>	MIC=6250 µg.mL <sup>-1</sup> MBC=1250 µg.mL <sup>-1</sup>	Difusão em ágar/microdiluição	DMSO, tetraciclina vancomicina e penicilina	Silva et al., 2006 <sup>84</sup>
		<i>Staphylococcus aureus</i>	MIC=780 µg.mL <sup>-1</sup> MBC=1250 µg.mL <sup>-1</sup>			
<i>Myracrodruon urundueva</i> (fração hexano)	Casca	<i>Staphylococcus aureus</i>	MIC=1560 µg.mL <sup>-1</sup> MBC=6250 µg.mL <sup>-1</sup>	Difusão em ágar/Microdiluição	DMSO, tetraciclina vancomicina e penicilina	Silva et al., 2006 <sup>84</sup>
<i>Schinopsis brasilienses</i>		--	--	Difusão em ágar	Etanol	Chaves et al., 2011 <sup>85</sup>

<i>Myracrodruon urundeuva</i>	Semente/etanol	<i>Salmonella choleraesius</i> <i>Bacillus subtilis</i>	MIC=6780 µg.mL <sup>-1</sup>	Microdiluição		Farias et al., 2013 <sup>86</sup>
<i>Schinopsis brasiliens</i>	Semente/etanol	--	--			Farias et al., 2013 <sup>86</sup>

## 5 OBJETIVO GERAL

Realizar a triagem fitoquímica e avaliar as atividades antibacterianas e antifúngicas de extratos hidroalcoólicos e etanólicos de espécies vegetais do bioma Caatinga.

### 5.1 Objetivos Específicos

- (i) Determinar as concentrações inibitórias mínimas (CIM) e as concentrações bactericidas mínimas (CBM) de extratos hidroalcoólicos e etanólicos de partes diversas de plantas da caatinga sob as bactérias *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Streptococcus mutans*, *Salmonella choleraesuis* e *Escherichia coli* e o fungo *Candida albicans*;
- (ii) Caracterizar qualitativamente as principais classes de substâncias naturais presentes nos extratos avaliados biologicamente por cromatografia de camada delgada comparativa (CCDC);
- (iii) Correlacionar a triagem fitoquímica com a avaliação biológica dos extratos testados.

## 6 MATERIAL E MÉTODOS

### 6.1 Coleta e identificação das espécies vegetais

As espécies selecionadas para o estudo foram *Canavalia brasiliensis* Mart. (22965), *Cassia excelsa* Schrader (22966), *Genipa americana* L. (22970), *Copernicia cerifera* Mart. (22962), *Celtis iguanaea* Sarg. (22964), *Azadirachta indica* (22969), *Myracrodruon urundeuva* Allemão (22960), *Anadenanthera colubrina* Vell. (22968), *Bromelia laciniosa* Mart. (22963) e *Schinopsis brasiliensis* Engl (22961). Estas plantas foram coletadas nas imediações do Departamento de Tecnologias e Ciências Sociais (DTCS), da Universidade do Estado da Bahia (UNEB), no município de Juazeiro, Bahia, em 30 de agosto de 2011 e foram identificadas pela botânica Dra. Hortênsia Pousada Batista. As exsicatas foram depositadas no Herbário da Universidade do Estado da Bahia – HUNEB (Quadro 3).

**Quadro 3** – Número de Registro no HUNEB.

Espécie	Nº de Registro no herbário
<i>Anadenanthera colubrina</i>	22968
<i>Azadeirta indica</i>	22969
<i>Bromelia laciniosa</i> Mart.	22963
<i>Canavalia brasiliensis</i> Mart. ex Benth.	22965
<i>Cassia excelsa</i> Schrader	22966
<i>Celtis iguanaea</i> (Jacq.) Sarg.	22964
<i>Copernicia cerifera</i> Mart.	22962
<i>Genipa americana</i> L.	22970
<i>Myracrodruon urundeuva</i> Allemão	22960
<i>Schinopsis brasiliensis</i> Eng.	22961

### 6.2 Ensaios Antibacterianos e Antifúngicos

Os extratos, em etanol ou metanol, de diferentes partes de plantas (Quadro 4) foram obtidos por extração a frio. Para tanto, as partes das plantas coletadas, mais especificamente as folhas e os caules, foram secas ao ar. Partes dos vegetais secos

e moídos foram submetidas à extração com solvente alcoólico (etanol ou metanol). A extração foi a frio, com etanol ou metanol no período de 72 horas (três vezes), seguida de filtração. As soluções alcoólicas obtidas foram submetidas à destilação à pressão reduzida, para obtenção dos respectivos extratos.

**Quadro 4** – Plantas estudadas classificadas de acordo com a família e a espécie, com as respectivas partes.

Família	Parte estudada	Extrato	Espécie
Anacardiaceae	Folha	Etanol	<i>Myracrodruon urundeuva</i> Allemão
Anacardiaceae	Caule	Metanol	<i>Myracrodruon urundeuva</i> Allemão
Anacardiaceae	Folha	Metanol	<i>Schinopsis brasiliensis</i> Eng.
Anacardiaceae	Caule	Etanol	<i>Schinopsis brasiliensis</i> Eng.
Arecaceae	Caule	Etanol	<i>Copernicia cerifera</i> Mart.
Arecaceae	Folha	Metanol	<i>Copernicia cerifera</i> Mart.
Cannabaceae	Caule	Metanol	<i>Celtis Iguanaea</i> (Jacq.) Sarg.
Cannabaceae	Folha	Etanol	<i>Celtis Iguanaea</i> (Jacq.) Sarg.
Fabaceae	Caule	Metanol	<i>Canavalia brasiliensis</i> Mart. ex Benth.
Fabaceae	Folha	Metanol	<i>Cassia excelsa</i> Schrader
Fabaceae	Caule	Metanol	<i>Cassia excelsa</i> Schrader
Fabaceae	Folha	Metanol	<i>Anadenanthera colubrina</i> (Vell.) Brenan
Fabaceae	Caule	Etanol	<i>Anadenanthera colubrina</i> (Vell.) Brenan
Meliciaceae	Caule	Metanol	<i>Azadirachta indica</i> A. Juss.
Rubiaceae	Caule	Etanol	<i>Genipa americana</i> L.
Rubiaceae	Folha	Etanol	<i>Genipa americana</i> L.
Bromeliaceae	Partes aéreas	Metanol	<i>Bromellia laciniosa</i> Mart. ex Schult. f.

### 6.3 Microrganismos

Os microrganismos utilizados foram (Quadro 5) bactérias Gram-positivos: *Bacillus subtilis* ATCC6633, *Staphylococcus aureus* (ATCC6638), *Micrococcus luteus* (ATCC10240) e Gram-negativos: *Salmonella choleraesuis* (ATCC14028), *Escherichia coli* (ATCC94863) e fungo *Candida albicans* (ATCC18804).

### Quadro 5 – Microrganismos utilizados

Gram-positiva		Gram-negativas		Fungos	
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC6633	<i>Salmonella choleraesuis</i>	ATCC14028)	<i>Candidas albicans</i>	ATCC18804
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC6638	<i>Escherichia coli</i>	ATCC94863		
<i>Micrococcus luteus</i>	ATCC10240	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATC27853		

## 6.4 Avaliação da atividade antimicrobiana

### 6.4.1 Ensaio de Microdiluição em Caldo

O ensaio de microdiluição em caldo para determinação da concentração inibitória mínima (CIM), que é a menor concentração na qual há inibição do crescimento, foi conduzido segundo as normas do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), com modificações<sup>83</sup>. Foram colocados 100 µL do meio de cultivo em todos os poços de uma placa de 96 poços: Caldo Nutriente (Himedia®), para bactéria e caldo de levedura e malte (Himedia®), para *C. albicans*. Em seguida, foram adicionados na primeira fileira 100 µL da solução estoque dos extratos etanólicos de diferentes partes das plantas (2000 µg.mL<sup>-1</sup>). Ainda nesta fileira, foram colocados 100 µL de penicilina (20 µg.mL<sup>-1</sup>), ou cloranfenicol (1mg.100µL<sup>-1</sup>) ou gentamicina (200 mg.mL<sup>-1</sup>) ou do diluente (Dimetilsulfóxido, 5% v/v), nos poços subsequentes.

Em seguida, foram feitas diluições seriadas nas quais 100 µL da solução de 1000 µg.mL<sup>-1</sup> contida na fileira A da placa de 96 poços, transferido para a fileira B, utilizando uma pipeta multicanal de 12 ponteiros. Após homogeneização por duas vezes, e assim sucessivamente, até chegar a fileira H, sendo que a última alíquota de 100 µL foi desprezada.

A suspensão do inóculo foi de 1,5x10<sup>8</sup> bactérias/mL<sup>-1</sup> (MacFarland 0,5). Foram adicionados em todos os poços 100 µL desta suspensão. As placas de 96 poços inoculadas com as bactérias foram colocadas numa incubadora por 24 horas à 36°C quando se tratava de bactérias; e no caso de fungos por 72 horas à 26°C.

