



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA**

ANNA FLÁVIA COSTA FERNANDES

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO
ETANÓLICO E FASES PARTICIONADAS DE *Myracrodruon*
urundeuva Fr. Allemão (AROEIRA-DO-SERTÃO)**

Campina Grande

2011

ANNA FLÁVIA COSTA FERNANDES

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO
ETANÓLICO E FASES PARTICIONADAS DE *Myracrodruon*
urundeuva Fr. Allemão (AROEIRA-DO-SERTÃO).**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao curso de Farmácia da
Universidade Estadual da Paraíba,
como exigência para a obtenção do
grau de bacharel.

Orientadora: Profa. Dr^a Raïssa Mayer
Ramalho Catão

Campina Grande

2011

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL – UEPB

F363a Fernandes, Anna Flávia Costa.

Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato etanólico e fases particionadas de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (Aroeira-do-sertão) [manuscrito] / Anna Flávia Costa Fernandes. – 2011.
50 p.: il. color.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) – Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2011.

“Orientação: Profa. Dra. Raïssa Mayer Ramalho Catão, Departamento de Farmácia”.

1. Plantas Medicinais. 2. Fitoterapia. 3. Aroeira. 4. *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. 5. Medicina Popular.
I. Título.

21. ed. CDD 581.634

ANNA FLÁVIA COSTA FERNANDES

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO ETANÓLICO E
FASES PARTICIONADAS DE *Myracrodruon urundeuva* Fr. Allemão (AROEIRA-
DO-SERTÃO)**

Monografia apresentada ao curso de Farmácia da Universidade Estadual da Paraíba para obtenção do título de bacharel em Farmácia com habilitação Generalista, aprovada pela banca formada pelos seguintes docentes:

Campina Grande, 07/06/2011



Profa. Dr^a Raissa Mayer Ramalho Catão – UEPB
Orientadora



Prof. Dr. Harley da Silva Alves – UFCG
Examinador



Prof. Dr. Thúlio Antunes de Arruda - UEPB
Examinador

*“Que os vossos esforços desafiem as impossibilidades,
lembrai-vos de que as grandes coisas do homem foram
conquistadas do que parecia impossível.”*

(Charles Chaplin)

Dedico este trabalho:

Aos meus pais, José Alcides e Marilene.

Minhas irmãs, Carmencita e Patrícia.

A todos os professores da minha formação universitária.

Aos amigos e colegas de graduação.

A minha sobrinha Layslla, que tornou tudo mais colorido com sua chegada.

AGRADECIMENTOS

À Deus, acima de tudo

Aos meus pais, por todo esforço feito em vida para que tivéssemos uma boa educação e formação profissional.

As minhas irmãs, pela ajuda, orientação e compreensão nos momentos de necessidade;

A minha orientadora Profa. Dr. Raïssa Mayer Ramalho Catão, pela grande oportunidade de crescimento e aprendizado durante meu tempo de trabalho no Laboratório de Pesquisa em Atividades Antimicrobiana, do qual sinto orgulho ter feito parte, não apenas pelos ensinamentos acadêmicos e profissionais, por toda experiência adquirida, mas também pela maravilhosa convivência e lições de vida aprendidas, que levarei por toda vida.

Ao professor Dr. Harley da Silva Alves, pela paciência, incentivo, dedicação, ensinamentos e auxílio durante todo este estudo, mais que um professor, já o considero um grande amigo. E que este tenha sido apenas o primeiro de muitos projetos a serem desenvolvidos em parceria.

Ao professor Thúlio Antunes de Arruda, pelo infinito estímulo à pesquisa, como também as suas pesquisas iniciais que levaram a planta medicinal escolhida para este estudo.

Ao LABDEM (Laboratório de Desenvolvimento e Ensaio de Medicamentos), dirigido pela profa. Dra. Ana Cláudia Dantas de Medeiros, pela contribuição e ajuda em momentos cruciais.

Ao LAPECA, pelo espaço cedido em seus laboratórios.

A profa. Dra. Maria Célia de Oliveira Chaves, pela disponibilidade do LTF, para algumas pesquisas.

Aos companheiros do Laboratório de Pesquisa em Atividades Antimicrobiana, em especial Luanne, pela cobertura e compreensão nos meus momentos de ausência.

A todos que não foram citados, mas que deram grandes contribuições.

RESUMO

FERNANDES, Anna Flávia Costa. **Avaliação da Atividade Antimicrobiana do Extrato Etanólico e Fases Particionadas de *Myracrodruon urundeuva* Fr. Allemão (Aroeira-do-Sertão)**. Trabalho de Conclusão de Curso (bacharel em Farmácia). Universidade Estadual da Paraíba. Campina Grande-PB, 2011.

A utilização de plantas para fins medicinais é algo que está intimamente ligado com a história da civilização humana, desde seus usos *in natura*, na forma de chás, infusos, macerados e outros, até produção de medicamentos a base das mesmas. *Myracrodruon urundeuva* Fr. Allemão (aroeira-do-sertão) é muito conhecida popularmente por suas propriedades medicinais cicatrizantes, anti-inflamatórias, antibióticas, entre outras. Procurando demonstrar cientificamente esse saber popular, o estudo objetivou avaliar o espectro da atividade antimicrobiana do extrato etanólico e fases particionadas de *Myracrodruon urundeuva* Fr. Allemão (aroeira-do-sertão) frente às cepas padrão ATCC: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 e *Escherichia coli* ATCC 25922. Utilizando a técnica *in vitro* de Difusão em Disco para os testes iniciais na concentração de 100 mg/mL do extrato etanólico bruto (EEB) e fases particionadas: metanol:H₂O (MeOH:H₂O), metanol (MeOH), acetato de etila (ACOEt) diclorometano (CH₂Cl₂) e hexano (Hex), como também para a determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) do EEB e fases particionadas ativas, as atividades dos produtos-teste são baseadas na medição de halos de inibição de crescimento em milímetros produzidos pela difusão dos mesmos no meio cultura definido. Os resultados demonstraram que o EEB e as fases demonstraram atividade positiva frente à cepa de *S. aureus* ATCC 25923. Excetuando a fase Hex, o EEB e as outras fases também apresentaram atividade frente à cepa de *P. aeruginosa* ATCC 27853. Para essas duas cepas a CIM foi determinada entre as concentrações de 6,25 e 12,5 mg/mL, respectivamente. Para a cepa de *E. coli* ATCC 25922, nem o extrato e nem as fases apresentarem atividade. Essa atividade pode estar relacionada com os constituintes químicos da planta e seus respectivos mecanismos de ação relacionados a interação particular com cada micro-organismo, levando ou não a inibição de sua proliferação.

Palavras-chave: Atividade Antimicrobiana, *Myracodruon urundeuva* Fr. Allemão, Aroeira-do-sertão.

ABSTRACT

FERNANDES, Anna Flávia Costa. **Evaluation of Antimicrobial Activity of Ethanol Extract and Phases Partitioned of *Myracrodruon Urundeuva* Fr. Allemão (Aroeira-do-Sertão).** Of completion of course work (bacharel in Pharmacy) Universidade Estadual da Paraíba. Campina Grande – PB, 2011.

The use of plants for medicinal purposes is something that is intimately linked with the history of human civilization, from its uses in nature, as teas, infusions, macerated and others, to the production of drugs based on them. *M. urundeuva* Fr. Allemão (Aroeira-do-sertão) is very popularly known for its medicinal properties healing, anti-inflammatory, antibiotic, among others. Trying to demonstrate scientifically that popular wisdom, the study aimed to evaluate the spectrum of antimicrobial activity of ethanol extract and partitioned stages of *M. urundeuva* Fr Allemão (aroeira-do-sertão) compared to ATCC strains: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 and *Escherichia coli* ATCC 25922. Using the technique of in vitro disc diffusion for initial tests at a concentration of 100 mg/ml of the ethanol crude extract (ECE) and partitioned phases: methanol:H₂O (MeOH:H₂O), methanol (MeOH), ethyl acetate (EtOAc), dichloromethane (CH₂Cl₂) and hexane (Hex), but also for determining the minimum inhibitory concentration (MIC) of ECE and partitioned active phases, the activities of the test products are based on measuring the inhibition of growth in 'mm' produced by dissemination of culture through the same set. The results showed that the ECE and the phases positive activity against the strain of *S.aureus* ATCC 25923. Except for the phase of Hex, the ECE and the other phases also showed activity against strains of *P. aeruginosa* ATCC 27853. For these two strains the MIC was determined between the concentrations of 6.25 and 12.5 mg / mL, respectively. For the strain of *E. coli* ATCC 25922, neither the extract nor the activity phases present. This activity may be related to the chemical constituents of the plant and their mechanisms of action related to interaction with each particular micro-organism, causing or inhibiting their proliferation.

Keywords: Antimicrobial activity, *M. urundeuva* Fr. Allemão, Aroeira-do-sertão.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – <i>Myracrodruon urundeuva</i> Fr. Allemão.....	19
Figura 2 – Folhas de <i>Myracrodruon urundeuva</i> Fr. Allemão.....	20
Figura 3 – Caule de <i>Myracrodruon urundeuva</i> Fr. Allemão.....	21
Figura 4 – Fotografia da atividade antimicrobiana das diferentes fases do extrato etanólico bruto da aroeira-do-sertão frente à cepa de <i>E. coli</i> ATCC 25922, onde I – DMSO; II – MeOH:H ₂ O; III – MeOH; IV – ACOEt; V – CH ₂ Cl ₂ , VI – Hex.....	32
Figura 5 – CIM da fase MeOH da aroeira-do-sertão frente a cepa de <i>S. aureus</i> ATCC 25923, na qual cada disco possui as seguintes concentrações [mg/mL]: I -100; II – 50; III – 25; IV – 12,5; V – 6,25 e VI – 3,125.....	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características gerais dos principais gêneros de Aroeira.....	18
Tabela 2 – Classe de compostos presentes em plantas com atividade antimicrobiana.....	25
Tabela 3 – Determinação da atividade antimicrobiana <i>in vitro</i> do extrato etanólico bruto de aroeira frente às cepas padrão ATCC.....	30
Tabela 4 – Determinação da atividade antimicrobiana <i>in vitro</i> das frações do extrato etanólico de aroeira-do-sertão frente às cepas padrão ATCC.....	32
Tabela 5 – Determinação da Concentração Inibitória Mínima do extrato etanólico da aroeira-do-sertão frente às cepas padrão ATCC	34
Tabela 6 – Determinação da Concentração Inibitória Mínima das frações ativas da aroeira-do-sertão frente a <i>S. aureus</i> ATCC 25923.....	35
Tabela 7 – Determinação da Concentração Inibitória Mínima das frações ativas da aroeira-do-sertão frente a <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853.....	35

