

UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

MARCELA MONA SÁ SANTOS

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA *IN VITRO* DE EXTRATOS
DE PLANTAS MEDICINAIS SOBRE PATÓGENOS DE
ORIGEM ALIMENTAR (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*
e Salmonella Typhimurium)**

Palmas
2016

MARCELA MONA SÁ SANTOS

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA *IN VITRO* DE EXTRATOS
DE PLANTAS MEDICINAIS SOBRE PATÓGENOS DE
ORIGEM ALIMENTAR (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*
e Salmonella Typhimurium)**

Dissertação apresentada à
Coordenação do Programa de Pós-
Graduação em Ciência e
Tecnologia de Alimentos da
Universidade Federal do
Tocantins, para obtenção do título
de Mestre em Ciência e
Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Dr. Raphael Sanzio
Pimenta.

Linha de pesquisa do PPGCTA:
Controle de Qualidade e Segurança
Alimentar.

Projeto de Pesquisa do PPGCTA:
Atividade antimicrobiana *in vitro*
de extratos de plantas medicinais
sobre patógenos de origem
alimentar (*Escherichia coli*,
Staphylococcus aureus e
Salmonella Typhimurium)

Palmas
2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins

S237a Santos, Marcela Mona Sá.

Atividade antimicrobiana in vitro de extratos de plantas medicinais sobre patógenos de origem alimentar (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella Typhimurium*). / Marcela Mona Sá Santos. – Palmas, TO, 2016.

53 f.

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal do Tocantins – Câmpus Universitário de Palmas - Curso de Pós-Graduação (Mestrado) em Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2016.

Orientador: Raphael Sanzio Pimenta

1. Patógeno alimentar. 2. Atividade antimicrobiana. 3. Compostos fitoquímicos. 4. Extratos vegetais. I. Título

CDD 664

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

MARCELA MONA SÁ SANTOS

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA *IN VITRO* DE EXTRATOS DE
PLANTAS MEDICINAIS SOBRE PATÓGENOS DE ORIGEM
ALIMENTAR (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella*
Typhimurium)**

Dissertação DEFENDIDA e APROVADA em 29 de janeiro de 2016, pela Banca
Examinadora constituída pelos membros:



Prof.^a Dr.^a Sandra Maria Botelho Mariano
UFT



Prof. Dr. Guilherme Nobre Lima do Nascimento
UFT



Prof. Dr. Raphael Sanzio Pimenta
Orientador – EA/UFT

DEDICATÓRIA

Dedico minha vitória a Deus e aos meus pais, Antônio Queiroz e Domingas, por terem me proporcionado tudo nesta vida e por serem meus exemplos de amor, dedicação e coragem.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pela oportunidade de realizar este trabalho e pelas bênçãos na minha vida.

À minha família, pelo carinho, incentivo e apoio durante essa jornada do curso.

Ao meu namorado Eder por me ajudar em todos os momentos que precisei, que foram vários, com sua mão-de-obra, palavras de incentivo, carinho e compreensão.

Ao professor Raphael Sanzio Pimenta pela orientação, paciência e disponibilidade sempre que eu precisava para a realização deste trabalho.

À diretora Márcia Brito e gerente técnica Maria de Fátima do Laboratório Central de Saúde Pública do Tocantins (Lacen-TO), pela autorização de utilização do laboratório para realização de parte dos experimentos.

Ao professor Guilherme Nobre, pelo apoio, paciência e disponibilidade do laboratório para realização de parte do experimento.

À professora Renata Junqueira, pelo auxílio com a metodologia de análise de fitoquímicos.

Ao professor Tarso Alvim, pela disponibilidade do laboratório.

À técnica de laboratório Gabriela Eustáquio, pela amizade, apoio e reserva da estufa de secagem sempre que eu precisava.

Ao professor Aroldo, pela disponibilidade do ultrafreezer e empréstimo do balão do rotaevaporador.

À Adriana Torcato pela ajuda na utilização do rotaevaporador.

Às técnicas Cristiane e Márcia pelo apoio com a disponibilidade de instrumentos e reserva do liofilizador.

Aos amigos de trabalho do Lacen-TO, Ludmila, Anderson, Fabrício, Cilmara, Amanda, Emília, Karine, Antônio, Simone, Eliane, Aline, Nizete, Janary, Arlene, Maria Lenice, Rafael, Roumayne, funcionários da limpeza e todos os demais que me ajudaram de alguma forma para que esse projeto fosse concluído.

À minha prima Ludmilla e a colega Mariana pelos auxílios com informações importantes para efetivação do projeto.

Agradeço a todos que estiveram ao meu lado e que me incentivaram nesta conquista.

Muito obrigada!

RESUMO

Os patógenos de origem alimentar constituem um dos maiores problemas de saúde pública no mundo, responsáveis por prejuízos com custos médicos, morbidade e mortalidade. O surgimento de cepas microbianas resistentes a uma grande variedade de antibióticos tem agravado o problema, o que evidencia a necessidade de descoberta de novos compostos com atividade antimicrobiana. Diante disso, o objetivo deste estudo foi avaliar o perfil fitoquímico e potencial antimicrobiano *in vitro* de extratos vegetais de três plantas medicinais coletadas no Estado do Tocantins sobre micro-organismos frequentemente relacionados com toxinfecções alimentares. Foram coletadas amostras de folha e entrecasca de *Parkia plathycephala* Benth, *Pouteria ramiflora* (Mart.) Radlk e *Lophantera lactescens* Ducke e elaborados extratos brutos aquosos e hidroalcoólicos dos vegetais. Os extratos obtidos foram submetidos a avaliações fitoquímicas para identificação de seus compostos bioativos e solubilizados em solução de Dimetilsulfóxido (DMSO) a 1% na concentração de 25 mg/mL, solução estoque, para o teste de atividade antimicrobiana, na qual foram determinadas a Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) pelas técnicas de microdiluição em caldo e de observação de crescimento da bactéria em placas de ágar Mueller Hinton, respectivamente, utilizando concentrações de extratos de 12,5; 6,25; 3,12; 1,56; 0,78; 0,39; 0,19 e 0,09 mg/mL frente as cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028. Os resultados da análise fitoquímica dos extratos revelaram que as folhas da espécie *L. lactescens* foram as que obtiveram menor presença de compostos bioativos em sua composição, ácidos orgânicos, saponinas e taninos, ao passo que a entrecasca dessa espécie e as demais plantas apresentaram também os compostos catequinas, sesquiterpenlactonas e antraquinonas, este último exceto na espécie *P. plathycephala*. Quanto à atividade antimicrobiana as três espécies de plantas apresentaram-se ativas, sendo o *S. aureus* o micro-organismo mais sensível aos extratos. *E. coli* e *Salmonella* foram inibidas somente com a aplicação de extratos da entrecasca da *P. plathycephala*. Dessa forma, foi possível concluir que as três espécies de plantas avaliadas demonstraram ser promissoras para o desenvolvimento de novos produtos com atividade antimicrobiana, sendo que a espécie *P. plathycephala* apresentou um maior espectro de ação.

Palavras-chave: patógeno alimentar, atividade antimicrobiana, compostos fitoquímicos, extratos vegetais.

ABSTRACT

Pathogens foodborne are one of the most important problems in public health in the world, responsible for losses with medical costs, morbidity and mortality. The emergence of microbial strains resistant to a wide variety of antibiotics have exacerbated the problem, highlighting the need for discovery of new compounds with antimicrobial activity. Thus, the aim of this study was to evaluate the phytochemical profile and antimicrobial potential in vitro of plant extracts of three medicinal plants collected in Tocantins State on often microorganisms related to food poisoning. Leaf samples were collected and inner bark of *Parkia platycephala* Benth, *Pouteria ramiflora* (Mart.) Radlk and *Lophantera lactescens* Ducke and elaborate hydroalcoholic and aqueous extracts of vegetables. The extracts were subjected to phytochemical evaluation for the identification of their bioactive compounds, solubilized in dimethyl sulfoxide solution (DMSO) at 1% concentration 25 mg/mL, stock solution, for the antimicrobial activity test, which were determined minimum inhibitory concentration (MIC) and bactericidal concentration Minimum (CBM) by microdilution techniques in broth and bacterial growth observation on agar plates Mueller Hinton, respectively, using extracts concentrations of 12.5; 6.25; 3.12; 1.56; 0.78; 0.39; 0.19 and 0.09 mg / mL front strains of *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028. The results of the phytochemical analysis revealed that extracts of the leaves of the species *L. lactescens* obtained were smaller the presence of bioactive compounds in its composition, organic acids, tannins and saponins, while the inner bark of the species and other plants also showed the compounds catechins, sesquiterpenlactonas and anthraquinones, the latter except in the species *P. platycephala*. The antimicrobial activity of the three species of plants had become active, with *S. aureus* more susceptible microorganism to the extracts. *E. coli* and *Salmonella* were inhibited only with extracts application of the inner bark of *P. platycephala*. Thus, it was concluded that the three species of plants evaluated have shown to be promising for the development of new products with antimicrobial activity, and the specie *P. platycephala* presented a greater spectrum of action.