Os resultados foram observados visualmente através da presença de turbidez. Os poços que os extratos apresentavam atividade passavam de turvos para límpidos.

#### 6.4.2 Determinação da concentração bactericida mínima

Após a incubação das microplacas foram realizadas as determinações da CBM. Com auxílio de hastes de madeira estéreis, a mistura de cada poço da microplaca foi replicada em placa ágar Müller-Hinton para bactérias e ágar Sabouraud para o fungo. As placas foram incubadas a 37°C por 24h para as bactérias e a 26°C por 72h sob condição de para o fungo.

### 6.5 Triagem Fitoquímica

A triagem fitoquímica foi desenvolvida pela a aluna Luiza Macedo sob a orientação da Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Lourdes Souza Neta na UNEB. A identificação qualitativa das substâncias naturais das classes dos alcaloides, terpenos e esteroides foi realizada por cromatografia de camada delgada comparativa (CCDC), conforme descritos por Matos e Wagner<sup>84</sup>.

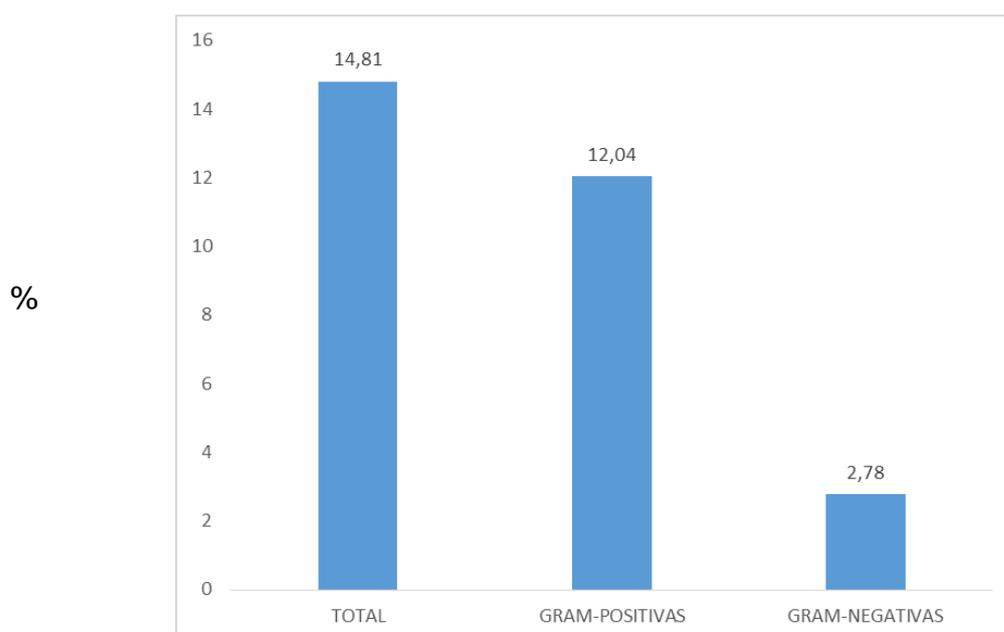
A presença de taninos foi realizada segundo a metodologia de Matos (1997), na qual foram transferidos 2mL do extrato bruto (1mg mL<sup>-1</sup>) previamente solubilizados em metanol para tubo de ensaio, adicionou-se três gotas de cloreto férrico a 2%. O aparecimento da cor verde evidencia positividade para taninos não hidrolisáveis, e a cor azul-violeta para hidrolisáveis.

Para verificar a existência de alcaloides, seguiu-se a metodologia de Matos (1997), na qual foi aplicado o extrato solubilizado em metanolna placa de CCD (cromato folha em alumínio) e elui-se em propanol:amônia (8,5:1,5) ou hexano:tolueno:dietilamina (7,5:1,5:1). Após esse processo, a placa foi revelada por borrifação com o reagente de Dragendorff. A presença de alcaloides se confirmou pelo aparecimento da coloração alaranjada.

A identificação da presença de triterpenos e esteroides se deu pela metodologia de Wagner (1984), onde o extrato solubilizado foi aplicado em placa de TLC e elui-se com hexano:acetato (7:3), borrifando depois com reagente Liebermann (1mL ácido sulfúrico concentrado, 20mL anidrido acético, 50mL clorofórmio). A presença de triterpenos se deu pelo aparecimento da coloração verde e a de esteroides pela coloração acastanhada.

## 7 RESULTADOS

Os extratos dos caules, das folhas e partes aéreas de dez espécies coletadas na Caatinga foram avaliados quanto as atividades antimicrobiana e antifúngica, através de microdiluição em caldo para a determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) (Tabelas 1 e 2). Observou-se que dos extratos das folhas, das partes aéreas e dos caules das espécies testados, 14.81% apresentaram atividade antimicrobiana (Figura 14), não havendo diferença entre os percentuais de atividade e os extratos das folhas e dos caules. Os testes apresentaram maior atividade contra microrganismos Gram-positivos (12.04%) do que contra os Gram-negativos (2.78%). Nenhum extrato apresentou atividade contra a *Candida albicans*.



**Figura 14.** Porcentagem das espécies testadas que apresentaram atividade antimicrobiana.

Apesar dos extratos terem apresentado maior atividade sobre organismos Gram-positivos, um importante patógeno Gram-negativo, *Salmonella choleraesuis*, se mostrou sensível ao extrato alcoólico da folha da *C. férrea* e do caule da folha da *S. brasiliensis*. Em geral, os extratos dos caules das plantas apresentaram atividade superior aos extratos das folhas. Os extratos dos caules e das folhas apresentaram

atividade contra *S. aureus*, *M. luteus*, *S. choleraesuis* e *B. subtilis*, sendo que este último foi o microrganismo que apresentou maior sensibilidade à ação dos extratos.

**Tabela 1** – Valores das concentrações inibitórias mínimas dos extratos etanólicos e metanólicos das folhas das plantas.

Espécie	Extrato	Microrganismos CIM (µg/mL)					
		<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. choleraesuis</i>	<i>M. luteus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>
<i>Celtis iguanacea</i> Sarg.	Etanólico	>500	>500	>500	>500	31,25	>500
<i>Genipa americana</i> L.	Etanólico	>500	>500	>500	>500	>500	>500
<i>Myracrodruon urundeuva</i> Allemão	Etanólico	>500	>500	>500	>500	>500	31,25
<i>Anadenanthera colubrina</i> Vell.	Metanólico	>500	>500	>500	250	>500	>500
<i>Bromelia laciniosa</i> Mart. *	Metanólico	>500	>500	>500	>500	>500	>500
<i>Caesalpinia ferrea</i> Mart.	Metanólico	>500	>500	500	>500	>500	62,5
<i>Cassia excelsa</i> Schrader	Metanólico	>500	>500	>500	>500	>500	>500
<i>Copernicia cerifera</i> Mart.	Metanólico	>500	>500	>500	>500	>500	>500
<i>Schinopsis brasiliensis</i> Engl.	Metanólico	>500	>500	31,25	7.81	31.25	250

\*Partes aéreas

Os extratos das folhas que apresentaram maior atividade antibacteriana foram o da *C. iguanacea* sobre o *S. aureus*, *M. urundeuva* sobre o *B. subtilis*, *S. brasiliensis* sobre *S. choleraesuis* e *S. aureus* com CIM de 31,25 µg.ml<sup>-1</sup>. Enquanto os extratos dos caules da *M. urundeuva* sobre *M. luteus*, *S. aureus* e *A. colubrina* com CIM de 3,91 µg.ml<sup>-1</sup> (Tabela 2).

**Tabela 2** – Valores das concentrações inibitórias mínimas dos extratos etanólicos e/ou metanólico dos caules das plantas.

Espécie	Extrato	Linhagens dos microrganismos CIM ( $\mu\text{g/mL}$ )					
		<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. choleraesuis</i>	<i>M. luteus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>
<i>Anadenanthera colubrina</i> Vell.	Etanol	>500	>500	>500	3.91	31,25	>500
<i>Copernicia cerifera</i> Mart.	Etanol	>500	>500	>500	>500	>500	>500
<i>Genipa americana</i> L.	Etanol	>500	>500	>500	>500	>500	>500
<i>Schinopsis brasiliensis</i> Engl.	Etanol	>500	>500	125	>500	>500	62,50
<i>Azadirachta indica</i>	Metanol	>500	>500	>500	>500	>500	250
<i>Canavalia brasiliensis</i> Mart.	Metanol	>500	>500	>500	>500	>500	>500
<i>Cassia excelsa</i> Schrader	Metanol	>500	>500	>500	>500	>500	>500
<i>Celtis iguanaea</i> Sarg.	Metanol	>500	>500	>500	250	>500	>500
<i>Myracrodruon urundeuva</i> Allemão	Metanol	>500	>500	>500	3.91	3.91	62,5

Os extratos etanólicos do caule da *Anadenanthera colubrina* Vell., da *Schinopsis brasiliensis*, das folhas da *Celtis iguanaea* Sarg. e da *Myracrodruon urundeuva* Allemão; e os extratos metanólicos do caule da *Azadirachta indica*, da *Celtis iguanaea* Sarg., da *Myracrodruon urundeuva* Allemão, das folhas da *Anadenanthera colubrina* Vell., da *Caesalpinia férrea* Mart., e da *Schinopsis brasiliensis* Engl. que apresentaram CIM menor que  $500 \mu\text{g.mL}^{-1}$  tiveram a Concentração Bactericida Mínima determinada – CIM (Tabela 3).