ABREVIATURAS

ACOEt – Acetato de etila

AMH – Ágar Müller-Hinton

ATCC – American Type Culture Collection

A. urundeuva Engl. – *Astronium urundeuva* Engl.

BHI – Brain Heart Infusion

CH₂Cl₂ – Diclorometano

CIM – Concentração Inibitória Mínima

CSLI - Clinical Laboratory Standards Institut

DMSO – Dimetil Sulfóxido

EEB – Extrato Etanólico Bruto

Hex – Hexano

L. molleoides (Vell) Engl. – *Littrhaea molleoides* (Vell) Engl.

MeOH – Metanol

MeOH:H₂O – Metanol:H₂O

M. urundeuva – *Myracrodruon urundeuva* Fr. Alemão

NaCl – Cloreto de sódio

SAIACLIN (*S. aureus* isolados de amostra clínica)

S. aureus – *Staphylococcus aureus*

S. terebinthifolius – *Schinus terebinthifolius* Raddi

P. aeruginosa – *Pseudomonas aeruginosa*

E. coli - *Escherichia coli*

UFC – Unidade Formadora de Colônia

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. OBJETIVOS.....	15
2.1. GERAL.....	15
2.2. ESPECÍFICOS.....	15
3. REFERENCIAL TEÓRICO.....	16
3.1. PLANTAS MEDICINAIS.....	16
3.2. FAMÍLIA ANACARDIACEAE.....	17
3.3. GÊNERO AROEIRA.....	17
3.3. <i>Myracrodruon urundeuva</i> Fr. ALL.	18
3.4. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.....	22
3.5. ANTIMICROBIANOS DE ORIGEM VEGETAL	23
4. METODOLOGIA	26
4.1. LOCAL DA PESQUISA	26
4.2. MATERIAL	26
4.2.1. Material Vegetal	26
4.2.2. Micro-organismos	26
4.2.3. Meios de Cultura.....	26
4.3. MÉTODOS	27
4.3.1. Obtenção do Extrato Etanólico Bruto (EEB)	27
4.3.2. Obtenção das Frações.....	27
4.3.3. Concentração do Teste.....	27
4.3.4. Preparação do Inóculo Bacteriano.....	27
4.3.5. Preparação dos Discos.....	28
4.3.6. Determinação da Atividade Antimicrobiana.....	28
4.3.7. Determinação Da Concentração Inibitória Mínima - CIM.....	28
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30
5.1. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EEB DA AROEIRA-DO-SERTÃO	30
5.2. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DAS FRAÇÕES DO EEB DA AROEIRA-DO-SERTÃO	31
5.3. DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA – CIM DO EEB DA AROEIRA-DO-SERTÃO	33
5.4. DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA DAS FRAÇÕES ATIVAS	34
5. CONCLUSÃO.....	38
6. REFERÊNCIAS.....	39
ANEXOS	49

1. INTRODUÇÃO

A fitoterapia é uma terapêutica tradicional recomendada internacionalmente pela OMS como forma de apoio a ações de atendimento primário à saúde (AKERELE; SYNGE, 1991; WENIGER, 1991).

Desde os tempos mais remotos as plantas são utilizadas pelo homem como fonte de alimento e no tratamento de várias doenças (BENDAZZOLI, 2000). Dentro desse contexto deve-se ressaltar a importância que as plantas medicinais vêm adquirindo no mundo inteiro, visto que a produção de medicamentos e o tratamento das doenças tiveram início com o uso das mesmas. Desde o início da história as espécies vegetais sempre foram usadas como infusos, macerados, sucos, tinturas, filtrados e cataplasmas, para o tratamento das mais variadas enfermidades (ALONSO, 1998; ORLANDI; VERVLOET, 1983).

A vasta gama de informações sobre o uso de centenas de plantas como “remédios” leva à necessidade de se desenvolver métodos que facilitem a enorme tarefa de avaliar cientificamente o valor terapêutico de espécies vegetais. Como a maior parte da flora é ainda desconhecida do ponto de vista químico, predominantemente em países em desenvolvimento, a perda da biodiversidade e o acelerado processo de mudança cultural acrescentam um senso de urgência em garantir o registro desse saber, inclusive para uso científico (SIMÕES et al., 2004).

Uma das principais aplicações desse saber científico se encontra no âmbito das Ciências Farmacêuticas, responsáveis pela criação e produção de novos medicamentos de origem vegetal (MATOS, 1997). Estratégias baseadas na pesquisa químico-taxonômica, associadas a estudos etnofarmacológicos, têm sido aplicadas a várias áreas terapêuticas, tais como câncer (DUKE, 1986), analgésicos (ELISABETSKY et al.; CASTILHOS, 1990), imunomoduladores (LABADIE et al., 1989), alergia (ELISABETSKY et al.; GELY, 1987), antimicrobianos (CACERES et al., 1990) e antivirais (VLITINCK et al.; VAN DER BERGHE, 1991).

A partir da década de 50, a revolução no tratamento das infecções bacterianas com a descoberta e uso da penicilina, provocaram em muitos uma enorme euforia, a ponto de originar a previsão antecipada de que as doenças bacterianas estariam vencidas e, em breve, seguramente esquecidas. Entretanto as bactérias patogênicas desenvolveram progressivamente resistência a uma

variedade de antibióticos (MURRAY et al.; 1999, SADER et al.; 2001, PEREIRA et al.; 2004).

Com isso, os conhecimentos sobre determinadas plantas com propriedades antimicrobianas têm sido revistos e ampliados para possível substituição ou diminuição do uso de antibióticos, os quais têm produzido diversos efeitos secundários e mecanismos de resistência (RECIO et al., 1989). Tais propriedades, sempre estão relacionadas aos compostos oriundos do metabolismo secundário das plantas, podendo-se citar os alcalóides, flavonóides, taninos, glicosídeos, terpenos, poliacetilenos e cumarinas (FARNSWORTH, 1996; BARBOSA-FILHO, 1990).

2. OBJETIVOS

2.1. GERAL

- Avaliar o espectro de atividade antimicrobiana do extrato etanólico e fases particionadas de *Myracrodruon urundeuva* Fr. Allemão (aroeira-do-sertão) frente a cepas padrão ATCC.

2.2. ESPECÍFICOS

- Preparar o extrato etanólico bruto (EEB) da aroeira-do-sertão;
- Realizar a partição em solventes de polaridade crescente do EEB;
- Avaliar a atividade antimicrobiana do EEB;
- Avaliar a atividade antimicrobiana das frações MeOH:H₂O (Metanol:H₂O), MeOH (Metanol), ACOEt (Acetato de Etila), CH₂Cl₂ (diclorometano) e Hex (hexano);
- Determinar a Concentração Inibitória Mínima - CIM do EEB;
- Determinar a Concentração Inibitória Mínima - CIM das fases particionadas que apresentaram atividade positiva;

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. PLANTAS MEDICINAIS

Um dos primeiros esforços do homem para entender e utilizar a natureza pode-se dizer que vem da utilização de certos vegetais com poder curativo. O uso dessas plantas no combate a doenças é tão antigo quanto à humanidade (OLIVEIRA; AKISUE, 1998). As pessoas utilizam plantas na preparação de “remédios” há tempos, pois elas, com os princípios ativos, tinham poder terapêutico e eram consideradas plantas medicinais (NOVAES et al., 2003).

A história da fitoterapia confunde-se com a história da Farmácia, pois até o século passado, os medicamentos utilizados eram à base de plantas medicinais (TOLEDO, 2002). Plantas com propriedades terapêuticas utilizadas no cuidado da saúde constituem importante fonte de novos compostos biologicamente ativos (CEBALLOS et al., 1993; COWAN, 1999; FARIAS; LIMA, 2000; BELÉM, 2002; MICHELIN et al., 2005).

Segundo Harvey (2000), aproximadamente 60% da população mundial depende quase que inteiramente de plantas para medicação, sendo estas as fornecedoras da maioria dos ingredientes ativos de produtos da medicina tradicional. Estes dados estão próximos das informações da Organização Mundial de Saúde (OMS), a qual estima que cerca de 80% da população dos países em desenvolvimento utilizam a medicina tradicional para os cuidados primários de saúde e, que em torno de 85% da medicina tradicional envolve o uso de plantas medicinais, seus extratos vegetais e seus princípios ativos (WHO, 1991).

Atualmente em diversos países, um grande número de vegetais vem sendo utilizado como fonte alternativa de extração de fármacos para a indústria farmacêutica. Estimativas revelam que o mercado mundial de produtos farmacêuticos movimenta cerca de US\$ 320 bilhões/ano, nos quais US\$ 22 bilhões são oriundos de fontes naturais. Dados ainda mostram que cerca de 60% dos fármacos lançados no mercado norte-americano entre 1985 e 1995 são de origem natural (SIMÕES et al., 2004). E quando não são derivadas diretamente de produtos naturais, apresentam a participação desses produtos em algum momento de sua produção (FERREIRA, 2006).

A diversidade de espécies encontradas nos biomas brasileiros constitui uma das mais importantes fontes de princípio ativo do planeta (BIESKI, 2005) e, ainda

coloca o país como um grande campo para a pesquisa de novos medicamentos. A quantidade de espécies vegetais encontradas na flora nacional, incluindo a América do Sul é algo incontável atualmente, e como representante característico pode-se citar a família Anacardiaceae.

3.2. FAMÍLIA ANACARDIACEAE

Possui distribuição tropical e subtropical, incluindo cerca de 70 gêneros e 700 espécies em todo o território mundial. No Brasil ocorrem 15 gêneros e cerca de 70 espécies, arbustos ou árvores, raramente lianas ou ervas, aromáticos, fruto em geral drupa ou sâmara (LORENZI, 2005).

A família Anacardiaceae possui representantes com importância alimentar, como manga (*Mangifera indica* L.), caju (*Anacardium occidentale* L.), seriguela (*Spondias mombin* L.) e pistache (*Pistacia vera* L.) (BARROSO, 1991; JUDD et al., 1999; LORENZI, MATOS, 2002). Algumas são empregadas na medicina tradicional como cicatrizante, estomáquico e antidiarreico, pela presença de taninos e óleos-resinas, a exemplo do caju-do-cerrado (*Anacardium humile* A. St. Hil.), da aroeira-do-sertão (*Myracrodruon urundeuva* Fr. Allemão) e do pimenteiro (*Schinus molle* L.) (SANGUINETTI, 1989; CRUZ, 1995; ALONSO, 1998; LORENZI, MATOS, 2002). Outras, do ponto de vista médico, revelam-se ser de interesse ao causarem dermatites em indivíduos suscetíveis, devido à catecóis presentes na resina secretada (CRONQUIST, 1981; JUDD et al., 1999).