Key words: food pathogen, antimicrobial activity, phytochemical compounds, vegetable extracts.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Árvore <i>Parkia platycephala</i> Benth.	17
Figura 2. Árvore <i>Pouteria ramiflora</i> (Mart.) Radlk	18
Figura 3. Árvore <i>Lophanthera lactescens</i> Ducke	19
Figura 4. Esquema de distribuição e diluição seriada dos extratos vegetais na microplaca de 96 poços.....	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Resultado da triagem fitoquímica realizada nos extratos brutos das espécies vegetais <i>Parkia platycephala</i> Benth, <i>Pouteria ramiflora</i> (Mart.) Radlk e <i>Lophanthera lactescens</i> Ducke	35
Tabela 2. Concentração Inibitória Mínima (mg/mL) e Concentração Bactericida Mínima (mg/mL) dos extratos de <i>Parkia platycephala</i> Benth, <i>Pouteria ramiflora</i> (Mart.) Radlk e <i>Lophanthera lactescens</i> Ducke.....	38

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
2.1	Plantas medicinais.....	12
2.1.1	Metabólitos secundários	13
2.2	<i>Parkia platycephala</i> Benth.	16
2.3	<i>Pouteria ramiflora</i> (Mart.) Radlk.	17
2.4	<i>Lophanthera lactescens</i> Ducke	18
2.5	Micro-organismos	19
2.5.1	<i>Escherichia coli</i>	19
2.5.2	<i>Salmonella</i> Typhimurium	21
2.5.3	<i>Staphylococcus aureus</i>	22
3	OBJETIVOS	25
3.1	Geral.....	25
3.2	Específicos	25
4	MATERIAL E MÉTODOS	26
4.1	Material vegetal	26
4.1.1	Coleta e identificação	26
4.1.2	Preparo do material vegetal	26
4.1.3	Obtenção dos extratos aquosos.....	27
4.1.4	Obtenção dos extratos hidroalcoólicos	27
4.2	Triagem fitoquímica dos extratos vegetais	27
4.2.1	Identificação de Ácidos Orgânicos.....	27
4.2.2	Identificação de Taninos.....	28
4.2.3	Identificação de Catequinas.....	28
4.2.4	Identificação de Flavonóides	28
4.2.5	Identificação de Glicosídeos Cardioativos	28
4.2.6	Identificação de Sesquiterpenlactonas e outras lactonas	29
4.2.7	Identificação de Azulenos	29
4.2.8	Identificação de Carotenóides	29
4.2.9	Identificação de Esteróis e Triterpenóides	29
4.2.10	Identificação de Derivados da Cumarina.....	30
4.2.11	Identificação de Saponinas	30
4.2.12	Identificação de Alcaloides.....	30
4.2.13	Identificação de Antraquinonas	31
4.3	Atividade antimicrobiana.....	31
4.3.1	Preparo das soluções de extratos	31
4.3.2	Obtenção e manutenção das cepas testadas.....	31
4.3.3	Preparo e padronização da suspensão bacteriana	31
4.3.4	Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)	32
4.3.5	Leitura com revelador resazurina	33
4.3.6	Determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM).....	34
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
5.1	Análise fitoquímica.....	35
5.2	Atividade antimicrobiana.....	38
6	CONCLUSÃO.....	42
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43

1 INTRODUÇÃO

Patógenos de origem alimentar são diversos na natureza e continuam sendo uma das maiores causas de problemas de saúde pública no mundo. São responsáveis por considerável morbidade e mortalidade, custos com cuidados médicos e perda de produtividade (FRATAMICO et al., 2007). As medidas utilizadas atualmente para reduzir esses agravos estão relacionadas com um maior rigor no que se refere ao controle de qualidade sanitária dos alimentos, monitoramento por órgãos fiscalizadores, e a administração de antibióticos no tratamento de doenças infecciosas, principalmente, em pessoas idosas, crianças e pacientes com o sistema imunológico debilitado, uma vez que os sintomas podem ser severos (SILVA et al., 2010).

Entretanto, o surgimento de cepas microbianas resistentes a uma grande variedade de antibióticos tem se tornado um grave problema para a saúde pública. A principal causa dessa resistência deve-se ao uso de antibiótico em rações animais em doses subterapêuticas como promotor de crescimento (CIOLFI, 2010), utilização de forma inadequada no tratamento medicinal ou por métodos alternativos de resistência, como transferência de plasmídeos (BRUNTON et al. 2007).

Nesse sentido, a descoberta de novas substâncias com potencial inibição sobre estes micro-organismos torna-se imprescindível. As plantas medicinais tem chamado a atenção de pesquisadores, por ser uma fonte promissora de substâncias que podem ser utilizadas no controle de micro-organismos. Na literatura há diversos estudos demonstrando seus efeitos, em particular, antimicrobianos sobre uma grande diversidade de micro-organismos, além de apresentarem um tratamento eficaz sobre algumas cepas resistentes (ANIBAL, 2007).

Chah et al. (2006) relataram a ação antibacteriana de extratos de folha e de raiz de *Psidium guajava* (goiabeira) contra agentes etiológicos de infecções intestinais: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *Bacillus cereus*, *Proteus* spp., *Shigella* spp. e *Escherichia coli*. Ferreira et al. (2010) encontraram sensibilidade de cepas de *Staphylococcus aureus* frente ao extrato hidroalcolólico de *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão). Costa et al. (2011) avaliaram a atividade antimicrobiana de óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham (alecrim-pimenta) frente a cepas de *E. coli* e *S. aureus* isoladas do leite total de rebanho bovino e observaram um bom potencial de inibição deste óleo para as duas espécies de micro-organismos testados.

Considerando a riqueza das plantas presentes no Cerrado, a existência de estudos prévios que demonstram a atividade antimicrobiana de alguns compostos das plantas desse bioma e o uso já adotado pela população (NADER, 2010), neste estudo objetivou-se avaliar os compostos bioativos e a atividade antimicrobiana de três espécies de plantas medicinais ainda pouco estudadas cientificamente.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Plantas medicinais

As plantas medicinais são definidas como aquelas capazes de produzir princípios ativos que possam alterar o funcionamento de órgãos e sistemas restabelecendo o equilíbrio orgânico ou homeostasia nos casos de enfermidades e que possam servir como precursores de fármacos semi-sintéticos (FERRO, 2006; WHO, 1998).

Sua utilização para o tratamento de enfermidades é conhecida desde a pré-história, antes mesmo de se conhecerem suas causas. Investigações científicas demonstram que, entre os anos de 5.000 a 2.800 A.C., o homem já utilizava as plantas medicinais, instintivamente, notando que os animais buscavam nas ervas cura para suas afecções e por observação própria de sinais e sintomas após sua utilização. A partir de então, este conhecimento empírico acumulado sobre a fitoterapia foi passado de geração para geração até os tempos atuais (FERRO, 2006; BESSA et al., 2013; SILVA et al., 2014).

Durante muito tempo as plantas medicinais foram o principal recurso para tratar as doenças. Entretanto, com os avanços no meio técnico-científico, sobretudo no âmbito das ciências da saúde novas maneiras de tratar e curar as doenças foram surgindo, como o uso de medicamentos sintéticos que gradativamente foram introduzidos no cotidiano das pessoas e substituindo o uso das plantas medicinais. (BADKE et al., 2011).

Todavia, nos últimos anos tem-se observado o crescente interesse pelo uso das plantas medicinais como método terapêutico novamente. Isso se deve pela comprovação científica da sua eficácia e segurança (SILVA et al., 2015; CLEMENTINO-NETO et al., 2016) e, por extensão, atendimento ao consumismo voltado a um estilo de vida natural, uma vez que para muitas pessoas os produtos naturais representam, de forma equivocada, a ideia de “ausência de efeitos adversos”, sendo saudável, seguro e benéficos (TAGLIATI; FÉRES, 2009).

Segundo a Organização Mundial da Saúde para milhões de pessoas os medicamentos fitoterápicos, os tratamentos e práticas tradicionais são a principal fonte de cuidados de saúde e, às vezes, a única fonte de cuidados, principalmente em países em desenvolvimento. Trata-se de um recurso próximo de casa, acessível e barato, além de ser culturalmente aceitável e confiável por um grande número de pessoas. A acessibilidade da maioria dos medicamentos fitoterápicos se torna ainda mais atraente em vista dos crescentes gastos de cuidados com a saúde (WHO, 2013).

Assim o potencial curativo das plantas tornou-se objeto de estudo científico no que se refere às suas variadas propriedades medicinais. Estima-se que das 250.000 a 500.000 espécies de plantas superiores existentes no planeta, apenas 1% tem sido estudadas pelo seu potencial farmacológico (MELENDÉZ; CAPRILES, 2006; FORZZA et al., 2010).

O Brasil situa-se em uma posição privilegiada por possuir uma das mais ricas biodiversidades do mundo, contando com estimativas de 56.000 espécies de plantas catalogadas distribuídas em seus biomas (FORZZA et al., 2010a). Devido à sua potencialidade ambiental, vem sendo um lugar de destaque mundial como fornecedor de material vegetal para elaboração de cosméticos, medicamentos, alimentos, etc. Tem proporcionado à humanidade produtos com propriedades extraordinárias, porém ainda possui muitos recursos da sua flora a serem estudados, visto serem menos de 1% as espécies vegetais brasileiras que foram analisadas sob o ponto de vista químico e farmacológico (FERRO, 2006).

Diversos podem ser os potenciais terapêuticos apresentados por determinados extratos vegetais, destacando-se a atividade antimicrobiana contra uma série de agentes patogênicos. Muitas plantas tem apresentado marcante atividade antimicrobiana *in vitro* e *in vivo*, por isso há intensa busca na medicina tradicional direcionada a caracterização antimicrobiana das plantas (DIAZ et al., 2010).

Duraipandiyar et al. (2012) avaliando extratos do rizoma de *Costus speciosus* (Koen ex. Retz.) Sm. encontraram boa atividade contra bactérias gram-positivas e uma diversidade de fungos patogênicos, principalmente quando testado o extrato hexânico. Dois compostos sesquiterpenoides, costunolide e eremanthin, isolados a partir do extrato hexânico mostraram importante atividade antifúngica *in vitro*, sendo este o primeiro trabalho que relatou a atividade antifúngica desses compostos em fungos dermatófitos.

2.1.1 Metabólitos secundários

O metabolismo das plantas está dividido em metabolismo primário e secundário. O primário é responsável pela síntese de substâncias químicas destinadas ao crescimento e desenvolvimento do organismo produtor. As macromoléculas originadas por esse processo são a celulose, lignina, proteínas, lipídeos, açúcares entre outras importantes para as suas funções vitais (VON POSER; MENTZ, 2003; CHAMPE; HARVEY; FERRIER, 2008).

Já o metabolismo secundário caracteriza-se pela produção, transformação e acúmulo de inúmeras outras substâncias não necessariamente relacionada de forma direta à manutenção da vida do organismo produtor. São substâncias cuja produção e acumulação

estão restritas a um número limitado de organismos, sendo a bioquímica e o metabolismo correspondentes específicos e únicos, caracterizando-se como elementos de diferenciação e especialização. Essas substâncias são conhecidas como metabólitos secundários (FERRO, 2006).

Esses metabólitos ainda não possuem suas funções fisiológicas completamente determinadas, no entanto sua produção é associada à defesa da planta contra herbivoria, ataque de patógenos, entre outros (FERRO 2006). Paralelamente, podem ser utilizados para o restabelecimento da saúde do ser humano (JIRSCHITZKA et al., 2012), visto que podem ser terapêuticos (SILVA JUNIOR, 2003).