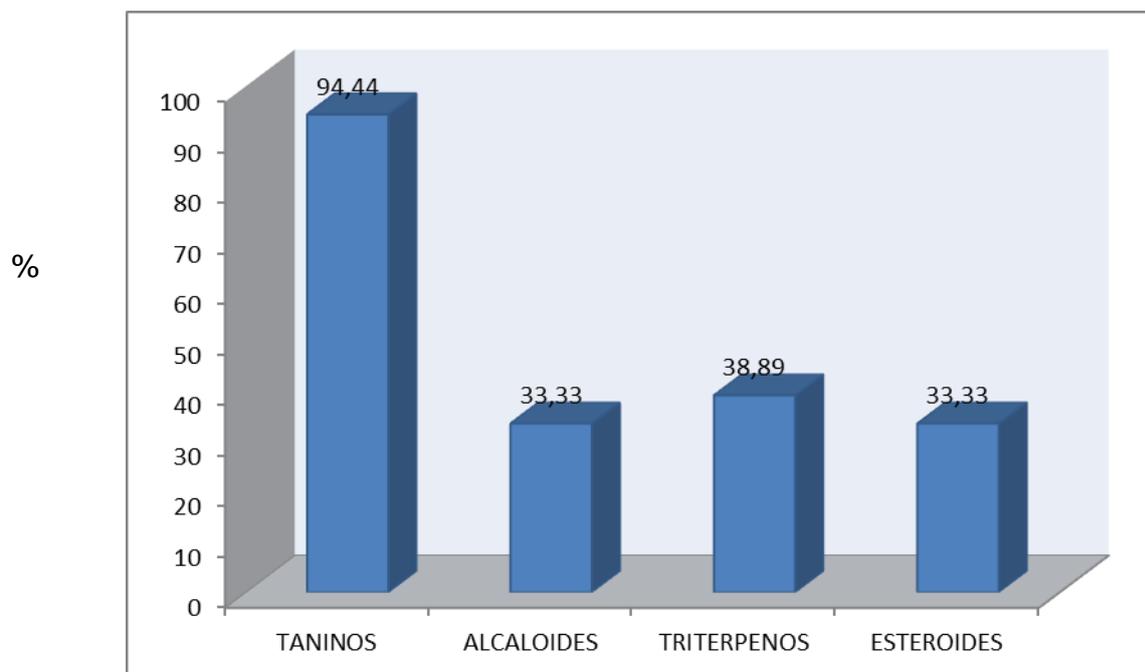
**Tabela 3 – Valores das Concentrações Bactericidas Mínimas dos Extratos Ativos.**

	Extrato	Parte da planta	Linhagens dos microrganismos - CIM ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ )					
			<i>M. luteus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. choleraesuis</i>
<i>Anadenanthera colubrina</i> Vell.	Etanólico	Caule	250	31,25	-----	-----	-----	-----
<i>Schinopsis brasiliensis</i> Engl.	Etanólico	Caule	-	-	500	-----	-----	>500
<i>Celtis iguanaea</i> Sarg.	Metanólico	Caule	500	-	-	-----	-----	-----
<i>Azadirachta indica</i>	Metanólico	Caule	-	-	>500	-----	-----	-----
<i>Myracrodruon urundeuva</i> Allemão	Metanólico	Caule	125	250	>500	-----	-----	-----
<i>Myracrodruon urundeuva</i> Allemão	Etanólico	Folha	-	>500	>500	-----	-----	-----
<i>Celtis iguanaea</i> Sarg.	Etanólico	Folha	-	500	-	-----	-----	-----
<i>Caesalpinia ferrea</i> Mart.	Metanólico	Folha	-	-	>500	-----	-----	>500
<i>Anadenanthera colubrina</i> Vell.	Metanólico	Folha	500	-	-	-----	-----	-----
<i>Schinopsis brasiliensis</i> Engl.	Metanólico	Folha	15,625	31,25	>500	---	-----	>500

Dos 18 extratos das dez espécies testados, 94,44% (17) apresentaram resultado positivo para taninos, excetuando-se apenas o extrato etanólico do caule da *Genipa americana* L.. Os extratos etanólicos da folha da *Celtis iguanaea* Sarg. e do caule da *Genipa americana*, e os extratos metanólicos das partes aéreas da *Bromelia laciniosa* Mart., do caule da *Canavalia brasiliensis* Mart, da *Celtis iguanaea* Sarg. e da *Myracrodruon urundeuva* Allemão apresentaram resultado positivo para presença de esteroides, correspondendo a 33.33 % dos extratos testados.

A presença de alcaloides foi identificada nos extratos etanólicos do caule da *Genipa americana* L., da *Copernicia cerifera* Mart. e da *Anadenanthera colubrina* Vell. e metanólico da *Azadirachta indica*, da *Myracrodruon urundeuva* Allemão e da *Celtis iguanaea* Sarg., o que corresponde a 33,33 % dos extratos (Figura 15). Os triterpenos foram identificados nos extratos etanólicos das folhas da *Genipa americana* L., da

*Celtis iguanaea* Sarg., do caule da *Genipa americana* L. e metanólico das folhas da *Cassia excelsea* Schrader, da *Schinopsis brasiliensis* Engl. e do caule da *Celtis iguanaea* Sarg., estando, portanto, presente em 38,89% dos extratos testados (Tabela 4).



**Figura 15.** Extrato positivo por grupo químico (%)

**Tabela 4 – Triagem Fitoquímica dos extratos de plantas da Caatinga por CCDC**

Espécie	Parte da planta	Solvente	Alcalóides <sup>1</sup>	Triterpenos <sup>2</sup>	Esteróides <sup>2</sup>	Taninos <sup>3</sup>
<i>Genipa americana</i> L.	Folha	Etanol	-	+	-	+
<i>Celtis iguanaea</i> Sarg.	Folha	Etanol	-	+	+	+
<i>Myracrodruon urundeuva</i> Allemão	Folha	Etanol	-	-	-	+
<i>Cassia excelsa</i> Schrader	Folha	Metanol	+	+	-	+
<i>Copernicia cerifera</i> Mart.	Folha	Metanol	-	+	-	+
<i>Caesalpinia ferrea</i> Mart.	Folha	Metanol	-	+	-	+
<i>Anadenanthera colubrina</i> Vell.	Folha	Metanol	-	-	-	+
<i>Schinopsis brasiliensis</i> Engl.	Folha	Metanol	-	+	-	+
<i>Bromelia laciniosa</i> Mart.	Partes aéreas	Metanol	-	-	+	+
<i>Genipa americana</i> L.	Caule	Etanol	+	+	+	-
<i>Copernicia cerifera</i> Mart.	Caule	Etanol	+	-	-	+
<i>Anadenanthera colubrina</i> Vell.	Caule	Etanol	+	-	-	+
<i>Canavalia brasiliensis</i> Mart.	Caule	Metanol	-	-	+	+
<i>Cassia excelsa</i> Schrader	Caule	Metanol	+	-	-	+
<i>Celtis iguanaea</i> Sarg.	Caule	Metanol	+	+	+	+
<i>Azadirachta indica</i>	Caule	Metanol	+	-	-	+
<i>Myracrodruon urundeuva</i> Allemão	Caule	Metanol	+	-	+	+
<i>Schinopsis brasiliensis</i> Engl.	Caule	Etanol	-	-	-	+

<sup>1</sup>-Dragendorff <sup>2</sup>-Liebberman <sup>3</sup>-Cloreto Férrico

**NOTA:** Os extratos metanólicos das folhas da *Celtis iguanaea*, da *Schinopsis brasiliensis*, do caule da *Myracrodruon urundeuva* Allemão e etanólico do caule da *Schinopsis brasiliensis* foram positivo para taninos condensados, os demais taninos hidrolisáveis.

## 8 DISCUSSÃO

Embora existam relatos na literatura (Quadro 2) de que os extratos hidroalcoólicos das espécies *A. colubrina* e *M. urundeuva* possuam atividade antimicrobiana contra *S. choleraesuis*, microrganismo Gram-negativo, e contra a *C. albicans*<sup>68,73-74</sup>, nesta pesquisa estes resultados não foram confirmados (Tabela 1 e 2). A metodologia usada nos referidos trabalhos não foi igual a adotada nesta pesquisa, houve diferenças tais como: a maneira de avaliar o crescimento bacteriano<sup>68</sup>, o extrato da *A. colubrina* foi diluído a 40%<sup>73</sup> e em solução salina a 0,9% e a concentração do inóculo foi medida por espectrofotometria<sup>74</sup>. Assim, é possível que tal divergência possa ter ocorrido pelo fato dos estudos não terem sido conduzidos metodologicamente idênticos, bem como coleta ter sido realizado em locais e períodos diferentes, uma vez que composição química dos extratos hidroalcoólicos pode sofrer influência de fatores correlatos ao habitat da planta, o período de coleta, a estação do ano, o modo de extração, dentre outros<sup>85</sup>.