3.3. GÊNERO AROEIRA

O termo aroeira tem sido usado para designar plantas classificadas em três gêneros da família Anacardiaceae: *Lithraea*, *Schinus* e *Astronium*. A aroeira-do-sertão ou aroeira-preta é a *Myracrodruon urundeuva* Allemão, que possui os sinônimos *Astronium juglandifolium* Griseb. e *Astronium urundeuva* Engl. (SANTOS, 1987; MORAES & FREITAS, 1997).

O gênero *Schinus* apresenta cerca de 10 espécies, espalhadas principalmente pela América do sul (CARVALHO, 1994).

O gênero *Astronium*, estabelecido por Jacquin em 1760, pertence à família Anacardiaceae, é neotropical e reúne espécies arbóreas, com frutos de cálice

persistente e acrescente no fruto, que resulta num aspecto estrelado, sendo esta característica que dá nome ao gênero (SANTIN, 1991).

Tabela 1 – Características gerais dos principais gêneros de Aroeira.

Gênero	<i>Schinus</i>	<i>Lithraea</i>	<i>Astronium</i>
Espécie	<i>S. terebinthifolius</i> Raddi	<i>L. molleoides</i> (Vell) Engl.	<i>A. urundeuva</i> Engl.
Nomes Populares	Aroeira-vermelha, aroeira-pimenteira.	Aroeira-branca, aroeira-brava.	Aroeira-preta, aroeira-do-sertão.
Conhecimento Popular	Antisséptica, anti-inflamatória, antimicrobiana.	Tóxica: produzindo reações na epiderme e gastrintestinais por ingestão.	Anti-inflamatória, cicatrizante.
Constituintes	Óleos essenciais, biflavonóides, taninos, ácidos triterpênicos.	Óleos voláteis: felandreno, carvacrol e pineno.	Óleos essenciais, taninos, lignanas, chalconas, flavonoides.

Fonte: (DEGASPARI; WASZCZYNSKY, 2004; GRISSI, F. A., 2010).

3.3. *Myracrodruon urundeuva* Fr. ALL.

Até 1991, *Myracrodruon* era um subgênero do gênero *Astronium*. O gênero *Myracrodruon* foi revelado e a espécie *Astronium urundeuva* (Fr. Allem.) Engl. passou a ser novamente denominada de *Myracrodruon urundeuva* Fr. Allemão (SANTIN, 1989; SANTIN & LEITÃO-FILHO, 1991).

Myracrodruon urundeuva Fr. Allemão, conhecida como aroeira-do-sertão, é um representante arbóreo da família Anacardiaceae de distribuição natural limitada à América do Sul. No Brasil, a espécie ocorre nas regiões nordeste, sudeste e centro-oeste, associada a ambientes secos de cerrado, savanas e caatingas (SANTIN, 1989).



Figura 1: *Myracrodruon urundeuva* Fr. Allemão

Fonte: ESAN, 2001.

É uma árvore frondosa, com cerca de 5-20 m de altura, possui folhas compostas, imparipinadas, com 5-7 pares de folíolos ovado-obtusos, pubescentes em ambas as faces da lâmina foliar, quando jovens (LORENZI 1992). Considerada madeira de lei, ela é muito densa, dura, elástica, resistente a cupins, recebe excelente polimento e, quando seca, é de difícil trabalhabilidade. As inflorescências se apresentam em panículas terminais unissexuais. O fruto mostra-se em uma drupa globosa pequena e agrupadas em um conjunto pendente de muitos frutinhas (SANTOS, 1987; RIZZINI, 1995; MORAES & FREITAS, 1997).



Figura 2: Folhas de *Myracrodruon urundeuva* Fr. Allemao

Fonte: Fernando Tatagiba, 2007.

É uma das principais plantas utilizadas na medicina tradicional nordestina, secularmente conhecida pelo uso do extrato aquoso do caule (casca) sob a forma de semicúpio (“banho-de-assento”) após o parto. Indicada como anti-inflamatória e cicatrizante no tratamento de ferimentos, gastrites, úlceras gástricas, cervicites, vaginites e hemorroidas (LORENZI & MATOS, 2002). Externamente, o decocto da entrecasca é usado para combater as úlceras de pele (BALBACH, s. d. MATOS, 1998). Juntos, o decocto dos ramos e da entrecasca também são utilizados no tratamento das inflamações ovarianas e diarreias. Na forma de lambedor, o decocto da entrecasca é utilizado nos tratamentos das tosses, bronquites e coqueluches (AGRA, 1996).

Ensaio farmacológicos comprovaram suas ações adstringente, anti-inflamatória, antialérgica e cicatrizante (MATOS, 2002). A atividade anti-ulcerogênica *in vitro* do extrato aquoso foi comprovada também por Rao et al. (1987) em lesões gástricas de ratos, induzidas por aspirina. Além de discreta ação antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*, especialmente em uso local. Desmacchelier e colaboradores (1999) verificaram as atividades antioxidantes e anti-radicaís livres dos extratos metanólicos de espécies da caatinga, a maior atividade de todos os extratos testados foi atribuída ao extrato de *M. urundeuva*, sugerindo ainda a sua ação anti-inflamatória.

Gonzalez Torres (1986) ressalta o emprego medicinal, cita o uso das folhas como febrífugo e antirreumático; Moreira et al. (1994) e Coimbra (1994) fazem referência às propriedades tônicas e adstringentes, indicando o cozimento das cascas para o tratamento de feridas, inflamações e até como antidiarreica.

Coimbra (1994) também se refere a várias formas de preparo, como infusões, extratos, tinturas e xaropes, empregados para o tratamento de doenças das vias urinárias e respiratórias.

Estudos realizados a partir da sua entrecasca resultaram na separação de sete frações químicas, sendo duas com substâncias bioativas de atividade farmacológica: uma chalcônica – as chalconas diméricas, conhecidas como urundevina A, B e C e outra tânica – os taninos condensados tipo catéquico e pirogálico (BANDEIRA, 2002; LORENZI & MATOS, 2002; SOUZA et al., 2007). A presença de fisetina no extrato etéreo indica que seus taninos são do tipo profisetidinas. A elevada quantidade de extrativos fenólicos classifica essa madeira como muito rica em metabólitos secundários, que podem ou não estar associados com a lignina e que, provavelmente, são responsáveis pela larga resistência natural à degradação química e biológica (QUEIROZ et al, 2002).



Figura 3: Caule de *Myracrodruon urundeuva* Fr. Allemão

Fonte: en.wikipedia.org/wiki/Myracrodruon_urundeuva, 2011.

Além dos taninos, foi identificada a presença de flavonóides biologicamente ativos classificados como pigmentos polifenólicos diversificados que exercem diversas funções no vegetal, reconhecidos como eficientes protetores contra radiação ultravioleta e encontrados nos tecidos foliares (SIMÕES et al., 2004; OLIVEIRA et al., 2006). Foram isolados ainda compostos mais apolares como o cicloeucalenol e a cicloeucalenona, a partir do extrato hexânico da entrecasca, que apresentaram atividade antioxidante (DANTAS, 2003).

Em razão do seu aroma típico, as folhas foram analisadas quanto à presença de óleos essenciais, sendo identificados dezesseis constituintes voláteis, como por exemplo, o β -cariofileno, principal constituinte extraído do óleo essencial das folhas (VIANA et al., 1995; SÁ, 2008).

3.4. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Os antimicrobianos são classificados de acordo com sua atividade em bactericidas ou bacteriostáticos. A atividade bactericida mata os micro-organismos e é mais eficaz durante o crescimento logarítmico, uma vez que o aumento da atividade metabólica proporciona susceptibilidade máxima. A atividade bacteriostática apenas previne o crescimento bacteriano (THOMPSON; BEVAN, 1979).

Estão entre os mais notáveis exemplos do avanço da medicina moderna. Muitas doenças infecciosas, outrora consideradas incuráveis e letais são, hoje em dia, passíveis de tratamento com apenas alguns comprimidos. A atividade extraordinariamente poderosa e específica dos agentes antimicrobianos decorre de sua seletividade para alvos altamente específicos, que são exclusivos dos micro-organismos ou, muito mais importantes neles do que nos seres humanos. Entre esses alvos destacam-se as enzimas específicas envolvidas na síntese das paredes celulares de bactérias, os ribossomos bacterianos, as enzimas necessárias para a síntese de nucleotídeos, a replicação do DNA (ácido desoxirribonucleico) (KATZUNG, 2003).

As propriedades antimicrobianas têm sido comprovadas através de intensivas pesquisas no mundo todo. Geralmente, são estudadas, avaliadas e confirmadas por meio de ensaios biológicos *in vitro* (susceptibilidade e sensibilidade). Estes ensaios são realizados por meio de técnicas padronizadas,

incluindo os métodos de diluição e/ou difusão em meio sólido – disco, cavidade, cilindro (ESPINEL-INGROFF; PFALLER, 1995; WOODS; WASHINGTON, 1995). A pesquisa de atividade antimicrobiana pode ser analisada com a finalidade de se determinar o espectro antibacteriano ou antifúngico de um novo antibiótico ou ainda na verificação da resistência ou sensibilidade de uma bactéria ou fungo a numerosos antibióticos (VOLPATO, 2005).

3.5. ANTIMICROBIANOS DE ORIGEM VEGETAL

A moderna terapia antimicrobiana não apenas reduziu acentuadamente a taxa de morbidade e de mortalidade humana causada pelas infecções, mas também evitou a ocorrência de várias doenças (COHEN, 1992). Entretanto, simultaneamente ao crescente desenvolvimento de vários agentes antibacterianos, ocorreu também um aumento rápido na incidência da resistência bacteriana (NORBY; NORD, 2005).

Desde então, várias iniciativas têm surgido com o intuito de avaliar e controlar o crescimento de cepas com resistência antimicrobianas em todo o mundo (KUNIN, 1993). Numerosas pesquisas vêm comprovando cientificamente a eficácia de algumas plantas como alternativa terapêutica para certas patologias (BRAKUNI et al., 1974).

Novaes et al. (2003) citam que os vegetais são excelentes fontes de novas drogas, uma vez que a diversidade molecular dos produtos vegetais soa muito superiores às derivadas dos processos de síntese química, cada vez mais vem se utilizando plantas como objetos de pesquisas científicas no que diz respeito as suas propriedades, incluindo suas atividades antimicrobianas.

Diferentemente do que ocorre com os agentes antibióticos e quimioterápicos, há poucos registros na literatura quanto ao possível mecanismo de ação de produtos oriundos de plantas. Os compostos isolados de plantas são substâncias com estruturas químicas bem diferenciadas dos antimicrobianos obtidos a partir de bactérias, leveduras e de fungos. Tais produtos podem atuar no metabolismo intermediário ativando enzimas, alterando a ação de inibidores que influenciam os nutrientes do meio, interferindo nos processos enzimáticos em nível nuclear ou ribossomal, provocando alterações nas membranas ou ainda interferindo no metabolismo secundário (COWAM, 1999).