Estes compostos podem ser encontrados em diferentes tecidos e órgão da planta ou ainda permanecer em um único órgão (SILVA JUNIOR, 2003). Entretanto, alguns fatores podem interferir na concentração e na distribuição do composto no vegetal, tais como: localização geográfica e sazonalidade, clima e intensidade luminosa, temperatura, umidade, disponibilidade de nutrientes e tipo de solo, além do período do dia da coleta, condições fenológicas, forma de uso *in natura* ou desidratada (BRESOLIN; CECHINEL FILHO, 2010; HARAGUCHI; CARVALHO, 2010).

Dentre esses metabólitos secundários os flavonoides, heterosídeos com 15 carbonos derivados dos fenilpropanóides configuram-se como um dos grupos fenólicos mais importantes e diversificados entre os produtos de origem vegetal. Concentram-se principalmente nas partes aéreas das plantas medicinais, ocorrendo em menor número nas raízes e rizomas. Apresentam-se frequentemente oxigenados e um grande número ocorre conjugado com açúcares (FERRO, 2006). Estima-se que mais de 8.000 diferentes flavonóides já foram identificados (PIETTA, 2000), devido à ampla variação de combinações de grupos metil e hidroxil como substituintes na estrutura química básica desse grupo (HODEK et al., 2002), que dão origem a diferentes classes desse composto, tais como flavonas, antocianinas, flavonóis, flavononas, isoflavonas, bioflavonas, catequinas entre outros, com efeitos biológicos tanto para a planta como para o homem. Esses compostos podem apresentar atividade anti-inflamatória, antioxidante, antimicrobiana, diurética, fortalecimento dos vasos sanguíneos, antialérgica, antitrombótica e anticarcinogênica (FERRO, 2006; GARCIA-LAFUENTE et al., 2009).

As catequinas, forma mais reduzida de unidades C_3 em compostos flavonoides, demonstraram capacidade de inibir a enzima glicosiltransferase de *Streptococcus mutans* (NAKAJARA et al., 1993) e potencial atividade antimicrobiana sobre *Vibrio cholerae*, *S. mutans*, *Shigella*, dentre outros micro-organismos (COWAN, 1999). Possuem ainda potencial

atividade antimicrobiana contra *S. aureus* de origem alimentar (TAGURI; TANAKA; KOUNO, 2004).

Terpenos são o maior grupo de compostos secundários que ocorrem nos vegetais e compreende uma classe de metabólitos com uma grande variedade estrutural (FERRO, 2006). Originam-se da via do acetato-mevalonato a partir de uma unidade de isopreno, sendo classificados de acordo com a quantidade dessas unidades encadeadas em: hemiterpenóides (C5), monoterpenóides (C10), sesquiterpenóides (C15), diterpenóides (C20), triterpenóides (C30) e tetraterpenóides (C40) (OLIVEIRA et al., 2003).

Os monoterpenos atuam na atração de polinizadores, uma vez que são os constituintes dos óleos voláteis. Os sesquiterpenos apresentam função de defesa contra fungos e bactérias. Muitos diterpenos dão origem aos hormônios de crescimento vegetal. Os triterpenos agem na proteção contra herbívoros, alguns são antimutogênicos e outros atuam na germinação das sementes e inibição do crescimento da raiz (OLIVEIRA et al., 2003). Os tetraterpenos são os carotenóides, pigmentos encontrados na natureza que dão cor aos frutos e vegetais com variação na tonalidade do amarelo ao vermelho. Importante para o homem pelo fato de se converterem em vitamina A e apresentar atividade antioxidante, prevenindo contra doenças crônicas (COZZOLINO, 2009; ARAÚJO, 2008).

Estudos com as sesquiterpenlactonas demonstraram que ela possui inúmeras atividades biológicas, tais como: anticancerígena, anti-inflamatória, antimalárica, antiviral, antibacteriana e antifúngica (CHATURVEDI, 2011).

Segundo Mendoza et al., (1997) a ação antimicrobiana dos terpenos se deve ao fato dos terpenos lipofílicos serem solúveis em biomembranas, e que em altas concentrações, eles podem interagir com canais iônicos, transportadores e receptores presentes nas membranas e assim mudar a sua conformação e bioatividade.

Outra classe de terpenos, as saponinas, são glicosídeos de esteroides ou de terpenos policíclicos. Sua estrutura, caracterizada por uma parte lipofílica (triterpeno ou esteroide) e outra hidrofílica (açúcares), determina a propriedade de redução da tensão superficial da água e sua ação detergente e emulsificante. Esse comportamento das saponinas e a capacidade de formar complexos com esteroides, proteínas e fosfolipídios de membranas determinam um número variado de propriedades biológicas para essas substâncias, destacando-se a sua ação sobre as membranas celulares, formando poros, alterando a sua permeabilidade, apresentando um amplo efeito citotóxico ou antimicrobiano (SIMÕES et al., 2007; WINK, 2003), além de atividades hemolíticas, espermicidas, anti-inflamatórias, antiviral e ação hipocolesterolemiantes (SCHENKEL et al., 2004).

Os taninos são substâncias químicas complexas, polifenólicas, ligadas a outros componentes aromáticos, que se distribuem por toda parte da planta para protegê-la contra herbívoros, inibir a germinação de sementes alheias e também diminuir a proliferação de bactérias fixadoras de nitrogênio. Sua presença é característica pela adstringência percebida ao mastigar o vegetal que os contém (FERRO, 2006).

Os taninos no organismo humano atuam como antioxidante, antisséptico, cicatrizante e vasoconstritor. Se consumido em excesso podem reduzir significativamente a biodisponibilidade mineral e a digestibilidade proteica da refeição (COZZOLINO, 2009). Alguns estudos atribuem também aos taninos atividade antimicrobiana e que sua concentração tem efeito direto sobre essa atividade (SOUZA et al., 2007; MIN et al., 2008)

Scalbert (1991) sugere que os taninos podem agir de três maneiras sobre os micro-organismos: complexar-se com a parede celular da célula modificando o seu metabolismo ou complexando-se com as enzimas extracelulares ou com os seus substratos, assim como, complexar-se com íons metálicos, essenciais para o desenvolvimento biológico.

As antraquinonas, ou heterosídeos antraquinônicos, fazem parte do grupo das quinonas, junto com as benzoquinonas e as naftoquinonas. No organismo funcionam principalmente como purgativos (FERRO, 2006). Tonial (2010) sugere que o efeito antimicrobiano das substâncias associadas a aroeira podem estar vinculados a este grupo de compostos, uma vez que ele foi identificado tanto nos extratos brutos como nas frações ativas.

2.2 *Parkia platycephala* Benth.

Parkia platycephala Benth., é uma espécie pertencente à família Fabaceae, e é conhecida dentre outros nomes como fava-de-bolota, visgueiro ou faveira. É uma planta semidecídua, heliófita, seletiva xerófita, com distribuição nativa e endêmica na Amazônia, Caatinga e Cerrado, abrangendo os Estados do Pará, Tocantins, Maranhão, Piauí, Ceará, Bahia e Goiás (FORZZA et al., 2010b; LORENZI, 1998). Ocorre preferencialmente em formações secundárias e áreas abertas de terrenos elevados, de boa drenagem e profundos. É uma planta de 8 a 18 metros de altura, dotada de copa ampla com as pontas dos ramos quase encostando no solo, inflorescências em capítulos globosos pendentes, fruto legume achatado, glabro, frequentemente enrolado. Floresce durante os meses de julho a setembro e os frutos amadurecem de setembro a novembro (LORENZI, 1998).



Figura 1. Árvore *Parkia platycephala* Benth.

Devido ao aspecto das suas flores é uma árvore com utilidade ornamental, empregada para paisagismo e arborização de praças públicas. Sua madeira é empregada para caixotaria, tabuado para divisões internas em pequenas construções, forros, para lenha e carvão. As vagens maduras constituem forragem para os ruminantes. (LORENZI, 1998).

Estudos com essa espécie mostraram que a mesma possui efeito gastroprotetor, efeito contra lesões por isquemia-reperfusão e atividade antioxidante (FERNANDES et al., 2010), ações analgésicas em diabéticos (AMORIM et al., 2012), inibidores de serinoproteinases (CHEVREUIL et al., 2011) e inibição da enzima colinesterase (FARIAS et al., 2013).

Souza Filho et al. (2005) pesquisando substâncias químicas com atividades alelopáticas presentes nas folhas de *P. pendula* encontraram a substância 3,4,5-trimetoxibenzóico, a qual segundo pesquisa realizada por Besigmano et al. (2000) avaliando a atividade antimicrobiana do extrato de *Mtracarpus scaber* e constituintes isolados encontraram nessa substância atividade antimicrobiana para *Staphylococcus aureus*.

2.3 *Pouteria ramiflora* (Mart.) Radlk.

Pouteria ramiflora (Mart.) Radlk. é uma espécie pertencente à família Sapotaceae, conhecida popularmente por abiu, abiu-carriola, massaranduba, guajara, entre outros. É uma planta semidecídua, heliófita, seletiva xerófita, com distribuição nativa e não endêmica na Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica, abrangendo os Estados do Pará, Tocantins, Rondônia, Maranhão, Piauí, Ceará, Pernambuco, Bahia, Mato Grosso, Goiás, Distrito Federal, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, São Paulo e Rio de Janeiro (FORZZA et al., 2010b; LORENZI, 2008). É uma planta altamente lactescente de 15 a 30 metros de altura, tronco de 40 a 60 cm

de diâmetro, flores amarelo-esverdeadas, dispostas em fascículos axilares, fruto tipo drupa elipsoide. Floresce durante os meses de agosto-outubro e os frutos amadurecem em janeiro-fevereiro (LORENZI, 2008).



Figura 2. Árvore *Pouteria ramiflora* (Mart.) Radlk.

Sua madeira pode ser utilizada na construção civil e seus frutos são alimentos para animais. Por ser elegante possui características ornamentais úteis para arborização, e pela característica de moderado crescimento e adaptadas a lugares abertos é indicada para o plantio em áreas degradadas de preservação (LORENZI, 2008).

Tem sido utilizada na medicina popular por apresentar diversas funções biológicas, tais como: tratamento de dor, inflamação, verminoses, disenteria, atividade antinociceptiva, anti-inflamatória (FONTES JÚNIOR et al.; 2009), efeito antioxidante (CASTRO et al., 2006), toxicidade sobre larvas de *Artemia salina* (PERFEITO et al., 2005), inibitória da atividade α -amilase salivar, diminuição do índice glicêmico (GOUVEIA et al., 2013), efeito neuroprotetor contra danos oxidativos e expressão da miosina-Va, prevenção de perda neural (COSTA et al., 2013), atividade antimicrobiana (COSTA et al., 2003; NOGUEIRA et al., 2012) e fotoprotetora contra raios UVA e UVB (FALEIROS et al., 2006).