Os extratos etanólicos das folhas da *Celtis iguanaea*, da *Myracrodruon urundeuva* Allemão e do caule da *Anadenanthera colubrina* e *Schinopsis brasiliensis* e metanólicos das folhas da *Anadenanthera colubrina*, da *Caesalpinia férrea* Mart., *Schinopsis brasiliensis* e do caule da *Azadirachta indica*, da *Celtis iguanaea* Sarg. e da *Myracrodruon urundeuva* Allemão apresentaram maior atividade contra os microrganismos Gram-positivos. Este fato pode estar relacionado a diferenças estruturais existentes nas bactérias Gram-negativas, que possuem uma membrana externa sobre o peptidoglicano, presença de cápsula em algumas espécies e porinas, que confere uma permeabilidade seletiva às espécies que apresentam esta estrutura<sup>86</sup>. Neste caso, o acesso dos princípios aos seus potenciais alvos é dificultado.

Os extratos das folhas (CIM = 31,25  $\mu\text{m.mL}^{-1}$ ) e do caule (CIM = 125,0  $\mu\text{m.mL}^{-1}$ ) da *S. brasiliensis* Engl. e os das folhas *Caesalpinia ferrea* Mart. (CIM = 500,0  $\mu\text{m.mL}^{-1}$ ) apresentaram atividade antimicrobiana contra a *S. choleraesuis*, um importante patógeno causador de doenças transmitidas por alimentos. Os extratos das 10 espécies estudadas não apresentaram atividade contra a *C. albicans* nas concentrações testadas.

Em um estudo realizado por Silva et al. (2012)<sup>76</sup>, com o extrato etanólico da casca da *S. brasiliensis* utilizando o método de microdiluição em caldo, constatou-se atividade contra bactérias Gram-positivas *E. faecalis*, *S. aureus* e *S. oralis* com CIM de 1000  $\mu\text{L} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ , 0,06  $\mu\text{L} \cdot \mu\text{L}^{-1}$  e 0,500  $\mu\text{L} \cdot \mu\text{L}^{-1}$  respectivamente, e Gram-negativas *P. aeruginosa* com CIM de 0,004  $\mu\text{L} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ <sup>74</sup>. Formiga et al. (2015)<sup>77</sup>, conduziram um estudo com extratos hidroalcoólicos das folhas e da casca da *Schinopsis brasiliensis*, utilizando o método de difusão em disco, que demonstrou atividade contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterococcus faecalis*<sup>75</sup>.

Segundo Chaves et al. (2011)<sup>86</sup>, a *Schinopsis brasiliensis* apresenta atividade antimicrobiana frente a cepas fúngicas (*C. albicans*), Gram-positiva (*S. aureus*) e Gram-negativas (*E. coli*, *P. aeruginosa* e *K. pneumoniae*), todas com importância clínica.

Outros estudos conduzidos com extratos da casca e das folhas da *S. brasiliensis* utilizando o método de difusão em ágar não constataram atividade desta espécie contra os patógenos testados<sup>75,96</sup>. Farias et al. (2013), em um estudo utilizando o método de microdiluição em caldo com o extrato etanólico das sementes<sup>97</sup>, também não identificou atividade da *S. brasiliensis* contra os patógenos testados. Nesta pesquisa, o extrato das folhas apresentou atividade contra a *S. choleraesuis*, que é Gram-negativa com CIM de 31,25  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ . O extrato também foi ativo contra as Gram-positivas *S. aureus* e *M. luteus* com o CIM de 7,8125  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  e 31,25  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ . Já o extrato do caule apresentou atividade contra *S. choleraesuis* e *B. subtilis* com CIM de 125  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  e 62,5  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ . Quanto à atividade antifúngica, os resultados foram consonantes com os achados dos autores acima, esta espécie não apresentou atividade.

A espécie *C. iguanaea* é muito utilizada como planta medicinal no tratamento de dores no corpo, reumatismo, dores no peito, asma e diurético. Devido o amplo uso popular para má-digestão, estudos foram conduzidos por Trevisan et al. (2012)<sup>107</sup>, para avaliar a atividade gástrica desta planta. Também tem sido descrito o uso das raízes e folhas no tratamento da infecção urinária<sup>87</sup>. O extrato das folhas da *C. iguanaea* apresentou atividade contra o *S. aureus*, enquanto o extrato do caule apresentou atividade contra o *M. luteus*, sendo que ambos extratos apresentaram CBM de 500  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ .

Em estudo realizado por Castro et al. (2008), com extrato metanólico das folhas da *C. iguanaea* utilizando o método de difusão em ágar foi constatada atividade contra *F. columnare*, uma bactéria Gram-negativa, que causa doenças em peixe<sup>82</sup>. A falta de outros estudos que avaliem esta espécie como agente antibacteriano, impossibilitou a comparação dos resultados desta pesquisa, cujo extrato etanólico das folhas demonstrou atividade contra a *S. aureus*, um importante patógeno oportunista, responsável por muitas infecções nosocomiais, que apresentou um CIM de 31,25  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  e o extrato metanólico do caule demonstrou ação inibitória contra *M. luteus* com CIM 250  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ .

O fato do extrato etanólico do caule da *A. colubrina* ter apresentado resultados positivos contra o *M. Luteus* (CIM= 3.91  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ) e *S. aureus* (31,25  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ) é algo relevante. A respeito do *S. aureus*, que embora seja um patógeno oportunista e faça parte da microbiota dos seres vivos, principalmente da pele; em condições adversas, como a quebra da barreira cutânea ou diminuição da imunidade, pode causar sérios danos à saúde humana, como por exemplo, infecções cutâneas. Além disso, também são responsáveis por infecções pós-cirúrgicas, osteomielites, pneumonias, abscessos, endocardites e bacteremia, sendo umas das causas mais comuns de infecções nosocomiais, bem como de infecções comunitárias, que podem apresentar altos índices de morbidade e mortalidade<sup>95</sup>.

Os estudos que usaram o método de microdiluição em caldo demonstraram grande atividade de *A. colubrina*<sup>68,72-73</sup>, apresentando CIM compatível com atividade antimicrobiana para os seguintes patógenos: *P. aeruginosa* (500  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ), *S. mutans* (2000  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ), *E. faecalis* (2000  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ), *M. lutes* (1560  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ) e *S. aureus* (780  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ), além de ação antifúngica contra *C. albicans*<sup>68,72,73</sup>. Nesta pesquisa, o extrato metanólico da folha não apresentou atividade contra *P. aeruginosa* e *S. aureus*, mas contra a *M. luteus* apresentou um CIM= 250  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ , já o extrato etanólico do caule desta mesma planta não apresentou atividade antimicrobiana contra *P. aeruginosa*, no entanto, apresentou contra *M. luteus* CIM = 3,9  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  e *S. aureus* com CIM = 31,35  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ . Por outro lado, um estudo conduzido com frações aquosas, etanólico e hidroalcolóica usando o método de difusão não apresentou atividade antimicrobiana<sup>72</sup>.

O extrato do caule da *M. urundeuva* apresentou atividade contra todos os microrganismos Gram-positivos testados, *M. luteus*, *S. aureus* e *B. subtilis* com CIM de  $3,91 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ,  $3,91 \mu\text{g.mL}^{-1}$  e  $62,5 \mu\text{g.mL}^{-1}$  respectivamente. Já o extrato da folha só apresentou atividade contra *B. subtilis* com CIM de  $31,25 \mu\text{g.mL}^{-1}$ . Estudos realizados por Trentin et al. (2013), Jandu et al. (2013), Pinho et al. (2011) e Chaves et al. (2011), com extrato da casca desta espécie apresentaram atividade contra bactérias Gram-negativas, *P. aeruginosa* com CIM de  $4,0 \text{ mg.mL}^{-1}$ , *E. coli* com CIM de  $1,56 \text{ mg.mL}^{-1}$ , *K. pneumoniae* com CIM de  $3,13 \text{ mg.mL}^{-1}$ .

Estes efeitos observados sobre as bactérias e os fungos podem estar relacionados à presença de substâncias tais como taninos e triterpenos, que foram identificados na triagem fitoquímica.

No que se refere aos aspectos fitoquímicos, os testes qualitativos confirmaram a presença de triterpenos, esteroides e taninos no caule e na folha, além de alcaloides apenas no caule. A presença de triterpenos no extrato etanólico do caule está em consonância com outros estudos fitoquímicos publicados<sup>77, 87</sup>. Pesquisas realizadas sinalizam a presença de compostos como lipídios, esteroides glicosídeos e glicosídeos de polifenóis no extrato hexano das folhas da *Celtis iguanaea*. Considerando que já foi evidenciado cientificamente que os alcaloides, triterpenos e esteroides têm atividade antimicrobiana, a presença destes na *C. iguanaea* pode estar relacionada com a esta atividade<sup>88-94</sup>.