Esses produtos vegetais derivam de atividades metabólicas secundárias, no qual os mesmos são produzidos para uma ações diferenciadas, tais como: defesa contra predação por micro-organismos, insetos ou herbívoros; adaptação ao meio ambiente em que vivem (temperatura, umidade, altitude), etc., diferentemente dos metabólitos primários (açúcares, carboidratos, etc.) que são produzidos para a manutenção das funções vitais das plantas.

Os principais grupos de compostos com propriedades antimicrobianas, extraídos de plantas incluem: terpenóides e óleos essenciais (TORSSEL, 1989); alcaloides (FESSENDEN, 1982); lectinas e polipeptídios (TERRAS *et al.*, 1993; ZHANG & LEWIS, 1997) e substâncias fenólicas e polifenóis, que são: fenóis simples, ácidos fenólicos, quinonas (STERN *et al.*, 1996), flavonas, flavonóis e flavonóides (FESSENDEN, 1982), taninos (SCALBERT, 1991) e cumarinas (O'KENNEDY & THORNES, 1997). A tabela 2 mostra alguns compostos com atividade antimicrobiana, isolados de plantas.

Tabela 2 – Classe de compostos presentes em plantas com atividade antimicrobiana

NOME CIENTÍFICO	COMPOSTO	CLASSE	ATIVIDADE	REFERÊNCIA
<i>Thymus vulgaris</i>	Ac. Cafeico, Timol, Tanino	Álcool Fenólico Polifenol	Vírus, fungos e bactérias	THOMSON, 1978
<i>Podocar pusnagi</i>	Totarol Nagilactone	Flavonol Lactona	P. acnes, bact. Gram + Fungos	KUBO, 1994 KUBO, 1992 KUBO, 1993
<i>Curcuma longa</i>	Curcumina Óleo tumeric	Terpenóides	Bactéria, protozoário	APISARIYAKUL et al., 1995
<i>Valeriana officinalis</i>	Óleo essencial	Terpenóides	Vários	THOMSON, 1978
<i>Salix alba</i>	Salicina Tanino Óleo essencial	Fenólico glicosado Polifenol Terpenóide	Vários	
<i>Gautheria procumbens</i>	Taninos	Polifenol	Vários	HAMBURGUER, 1991
<i>Galium odoratum</i>		Cumarinas	Vários	BOSE, 1958; HAMBURGUER, 1991; SCHEEL, 1972
<i>Rumex crispus</i>			<i>E. coli</i> , <i>Salmonella</i> sp, <i>Staphylococcus</i> sp	THOMSON, 1978

4. METODOLOGIA

4.1. LOCAIS DA PESQUISA

O estudo foi desenvolvido nos laboratórios de Pesquisa do departamento de Farmácia, incluindo-se o Laboratório de Pesquisa em Atividades Antimicrobiana, onde foram realizados os testes microbiológicos. E no laboratório de Pesquisa em Ciências Ambientais (LAPECA) da UEPB, para a obtenção do extrato.

4.2. MATERIAIS

4.2.1. Material Vegetal

O material vegetal utilizado para o estudo foi proveniente das cascas da planta *Myracrodruon urundeuva* Fr. Allemão, adquirida comercialmente (distribuída pela Quimer - ervas e especiarias). O material veio acompanhado de seu laudo técnico (Anexo A) contendo os testes usados no controle de qualidade e consequente comprovação de sua autenticidade.

4.2.2. Micro-organismos

As cepas microbianas usadas para o estudo foram provenientes da American Type Culture Collection (ATCC): *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Cepas ATCC são recomendadas pelo CSLI (2005) para este tipo de avaliação por apresentarem estabilidade genética e são recomendadas para a monitorização de vários parâmetros de qualidade em microbiologia (SEJAS et al., 2003).

4.2.3. Meios de Cultura

Utilizou-se o Caldo de enriquecimento BHI (Brain Heart Infusion), para viabilidade dos micro-organismos em estoque e para o cultivo foi utilizado o meio Ágar Müller-Hinton. Todos foram preparados de acordo com as instruções e recomendações do fabricante DIFICO®.

4.3. MÉTODOS

4.3.1. Obtenção do Extrato Etanólico Bruto (EEB)

O material seco, pulverizado e pesando o equivalente a 1 kg foi submetido à maceração exaustiva utilizando etanol 96% como solvente, em recipiente de vidro âmbar hermeticamente fechado, sob agitação frequente, à temperatura ambiente.

Foram realizadas extrações, num total de sete, em intervalo de 72 horas, com a reposição do solvente. O macerado extraído passou pelos processos de expressão, filtração e evaporação do solvente em evaporador rotativo (QUIMIS®) à pressão reduzida com temperatura não superior a 50°C.

4.3.2. Obtenção das Fases

O EEB foi particionado de acordo com a solubilidade dos constituintes químicos presentes, em solventes de polaridade crescente. Foi utilizado 30 g do EEB para a partição líquido:líquido obtendo-se as seguintes fases: MeOH:H₂O (1,43g), MeOH (15,65g), ACoEt (2,79g), CH₂Cl₂ (0,69g) e Hex (0,27g). Com posterior eliminação dos solventes em evaporador rotativo e secagem.

4.3.3. Concentração do Teste

O EEB e as fases obtidas foram solubilizados em DMSO (dimetil sulfóxido), obtendo-se uma concentração de 100 mg/mL para os testes microbiológicos (OLIVEIRA; ORLANDO, 2005; VOLPATO, 2006).

4.3.4. Preparação do Inóculo Bacteriano

As cepas selecionadas foram semeadas nos meios de culturas apropriados após reativação do BHI, com 24h/37°C de incubação. Os inóculos foram preparados e padronizados em solução fisiológica estéril (NaCl 0,85%), com turbidez equivalente ao tubo nº 0,5 da escala Mc Farland, equivalente a 10⁶ UFC/mL (CLEELAND; SQUIRES, 1991; HADACEK; GREGER, 2000; CLSI, 2005).

4.3.5. Preparação dos Discos

Os discos de papel estéreis (Cefar®) foram previamente impregnados com 20 µL (CARVALHO et al., 2002; CHANDRASEKARAN & VENKATESALU, 2004) das soluções do extrato e fases, sendo aguardado cerca de 20 a 30 minutos para absorção das soluções antes da utilização dos mesmos. Para o controle negativo os discos foram impregnados com DMSO, na mesma quantidade.

Em suas pesquisas, Reis (2006) mostrou que não existe diferença entre os diferentes volumes utilizados e que os discos podem ser preparados ou não no momento do seu uso.

4.3.6. Determinação da Atividade Antimicrobiana

Foi realizada uma triagem da atividade antimicrobiana do EEB e suas fases pela técnica de difusão em disco: com auxílio de swabs estéreis mergulhados em solução salina contendo o inóculo bacteriano e semeados por toda superfície do meio de cultura apropriado em diversas direções, com obtenção de um crescimento uniforme, os discos, previamente preparados, foram distribuídos uniformemente sobre a superfície do meio (VLITINCK; VAN DEN BERGHE, 1991). As placas ficaram incubadas em estufa por 24h/37°C, após isso foi observado a formação de halos de inibição. E as leituras foram realizadas após este período, através da medição dos halos de inibição de crescimento (mm) por um halômetro (BAUER et al., 1966).

O estudo foi todo realizado em duplicata, com os resultados expressos pela média aritmética dos halos obtidos nos ensaios.

4.3.7. Determinação da Concentração Inibitória Mínima - CIM

A determinação da CIM do EEB e das fases ativas também foram realizados pela técnica de difusão em disco (CLEELAND; SQUIRES, 1991; HADACEK; GREGER, 2000).

Os produtos (concentração inicial equivalente a 100%) ativos, ou seja, os que apresentaram atividade antimicrobiana foram diluídos nas concentrações de 50%, 25%, 12,5%, 6,25% e 3,125% e novamente testados. Nesse estudo como a concentração inicial foi 100 mg/mL, então consequentemente para a CIM foram utilizadas as concentrações de 50; 25; 12,5; 6,25 e 3,125 mg/mL;

A CIM foi considerada como a menor concentração dos produtos testados capazes de inibir o crescimento bacteriano (presença de halo de inibição do crescimento), após incubação por 24h/37°C (FABRY, et al., 1998; CONSENTINO, et al., 1999; ALVES, 2000; CATÃO, 2007).

Os halos de inibição observados foram medidos com um halômetro, o resultado expresso pela média aritmética dos halos de inibição obtidos nos dois ensaios.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EEB DA AROEIRA-DO-SERTÃO

Nos resultados da avaliação da atividade antimicrobiana pelo método de disco difusão do extrato etanólico bruto (EEB) da aroeira, na concentração inicial de 100 mg/mL, sobre as cepas de *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853 e *S. aureus* ATCC 25923 verifica-se a presença de halos de inibição de crescimento bacteriano frente às cepas de *S. aureus* ATCC 25923 e *P. aeruginosa* ATCC 27853, com tamanhos de, respectivamente, 18 e 12 mm de diâmetro, mostrando que o extrato apresentou atividade para estas cepas. Entretanto o mesmo não apresentou atividade para a cepa *E. coli* ATCC 25922 (Tabela 3).

Segundo Catão (2007) o método de disco difusão é amplamente utilizado, reconhecido como preciso e seguro produzindo resultados semi-quantitativos (JANSSEN et al., 1987) ou qualitativos (KALODERA et al., 1997).

Nesta avaliação, a solução de DMSO a 2% foi também testada, isoladamente, para observar a possível interferência desta substância sobre a atividade antimicrobiana do EEB analisado. Entretanto, não foi observada nenhuma ação do DMSO frente às cepas ensaiadas, de modo que essa solução foi usada como controle negativo, ou seja, controle de um produto sem atividade antimicrobiana.

A avaliação da eficácia do EEB foi realizada com base no diâmetro do halo de inibição formado ao redor dos discos contendo o extrato. Foram considerados eficazes, isto é, com atividade antimicrobiana, a presença de halo de inibição de crescimento bacteriano ≥ 8 mm (CATÃO, 2007; NAQVI et al., 1991; SAKAR et al., 1988; WONG-LEUNG, 1998).

Tabela 3 – Determinação da atividade antimicrobiana *in vitro* do extrato etanólico bruto de aroeira-do-sertão frente às cepas padrão ATCC

Produtos Testados [Concentração]	Micro-organismos ensaiados		
	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853
	Média do diâmetro dos halos de inibição (mm)		
Extrato etanólico bruto [100 mg/mL]	18	0	12
DMSO [2%]	0	0	0

Legenda: 0 = Ausência de halo de inibição de crescimento.