2.4 *Lophanthera lactescens* Ducke

Lophanthera lactescens Ducke, é uma espécie pertencente à família Malpighiaceae, conhecida vulgarmente, como lofanthera-da-amazônia e chuva-de-ouro. É uma espécie arbórea de 10 a 20 m de altura, semidecídua, heliófita ou esciófita, seletiva higrófito, característica da floresta pluvial da região Amazônica. Sua floração se dá durante os meses de fevereiro a

maio, na forma de ramos pendentes, amarelas, vistosas e a maturação dos frutos ocorre de setembro a outubro. Devido a seu valor como ornamental a espécie é bastante difundida no sudeste do país onde é empregada na arborização urbana, pode ser utilizada também para plantio em áreas degradadas e ainda com fins madeireiros (LORENZI, 2008).



Figura 3. Árvore *Lophanthera lactescens* Ducke.

Na medicina popular é utilizada pelos nativos amazônicos como agente febrífugo sobre a malária, através da ingestão de casca e folhas sobre a forma de infusão. Estudos envolvendo a obtenção de constituintes químicos permitiram o isolamento do *nor*-triterpeno codificado como LLD-3, que apresenta ação antiálgica, antitérmica e bloqueadora dos canais de potássio (ABREU et al., 1990).

Danelli et al. (2009) encontraram em teste *in vitro* com o *nor*-triterpeno codificado como LLD-3 isolado da *Lophanthera lactescens* Ducke atividade contra *Leishmania amazonensis*.

2.5 Micro-organismos

2.5.1 *Escherichia coli*

Escherichia coli é uma espécie da família Enterobacteriaceae, definida como bastonetes Gram-negativos, anaeróbios facultativos, não esporulados e que tem como habitat natural o trato intestinal do homem e animais de sangue quente (FRANCO; LANDGRAF, 2008). É constituída por uma variedade de cepas patogênicas, que com base nos fatores de virulência, sintomas clínicos e nos mecanismos de patogenicidade são divididas em seis grupos: entero-hemorrágica (EHEC), enterotoxigêncica (ETEC), enteropatogênica (EPEC),

enteroagregativa (EAggEC), enteroinvasiva (EIEC) e difusamente adesiva (DAEC) (FORSYTHE, 2013).

A principal via de transmissão da *E. coli* é representada pelo consumo de alimentos contaminados. Dependendo da cepa os sintomas vão desde gastroenterites com dores abdominais, diarreia, febre, vômito a complicações crônicas como colite hemorrágica, síndrome hemolítica urêmica (HUS), púrpura trombótica trombocitopênica (TTP), doença crônica nos rins e distúrbios nervosos centrais os quais levam a convulsões, coma e morte (FORSYTHE, 2013).

Em muitos casos as infecções por *E. coli* diarreioagênicas são autolimitantes e o tratamento se restringe à rehidratação e balanço eletrolítico, se necessário. A antibioticoterapia normalmente não é efetiva nem desejável, porém, é indicada quando a infecção é ocasionada por cepas EPEC aderentes, indutoras de diarreia persistente, por colocar a vida em risco e por serem severamente enteropatogênicas ao intestino delgado (HILL et al., 1988).

Entretanto, muitas cepas de *E. coli* vêm se tornando resistentes aos antibióticos comumente utilizados. Dias et al. (2010) estudando a sensibilidade de 44 cepas de *E. coli* isoladas de mexilhões crus, capturados no município de Niterói, Estado do Rio de Janeiro, Brasil, a antimicrobianos, observaram que 50% das cepas apresentaram resistência a Penicilina, 2,27% a Ampicilina, 40,90% a Oxacilina e 100% a Carbenicilina, uma das cepas aduziu resistência a 41,66% dos antimicrobianos.

Franco et al. (2010) avaliando 17 cepas de *E. coli* patogênicas isoladas de suínos frente a 24 tipos de antibióticos, encontraram que 100% das cepas de *E. coli* patogênicas foram resistentes a 7 antibióticos (carbenicilina, ceftazidina, clindamicina, cloranfenicol, eritromicina, penicilina e rifampicina), sendo que 100% foram sensíveis apenas a dois tipos de antibióticos e as 15 cepas restantes com resposta variável.

Por outro lado, pesquisas com extratos obtidos de plantas demonstraram efeito antimicrobiano contra estes micro-organismos. Valeriano et al. (2012) avaliando a atividade antibacteriana de óleos essenciais de hortelã-pimenta (*Mentha piperita*), capim-limão (*Cymbopogon citratus*), manjerona (*Origanum majorana*) e manjericão (*Ocimum basilicum*) frente os patógenos de origem alimentar *E. coli* enteropatogênica CDC O126, *Salmonella entérica* Enteritidis S 64, *Listeria monocytogenes* ATCC 19117 e *Enterobacter sakazakii* ATCC 29004, observaram que os óleos essenciais demonstraram atividade antimicrobiana em variadas concentrações, sendo a maioria das bactérias testadas sensíveis aos óleos. Os óleos essenciais apresentam alta atividade antimicrobiana contra *E. coli*.

2.5.2 *Salmonella* Typhimurium

Salmonella é um gênero de bactérias da família Enterobacteriaceae. São Gram-negativas, anaeróbias facultativas, não formam esporos, têm forma de bastonetes curtos (1 a 2 µm) e a maioria são móveis por flagelos peritríquios, exceto os sorotipos *S. Gallinarum* e *S. Pullorum* (FORSYTHE, 2013). Apresentam crescimento ótimo com valores de temperatura entre 35 e 43°C, pH entre 7,0 e 7,5 e atividade de água mínima de 0,94. São amplamente distribuídas no meio ambiente e têm o trato intestinal do homem e de animais como seus principais reservatórios (SILVA et al., 2010).

Segundo Jay (2005), todas as bactérias desse gênero são consideradas patogênicas aos humanos. É um dos micro-organismos mais frequentemente responsável por doenças de origem alimentar no mundo e uma causa significativa de morbidade, mortalidade e perdas econômicas (FORSYTHE, 2013).

A doença geralmente é contraída através do consumo de alimentos contaminados de origem animal, principalmente a carne bovina, de aves, os ovos e o leite, sendo os sorotipos mais importantes na transmissão dessas salmoneloses de animais para humanos a *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Typhimurium. Entretanto, vegetais contaminados com esterco também têm sido uma das fontes de transmissão de *Salmonella*, assim como produtos acabados, tais como os de confeitaria recheados com creme, cacau e chocolate, coco, molhos e coberturas para saladas não industrializados e preparação com ovos crus (SILVA et al., 2010).

Quiroz-Santiago et al. (2009) avaliando a prevalência de *Salmonella* em vegetais no México, encontraram a bactéria em 5,7% (98) de 1.700 amostras analisadas. Foram isoladas de 12% das amostras de salsa, 11% de coentro, 9% de brócolis, 9% de couve-flor, 9% de couve-cravinho, 9% de beldroega, 7% de alface, 7% de espinafre, 7% de agrião, 6% de salsa chinesa, 4% de beterraba, 3% de aipo, 3% de alface lisa, 1% de repolho e 1% das amostras de batata. 27,6% das cepas não foram tipificadas, porém das tipificadas a maior porcentagem encontrada 23,9% foi de *Salmonella* Typhimurium.

Nos Estados Unidos, estima-se que, todo ano, a *Salmonella* cause 1,2 milhões de infecções, com cerca de 23 mil internações e 450 mortes (CDC, 2013). Nos últimos catorze anos, segundo dados da Secretaria de Vigilância Epidemiológica das Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA), o Brasil registrou 1.564 surtos de infecção por *Salmonella*, sendo ela a bactéria mais associada aos surtos de DTA's no geral, correspondendo a 38,2% no ranking de micro-organismos envolvidos em toxinfecções alimentares (BRASIL, 2014). Isso porque

muitos casos mais leves não são diagnosticados ou relatados, o que poderia aumentar o número real de infecções.

As salmoneloses caracterizam-se por sintomas que incluem diarreia, febre, dores abdominais e vômitos. Os sintomas aparecem, em média, 12 a 36 horas após o contato com o micro-organismo, durando entre um e quatro dias. De modo geral, as enterocolites por *Salmonella* não necessitam de tratamento com antibióticos. Em alguns casos, a antibioticoterapia agrava o quadro clínico e pode prolongar o estado de portador. Em crianças, idosos e indivíduos com o sistema imunológico debilitado ou comprometido, ao contrário, essas infecções podem ser severas, sendo indispensável a administração de antibióticos (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Entretanto, a resistência a antibióticos em *Salmonella* tem aumentado, e, em alguns países asiáticos, mais de 90% das *Salmonella* isoladas são resistentes aos antibióticos mais comumente utilizados. A combinação do aumento da resistência a antibióticos e a vasta disseminação desses organismos têm resultado em cepas multirresistentes como a *S. Typhimurium* DT104 (FORSYTHE, 2013). De acordo com Jay (2005), esta bactéria já possui resistência a sete antibióticos: ampicilina, cloranfenicol, estreptomicina, sulfa, tetraciclina, trimetoprima e fluoroquinolonas.

Lin e Chen (2015) encontraram dois isolados de *Salmonella* em carnes de frangos comercializadas em supermercados de Hong Kong em 2013, com resistência às quinolonas e terceira geração de cefalosporinas, assim como resistentes à fosfomicina, um antibiótico com um largo espectro de atividade contra bactérias tanto Gram-positivas e Gram-negativas (POPOVIC et al., 2010).

Diante disso, muitas pesquisas estão sendo feitas com plantas medicinais e ervas aromáticas, visando encontrar compostos naturais com atividade antimicrobiana contra *Salmonella* spp. De Bona, et al. (2013), encontraram atividade antimicrobiana contra alguns sorovares de *Salmonella* spp. com extratos aquosos de *Allium sativum* L. (alho), *Rosmarinus officinalis* L. (alecrim), *Dendranthema grandiflora* Tzvelev (crisântemo), *Ruta graveolens* L. (arruda), *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf (capim limão), *Allium cepa* L. (cebola), *Curcuma longa* L. (cúrcuma) e *Zingiber officinale* Rosc (gengibre).