Dos extratos testados, 17 (94.44%) foram positivos para taninos, sendo que todos os extratos que apresentaram atividade antimicrobiana deram positivos para taninos. A capacidade de precipitar proteínas, que estes compostos fenólicos apresentam está associada à sua atividade antimicrobiana e antifúngica. Nos extratos testados, a presença destes compostos pode ter contribuído para a ação antimicrobiana destas plantas. O extrato da folha da *A. colubrina* e do caule *S. brasilienses* foram os únicos entre os extratos que apresentaram atividade que só foram positivos para tanino. O extrato do caule da *C. iguanaea* foi único que apresentou resultado positivo para alcaloides, triterpenos, esteroides e taninos. A presença de alcaloides (38.89%), triterpenos (38.89%) e esteroides (33.33%) também podem contribuir para atividade antimicrobiana dos extratos.

## 9 LIMITAÇÕES E PERSPECTIVAS

O presente estudo foi realizado com extratos de plantas coletadas em secções transversais. Embora tenhamos realizado estudo fitoquímico dos extratos dessas plantas, objetivando também estabelecer uma correlação entre a presença de determinados grupo de substância (taninos, terpenos, alcaloides) e as atividades biológicas, podemos identificar se o efeito encontrado é de uma substância presente no extrato ou devido ao sinergismo entre substâncias dos diversos grupos. Mesmo para aqueles extratos que apresentaram resultado positivo para apenas um grupo químico, é possível que a atividade antimicrobiana se deva a ação conjunta de várias substâncias dentro do mesmo grupo químico ou até mesmo devido ao efeito sinérgico ou aditivo entre substâncias do mesmo grupo.

Outra limitação do presente estudo é ausência de abordagens metodológicas para avaliação do potencial citotóxico. Todavia, como ainda é um estudo preliminar de bioprospecção essa abordagem ocorrerá no desdobramento do desenvolvimento do trabalho.

## 10 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir dos resultados encontrados em nosso trabalho quanto ao potencial antimicrobiano e antifúngico e da triagem fitoquímica de dez extratos hidroalcoólicos e etanólicos de espécies vegetais do bioma Caatinga sobre cinco espécies de bactérias e um fungo, é possível considerar:

- a) das espécies estudadas neste trabalho apenas três não apresentaram atividade antimicrobiana contra os microrganismos avaliados;
- b) os extratos de plantas estudados apresentaram maior atividade contra os microrganismos Gram-positivos;
- c) os extratos hidroalcoólicos das espécies *A. colubrina* e *M. urundeuva* não apresentaram atividade antimicrobiana contra microrganismos Gram-negativos e antifúngica contra a *C. albicans*;
- d) os extratos das folhas e do caule da *S. brasiliensis* Engl. e os das folhas *Caesalpinia ferrea* Mart. apresentaram atividade antimicrobiana contra a *S. choleraesuis*;
- e) o extrato das folhas de *S. Brasiliensis*, nesta pesquisa, apresentou atividade contra a *S. choleraesuis*, *S.aureus* e *M. luteus* e o extrato do caule apresentou atividade contra *S. choleraesuis* e *B. subtilis*;
- f) o extrato das folhas da *C. iguanaea* apresentou atividade contra o *S. aureus*, enquanto o extrato do caule apresentou atividade contra o *M. luteus*;
- g) o extrato do caule da *M. urundeuva* apresentou contra todos os microrganismos Gram-positivos testados e o extrato da folha só apresentou atividade contra *B. subtilis*.

Desta forma, este estudo serve como etapa inicial da bioprospecção das espécies estudados, abrindo caminho para que novas pesquisas sejam realizadas, a partir das evidências científicas que foram levantadas. Cabe ainda destacar que a bioprospecção tem um impacto econômico muito grande, já que a biodiversidade brasileira se confirma como rico manancial para descoberta de novos fármacos. Some-se a tudo isso, que esses fatos são fortes argumentos para justificar a proteção desta biodiversidade e impulsionar a criação de marcos legais que protejam a biodiversidade da pirataria.

## REFERÊNCIAS

- 1 Omran AR. The Epidemiologic Transition: A Theory of the Epidemiology of Population Change. *The Milbank Quarterly* [Internet]. 2005 [Citado nov 2016]: 83(4):731-57. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1468-0009.2005.00398.x/full>.
- 2 Araújo JD. Polarização epidemiológica no Brasil. *Epidemiologia e Serviços de Saúde* [Internet]. 2012 [Citado nov 2016]: 21(4): 533-38. DOI:10.5123/S1679-49742012000400002.
- 3 Fauci AS. Emerging and Reemerging Infectious Diseases: The Perpetual Challenge. *Academic Medicine* [Internet]. 2005 [citado dez 2016]: 80(12):1079-85. Disponível em: [http://journals.lww.com/academicmedicine/Abstract/2005/12000/Emerging\\_and\\_Reemerging\\_Infectious\\_Diseases\\_\\_The.2.aspx](http://journals.lww.com/academicmedicine/Abstract/2005/12000/Emerging_and_Reemerging_Infectious_Diseases__The.2.aspx)
- 4 Silva AGDS, França Júnior DB, Santos HFDA C, Moura HLS, Garcia PT, Lima CSD C et al. Doenças transmissíveis: epidemiologia e controle das doenças transmissíveis no Brasil. [Internet].2014. [citado dez 2016]. Disponível em: <https://ares.unasus.gov.br/acervo/handle/ARES/1727>
- 5 Charrel RN, Gallian P, Lamballerie X. Globalization of Chikungunya : 10 years to invade the world. *Clinical Microbiology and infection* [Internet]. 2014. [citado dez 2016]: 20(7): 662-63. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com>
- 6 Luna EJA. A emergência das doenças emergentes e as doenças infecciosas emergentes e reemergentes no Brasil. *Rev Bras Epidemiol*[Internet]. 2002. [citado jan 2017]:5(3):229–43. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1415-790X2002000300003&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-790X2002000300003&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt)
- 7 Guimarães DO, Momesso LDS, Pupo MT. Antibióticos: importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. *Quim nova* [Internet]. 2010. [Citado jan 2017]: 33(3):667-679. Disponível em: <http://www.producao.usp.br/handle/BDPI/5805>
- 8 Brasil. Ministério do Meio Ambiente. Caatinga [Internet]. [citado dez 2016]. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/biomas/caatinga>.
- 9 Colwell RR. Global climate and infectious disease: the cholera paradigm. *Science* [Internet]. 1996. [citado jan 2017]: 274(5295): 2025. Disponível em: <http://search.proquest.com/openview/de7d86c7f41547378e8cc5997bd1c6a0/1?pq-origsite=gscholar&cbl=1256>
- 10 Rezende JM. À sombra do plátano: crônicas de história da medicina [Internet]. São Paulo: Unifesp, 2009. As grandes epidemias da história; p 73-82. Disponível em <http://books.scielo.org>.

- 11 Brasil. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. Situação da prevenção e controle das doenças transmissíveis no Brasil: Uma Análise Da Situação De Saúde. [Internet]. 2004 [citado 2016 jan.]. Disponível: [http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/partes/saude\\_brasil2004\\_capitulo6.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/partes/saude_brasil2004_capitulo6.pdf)
- 12 Rouquairol MZ, Almeida Filho R. Epidemiologia & Saúde. 6ª ed. Rio de Janeiro; 2003; p. 229-88.
- 13 Center for Disease Control. General Information on Salmonella. [Internet]. [citado jan 2016]. Disponível em: <http://www.cdc.gov/salmonella/general/index.html>
- 14 Center for Disease Control. Pseudomonas aeruginosa in Healthcare Settings [Internet]. 2013 [citado 2016 fev.]. Disponível em: <http://www.cdc.gov/hai/organisms/pseudomonas.html>
- 15 Center for Disease Control. General Information. E.coli. [Internet]. [citado 2016 jan.]. Disponível em: <http://www.cdc.gov/ecoli/general/index.html>
- 16 The Meat Site. [Internet]. Bacillus spp. food poisoning. [citado 2016 fev.]. Disponível em: <http://www.themeatsite.com/diseaseinfo/20/bacillus-spp-food-poisoning/>
- 17 Canada. Public Health Agency of Canada. Micrococcus. [Internet]. 2011. [citado 2016 jan.]. Disponível em: <http://www.phac-aspc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/micrococcus-eng.php#endnote3>
- 18 Center for Disease Control. Fungal Disease: Candidiasis. [Internet]. [citado 2016 jan.]. Disponível em: <http://www.cdc.gov/fungal/diseases/candidiasis/>
- 19 Brasil. Biblioteca Virtual em Saúde. Infecção bacteriana. [Internet]. [citado 2016 jan.]. Disponível em: <http://www.bvsdip.icict.fiocruz.br>
- 20 Rang HP, Dale MM, Ritter JM. Farmacologia. 3ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1997. 572-92 p.
- 21 Harvey RA, Champe PC. Farmacologia Ilustrada. 2ª ed. Porto Alegre: Artmed; 1998. 279-88 p.
- 22 Duarte M. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais e aromáticas utilizadas no Brasil. Multiciência. [Internet]. 2006; [citado jan 2016]. Disponível em: <http://www.multiciencia.unicamp.br>
- 23 Brasil. Ministério da Saúde, Agência Nacional De Vigilância Sanitária. Antimicrobianos - Bases Teóricas e Uso Clínico [Internet]. [citado jan 2016]. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/servicosaude>
- 24 Brasil. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Uso Racional de Antimicrobianos. [Internet]. [Citado jan 2016]. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/servicosaude>

25 Maraschin M, Vepoorte R. Engenharia do metabolismo secundário. Brasília: Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento. 1999;23:24-8.