5.2. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DAS FRAÇÕES DO EEB DA AROEIRA-DO-SERTÃO

O EEB foi particionado em cinco fases: MeOH:H₂O, MeOH, ACOEt, CH₂Cl₂, Hex. A partição do extrato bruto das plantas com solventes de polaridade distinta possibilita inferir as possíveis classes de substâncias bioativas extraídas de acordo com suas polaridades e solubilidades (SIMÕES et al., 2004). Todas as fases foram testadas utilizando-se o mesmo procedimento técnico empregado na avaliação da atividade antimicrobiana do EEB.

A Tabela 4 apresenta o resultado da atividade antimicrobiana das diferentes frações obtidas do EEB, frente às cepas padrão ATCC, verificando-se que todas mostraram-se ativas frente à cepa de *S. aureus* ATCC 25923, apresentando halos de inibição de crescimento com valores médios que variaram de 10,5 a 24 mm, respectivamente para as frações Hex e ACOEt.

De acordo com os estudos de Cardoso (2009) sobre *M. urundeuva*, viu-se que as substâncias das folhas extraídas com hexano não apresentaram atividade contra *S. aureus*, já as extraídas com etanol revelaram inibição. Para as outras, extraídas com acetona e acetato de etila, foi observado atividade inibitória, através da formação de regiões onde não houve crescimento celular.

Em relação à cepa de *P. aeruginosa* ATCC 27853, apenas a fase Hex do EEB não apresentou halo de inibição de crescimento bacteriano, As demais fases demonstraram atividade, apresentando variações nos valores médios nos diâmetros dos halos de inibição de crescimento de 8 a 17 mm, respectivamente para a fração CH₂Cl₂ e ACOEt. Mais uma vez a fração AcOEt apresentou halo com maior diâmetro.

É importante ressaltar que esta fração também apresentou halo de inibição de crescimento maior que o apresentado pelo EEB, este fato pode estar relacionado com a velocidade de difusão de seus constituintes, ou com uma possível inibição de sua difusibilidade pelos constituintes das outras fases, representado por um halo menor visto na atividade do EEB.

De acordo com Black (2002) substâncias de peso molecular mais baixo difundem-se mais rapidamente do que as substâncias de maior peso molecular, produzindo com isso halos de inibição maiores que as substâncias de alto peso molecular. Sendo assim, mesmo que a substância a ser testada seja um potente agente antimicrobiano, se for de peso molecular alto tende a formar um halo inibição

pequeno, devido à velocidade de difusão. Deste modo a técnica de difusão em disco não fornece embasamento suficiente para comprovar e comparar a efetividade de ação antimicrobiana de produtos-testes apenas pelos halos de inibição de crescimento apresentados.

Tabela 4 – Determinação da atividade antimicrobiana *in vitro* das frações do extrato etanólico de aroeira-do-sertão frente às cepas padrão ATCC

Frações Testadas [100mg/mL]	Micro-organismos ensaiados		
	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853
Média do diâmetro dos halos de inibição (mm)			
MeOH:H ₂ O	14	0	11,5
MeOH	17	0	12
ACOEt	24	0	17
CH ₂ Cl ₂	13	0	8
Hex	11,5	0	0

Legenda: 0 = Ausência de halo de inibição de crescimento.

Vale ressaltar ainda que para a cepa de *E. coli* ATCC 25922, nenhuma das fases, assim como verificado para o EEB, apresentaram halos de inibição de crescimento bacteriano, conforme observado na figura 4.

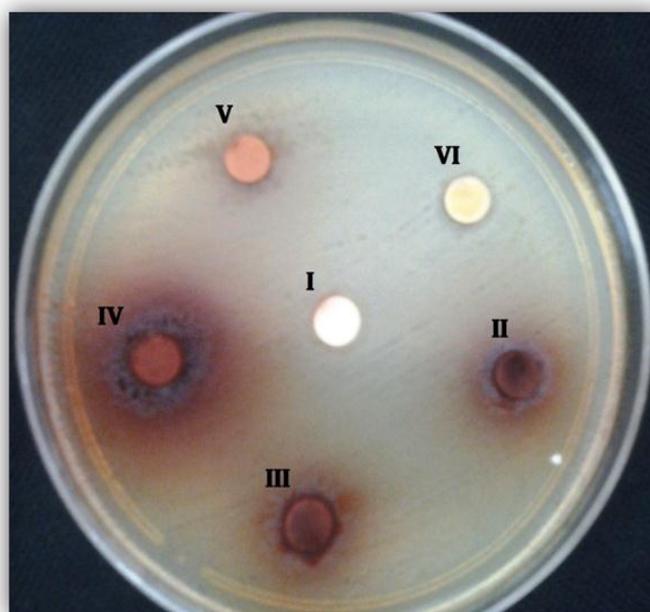


Figura 4: Fotografia da atividade antimicrobiana das diferentes fases do extrato etanólico bruto da aroeira-do-sertão frente à cepa *E. coli* ATCC 25922.

Fonte: Anna Flávia, 2011

5.3. DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA – CIM DO EEB DA AROEIRA-DO-SERTÃO

Posteriormente a avaliação da atividade antimicrobiana do EEB foi executada uma nova etapa no estudo, no qual o EEB passou por diluições sucessivas, e foi testado frente às cepas que apresentaram halos de inibição de crescimento pela ação do EEB. As diluições foram feitas a partir da concentração inicial de 100 mg/mL até 3,125 mg/mL.

Como citado anteriormente o EEB na concentração de 100 mg/mL, não foi capaz de inibir o crescimento da cepa de *E. coli* ATCC 25922, por isso houve necessidade de prosseguir com as avaliações para este micro-organismo.

Os resultados obtidos, expostos na tabela 5, mostram que para a cepa de *S. aureus* ATCC 25923, a diminuição gradual na concentração do extrato também levou a diminuição dos tamanhos de halo de inibição de crescimento, verificado uma atividade concentração-dependente. A CIM de atividade do EEB foi determinada em 25 mg/mL. Cardoso (2009) verificou que o extrato aquoso do caule de *M. urundeuva* inibiu o crescimento de *S. aureus* SAIACLIN (*S. aureus* Isolado de Amostra Clínica), até a concentração de 3 mg/disco.

Para a cepa de *P. aeruginosa* ATCC 27853, observou-se que a diminuição da concentração do extrato de 100% para 50%, não interferiu na diminuição do tamanho de halo de inibição, ou seja, o produto apresentou a mesma média de tamanho de halo de inibição (12 mm) tanto na concentração de 100 mg/mL quanto na de 50 mg/mL. O mesmo fato foi observado nas concentrações de 25 e 12,5 mg/mL com média de tamanho dos halos de inibição iguais (9 mm). A CIM da atividade do EEB frente a esta cepa foi determinada em 12,5 mg/mL.

Tabela 5 – Determinação da Concentração Inibitória Mínima do extrato etanólico da aroeira-do-sertão frente às cepas padrão ATCC

Concentração do EEB [mg/mL]	Micro-organismos ensaiados	
	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853
	Média do diâmetro dos halos de inibição (mm)	
100	18	12
50	14	12
25	10	9
12,5	0	9
6,25	0	0
3,125	0	0

Legenda: 0 = Ausência de halo de inibição de crescimento.

5.4. DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA DAS FASES ATIVAS

Todas as fases ativas (halo \geq 8mm) foram submetidas a determinação da CIM, usando diferentes concentrações, a partir da concentração inicial dos testes que foi de 100 mg/mL. As concentrações testadas foram 50; 25; 12,5; 6,25 e 3,125mg/mL.

Os resultados das CIM's das fases do EEB que mostraram atividade na triagem inicial frente às cepas de *S. aureus* ATCC 25923 e *P. aeruginosa* ATCC 27853, respectivamente, estão representados nas tabelas 6 e 7. A cepa de *E. coli* ATCC 25922 não foi testada pois as fases na concentração inicial não apresentaram atividade frente a este micro-organismo.

A maioria das fases testadas apresentaram CIM na concentração de 25 mg/mL, visualizando-se halos de inibição de crescimento com valores médios de 8,5; 9 e 10 mm, respectivamente para as fases CH₂Cl₂, MeOH (figura 5) e MeOH:H₂O. A fase Hex apenas apresentou atividade na concentração inicial de 100 mg/mL, e a ACOEt apresentou sua CIM na concentração de 12,5 mg/mL, com halo de inibição de crescimento de 12,5 mm.

Tabela 6 – Determinação da Concentração Inibitória Mínima das fases ativas da aroeira-do-sertão frente a *S. aureus* ATCC 25923

Frações	Concentração das Frações [mg/mL]					
	100	50	25	12,5	6,25	3,125
	Média do diâmetro dos halos de inibição (mm)					
MeOH:H₂O	14	13,5	10	0	0	0
MeOH	17	12	9	0	0	0
ACOEt	24	20	17	12,5	0	0
CH₂Cl₂	13	12	8,5	0	0	0
Hex	10,5	0	0	0	0	0

Legenda: 0 = Ausência de halo de inibição de crescimento.

Para a cepa de *P. aeruginosa* ATCC 27853, os resultados mostram que a fração MeOH:H₂O apresentou CIM na concentração de 50 mg/mL e a fração MeOH em 25 mg/mL, ambas com halos de 8 mm de inibição. A fração CH₂Cl₂ apresentou atividade na concentração de 100 mg/mL. E a fração ACOEt, repetindo os resultados anteriormente vistos mostrou-se como a fração que obteve maiores halos de inibição e a CIM em menores concentrações, teve nesta etapa sua CIM determinada em 6,25 mg/mL, com halo de 8 mm de diâmetro.

Tabela 7 – Determinação da Concentração Inibitória Mínima das frações ativas da aroeira-do-sertão frente a *P. aeruginosa* ATCC 27853

Frações	Concentração das Frações [mg/mL]					
	100	50	25	12,5	6,25	3,125
	Média do diâmetro dos halos de inibição (mm)					
MetOH:H₂O	11,5	8	0	0	0	0
MetOH	12	12	8	0	0	0
AcOEt	17	17	13	10	8	0
DCM	8	0	0	0	0	0

Legenda: 0 = Ausência de halo de inibição de crescimento.

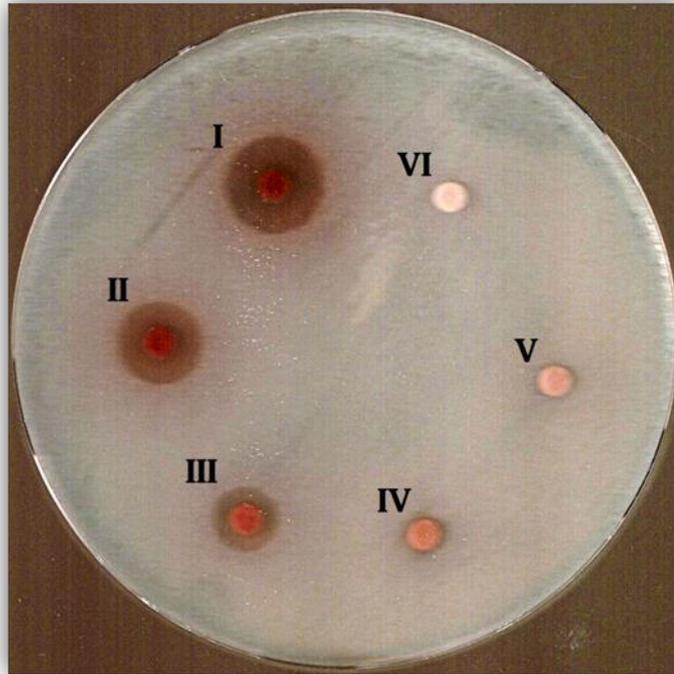


Figura 5: Fotografia da CIM da fase MeOH da aroeira-do-sertão frente a cepa de *S. aureus* ATCC 25923, na qual cada disco possui as seguintes concentrações [mg/mL]: I -100; II - 50; III - 25; IV - 12,5; V - 6,25 e VI - 3,125.