2.5.3 *Staphylococcus aureus*

As bactérias do gênero *Staphylococcus* são cocos Gram-positivos, anaeróbias facultativas e catalase positivas, pertencentes à família Micrococcaceae. Dentre as espécies que compõe este gênero, *Staphylococcus aureus* é considerada a mais importante, uma vez

que está associada mais frequentemente às doenças estafilocócicas, sejam de origem alimentar ou não (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Tem como seu reservatório os seres humanos e os animais de sangue quente, ocorrendo nas vias nasais, garganta, pele e cabelos de 50% ou mais indivíduos humanos saudáveis. Além disso, pode ser encontrado nos alimentos, sendo os manipuladores a fonte mais frequente de contaminação, embora os equipamentos e superfícies do ambiente também possam contaminá-los. No leite também é muito comum a contaminação por este micro-organismo, visto que a mastite, doença que infecta o úbere de vacas leiteiras, são relacionadas a esta bactéria (SILVA et al., 2010).

S. aureus é produtor de muitas enterotoxinas que contribuem para a patogenicidade da espécie. Essas toxinas têm sido associadas com a síndrome de choque tóxico, intoxicações alimentares, bem como alergias e doenças autoimunes. As intoxicações alimentares são causadas pela ingestão de enterotoxinas produzidas nos alimentos por algumas cepas de *S. aureus*, em geral porque o alimento não foi mantido quente (60°C ou mais) ou frio o suficiente (7,2°C ou menos) ficando na faixa de temperatura de crescimento da bactéria que quando alcança à população de 10^5 células por grama sintetiza a toxina (FORSYTHE, 2013).

Os sintomas da intoxicação estafilocócica aparecem geralmente dentro de 4 horas após a ingestão dos alimentos contaminados, embora intervalos de 1 a 6 horas tenham sido relatados. Os sintomas são náusea, câibras abdominais, diarreia, dor de cabeça, sudorese, prostração, algumas vezes uma queda na temperatura corporal e geralmente têm duração de 24 a 48 horas e a taxa de mortalidade é bastante baixa ou nula. O tratamento usual para pessoas saudáveis consiste em repouso e manutenção do balanço de fluidos (JAY, 2005).

Além de causar diferentes tipos de intoxicações, o *S. aureus* é o agente etiológico muito comum das infecções purulentas que atacam diferentes tecidos e órgãos. Pode ser a causa de: furúnculo, carbúnculo, abscesso, pneumonia, miocardite, endocardite, meningite e artrite bacteriana (VERHOEFF et al., 1999; PEREIRA et al., 2004; GELATTI et al., 2009).

Possui alta versatilidade em adquirir resistência aos antimicrobianos, o que os tornou uma preocupação universal (RIBEIRO FILHO, 2000). Kuchenbecker et al. (2009) avaliando resistências a antimicrobianos em isolados de *S. aureus* obtidos a partir de produtos de origem animal observaram que 35,9% dos *S. aureus* isolados não apresentaram resistência aos antimicrobianos testados, enquanto 64,1% apresentaram resistência a pelo menos um dos antimicrobianos testados. Todos os isolados foram sensíveis à gentamicina. As maiores frequências de resistência foram observadas contra penicilina, norfloxacin, canamicina e

tetraciclina. Os produtos de frango apresentaram (82,9%) dos isolados com resistência à pelo menos um antimicrobiano.

Fleming et al. (2010) encontraram em amostras de queijo *S. aureus* resistentes a cinco antibióticos: amicacina, ampicilina, canamicina, gentamicina e penicilina. Em razão da resistência aos antibióticos e seu amplo potencial infectante, há necessidade urgente, já reconhecida pela OMS, da descoberta e/ou síntese de novos antibióticos para o tratamento de *S. aureus* multirresistentes (SANTOS et al., 2007).

Palmeira et al. (2010) encontraram atividade antimicrobiana de extrato hidroalcolólico de *Anadenanthera macrocarpa* (angico) em cepas de *S. aureus*. Garcia et al. (2011) encontraram em extratos hidroetanólicos de *Bidens pilosa* (picao-preto, planta toda), *Psidium guajava* var. *pomifera* (goiabeira, casca da árvore), *Hymenaea courbaril* var. *stilbocarpa* (jatobá, casca da árvore) e *Pothomorphe umbellata* (pariparoba, folhas) atividade antibacteriana ou bactericida contra cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes e sensíveis a meticilina (MRSA e MSSA).

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Estudar o perfil fitoquímico e potencial antimicrobiano *in vitro* de extratos vegetais de três plantas medicinais coletadas no Estado do Tocantins sobre micro-organismos frequentemente relacionados com toxinfecções alimentares.

3.2 Específicos

- Avaliar a composição fitoquímica de extratos brutos (aquosos e hidroalcoólicos) de: *Parkia plathycephala* Benth (fava-de-bolota), *Pouteria ramiflora* (Mart.) Radlk (guajara) e *Lophantera lactescens* Ducke (chuva-de-ouro).
- Determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) e a Concentração Bactericida Mínima (CBM) dos extratos vegetais aquosos e hidroalcoólicos sobre os micro-organismos *Escherichia coli*, *Salmonella Typhimurium* e *Staphylococcus aureus*.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material vegetal

4.1.1 Coleta e identificação

Folhas e entrecascas foram os órgãos das plantas utilizadas neste estudo. Foram coletadas no município de Palmas-TO, Brasil, em julho de 2015 para as espécies *Parkia plathycephala* Benth (22L 0789026, UTM 8873546) e *Pouteria ramiflora* (Mart.) Radlk (22L 792144, UTM 8873322) e em setembro de 2015 para a espécie *Lophanthera lactescens* Ducke (22 L 0791650 UTM 8870140). Para cada espécie de planta foram coletados materiais de três exemplares, totalizando três repetições por espécie vegetal. As espécies foram identificadas pelo curador Dr. Rodney Haulien Oliveira Viana e uma exsicata de cada espécie foi depositada no Herbário Tocantins (HTO) situado no NEAMB (Núcleo de Estudos Ambientais), Campus de Porto Nacional da Universidade Federal do Tocantins sob os seguintes números de registros: HTO 10.951 - *Parkia plathycephala* Benth, HTO 10.949 - *Pouteria ramiflora* (Mart.) Radlk e HTO 10.950 - *Lophanthera lactescens* Ducke.

4.1.2 Preparo do material vegetal

Após a coleta os órgãos vegetais foram encaminhados para a Universidade Federal do Tocantins, Laboratório de microbiologia ambiental e biotecnologia no Campus de Palmas, para dar prosseguimento à pesquisa. Primeiramente, as folhas foram lavadas para retirar as sujidades, sanificadas por imersão em solução clorada a 100 ppm por 10 minutos, enxaguadas e por último um enxague com água destilada, colocadas para escorrer o excesso de água sobre bandejas de aço inoxidável com furos, em sala refrigerada e, então, levadas para secagem em estufa com circulação de ar a 48°C até ficarem quebradiças. As entrecascas foram raladas e colocadas para secar também em estufa a 48°C. Após a secagem cada órgão vegetal foi triturado individualmente em liquidificador e armazenados em frascos de vidro estéreis hermeticamente fechados sob o abrigo da luz dentro de caixas de papelão até a elaboração dos extratos (JUNQUEIRA et al., 2007) com modificações. Para cada órgão vegetal foram elaborados dois tipos de extratos (aquoso e hidroalcoólico).

4.1.3 Obtenção dos extratos aquosos

Para a elaboração do extrato aquoso foi utilizada a metodologia de Junqueira et al. (2007) com modificações. Os pós obtidos a partir das folhas e entrecascas secas e moídas foram diluídos a concentração de 10% (m/v) em água tipo 1 (deionizada) esterilizada, deixados macerar dentro de béqueres envoltos em papel alumínio para evitar a entrada de luz, em temperatura ambiente com agitação ocasional por 48 horas. Após o período de maceração os extratos foram filtrados à vácuo em funil de Büchner, congelado e liofilizado. Os extratos liofilizados foram acondicionados em frascos de polietileno, tampados, vedados com parafilme e armazenados sob refrigeração (2-8°C) até o momento da sua solubilização.

4.1.4 Obtenção dos extratos hidroalcoólicos

Para a elaboração do extrato hidroalcoólico foi utilizada a metodologia de Junqueira et al. (2007) com modificações. Os pós obtidos a partir das folhas e entrecascas secas e moídas foram diluídos a concentração de 10% (m/v) em álcool 70%, deixados macerar dentro de béqueres envoltos em papel alumínio para evitar a entrada de luz, em temperatura ambiente com agitação ocasional por 7 dias. Após o período de maceração os extratos foram filtrados à vácuo em funil de Büchner, eliminado o solvente sob pressão reduzida em rotaevaporador a 50°C e, posteriormente, concentrado em banho-maria a 40°C. Os extratos foram acondicionados em frascos de vidros hermeticamente fechados envoltos com fita alumínio e armazenados sob refrigeração (2-8°C) até o momento da sua solubilização.

4.2 Triagem fitoquímica dos extratos vegetais

As análises de triagem fitoquímica dos extratos vegetais foram realizadas de acordo com a metodologia proposta por Matos (1988), baseada em avaliação qualitativa de detecção dos metabólitos secundários. Todas as análises foram realizadas com três repetições e em triplicata.

4.2.1 Identificação de Ácidos Orgânicos

Dois miligramas do extrato foram dissolvidos em 3 mL de água destilada, em seguida, adicionou-se gotas do Reativo de Pascová e foi observada a reação, descoloração indica a presença de ácidos orgânicos.

O Reativo de Pascov consistiu na mistura 1:10 das soluoes B (1 parte) e A (9 partes), que foram preparadas no momento da analise, devido a sua estabilidade ser de 5 a 10 minutos.

A soluao “A” foi preparada diluindo-se 0,075 g de verde de bromocresol e 0,25g de azul de bromofenol em 100 mL de etanol. Para a soluao “B”, foram diluidos 0,25g de permanganato de potassio e 0,25g de carbonato de sodio em 100 mL de gua destilada.

4.2.2 Identificaao de Taninos

Dois miligramas do extrato foram dissolvidos em 10 mL de gua destilada e, em seguida, foi adicionada uma gota de cloreto ferico a 1%. Observou-se a mudana de coloraao ou formaao de precipitado, que indicam reaao positiva para a presena de taninos.

4.2.3 Identificaao de Catequinas

Dois miligramas do extrato foram dissolvidos em 3 mL de metanol, em seguida, foi adicionado 1 mL de soluao aquosa de vanilina a 1% e 1 mL de cido cloridrico concentrado. O surgimento de uma coloraao vermelha intensa na soluao indica reaao positiva para a presena de catequinas.