26 Scallan E, Hoekstra RM, Angulo FJ, Tauxe R V., Widdowson MA, Roy SL, et al. Foodborne illness acquired in the United States-Major pathogens. *Emerg Infect Dis*. [Internet]. 2011 [citado jan 2016 ]. Disponível em: <http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/17/1/pdfs/p1-1101.pdf>

27 Centers for Disease Control and Prevention. Antibiotic resistance threats in the United States. [Internet]. Atlanta: 2013. [citado jan 2016]. Disponível em: <https://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/ar-threats-2013-508.pdf>.

28 Centers for Disease Control and Prevention. Pathogens causing US foodborne illnesses, hospitalizations, and deaths, 2000–2008. [Internet]. [citado jan 2016]. Disponível em : <http://www.cdc.gov/foodborneburden/PDFs/pathogens-complete-list-01-12.pdf>

29 Atangana A, Franc E, Goufo D. On the Mathematical Analysis of Ebola Hemorrhagic Fever: Deathly Infection Disease in West African Countries. *Biomed Research Internacional* [Internet]. 2014. [Citado dez 2016]: 2014(2014): 1-7. Hindawi Publishing Corporation. 2014. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2014/261383/abs/>

30 Shinohara NKS, Barros VB, Jimenez SMC, Machado CL, Dutra RAF, de Lima Filho JL. Salmonella spp.: Important pathogenic agent transmitted through foodstuffs. [Internet]. *Ciê Saúde Coletiva*. 2008 [citado jan 2016]. p. 1675–83. Disponível em : <http://www.scielo.br/pdf/csc/v13n5/31.pdf>

31 Chiu CH, Su LH, Chu C. Salmonella enterica serotype Choleraesuis: epidemiology, pathogenesis, clinical disease, and treatment. *Clin Microbiol Rev* [Internet]. 2004 [citado 2016 jan.]. 17(2):311–22. Disponível em: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=387403&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

32 Organização Mundial da Saúde. Enterohaemorrhagic Escherichia coli in raw beef and beef products: approaches for the provision of scientific advice. [Internet]. *Microbiological Risk Assessment Series*. 2011. [citado 2016 jan.]. p 1–126. Disponível em: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44659/1/9789241548243\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44659/1/9789241548243_eng.pdf)

33 United States of America. Department of Health and Human Services. E. coli: Transformation. [Internet]. 2013. [citado 2016 jan.]. Disponível em: <http://www.foodsafety.gov/poisoning/causes/bacteriaviruses/ecoli/>

34 Barbieri BD, Timenetsky J. Glossário de Bactérias com Importância Médica [Internet]. Universidade de São Paulo; Departamento de Microbiologia. [citado 2016 jan.]. Disponível em: [http://www.icb.usp.br/bmm/ext/index.php?option=com\\_content&view=article&id=113&lang=br](http://www.icb.usp.br/bmm/ext/index.php?option=com_content&view=article&id=113&lang=br)

35 Chagas SD, Iaria ST, Carvalho JPD. Bactérias indicadoras de poluição fecal em

águas de irrigação de hortas que abastecem o município de Natal-Estado do Rio Grande do Norte (Brasil). Rev Saúde Públ. 1981;15(6):629-42.

36 Todar K. Pseudomonas [Internet]. Todar's Online Textbook of Bacteriology [citado 2016 jan.] Disponível em: <http://textbookofbacteriology.net/pseudomonas.html>

37 Habibi A, Honarmand R. Profile of Virulence Factors in the Multi-Drug Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Strains of Human Urinary Tract Infections ( UTI ). Iran Red Crescent Med J. 2015;17(12).

38 Neves PR, Mamizuka EM, Levy CE, Lincopan N. *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente: um problema endêmico no Brasil. [Internet]. J Bras Pat Med Lab. 2011. [citado 2016 jan.]. p. 409–20. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/jbpml/v47n4/v47n4a04.pdf>

39 Baumgart AMK, Molinari MA, Silveira ACO. Prevalence of carbapenem resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* in high complexity hospital. [Internet]. Brazilian J Infect Dis. 2010 [citado 2016 jan.]. 14(5):433–6. Disponível em : [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1413-86702010000500002&lng=en&nrm=iso&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-86702010000500002&lng=en&nrm=iso&tlng=en)

40 Santos DO, Leal B, Ferreira A, Rodrigues CR, Castro HC. *Staphylococcus aureus* : visitando uma cepa de importância hospitalar. J Bars Patol Med Lab. 2007; 43(6):413–23.

41 Carmelita U, Tuazon MD. *Bacillus* species - Infectious Disease and Antimicrobial Agents [Internet]. Antimicrobe. [citado 2016 jan.]. Disponível em: <http://www.antimicrobe.org/b82.asp>

42 Oggioni MR, Pozzi G, Valensin PE, Galieni P, Bigazzi C. Recurrent Septicemia in an Immunocompromised Patient Due to Probiotic Strains of *Bacillus subtilis*. [Internet]. J Clin Microbiol. 1998. [citado 2016 jan.]. 36(1):325–6. Disponível em: [http://jcm.asm.org/content/36/1/325.full?ijkey=1903da10e5f13b43cfe75e8ae3b2de7e0ee01a92&keytype2=tf\\_ipsecsha](http://jcm.asm.org/content/36/1/325.full?ijkey=1903da10e5f13b43cfe75e8ae3b2de7e0ee01a92&keytype2=tf_ipsecsha)

43 Nucci M, Marr KA. Emerging Fungal Diseases. [Internet]. Clin Infect Dis. 2005; 41(4):521–6. Disponível em: <http://cid.oxfordjournals.org/lookup/doi/10.1086/432060>

44 Souza AD, Souza AD, Astolfi Filho S, Belém Pinheiro ML, Sarquis MIDM, Pereira JO. Atividade antimicrobiana de fungos endofíticos isolados de plantas tóxicas da Amazônia: *Palicourea longiflora* (aubl.) rich e *Strychnos cogens bentham*. Acta Amazônica. 2004; 34(2):185-95.

45 Serracarbassa PD, Dotto P. Endoftalmite por *Candida albicans*. [Internet]. Arq Bras Oftalmol: Conselho Brasileiro de Oftalmologia. 2003. [citado 2016 jan.]. 66(5):701–7. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0004-27492003000500027&lng=en&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-27492003000500027&lng=en&nrm=iso&tlng=pt)

46 Cirqueira, M. Agentes antimicrobianos químicos e naturais. Food Ingredients Brasil. 2010; 36-42.

47 Araujo FRC, Barbosa AP, Mendonça S. Desenvolvimento de Antibióticos a partir de Plantas Medicinais de Interesse para o Sistema Único de Saúde (SUS). 2002.

48 Costa-Lotufo LV, Montenegro RC, Alves APNN, Socorro VF. A Contribuição dos produtos naturais como fonte de novos fármacos anticâncer: estudos no laboratório nacional de oncologia experimental da Universidade Federal do Ceará. [Internet]. Rev Virt Quím. 2010 [citado 2016 jan.]. p. 47–58.

49 Montanari CA, Bolzani VDS. Planejamento racional de fármacos baseado em produtos naturais. Química Nova. 2001; 24(1):105-111.

50 Ansel HC., Popovich NG, Allen Junior LV. Formas Farmacêuticas & Sistema de Liberação de Fármacos. 6ª ed. São Paulo: Premier; 2000. 568 p.

51 Saccaro J. Desafios Da Bioprospecção No Brasil. [Internet]. Inst Pesqui Econ Apl – IPEA: Textos para Discussão. 2011. Disponível em: [http://repositorio.ipea.gov.br/bitstream/11058/1568/1/TD\\_1569.pdf](http://repositorio.ipea.gov.br/bitstream/11058/1568/1/TD_1569.pdf)

52 Trigueiro M. Bioprospecção, uma nova fronteira da sociedade. [Internet]. Sociologia: Proyecto PARBIO. 2006. [citado 2016 jan.]. Disponível em: [www.ige.unicamp.br/parbio](http://www.ige.unicamp.br/parbio).