Fonte: Anna Flávia, 2011.

May e colaboradores (2000) relataram que a atividade antimicrobiana, *in vitro* avaliada pela mensuração da CIM, pode ser realizada pela técnica de medição de halos ou pela determinação dos níveis de resistência. Entretanto estes procedimentos não determinam o tempo de ação do agente sobre os microorganismos, o que permite que outros parâmetros farmacodinâmicos possam ser usados para determinar a eficácia dessas substâncias.

Cardoso (2009) revelou que o extrato aquoso das folhas de *M. urundeuva* apresentou atividade na concentração de 1,0; 2,0 e 3,0 mg/disco frente as cepas de *Klebsiella pneumoniae* ATCC 70603, *Salmonella cholerae-suis* ATCC 10708, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Staphylococcus aureus* SAIACLIN (*S. aureus* Isolado de Amostra Clínica), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442. No entanto, para o *Micrococcus luteus* ATCC 9341 a concentração de 1,0 mg/disco não apresentou atividade.

Costa e colaboradores (2010) mostraram que o extrato etanólico da aroeira-do-sertão também apresentou atividade frente à cepa de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 pela técnica de difusão em meio sólido.

Na literatura é muito variável a quantidade e a concentração dos extratos, e as substâncias utilizadas nos testes para detecção da atividade antibacteriana, contudo, é preciso que os pesquisadores unifiquem os procedimentos utilizando concentrações similares dos extratos para facilitar, ou até mesmo tornar viável, a interpretação e comparação dos resultados obtidos (VALGAS, 2002).

É provável que a atividade antimicrobiana apresentada por espécies vegetais esteja ligada a presença de taninos, compostos fenólicos e outras substâncias encontradas em sua casca (BANDEIRA, 2002; LORENZI & MATOS, 2002; QUEIROZ, 2002; SOUZA et al., 2007; SILVA, 2008). Alguns investigadores provaram que os taninos servem para proteger as plantas contra os herbívoros e as doenças patogênicas, por mecanismos de inibição de adesinas e enzimas bacterianas, modificação do metabolismo bacteriano, ou ainda pela formação de complexos com polissacarídeos e proteínas (BERNAYS et al., 1989; HARBONE et al., 1991; COWAN, 1999; LOUQUERCIO et al., 2005).

5. CONCLUSÃO

Considerando os resultados obtidos neste estudo com base nas condições experimentais, pode-se concluir que:

- O extrato etanólico e as fases MeOH:H₂O, MeOH, ACOEt, CH₂Cl₂ e Hex, apresentaram-se ativos frente a cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Em relação à cepa de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, apenas a fração Hex não demonstrou atividade. Entretanto, não apresentaram atividade contra a cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922.
- A CIM foi determinada para o extrato etanólico e para as frações que se mostraram ativos. A fração AcOEt apresentou os maiores halos de inibição e a menor CIM, ultrapassando até mesmo o comportamento do extrato etanólico, de onde foi particionada.
- Diante disso, os produtos naturais surgem como um caminho extremamente viável na descoberta de novos compostos que podem gerar novos fármacos para tratamento de doenças até então consideradas incuráveis.

6. REFERÊNCIAS

- AHMAD, I.; BEG, A. Z. **Antimicrobial and phytochemical studies on 45 indian medicinal plants against multi-drugs resistant human pathogens**, Journal Ethnopharmacology, Limerick, v. 74, p. 113-123, 2001.
- AGRA, M. De F. **Plantas da medicina popular dos cariris velhos (Paraíba-Brasil)-espécies mais comuns**. João Pessoa: União, 1996
- AKERELE, V. H. ; SYNGE, H. **Conservation of medicinal plants Cambridge**: Cambridge University Press, 1991.
- ALONSO, J. R. **Tratado de fitomedicina: bases clínicas y farmacológicas**. Buenos Aires: Isis ediciones S. R. L. 1998.
- ALVES, T. M. A.; SILVA, A. F.; BRANDÃO, M.; GRANDI, T. S. M.; SMÂNIA, E.F.; SMÂNIA JUNIOR, A.; ZANI, C. L.; **Biological screening of brasilian medicinal plants**, Memorial Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, v. 95, n. 3, p. 367-373, Mai/Jun. 2000.
- ANDRADE, C. A.; PEITZ, C.; CÚNICO, M.; CARVALHO, J. L.S.; ABRAHÃO, W. M.; MIGUEL, O. G.; MIGUEL, M. D.; KERBER, V. A. **Avaliação da atividade antibacteriana e triagem fitoquímica das flores de *Acacia podalyriifolia* A. Cunn. Ex. G. Don. Leguminosae – Mimosoideae**. Revista Brasileira de Farmacognosia, São Paulo, v. 15, n. 1, p. 13-15, jan-mar, 2005.
- ANTUNES, R. M. P. **Ação antimicrobiana e antiplasmidial do lapachol e seus derivados sobre bactérias e fungos leveduriformes**. 2007. 104p. Doutorado - Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, LTF, UFPB, João Pessoa, 2007.
- APISARIYAKUL, A.; VANITTANAKOM, N.; BUDDHASUKH, D. **Antifungal activity of turmeric oil extracted from *Curcuma longa* (Zingiberaceae)**.Journal Ethnopharmacol.; v. 49, p. 163-169. 1995.
- ARAÚJO, N. R. R. **Avaliação *in vitro* da atividade antimicrobiana de extratos vegetais sobre micro-organismos relacionados a lesão de mucosite oral**. Tese de dissertação de mestrado em Ciências Farmacêuticas, Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Pará, 2010.
- ARRUDA, T. A. **Análise da atividade biológica do óleo essencial de *Mentha x villosa* Hudson, rotundifolona e análogos**. 2007. 138 p. Doutorado - Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, LTF, UFPB, João Pessoa, 2007.
- BALBACH, A. A.; **A flora nacional na medicina doméstica**. 23 ed. São Paulo: Loyola, 2000.
- BANDEIRA, M. A. M. *Myracrodruon urundeuva* Allemão (aroeira do sertão): constituintes químicos ativos da planta em desenvolvimento e adulta. In:LORENZI,

H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa. 1. ed. São Paulo: Instituto Plantarum, p. 512, 2002.

BARBOSA-FILHO, J. M. **Levantamento da flora medicinal da Paraíba e triagem fitoquímica**. Rev. Bras. Farm., v.71, n. 3, p.72-76, 1990.

BARROSO, G. M. **Sistemática de angiospermas do Brasil**. Viçosa, UFV, v. 2, p. 267-71, 1991.

BAUER, A. W. M. M.; KIRKY, J. C.; TURCK, M.; **Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method**. American Journal of Clinical Pathology, v.45, n.3, p. 493-496, 1966.

BELÉM, L. F. **Estudo epidemiológico da Pitiríase versicolor no estado da Paraíba e avaliação química e antifúngica de produtos naturais e sintéticos contra seu agente etiológico**. 178p. Tese de Doutorado - Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, LTF, UFPB, João Pessoa, 2002.

BENDAZZOLI, W. S.; **Fitomedicamentos: Perspectiva de resgate de uma terapia histórica**, O Mundo da Saúde, São Paulo; v. 24; n. 2; mar 2000.

BERNAYS, E. A.; DRIVER, G. C.; BILGENER, M. **Herbivores and plant tannins**. Advana Ecology Research, v. 19, p. 263-302, 1989.

BIESKI, I.G.C.; **Plantas Medicinais e Aromáticas no Sistema Único de Saúde da Região Sul de Cuiabá-MT**. Secretaria Municipal de Saúde de Cuiabá-MT. Lavras Minas Gerais – Brasil, 2005.

BLACK, J. G. **Microbiologia: fundamentos e perspectivas**. Traduzido por Eiler Fritsch Toros. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, Cap. 13, p. 316-347. Título original: Microbiology, 2002.

BONIN, A. L. M; **Estudo do perfil da utilização de antibióticos em militares do CPOR/RJ**. Trabalho de Conclusão do Curso de Formação de Oficiais do Serviço de Saúde. Escola de Saúde do Exército. Rio de Janeiro, 2009.

BOSE, P. K.; **On some biochemical properties of natural coumarins**. Journal Indian Chem. Soc., v. 58, p. 367-375, 1958.

BRAKUNI, D. S; BITTNER, C. M.; MARTICORENA, M.; SILVA, E.; WELDET, M. E. M.; ZEMELMAN, R. J. Nat. Prod., v. 37, p. 621-632, 1974.

CARDOSO, N. S. N. **Avaliação da *Myracrodruon urundeuva* Fr. Allemão sob diferentes formas de cultivo: crescimento, atividade antimicrobiana e compostos fenólicos**. Tese de dissertação de Mestrado – Programa de Pós-graduação em Recursos Genéticos Vegetais, Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana-Bahia, 2009

CARVALHO, A. A. T.; SAMPAIO, M. C. C.; SAMPAIO F. C.; MELO A. F. M.; SENA, K. X. F. R.; CHIAPPETA, A. A.; HIGINO, J. S.; **Atividade antimicrobiana *in vitro* de extratos hidroalcoólicos de *Psidium guajava* L. sobre bactérias gram-negativas.** *Acta Farm Bonaerense* 21: 255-258, 2002.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira.** Colombo: Embrapa-CNPQ; Brasília: Embrapa-SPI, 639 p. 1994.

CATÃO, R. M. R. **Atividade antimicrobiana e efeitos biológicos de riparinas sobre bactérias e fungos leveduriformes.** 127p. Tese de Doutorado - Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, LTF, UFPB, João Pessoa, 2007.

CEBALLOS B. S. O.; BARBOSA, R. C. S. B. C.; LIMA, E. O.; URTIGA, R. F. **Atividades antimicrobianas de produtos naturais sobre *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* isoladas de águas recreacionais.** *Rev Bras Farm.*, v.74, p. 4-6. 1993.

CHANDRASEKARAN, M.; VENKATESALU, V.; **Antibacterial and antifungal activity of *Syzygium jambolanum* seeds.** *J Ethnopharmacol* 91: 105-108, 2004.