4.2.4 Identificaao de Flavonoides

Dois miligramas do extrato foram dissolvidos em 3 mL de metanol, em seguida, foram adicionadas cinco gotas de cido cloridrico concentrado e um centimetro de fita de magnesio. Observada a mistura o surgimento de uma coloraao rosea na soluao indica reaao positiva para a presena de flavonoides.

4.2.5 Identificaao de Glicosdeos Cardioativos

Dois miligramas do extrato foram dissolvidos em 4 mL de metanol e a soluao separada em duas poroes de 2 mL (tubos 1 e 2).

Posteriormente, algumas gotas do reativo de Kedde foram adicionadas ao tubo 1, observando-se a formaao de uma coloraao azul ou violeta, que indica reaao positiva.

No tubo 2, foram adicionados 3 gotas da soluao de nitroprussiato de sodio a 5% em gua destilada e tres gotas de hidroxido de sodio 2M. Observado no tubo 2 a formaao de uma coloraao roxa intensa, indica reaao positiva.

O reativo de Kedde foi preparado no momento de realizaao do teste, misturando-se a soluao A e B com as seguintes composioes:

Solução A: 2g de 3,5-dinitroácido benzóico para 50 mL de metanol;

Solução B: 5,7g de hidróxido de potássio para 100 mL de metanol.

4.2.6 Identificação de Sesquiterpenlactonas e outras lactonas

Dois miligramas do extrato foram dissolvidos em 2 mL de metanol, em seguida, foi adicionado de duas gotas de cloridrato de hidroxilamina a 10% e 2 gotas de solução metanólica de hidróxido de potássio a 10%. Os tubos foram aquecidos suavemente, em banho-maria, durante dois minutos, sendo resfriados e as misturas acidificadas com ácido clorídrico 1M e adicionado de uma gota de cloreto férrico a 1%. Observado o surgimento de uma coloração violeta, indica reação positiva.

4.2.7 Identificação de Azulenos

Dois miligramas do extrato foram dissolvidos em 1 mL de clorofórmio e a solução concentrada até 0,5 mL em banho-maria. Em seguida, foi adicionado 2,5 mL do reativo de Kaiser, sendo os tubos aquecidos em banho-maria durante cinco minutos. Depois de frios, os tubos foram agitados com 10 mL de éter de petróleo e deixados em repouso para separação das duas fases. Nos extratos que contêm azulenos, a fase aquosa adquire a cor azul, porém se as concentrações forem muito pequenas, obtêm-se colorações esverdeadas.

O reativo de Kaiser foi preparado dissolvendo-se 0,25g de p-Dimetilaminobenzaldeído na mistura de 47 mL de ácido acético glacial (PA), 3,6 mL de ácido fosfórico concentrado a 85% e 20 mL de água destilada.

4.2.8 Identificação de Carotenóides

Dois miligramas do extrato foram dissolvidos em 3 mL de clorofórmio e, em seguida, acrescentado gotas de ácido trifluoroacético. O aparecimento de coloração azul na solução é indicativo da presença de carotenóides.

4.2.9 Identificação de Esteróis e Triterpenóides

Dois miligramas do extrato foram dissolvidos em 3 mL de clorofórmio e, em seguida, adicionado de 2 mL de anidrido acético. Os tubos foram agitados suavemente, com a subsequente adição de 1 mL de ácido sulfúrico concentrado. No caso de reação positiva, observa-se uma sucessão de cores, do azul ao verde persistente.

4.2.10 Identificação de Derivados da Cumarina

Dois miligramas do extrato foram dissolvidos em 5 mL de éter etílico, com subsequente evaporação do éter, em banho-maria, até 0,5 mL. Em papel de filtro, foi aplicado gotas da solução etérea, de modo a formar duas manchas de 1 cm de diâmetro cada. A uma delas adicionou-se uma gota de hidróxido de sódio 1M. A metade da mancha foi coberta com papel escuro e o papel exposto à luz ultravioleta. O surgimento de fluorescência azul na parte exposta da mancha indica reação positiva.

4.2.11 Identificação de Saponinas

Dois miligramas do extrato foram dissolvidos em 1 mL de etanol 80% e diluídos até 15 mL com água destilada. A mistura foi agitada vigorosamente durante alguns minutos em um tubo de ensaio fechado. Se a camada de espuma formada permanecer estável por mais de meia hora, o resultado é considerado positivo para saponina.

4.2.12 Identificação de Alcaloides

Dois miligramas do extrato foram dissolvidos em 4 mL de ácido clorídrico a 5%. Em seguida, a solução foi separada em três porções de 1 mL em tubos de ensaio, adicionando-se gotas dos reagentes: Bouchardat – formação de precipitado laranja avermelhado; Dragendorff - formação de precipitado vermelho tijolo e Mayer - formação de precipitado branco.

A formação de precipitação indica reação positiva.

O reativo de Bouchardat foi preparado com a dissolução de 4g de iodeto de potássio e 2 g de Iodo em 100 mL de água destilada.

O reativo de Dragendorff foi preparado a partir da mistura das soluções A e B, em frasco escuro, com as seguintes composições:

Solução A (0,85 g de subnitrito de bismuto em 10 mL de ácido acético, completando-se o volume para 40 mL de água destilada);

Solução B (8g de iodeto de potássio em 20 mL de água destilada);

O reativo de Mayer foi obtido pela mistura das soluções A e B com as seguintes composições:

Solução A (1,36 g de bicloreto de mercúrio em 60 mL de água destilada),

Solução B (5g de iodeto de potássio em 10 mL de água destilada).

4.2.13 Identificação de Antraquinonas

Dois miligramas do extrato foram dissolvidos em 3 mL de benzeno, adicionando-se em seguida 2 mL de hidróxido de amônio a 10% com agitação suave. Observada a formação de uma coloração rósea, vermelha ou violeta na fase aquosa, indica reação positiva.

4.3 Atividade antimicrobiana

Esta fase do estudo foi realizada no Laboratório de Microbiologia de Alimentos, Setor Produtos, do Laboratório Central de Saúde Pública do Estado do Tocantins (LACEN/TO) da cidade de Palmas.

4.3.1 Preparo das soluções de extratos

Os extratos obtidos foram solubilizados em solução de Dimetilsulfóxido (DMSO) a 1% na concentração de 25 mg/mL, solução estoque, homogeneizado em banho ultrassônico até sua completa dissolução, filtrados em membrana de 0,22 µm estéril armazenados em geladeira até os experimentos (SIMONETTI, 2015) com adaptações.

4.3.2 Obtenção e manutenção das cepas testadas

Os micro-organismos de referência utilizados neste trabalho foram as bactérias *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028 obtidas da Bacterioteca do Laboratório Central de Saúde Pública do Tocantins, fornecidas pelo INCQS/FIOCRUZ (Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde). As cepas estavam armazenadas sob congelamento a -70°C em caldo Brain Heart Infusion (BHI) com 20% de glicerol. Para reativação foram repicadas em Agar nutriente e incubadas por 24 horas a 35°C . Posteriormente, foram repicadas para tubos de Agar nutriente inclinado incubadas por 24 horas a 35°C e armazenadas em geladeira a temperatura de $2-8^{\circ}\text{C}$ até o momento de preparo e padronização para os testes.

4.3.3 Preparo e padronização da suspensão bacteriana

Para o preparo do inóculo, as culturas em tubo de ágar nutriente inclinado mantidas em geladeira foram repicadas para placas de ágar Mueller Hinton e incubadas por 24 horas a 35°C . Então, foi feita uma suspensão direta de colônias em uma solução salina 0,85% estéril, ajustada a turbidez com a escala 0,5 de McFarland, seguida de leitura espectrofotométrica a

625 nm até obtenção de absorvância entre 0,08 a 0,10 ($1,0 \times 10^8$ UFC/mL). Em seguida, a suspensão foi diluída em caldo Mueller Hinton (CMH) na proporção 1:10 para obter-se a concentração de $1,0 \times 10^7$ UFC/mL, utilizada nos ensaios (NCCLS, 2003).

4.3.4 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A Concentração Inibitória Mínima foi determinada pela técnica de microdiluição em caldo segundo a metodologia descrita na norma M7-A6 do National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS, 2003).

A montagem do teste consistiu primeiramente na distribuição de 100 μ L de CMH nos poços de uma placa de microdiluição, em seguida, 100 μ L de extrato, solução estoque a 25mg/mL aos poços da primeira linha A, homogeneização e retirada de 100 μ L de cada poço da linha A para a linha B e, assim sucessivamente, até os poços da linha H, do qual foi retirado 100 μ L e descartados. Assim, foram realizadas 8 diluições de cada amostra obtendo-se concentrações finais de extrato de: 12,5; 6,25; 3,12; 1,56; 0,78; 0,39; 0,19 e 0,09 mg/mL. Logo após, foi adicionado 5 μ L de inoculo da suspensão padrão ajustada a $1,0 \times 10^7$ UFC/mL em cada orifício da microplaca homogeneizando o inoculo com o meio. As microplacas foram vedadas com parafilme e incubadas a 35°C por 24 horas. Foram realizados também os seguintes controles: controle negativo (meio de cultura, solvente DMSO a 1% e inoculo), controle positivo (meio de cultura, antibiótico cloranfenicol a concentração de 1000 a 7,81 μ g/mL e inoculo), controle de crescimento (meio de cultura com inoculo e sem antibiótico ou extrato) e controle de esterilidade do caldo (CMH sem o micro-organismo).

Os experimentos foram realizados com três repetições e em triplicata, sendo que em cada microplaca foram testados 3 extratos em triplicata, conforme Figura 04.