53 Marques LG, Santos MR, Raffo J, Pessoa C. Redes de Bioprospecção no Brasil: Cooperação Para o Desenvolvimento Tecnológico [Internet]. Rev Desenv Econ. 2013 [citado 2016 jan.]. p. 164–72. Disponível em: <http://www.revistas.unifacs.br/index.php/rde/article/view/2800>

54 Brasil. Ministério do Meio Ambiente. Biodiversidade [Internet]. [citado 2016 jan.]. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/biodiversidade>

55 Homma AKO. Biopirataria na Amazônia: como reduzir os riscos. Amazônia: Ciência & Desenvolvimento. 2005; 1(1):47-60.

56 Duarte MCT. Atividade Antimicrobiana de Plantas Medicinais e Aromáticas Utilizadas no Brasil [Internet]. 2006 [citado 2016 fev.]. Disponível em: [https://www.multiciencia.unicamp.br/artigos\\_07/a\\_05\\_7.pdf](https://www.multiciencia.unicamp.br/artigos_07/a_05_7.pdf)

57 Brasil. Ministério do Meio Ambiente. Biomas [Internet]. [citado 2016 fev.]. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/biomas>

58 Vila Verde GM, Paula JR, Caneiro DM. Levantamento etnobotânico das plantas medicinais do cerrado utilizadas pela população de Mossâmedes (GO). Rev Bras Farmacogn Levant. 2003;13:64–6.

59 Amorim RCN, Melo MRS, Tadei WP, Pohlit AM, Silva LFR, Andrade VF. Biological activity and quassinoid content of fruits from the amazonian medicinal plant *Picrolemma sprucei* ( Simaroubaceae ). Fitos. 2013;8(1):13–8.

60 Ribeiro DA, Macêdo DG, Oliveira LGS, Souza MMA, Menezes IRA. Potencial

terapêutico e uso de plantas medicinais em uma área de Caatinga no estado do Ceará, Nordeste do Brasil. *Rev Bras Plan Med.* 2014; 16(4):912-30.

61 Roque ADA, Rocha RDM, Loiola MIB. Uso e diversidade de plantas medicinais da Caatinga na comunidade rural de Laginhas, município de Caicó, Rio Grande do Norte (nordeste do Brasil). *Rev Bras Plan Med.* 2010; 12(1):31-42.

62 Gomes EC, Barbosa J, Vilar FC, Perez J, Vilar R, Dias T. Plantas da caatinga de uso terapêutico: levantamento etnobotânico. *ETPA.* 2008; 5(2).

63 Cartaxo SL, Souza MMA, Albuquerque U. Medicinal plants with bioprospecting potential used in semi-arid northeastern Brazil. *J Ethnopharmacol.* 2010; 131(2):326-42.

64 Queiroz CRAA, Morais SAL, Nascimento EA. Caracterização dos taninos da aroeira-preta (*Myracrodruon urundeuva*). *Revista Árvore.* 2002; 26(4):493-497.

65 Silva LMM, RTJD, Aguiar IB. Efeito da luz da temperatura na germinação de sementes de aroeira (*Myracrodruon urundeuva Allemão*). *Revista Árvore.* 2002; 26(6):691-97.

66 Nunes YR, Fagundes M, Almeida HDS, Veloso MDDM. Aspectos ecológicos da aroeira (*Myracrodruon urundeuva Allemão*-Anacardiaceae): fenologia e germinação de sementes. *Revista Árvore.* 2008; 32(2):233-43.

67 Trentin DS, Silva DB, Amaral MW, Zimmer KR, Silva MV, Lopes NP, et al. Tannins Possessing Bacteriostatic Effect Impair *Pseudomonas aeruginosa* Adhesion and Biofilm Formation. [Internet]. *PLoS One.* 2013; 8(6). Disponível em: <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84878846663&partnerID=tZOtx3y1>

68 Jandú JJB, Da Silva LCN, Pereira ADPC, De Souza RM, Da Silva Júnior CA, De Figueiredo RCBQ, et al. *Myracrodruon urundeuva* bark: an antimicrobial, antioxidant and non-cytotoxic agent. *J Med Plants Res.* 2013; 7(8):413–8.

69 Andrade SAC, Metri JC, Barros Neto B, Guerra NB. Desidratação osmótica do jenipapo (*Genipa americana* L.). *Ciênc Tecnol Aliment.* 2003; 23(2):276-281.

70 Silva AP, Lima CLC, Vieites RL. Caracterização Química e Física do Jenipapo (*Genipa americana* L.) Armazenado. [Internet]. *Sci. agric.* 1998; 55(1):29-34. [citado 2016 jan.]. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-90161998000100006&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-90161998000100006&lng=en&nrm=iso).

71 Oliveira LM, Silva OE., Bruno, RLA, Alves EU. Períodos e ambientes de secagem na qualidade de sementes de *Genipa americana* L. *Ciências Agrárias.* 2011; 32(2):495-502.

72 Mossini SAG, Kimmelmeier C. A árvore Nim (*Azadirachta indica* A. Juss): múltiplos usos. *Acta Farm Bonaerense.* 2005; 24(1):139-48.

73 Oliveira MDCP, Oliveira GJ. Superação da dormência de sementes de *Schinopsis brasiliensis*. Cienc Rural. 2008; 38(1):251-254.

74 Ayres MC, Brandão MS, Vieira-Júnior GM, Menor JCAS, Silva HB, Soares MJS, et al. Atividade antibacteriana de plantas úteis e constituintes químicos da raiz de *Copernicia prunifera*. Rev Bras Farmacogn. 2008; 18(1):90-7.

75 Martins JLR, Sousa FB, Fajemiroye JO, Ghedini PC, Ferreira PM, Costa EA. Anti-ulcerogenic and antisecretory effects of *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent hexane leaf extract. Rev bras Plantas Med. [Internet]. 2014. [citado 2016 dez.]. 16(2):250-5. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516-722014000200013&lng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-722014000200013&lng=en). <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-05722014000200013>.

76 Silva MSP, Brando DO, Chaves TP, Formiga Filho ALN, Costa EMMDB, Santos VL, et al. Study bioprospecting of medicinal plant extracts of the semiarid northeast: Contribution to the control of oral microorganisms. Evid Based Complement Altern Med. [Internet]. 2012. Disponível em: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3375581&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

77 Formiga Filho AL, Carneiro VS, Souza EA, Santos RL, Catão MHC, Medeiros ACD. In Vitro Evaluation of Antimicrobial Photodynamic Therapy Associated with Hydroalcoholic Extracts of *Schinopsis brasiliensis* Engl.: New Therapeutic Perspectives. Photomed Laser Surg. 2015; 33(5):240-5.

78 Castro SBR, Leal CAG, Freire FR, Carvalho DA, Oliveira DF, Figueiredo HCP. Antibacterial activity of plant extracts from Brazil against fish pathogenic bacteria. Braz J Microbiol. 2008; 39(4):756-60.

79 Sá MCA, Peixoto RDM, Krewer CDC, Silva AJRG, Vargas AC, Costa MM. Antimicrobial activity of caatinga biome ethanolic plant extracts against gram negative and positive bacteria. Rev Bras Ciênc Vet. 2011; 18(2-3).

80 Sá RA, Gomes FS, Napoleao TH, Santos ND, Melo CM, Gusmão NB, et al. Antibacterial and antifungal activities of Myracrodruon urundeuva heartwood. Wood Sci Technol. 2009; 43(1-2):85-95.

81 Silva VF, Franco I, Damasceno TEF, Silva Almeida JRG, Costa MM. Potencial antimicrobiano de extratos etanólicos de plantas frente a bacilos gram negativos isolados da mucosa cérvico-vaginal de ovelhas criadas na região de Petrolina-PE. Semina: Ciências Agrárias. 2014; 35(2):883-90.

82 Cavalcante M, Mello NF, Yano-Mello AM, Sá MCA, Krewer CC, Costa MM. Atividade Antibacteriana de Extratos de Plantas do Bioma Caatinga. In: XVIII ZOOTEC Congresso Nacional de Zootecnia; 2008. Anais do XVIII ZOOTEC 2008; p. 1-3.

83 Lima RDF, Alves ÉP, Rosalen PL, Ruiz ALTG, Teixeira DMC, Góes VFF, et al. Antimicrobial and antiproliferative potential of *Anadenanthera colubrina* (Vell.)

Brenan. Evid Based Complent Alt Med. 2014.

84 Pinho L, Souza PNS, Sobrinho EM, Almeida AC, Martins ER. Atividade antimicrobiana de extratos hidroalcoólicos das folhas de alecrim-pimenta, aroeira, barbatimão, erva baleeira e do farelo da casca de pequi. *Ciênc Rural*. 2012; 42(2):326-31.

85 Silva AG, Silva LCN, Bezerra Filho CM, Araújo DRC, Silva JFV, Arruda IR, et al. Antimicrobial activity of medicinal plants of the Caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil. *Phytochemistry*. 2006; 1.

86 Chaves TP, Dantas IC, Felismino DC, Vieira KVM, Clementino ELC, Costa LS. Atividade antimicrobiana das folhas de *Schinopsis brasiliensis Engler*. *Biofar*. 2011; 5(2):11-7.

87 Farias DF, Souza TM, Viana MP, Soares BM, Cunha AP, Vasconcelos IM, et al. Antibacterial, antioxidant, and anticholinesterase activities of plant seed extracts from Brazilian semiarid region. *Biomed Res Int* [Internet]. 2013;2013. Disponível em: <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84893770895&partnerID=tZOtx3y1>

88 Farias DF, Souza TM, Viana MP, Soares BM, Cunha AP, Vasconcelos IM, et al. Antibacterial, antioxidant, and anticholinesterase activities of plant seed extracts from Brazilian semiarid region. *BioMed Res Internat*. 2013.