CLEELAND, R.; SQUIRES, E. **Evaluation of new antimicrobials vitrdtnd experimental animal infe** In: LORIAN, V. **Antibiotics in laboratory medicine.** 3. ed. Baltimore: Williams and Wilkiam, p. 739-787, 1991.

CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUT – CLSI. **Padronização dos Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos por Disco-difusão: Norma Aprovada** - 8ª ed. M2-A8. v.23, n.1. Substitui a Norma M2-A7, v.20, n.1. 2005.

COHEN, M. L.; **Epidemiology of drug resistance: implications for a post-antimicrobial era,** *Science*, Washington, v. 257, n. 11, p. 1050-1055, 1992.

COIMBRA, Raul. **Manual de Fitoterapia.** 2 ed. Belém: CEJUP, 1994. In: SÁ, Roberto Araújo. **Constituintes químicos da Madeira-de-lei *Myracrodruon urundeuva* com propriedades antioxidantes e ação contra fungos, bactérias e insetos.** 2008. 173f. Tese (Doutorado em Química) – UFPE, Recife, Pernambuco.

CONSENTINO, S.; TUBEROSO, G.; PISANO, B; SATTA, M.; MASCIA, V.; ARZEDI, E.; PALMAS, F. **In vitro antimicrobial activity and chemical composition of sardinian thymus essential oils.** *Letters in Applied Microbiology Reviews*, 12(4): p. 564-582, 1999.

COSTA, A. C.; **Atividade antibacteriana dos óleos essenciais *Origanum vulgare* L. e *Cinnamomum zeylanicum* B. contra bactérias multirresistentes.** Tese de dissertação de doutorado. Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, Universidade Federal da Paraíba, 2009.

COSTA, E. M. M. B.; BARBOSA, A. S.; ARRUDA, T. A.; OLIVEIRA, P. T.; DAMETTO, F. R.; CARVALHO, R. A.; MELO, M. D. **Estudo *in vitro* da ação**

antimicrobiana de extratos de plantas contra *Enterococcus faecalis*. J. Bras. Patol.Med. Lab., v. 46, n. 3, p.175-180.Junho, 2010.

COWAN, M.N. **Plant products as antimicrobial agents.** Clin.Microbiol. Rev.,v.12, p. 564-582, 1999.

CRONQUIST, A.; **An integrated system of classification of flowering plants.** New York: Columbia University, p. 805-8, 1981.

CRUZ, G. L. **Dicionário das plantas úteis do Brasil.** 5.ed. Rio de Janeiro: Bertrand Russel, 1995.

DANTAS, J. D. P. **Contribuição científica à medicina tradicional dos Tapebas do Ceará: *Astronium urundeuva* (Allemão) Engl. – (aroeira-do-sertão),** Monografia (Graduação em Química) – UECE, Fortaleza, Ceará, 2003.

DEGASPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N., **Propriedades Antioxidantes e antimicrobianas dos frutos da aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi).** Tese de dissertação de doutorado, Programa de Pós-graduação em Tecnologia dos Alimentos, Universidade Federal do Paraná, 2004.

DESMACHELIER, C.; ROMÃO, R. L.; COUSSIO, J. CÍCIA, G. **Antioxidant and free radical scavenging activities in extracts from medicinal trees used in the used in the “caatinga” region in northeaster Brazil.** Journal of Ethnopharmacology, 67 (1), p. 69-77, oct, 1999.

DUKE, J, A. **Folk anticancer plants containing antitumor compounds.** In: Erkin, N. L. (ed). Plants in indigenous medicine and dietbiobehavioral approaches. New Yor: Redgrave, 1986.

ELISABETSKY, E.; CASTILHOS, Z.C. **Plants used as analgesics by Amazonian caboclos as a basis for selecting plants for investigation.** Int.J. Crude Drug Res., V. 28, 49-60, 1990.

ELISABETSKY, E.; GELY, A. **Plantes médicinales utilises em Amazonie com me fond potentiel de nouveaux agents therapeutiques dans les casd’alergie, thromboseet inflammation.** J. Agri. Trop. Botan. Appl., V. 36.p143-151, 1987.

ESPINEL-INGROFF, A.; PFALLER, M. A. In: Murray, P. R.; Baron, E. J.; Pfaller, M. A.; TENOVER, F. C.; YOLKEN, R. H. **Manual of clinical microbiology**, 6 ed.; Washington: C. V. Mosby, 1995.

FABRY, W.; OKEMO, P. O.; ANSORG, R. **Antibacterial activity os east African medicinal plants.**Journal de Ethnopharmacology, 60: p. 79-84, 1998.

FARIAS, N. M. P.; LIMA, E. O. **Atividade antifúngica de óleos essenciais obtidos de plantas medicinais contra leveduras do gênero *Candida*: uma alternativa no controle da infecção hospitalar.** In: Prêmio Jovem Cientista XVI, Edição Saúde da População, Controle da Infecção Hospitalar. Porto Alegre: Fundação Roberto Marinho, p.91-120. 2000.

FARNSWORTH, N. R.; **Biological and phytochemical screening of plants**. *Journal of Pharmacological Science*, v. 55, p.255-276, 1996.

FERREIRA, K.P.; **Medicamentos**. Retirado de <http://www.abc.org.br/arquivos/medicamentos.pdf>. [Acesso em 05 de maio de 2006].

FESSENDEN, R.J. **Organic chemistry**. Boston: Willard Grant Pres, 1982.

GONÇALVES, A. L.; FILHO, A. A.; MENEZES, H. **Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas**. *Arq. Inst. Biol.*; São Paulo, v. 72, n. 3, p. 353-358, jul./set. 2005.

GONZALEZ TORRES, D. M. Catálogo de plantas medicinales y alimenticias y utilizadas usadas en Paraguay. Asunción: Litocolor (1986). In: SÁ, Roberto Araújo. **Constituintes químicos da Madeira-de-lei *Myracrodruon urundeuva* com propriedades antioxidantes e ação contra fungos, bactérias e insetos**, 173f. Tese (Doutorado em Química) – UFPE, Recife, Pernambuco, 2008.

GRISSI, F. A, **Aspectos fisiológicos de aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi), sob níveis distintos de saturação hídrica em ambiente protegido, e área ciliar em processo de recuperação**. Tese de dissertação de doutorado, Pós-Graduação em Engenharia Florestal, Universidade Federal do Paraná, 2010.

HADACEK, F.; GREGER, H.; **Testing of antifungal natural products: methodologies, comparability of results and assay choice**. *Phytochem. Analysis*, n. 11, p. 137-147, 2000.

HAMBURGUER, H.; K. HOSTETTMAN.; **The link between phytochemistry and medicine**. *Phytochemistry*, v. 30, p. 3864-3874, 1991.

HARBONE, J. B.; PALO, R. T.; ROBBINS, C. T. **Plant defenses against mammalian herbivore**. C R C Press LLC, 192 p. 1991.

HARVEY, A.; **Strategies for discovering drugs from previously unexplored natural products**. *Drugs Discovery Today*. v. 5, p. 294-300, 2000.

JANSSEN, A. A.; SCHEFFER, J. J. C.; SVENDSEN, A. B. **Antimicrobial activity of essential oils – a 1976-1986 literature review – aspects of the test methods**. *Planta Medica*, Stuttgart, v.5, p.395-398, 1987.

JUDD, W. S.; CAMPBELL, C. S.; KELLOGG, E. A.; STEVENS, P. F. **Plant systematics: a phylogenetic approach**. Sunderland: Sinauer, p. 339-40, 1999.

KATZUNG, Bertram G. **Farmacologia básica e clínica**. 8ª ed. Rio de Janeiro: Koogan, 2003.

KALODERA, Z.; PEPELJNJAK, S.; BLAZEVIC, N. **Chemical composition and antimicrobial activity of *Tanacetum parthenium* essential oil**. *Pharmazie*, Berlin, v.11, p.885-886, 1997.

KUBO, I.; MUROI, H.; HIMEJIMA, M. **Combination effects of fungal nagilactones against *Candida albicans* and two other fungi with phenylpropanoids.** Journal Nat. Prod., v. 56, p. 220-226, 1993.

KUNIN, C.; **Resistence to antimicrobial drugs: a Word wide calamity.** Ann IntMed., v. 118, p. 557-561, 1993.

LABADIE, R.P. et al. **An ethnopharmacological approach to the search for immunomodulators of plant origin.** Planta Médica, V.55, 339-348, 1989.

LOQUERCIO, A. P.; BATTISTIN, A.; VARGAS, A. C.; HENZEL, A.; WITT, N. M. **Atividade Antibacteriana de extrato hidroalcoólico de folhas de jabolão (*Zyzygium cumini* (L.) Skells),** Ciência. Rural, Santa Maria, vol. 35, n. 2, p. 371-376, 2005.

LORENZI, H. **Botânicasistemática: Guia ilustrado para identificação das famílias defanerógamas nativas e exóticas no Brasil,** baseado em apg II. 2.ed. Nova Odessa-SP, 640p.:Instituto Plantarum, 2005.

_____. **Árvores Brasileiras - Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil.** Ed. Plantarum Ltda., Nova Odessa, 1992.

LORENZI H.; MATOS F. J. A.; **Plantas medicinais no Brasil - nativas e exóticas.** Nova Odessa, Instituto Plantarum, 2002.

MATOS, F.J. A.; **Introdução a fitoquímica experimental.** 2° ed. Fortaleza-CE. Edições UFC, 1997

_____. **Farmácias Vivas.** 3 ed. Fortaleza: EUFC, 1998.

_____. **Farmácias Vivas: Sistema de utilização de plantas medicinais projetado para pequenas comunidades.** 4 ed. Rev. Ampliada/ F. J. de Abreu Matos. Fortaleza–CE. Editora UFC, 2002.

MARTINS, E.R.; CASTRO, D.M.; CASTELLANI, D.C.; DIAS J. E.; **Plantas Mediciniais.** Edição Imprensa Universitária - UFV. Viçosa. Minas Gerais, 1995.

MAY, J.; CHAN, C. H.; FRENCH, G. C. **Time-kill studies of tea tree oils on clinical isolates.** Journal of Antimicrobial Chemotherapy, Oxford, v.45, n.5, p.639-643, 2000.

MICHELIN, D. C.; MORESCHI, P. E.; LIMA, A. C.; NASCIMENTO, G. G. F.; PAGANELLI, M. O.; CHAUD, M. V. **Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos vegetais.** Rev. Bras Farmacognosia., n.15, p. 316-320. 2005.

MORAES, M. L. T.; FREITAS, M. L. M. **Resumos Embrapa - CPAO/Flora Sul.** Dourados – MS: p. 9. (Boletins Informativos), 1997.