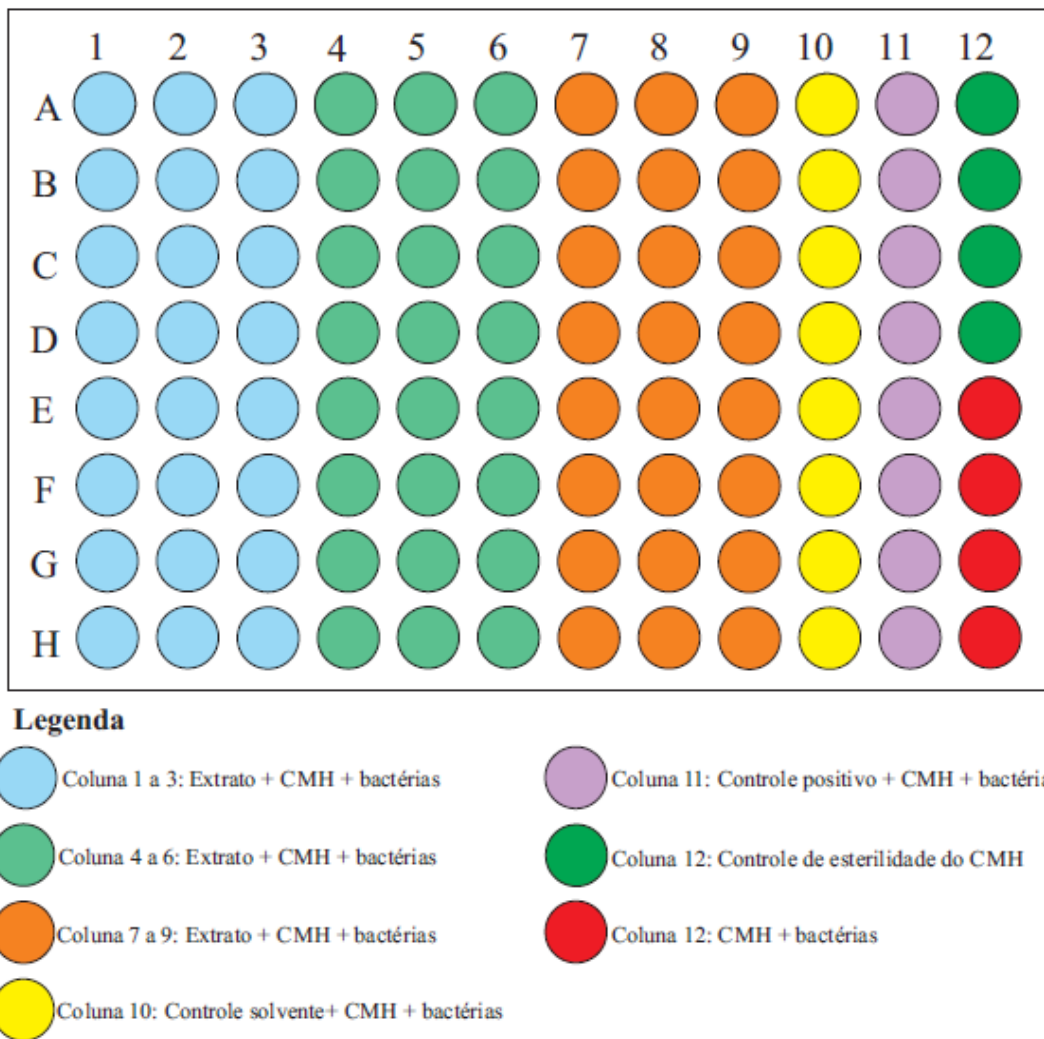


Figura 4. Esquema de distribuição e diluição seriada dos extratos vegetais na microplaca de 96 poços.

4.3.5 Leitura com revelador resazurina

Decorrido o período de incubação foram adicionados em cada orifício da microplaca 30 μ L de resazurina a 0,03% (m/v) estéril com o objetivo de verificar por meio de leitura visual em quais poços houve crescimento bacteriano. Após aplicação do corante revelador as placas foram reincubadas por 1 hora ou o tempo necessário para a viragem do corante e então realizada a leitura, mostrando que a presença de cor azul representava ausência de crescimento e de cor rosa, presença de crescimento bacteriano (PALOMINO et al., 2002) com modificações. Foi considerada como CIM a menor concentração do extrato capaz de inibir o crescimento microbiano.

4.3.6 Determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM)

Para a determinação da Concentração Bactericida Mínima, a partir dos poços onde não houve crescimento bacteriano visível no teste da CIM, foi retirada uma alíquota de 10 µL e inoculada na superfície de ágar Mueller Hinton estéril. As placas foram incubadas a 35°C e após 24h foi definida a CBM como a menor concentração do extrato em estudo na qual não houve crescimento de colônias na superfície do meio de cultura (morte do inoculo) (SANTURIO et al., 2007). Os ensaios de CBM foram realizados em triplicata.

A interpretação dos resultados consistiu: nas placas onde houve crescimento do micro-organismo o extrato possui ação bacteriostática e naquelas onde não houve crescimento microbiano o extrato tem ação bactericida.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Análise fitoquímica

A análise fitoquímica permite avaliar qualitativamente a composição dos extratos em estudo. Na Tabela 1 apresenta-se o resultado expresso em presença ou ausência dos compostos bioativos pesquisados nos extratos aquosos e hidroalcoólicos dos órgãos vegetais das diferentes plantas avaliadas.

Tabela 1. Resultado da triagem fitoquímica realizada nos extratos brutos das espécies vegetais *Parkia platycephala* Benth, *Pouteria ramiflora* (Mart) Radlk e *Lophanthera lactescens* Ducke

Compostos fitoquímicos	<i>P. platycephala</i>		<i>P. ramiflora</i>		<i>L. lactescens</i>								
	Folha		Entrec.		Folha		Entrec.		Folha		Entrec.		
	EA	EH	EA	EH	EA	EH	EA	EH	EA	EH	EA	EH	
Ácidos orgânicos	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Alcalóides	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Antraquinonas	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	
Azulenos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Carotenóides	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Catequinas	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	
Cumarinas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Esteróis e Triterpenóides	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Flavonóides	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Glicosídeos cardioativos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Saponinas	+	+	+	+	+	+	+/-	+/-	+	+	+	+	
Sesquiterpenlactonas e outras lactonas	e	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+
Taninos	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	

EA - Extrato aquoso; EH - Extrato hidroalcoólico; + presença; - ausência; +/- traços; Entrec.: entrecasca.

Pode ser observado na Tabela 1 que todas as espécies vegetais nos diferentes tipos de extratos apresentaram ácidos orgânicos em sua composição. Isso corresponde ao fato de ser um composto encontrado em todo o reino vegetal e que desempenha importante papel no metabolismo primário da planta, como a fotossíntese e a respiração (FERRO, 2006).

O composto antraquinonas foi obtido apenas nos extratos da entrecasca, com exceção da espécie *Parkia platycephala* que não houve. Lima et al. (2006) também obteve resultado semelhante encontrando esse composto somente nos extratos da casca de *S. terebenthifolius* Raddi.

Os compostos taninos e saponinas foram encontrados em todos os extratos avaliados, substâncias essas que sob o aspecto de investigação de atividade antimicrobiana são consideradas muito importantes, por apresentarem esse potencial confirmado (LEWIS; AUSUBEL, 2006; COWAN, 1999).

Para a espécie *Parkia platycephala* os diferentes tipos de extratos apresentaram iguais classe de compostos fitoquímicos, até mesmo com órgãos vegetais diferentes. Udobi; Onaolapo (2009) na análise fitoquímica de extratos da folha, casca do caule e raiz de *Parkia biglobosa* na África observaram esse mesmo comportamento quando avaliaram a fração aquosa obtida dos extratos metanólicos. Já quando avaliaram frações com solventes apolares obtiveram somente uma classe de metabólitos secundários, alcaloides para a fração com clorofórmio, o que não foi extraído com o solvente polar. Isso confirma os taninos e saponinas serem extraídos com os dois tipos de solvente utilizados neste trabalho, por serem polares.

Para algumas plantas do gênero *Parkia* alguns autores encontraram os seguintes metabólitos secundários: glicosídeos cardioativos, taninos, saponinas, flavonoides (UDOBI; ONAOLAPO, 2009; UDOBI; ONAOLAPO, 2012; ADARAMOLA et al., 2012; EL-MAHMOOD; AMEH, 2007; ABIOYE et al., 2013). Além desses, alguns relataram a presença de alcalóides e esteróis (EL-MAHMOOD; AMEH, 2007; ABIOYE et al., 2013; AJAIYEoba, 2002), até antraquinonas foram identificadas, (ADARAMOLA et al., 2012). Entretanto, Ajaiyeoba (2002) foi o único que não encontrou saponinas.

Para as espécies da família Sapotaceae é citada a ocorrência de flavonóides e triterpenos. Os flavonóides são apontados como marcadores quimiotaxonômicos para o gênero *Pouteria*, com maior frequência nas folhas e os triterpenos, encontrados além das folhas, nos demais órgãos (SILVA et al., 2009). Também é relatada a presença de alcalóides, benzenóides e fenilpropanóides (MONTENEGRO et al., 2006).

Oliveira et al. (2014), avaliando a composição fitoquímica de cascas de *P. ramiflora* encontraram compostos fenólicos, taninos, antraquinonas, cumarinas, esteróides, triterpenos, saponinas, glicosídeos cardioativos e alcaloides. Silva (2007), além de isolar triterpenos pentacíclicos das folhas de *P. ramiflora*, coletadas em Brasília, encontrou também flavonóides e atribuiu a este composto a atividade antioxidante encontrada no extrato etanólico.

Em outras espécies do gênero *Pouteria*, tais como *P. campechiana*, *P. sapota* e *P. viridis* foram identificados nos frutos dentre outros constituintes químicos galocatequina, catequina, epicatequina e galatocatequina (MA et al., 2004), corroborando com a presença de

catequinas encontrada nos extratos deste trabalho, visto que as plantas foram coletadas na época de sua floração ou frutificação.

Para a espécie *L. lactescens* Ducke estudo realizado por Abreu et al. (1990) mostrou que já foram isolados esteróides e um triterpenóide de sua madeira. Em estudo realizado com espécies da família Malpighiaceae, foram identificados flavonoides, catequinas e taninos quando utilizado solvente polar (MICHELIN et al., 2008), esses dois últimos compostos foram encontrados na espécie deste trabalho.

As diferenças nos resultados de compostos fitoquímicos encontrados neste trabalho em relação aos de outros autores é explicada pelo fato de que a constituição química de espécies vegetais pode ser influenciada qualitativamente e quantitativamente por variações climáticas, geográficas entre outras (NASCIMENTO et al., 2008).

É sabido que inúmeras atividades biológicas são atribuídas aos compostos fitoquímicos, propriedades essas que foram elucidadas por meio do estudo desses compostos na sua forma isolada dos extratos brutos das plantas. Diferentemente do que ocorre com os medicamentos, em que os seus princípios ativos estão presentes na forma pura, isolada e concentrada, nos preparados fitoterápicos, assim como, nos extratos brutos todos os seus constituintes químicos estão presentes na formulação e frequentemente com interações entre eles, sejam por sinergismos ou antagonismos (FERRO 2006).