89 Trevisan RR. Estudo fitoquímico e avaliação das atividades biológicas das cascas de *Celtis Iguanaea (jacq.)* e *Sargent Ulmaceae*. [Internet]. Curitiba: Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná; 2010. [citado 2016 jan.]. Disponível em: <http://livros01.livrosgratis.com.br/cp134259.pdf>

90 Borges FF, Machado TC, Cunha KS, Pereira KC, Costa EA, Paula JR, et al. Assessment of the cytotoxic, genotoxic, and antigenotoxic activities of *Celtis iguanaea (Jacq.)* in mice. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*. 2013; 85(3):955-64.

91 Martins JLR, Rodrigues ORL, Silva DM, Galdino PM, Paula JR, Romão W, et al. Mechanisms involved in the gastroprotective activity of *Celtis iguanaea (Jacq.) Sargent* on gastric lesions in mice. *J Ethnopharmacol* [Internet]. 2014;155(3):1616–24. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378874114005984>

92 Martins JLR, Sousa FB, Fajemiroye JO, Ghedini PC, Ferreira PM, Costa EA. Anti-ulcerogenic and antisecretory effects of *Celtis iguanaea (Jacq.) Sargent* hexane leaf extract [Internet]. *Rev Bras Plant Med*. 2014 [citado 2016 fev.]. p. 250–5. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516-05722014000200013&lng=en&nrm=iso&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-05722014000200013&lng=en&nrm=iso&tlng=en)

93 Froeder ALF, Frohlich JK, Boligon AA, Brum T, Zadra M, Piana M, Leitão A, et al. Quantificação de Compostos Fenólicos nas Raízes de *Celtis Iguanaea (Jacq.) Sarg* [Internet]. In: XV Simpósio de Ensino, Pesquisa e Extensão. 2011 [citado 2016 dez.].

Disponível em:

<http://www.unifra.br/eventos/sepe2011/Trabalhos/saude/Resumo/1560.pdf>

94 Nascimento DL. Biopirataria na Amazônia: Uma Proposta Jurídica de Proteção Transnacional da Biodiversidade e dos Conhecimentos Tradicionais Associados. Curitiba. Juruá. 2010, 158 p.

95 Weber CR, Soares CM, Lopes AB, Silva TS, Nascimento MS, Ximenes EC. *Anadenanthera colubrina*: um estudo do potencial terapêutico. Rev Bras Farm. 2011;92(4):235-44.

96 Angelim AES, Moraes JPS, Silva JAB, Gonçalves-Gervásio RD. Germinação e aspectos morfológicos de plantas de Macambira (*Bromelia laciniosa*), encontradas na região do Vale do São Francisco. Rev Bras Biociências. 2008;5(S2):1065.

97 Pereira AV, Santana GM, Góis MB, Ana DM. Tannins obtained from medicinal plants extracts against pathogens: antimicrobial potential. Formatex. 2015;228–35.

98 Macêdo C, Gomes A, Cláudio L, Macêdo C, Filho B. Antimicrobial activity of medicinal of medical plants of caatinga ( semi-arid ) vegetation of NE Brazil. Curr Top Phytochemistry. 2006.

99 Lima RF, Alves ÉP, Rosalen PL, Ruiz ALTG, Teixeira Duarte MC, Góes VFF, et al. Antimicrobial and Antiproliferative Potential of *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan. Evid Based Complement Alternat Med. [Internet]. 2014:1–7. Disponível em: <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84904698663&partnerID=tZOtx3y1>

100 Food and Agriculture Organization. *Canavalia brasiliensis* Mart. ex Benth [Internet]. [citado 2016 dez.]. Disponível em: <http://www.fao.org/ag/agp/agpc/doc/gbase/data/canbras.htm>

101 Rodrigues ACC, Osuna JTA, Queiroz SROD, Rios APS. Efeito do substrato e luminosidade na germinação de *Anadenanthera colubrina* (Fabaceae, Mimosoideae). Rev Árvore. 2007;31(2):187-93.

102 Jeller H, Perez SDA. Condicionamento osmótico na germinação de sementes de cássia-do-nordeste sob estresse hídrico, térmico e salino. Pesquisa Agropecuária Brasileira. 2003;38(9):1025-34.

103 Brasil. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Norma M7-A6, de janeiro de 2003. Metodologia dos Testes de Sensibilidade a Agentes Antimicrobianos por Diluição para Bactéria de Crescimento Aeróbico. Brasília. 23(2). [citado 2016 fev.]. Disponível em: [http://www.anvisa.gov.br/servicos/saude/manuais/clsi/clsi\\_OPASM7\\_A6.pdf](http://www.anvisa.gov.br/servicos/saude/manuais/clsi/clsi_OPASM7_A6.pdf)

104 Matos FJA. Introdução à fitoquímica experimental. Fortaleza. Edições UFC. 1997; 150 p.

105 Ostrosky EA, Mizumoto MK, Lima MEL, Kaneko TM, Nishikawa SO, Freitas BR.

Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. *Braz J Pharmacogn.* 2008;18(2):301–7.

106 Ayres MCC, Brandão MS, Vieira-Júnior GM, Menor JCAS, Silva HB, Soares MJS, et al. Atividade antibacteriana de plantas úteis e constituintes químicos da raiz de *Copernicia prunifera*. *Braz J Pharmacogn.* 2008;18(1):90–7.

107 Trevisan RR, Lima CP, Miyazaki CMS, Pesci FA, Silva CB, Hirota BCK, et al. Avaliação da atividade fitotóxica com enfoque alelopático do extrato das cascas de *Celtis iguanaea* (Jacq.) Sargent Ulmaceae e purificação de dois triterpenos. *Rev Bras Plant Med* [Internet]. 2012;14(3):494–9. [citado 2016 jan.]. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516-05722012000300011&lng=en&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-05722012000300011&lng=en&nrm=iso&tlng=pt)

108 Cushnie TPT, Cushnie B, Lamb AJ. Alkaloids: an overview of their antibacterial, antibiotic-enhancing and antivirulence activities. *Int J Antimicrob Agents.* [Internet]. 2014;44(5):377–86. [citado 2016 jan.]. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25130096>

109 Kim WJ, Kim YO, Kim JH, Nam BH, Kim DG, An CM, et al. Liquid Chromatography-Mass Spectrometry-Based Rapid Secondary-Metabolite Profiling of Marine *Pseudoalteromonas* sp. M2. *Mar Drugs.* [Internet]. 2016;14(1):24. [citado 2016 jan.]. Disponível em: <http://www.mdpi.com/1660-3397/14/1/24/htm>

110 Lei Q, Liu H, Peng Y, Xiao P. In silico target fishing and pharmacological profiling for the isoquinoline alkaloids of *Macleaya cordata* (Bo Luo Hui). *Chin Med* [Internet]. 2015;10:37. [citado 2016 jan.]. Disponível em : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26691584>

111 Sousa ZL, Oliveira FF, Conceição AO, Silva LAM, Rossi MH, Santos JS, et al. Biological activities of extracts from *Chenopodium ambrosioides* Lineu and *Kielmeyera neglecta* Saddi. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* [Internet]. 2012;11(20). [citado 2016 jan.]. Disponível: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3475072&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

112 Paula JAM, Silva MRR, Costa MP, Diniz DGA, Sá FAS, Alves SF, et al. Phytochemical Analysis and Antimicrobial, Antinociceptive, and Anti-Inflammatory Activities of Two Chemotypes of *Pimenta pseudocaryophyllus* (Myrtaceae). *Evid Based Complement Alternat Med* [Internet]. 2012;2012. [citado 2016 jan.]. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/ecam/2012/420715/abs/>

113 Taleb-Contini SH, Salvador MJ, Watanabe E, Ito IY, Oliveira DCRD. Antimicrobial activity of flavonoids and steroids isolated from two *Chromolaena* species. *Rev Bras Ciênc Farm.* 2003;39(4):403-8.

114 Gonçalves AL, Alves Filho A, Menezes H. Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas. [Internet]. *Arq Inst Biol.* 2005:353-8. [citado 2016 jan.]. Disponível em:

[http://200.144.6.109/docs/arq/V72\\_3/goncalves.PDF](http://200.144.6.109/docs/arq/V72_3/goncalves.PDF)

115 Gelatti LC, Bonamigo RR, Becker AP, d'Azevedo PA. *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina: disseminação emergente na comunidade. [Internet]. Na Bras Dermatol. 2009:501-6. [citado 2016 jan.]. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/abd/v84n5/v84n05a09.pdf>

116 Santos ASR. Biodiversidade, Bioprospecção, Conhecimento Tradicional e Futuro da Vida. Rev Info Tec, UNICAMP. [Internet]. 2001. [citado 2016 jan.]. Disponível em: <http://www.ccuec.unicamp.br/revista/navegacao/infotec.html>