MOREIRA, M. S. A. et al., **Avaliação da atividade espasmolítica da fase aquosa dos extratos etanólicos de plantas do cariri**. In: XIII Simpósio de plantas medicinais do Brasil, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: UVFC. 1994.

MURRAY, P. R.; BARON, E. J.; PFALLER, M. A.; TENOVER, F. C.; YOLKEN, R. H., **Manual of Clinical Microbiology**, Washington D. C.: American Society of Microbiology Press, 1999.

NAQVI, S. H.; KILIAN, M. S. Y.; VOHORA, S. B., **Anti-bacterial, anti-fungal and antihelminthic investigations on Indian medicinal plants**. *Fitoterapia*, São Paulo, 62 (3): 221-228, 1991.

NORBBY, S.R.; NORD, C. E.; **Lack of development of new antimicrobial drugs: a potential serious threat to public health**. *Lance Infects Dis*. Solna, v. 5, p.115-119, Feb, 2005.

NOVAES. T.S.; COSTA, J. F. O.; DAVID, J. P. L.; DAVID, J. M.; QUEIROZ, L. P.; FRANCA, F.; GIULIETTE, A. M.; SOARES, M. B. P.; SANTOS, R. R. **Atividade Antimicrobiana de alguns extratos de vegetais de semiárido brasileiro**. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, São Paulo, v. 13, supl. 2, p. 5-7, 2003.

O'KENNEDY, R. & THORNES, R.D. **Coumarins: biology, applications and mode faction**. New York: John Willey, 1997.

OLIVEIRA, D. C. et al., **Reações de defesas químicas e estruturais de *Lonchocarpus muehlbergianus* Hassl. (Fabaceae) à ação do galhador *Euphalerus ostreoides* Crawf. (Hemíptera: Psyllidae)**. *Revista Brasileira de Botânica*, São Paulo, v. 29, n. 4, p. 657-667, 2006.

OLIVEIRA, F.; ASIKUE, G.; **Fundamentos da farmacobotânica**. 2 ed. São Paulo: Atheneu, 178 p. 1998.

OLIVEIRA, G. F.; **Avaliação da atividade antimicrobiana, *in vitro*, do extrato hidroalcoólico bruto das folhas de *Syzygium cumini* (L.) SKEELS (Jambolão)**. Tese de dissertação de mestrado – Programa de Pós-graduação da Universidade de Franca. Franca, 2005.

ORLANDI, O.;VERVLOET, A. E. **Homeopatia ou alopatia?** Rio de Janeiro: Marco,1983. p.360-362,1987.

ORLANDO, S. C.; **Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico bruto da casca do *Stryphnodendron adstringens* (Martius) Coville (Barbatimão)**. Tese de dissertação de mestrado – Programa de Pós-graduação da Universidade de Franca. Franca, 2005.

PEREIRA, R. S.; SUMITA, T. S.; FURLAN, M. R.; JORGE, A. O. C.; UENO, M. **Atividade Antibacteriana de óleos essenciais em cepas isoladas de infecção urinária**. *Rev. Saúde Pública*, São Paulo, v. 38, n. 2, p. 326-328, 2004.

QUEIROZ, C.R.A.A.; MORAIS, S.A.L.; NASCIMENTO, E.A.; **Caracterização dos taninos da aroeira-preta (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All.)**, Sociedade de Investigações Ambientais, R. Árvore, Viçosa-MG, v.26, n.4, p. 485-492, 2002.

RAO, V. S. N., VIANA, G. S.; MENEZES, A. M.; GADELHA, M. G. **Studies on the anti-ulcerogenic activity of *Astronium urundeuva* Engl.** Aqueous extract. Braz. Journal Med. Biol. Res., 20 (6), p. 803-5, 1987.

RAUHA, J. P.; REMES, S.; HEINOMEN, M.; HOPIA, A.; KÄHKÖNEM, M.; KUJAL, T.; PIHLAJA, K.; VUORELA, H.; VUORELA, P. **Antimicrobial effects of finish plant extrats containing flavonoids and other phenolic compounds.** International Journal of Food Microbiology; San Francisco, v. 56, p. 3-12, 2000.

RECIO, M. C.; RIOS, J. L.; VILLAR, A.; **A review of some antimicrobial compounds isolated from medicinal plants reported in the literature 1978-1988.** Phytother. Res., v.3, n.4, p.117-125, 1989.

REIS, M. O. R.; **Avaliação da atividade antimicrobiana *in vitro* do extrato hidroalcoólico das folhas de *Persea gratissima* Gaertn – Abacateiro – (Lauraceae).** 76f. Dissertação (Mestrado em Promoção de Saúde), Universidade de Franca. Franca, 2006.

RIZZINI, C. T.; **Árvores e madeiras úteis do Brasil - manual de dendrologia brasileira.** 2.ed.296 p. São Paulo: Edgard Blucher, 1995.

SÁ, Roberto Araújo. **Constituintes químicos da Madeira-de-lei *Myracrodruon urundeuva* com propriedades antioxidantes e ação contra fungos, bactérias e insetos,**173f. Tese (DoutoradoemQuímica) – UFPE, Recife,Pernambuco, 2008.

SADER, H. S.; GALES, A. C.;PFALLER, M. A.; MENDES, R. E.; ZOCCOLI, C.; BARTH, A.; JONES, R. N. **Pathogen frequency and resistance patterns in Brazilian Hospitals: Summary os results from three years os the SENTRY antibacterial surveillance Program.** The Brazilian Journal of Infectious Diseases, Salvador, v. 5, n. 4, p. 200-214, 2001.

SAKAR, M. K.; TAMER, A. V.; TOKOUR, S.,**Antimicrobial activites of some Hypericum species growing in Turkey.**Fitoterapia, 59 (1): 49-52, 1988.

SANGUINETTI, E. E. **Plantas que curam.** Porto Alegre: Rígel, p. 54, 1989.

SANTIN, D.A., **Revisão taxonômica do gênero *Astronium* Jacq. E revalidação do gênero *Myracrodruon* Fr. Allem. (Anacardiaceae).** Campinas: Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, 178p. (Dissertação Mestrado), 1989.

_____, ***Astronium nelson-rosa* nova espécie de Anacardiaceae.** Revista Brasileira de Botânica, v.14, p.103-106, 1991.

SANTIN, D.A. &LEITÃO-FILHO, H.F. **Restabelecimento e revisão taxonômica do gênero *Myracrodruon* Freire-Allemão (Anacardiaceae).** Revista Brasileira Botânica, São Paulo, v.14, p.133-145, 1991.

SANTOS, E. **Nossas madeiras**. Belo Horizonte: Itatiaia, 316 p. 1987.

SANTOS, S. C. **Caracterização cromatográfica de extratos medicinais de guaco: *Mikania laevigata* Schultz Bip. Ex Baker e *M. glomerata* Sprengel e ação de *M. laevigata* na inflamação alérgica pulmonar**. Dissertação de mestrado em Ciências Farmacêuticas, Universidade do Vale do Itajaí, 2005.

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

SHELL, L. D. **The biological action of the coumarins**. *Microbiol. Toxins*. v. 8, p. 47-66. 1972.

SEJAS, L. M.; SILBERT, S.; REIS, A. O.; SADER, H. S.; **Avaliação da qualidade dos discos antimicrobianos para testes disco-difusão disponíveis comercialmente no Brasil**. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*. Rio de Janeiro, v. 39, n. 1, p. 27-35, 2003.

STERN, J. L.; HAGERMAN, A. E.; STEINBERG, P. D.; MASON, P. K. **Phlorotannin-protein interactions**. *Journal of Chemical Ecology*, v. 22, p. 1887-1899, 1996.

SILVA, M. A. **Atividade antimicrobiana "in vitro" do extrato hidroalcoólico da romã (*Punica granatum* Lin) e ação sobre plasmídios em amostras de *Staphylococcus aureus* de origem bovina**. UFPB. João Pessoa /PB. (Monografia). 2004.

SILVA, M. D.; **Estudo Farmacobotânico de três espécies da caatinga em Pernambuco**. 74 f. Dissertação de mestrado em Botânica, Programa de Pós-graduação em Botânica (PPGB), Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2008.

SIMÕES, C.M.O et al.,(org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre/Florianópolis: Edit. Universidade - UFRGS/editora UFSC, 2004.

SOUZA, S. M. C. et al. **Antiinflammatory and Antiulcer Properties of Tannins from *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae) in Rodents**. *Phytotherapy Research, Interscience Wiley*, v. 21, p. 220–225, 2007.

TERRAS, F.R.G.; SCHOOF, H.M.E.; THEVISSSEN, H.M.E.; BROEKAERT, W.F. **Synergistic enhancement of the antifungal activity of wheat and barley thionins by radish and oilseed rape 2S albumins and by barley trypsin inhibitors**. *Plant Physiology*, v. 103, p. 1311-1319, 1993.

THOMPSON, J. H.; BEVAN, J. A. **Fundamentos da Farmacologia**. São Paulo: Harper & Row. 1979.

THOMSON, W. A. R. (ED). **Medicines from the Earth**. McGraw-Hill Book Co., Maidenhead, United Kingdom, 1978.

TORSSEL, B.G. **Natural product chemistry. A mechanistic and biosynthetic approach to secondary metabolism.** New York: John Willey, 401p. 1989.

VALGAS, C. **Avaliação de métodos de triagem para determinação de atividade antibacteriana de produtos naturais.** 91f. Dissertação (Mestrado em Farmácia) – UFSC, Florianópolis, Santa Catarina, 2002.

VIANA, G. S. B. et al., **Aroeira-do-sertão (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All.): estudo botânico, farmacognóstico, químico e farmacológico**, 2. ed. Revisada e Ampliada. Edições: UFC. Fortaleza. 1995.

VLIETINCK, A.J.; VAN DEN BERGUE, D.A.; **Can ethnopharmacology contribute to the development of antimalarial agents?** J. Ethnopharmacol. V.32, No 1-3, 141-154, 1991.

VOLPATO, A. M. M.; **Avaliação do potencial antibacteriano de *Calendula officinalis* (Asteraceae) para seu emprego como fitoterápico.** Dissertação de doutorado, Programa de Pós-graduação em Química, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Curitiba, 2005.

WENIGER, B.; **Interest and limitation of a global ethnopharmacological survey.** Journal of Ethnopharmacology, Limerick, v. 32, n. 1-3, p. 37-41, Apr. 1991.

WHO; **Guidelines for the assessment of herbal medicines**, World Health Organisation. Geneva, 1991.

WONG-LEUNG, Y. L. **Antimicrobial activities of some Hong-Kong plants used in chinese medicine.** Fitoterapia, São Paulo, v.69, n.1, p.11-16, 1988.

ZHANG, Y. & LEWIS, K. Fabatins: **New antimicrobial plant peptides.** *FEMS Microbiological Letters*, v.149, p.59-64, 1997.

ANEXOS