Diante disso e baseado nos tipos de compostos fitoquímicos encontrados nos extratos brutos das plantas avaliadas neste trabalho algumas atividades biológicas podem ser atribuídas ao seu uso, embora pesquisas mais aprofundadas devam ser realizadas para avaliar quais as substâncias presentes da classe desses compostos possam ser responsáveis pelo efeito farmacológico. Os extratos deste trabalho possuem possibilidade de uso para fins de atividade antifúngica, antibacteriana, antiviral, antioxidante, hipocolesterolemiantes, diuréticas, expectorantes, antiinflamatória, cicatrizante, anti-hemorrágico, hipotensor, laxativo e/ou antidiarréico, com exceção dos extratos elaborados das folhas de *L. lactescens* Ducke, possuem também ação antitumoral, anti-malárica e redução da gordura corporal (CHATURVEDI, 2011; LAMARÃO; FIALHO, 2009; JAIMES, 2006; FERRO, 2006; SOUZA et al., 2007). Além desses, os extratos das entrecascas das espécies *P. ramiflora* e *L. lactescens* Ducke por apresentar antraquinonas na sua fórmula, podem ter atividade laxativa e antimicrobiana, com potencial utilidade contra formação de biofilmes e inibição de atividade hemolítica de *S. aureus* (FERRO, 2006; TSAFFACK et al., 2009; LEE et al., 2016).

5.2 Atividade antimicrobiana

Os resultados de atividade antimicrobiana dos extratos vegetais obtidos neste estudo estão apresentados na Tabela 2. Os controles negativos e de crescimento, assim como o controle positivo e de esterilidade do meio de cultura responderam aos resultados esperados, não havendo atividade para os dois controles citados primeiramente e com atividade antimicrobiana para o controle positivo e comprovada a esterilidade do meio de cultura.

Tabela 2. Concentração Inibitória Mínima (mg/mL) e Concentração Bactericida Mínima (mg/mL) dos extratos de *Parkia platycephala* Benth, *Pouteria ramiflora* (Mart.) Radlk e *Lophanthera lactescens* Ducke

Planta	Parte da planta	Extra to	Micro-organismos					
			<i>E. coli</i>		<i>S. Typhimurium</i>		<i>S. aureus</i>	
			CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM
<i>P. platycephala</i>	Folha	EA	-	-	-	-	1,56	3,12
		EH	-	-	-	-	1,56	1,56
	Entrecasca	EA	12,5	-	12,5	12,5	0,78	1,56
		EH	12,5	-	12,5	12,5	0,78	1,56
<i>P. ramiflora</i>	Folha	EA	-	-	-	-	0,78	1,56
		EH	-	-	-	-	1,56	3,12
	Entrecasca	EA	-	-	-	-	1,56	3,12
		EH	-	-	-	-	0,78	1,56
<i>L. lactescens</i>	Folha	EA	-	-	-	-	-	-
		EH	-	-	-	-	-	-
	Entrecasca	EA	-	-	-	-	1,56	3,12
		EH	-	-	-	-	1,56	1,56

EA - Extrato aquoso; EH - Extrato hidroalcoólico; CIM - Concentração Inibitória Mínima; CBM - Concentração Bactericida Mínima; - : não determinado na faixa de concentração testada.

Os resultados obtidos mostram que os extratos das folhas da *L. lactescens* Ducke foram os únicos que não apresentaram atividade contra nenhum dos micro-organismos testados nas condições deste estudo.

Em relação aos tipos de extratos observou-se que os hidroalcoólicos foram os mais potentes, com exceção para a entrecasca da *P. platycephala*, que obteve o mesmo comportamento em relação ao aquoso e da folha da *P. ramiflora* em que o extrato aquoso se sobressaiu ao hidroalcoólico. Sanches et al. (2005), avaliando extratos de *Psidium guajava* L. também encontraram maior atividade nos extratos hidroalcoólicos e na casca do caule para *S. aureus* corroborando com os resultados deste trabalho.

Dentre os micro-organismos avaliados o *S. aureus* foi o que se apresentou mais sensível aos extratos, sendo a única bactéria a ser inibida também pelos extratos elaborados das folhas. Para essa bactéria os extratos que apresentaram melhor potencial antimicrobiano com CIM de 0,78 mg/mL e CBM de 1,56 mg/mL foram os extratos aquoso e hidroalcoólico da entrecasca da *P. platycephala*, o aquoso da folha e o hidroalcoólico da entrecasca da *P. ramiflora*. Quanto à espécie *L. lactescens* Ducke o extrato hidroalcoólico da entrecasca foi o que apresentou melhor efeito contra *S. aureus*, uma vez que obteve valor de CBM 1,56 mg/mL.

Contra *S. Typhimurium* somente os extratos da entrecasca da *P. platycephala* apresentaram atividade, com CIM e CBM de 12,5 mg/mL. *E. coli* apresentou CIM de 12,5 mg/mL, também somente para os extratos da entrecasca da *P. platycephala*, mas não apresentou CBM nas concentrações testadas.

Vários estudos confirmam os resultados encontrados neste trabalho sobre maior sensibilidade de *S. aureus* aos extratos vegetais (SILVA, 2007; SILVA, 2010; ARAÚJO et al., 2015). Segundo Bylka et al. (2004) a camada de peptidoglicano na parede celular das bactérias Gram-positivas é mais espessa, enquanto que nas Gram-negativas é mais fina. Além disso, as Gram-negativas apresentam duas membranas, sendo uma delas externa ao peptidoglicano. Estas diferenças estruturais resultam em diferentes susceptibilidades a uma variedade de antibióticos que tem as estruturas de contorno celular como sítios de ação.

Aliado a isso, com exceção dos extratos da folha de *L. lactescens* Ducke, todos os demais extratos apresentaram o composto catequina em sua composição (Tabela 1), vários estudos tem constatado que as bactérias Gram-positivas apresentam maior sensibilidade a esse composto (HISANO et al., 2003; TAGURI; TANAKA; KOUNO, 2004). Silva (2013) relacionou a atividade antimicrobiana de *E. dysenterica* frente a cepas Gram-positivas a presença de catequinas, composto majoritário encontrado no extrato.

Às sesquiterpenlactonas encontradas nos extratos deste trabalho (Tabela 1) também já foram atribuídas atividade antimicrobiana. Segundo Chaturvedi (2011) vários estudos testando esses compostos contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, mostraram que ambas podem ser inibidas e que dependendo do composto que compõe essa classe, as Gram-positivas se mostram mais sensíveis. Algumas classes de sesquiterpenlactonas já mostraram atividade até contra *S. aureus* sensível e resistente a meticilina, assim como também contra *Mycobacterium tuberculosis* e *Corynebacterium diphtheriae*.

Farias et al. (2013) estudando o extrato etanólico de sementes de *Parkia platycephala* sobre *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* e *Salmonella choleraesuis* não detectaram

atividade antimicrobiana. Entretanto, neste trabalho, as folhas e, em especial, a entrecasca dessa espécie apresentaram atividade antimicrobiana nos dois tipos de extratos avaliados, o que mostra serem esses órgãos vegetais a parte promissora da espécie.

Estudos com plantas do gênero *Parkia* realizados na Nigéria evidenciam o potencial antimicrobiano que o gênero possui. Ajaiyeoba (2002) reportou atividade antimicrobiana de extratos aquosos e etanólicos da folha de *Parkia biglobosa* e *Parkia bicolor* contra bactérias gram-positivas (*S. aureus* e *B. cereus*), porém não encontrou atividade para as gram-negativas (*E. coli* e *P. aeruginosa*), consoante com o resultado deste trabalho.

El-Mahmood e Ameh (2007), avaliando extratos aquosos e metanólicos da casca da raiz de *P. biglobosa* encontraram atividade antimicrobiana, mas em concentrações muito elevadas de extrato. Os micro-organismos mais sensíveis foram *S. aureus* e *K. pneumoniae* com CIM de 50 mg/mL, já *P. aeruginosa* e *E. coli* mostraram-se bem mais resistentes com CIM de 200 mg/mL.

Udobi e Onaolapo (2009), pesquisando extratos da folha, casca do caule e raiz de *P. biglobosa*, encontraram atividade tanto contra bactérias gram-positivas quanto gram-negativas. *S. aureus* mostrou-se o micro-organismo mais sensível aos extratos, com CIM de 1,562 mg/mL para os extratos da folha e da casca do caule e CBM de 3,125 mg/mL somente para a casca do caule. Por outro lado, a *E. coli* mostrou-se a mais resistente das bactérias, com CIM de 25 mg/mL para os dois tipos de extratos citados anteriormente, não sendo encontrado valor de CBM nas concentrações testadas.

Udobi, Onaolapo e Abdulsalaam (2010) em estudo utilizando bioautografia na fração aquosa do extrato metanólico da casca do caule de *P. biglobosa* identificaram quatro compostos bioativos. Quando testados individualmente apresentaram boa atividade contra *S. aureus*, pouca atividade contra *P. aeruginosa* e nenhuma atividade contra *B. subtilis* e *E. coli*. Entretanto, eles observaram que quando os compostos foram testados combinados o efeito antimicrobiano foi claramente maior sobre *S. aureus*. Assim eles sugerem que o efeito antimicrobiano desse extrato contra outros micro-organismos, relatados em outros trabalhos, se deva aos compostos não na sua forma isolada, e sim, associados. Nogueira (2012) com seus estudos também obteve essa mesma conclusão, que a atividade biológica de extratos de plantas é devido aos efeitos combinados e/ou sinérgicos de uma mistura complexa de fitoquímicos.

Wink (2003) explica que os metabólitos secundários estão presentes em complexas misturas constituídas por vários tipos estruturais. Esta estratégia garante uma interferência com mais de um alvo molecular nos micro-organismos, aumentando a chance de inibi-lo.

Segundo esse autor mesmo que a interação individual de um metabólito secundário particular possa ser inespecífica e fraca, a soma de todas as interações leva a um efeito substancial.

Abioye et al. (2013), encontraram atividade antimicrobiana em extratos da casca do caule de *P. biglobosa* contra 15 micro-organismos. Para *S. aureus* CIM de 2,5; 5,0 e 10 mg/mL e CBM de 5,0 e 10 mg/mL para os extratos metanólicos, frações n-hexânico e aquosa respectivamente. Para *E. coli* CIM de 2,5; 10 e 10 mg/mL e CBM de 5,0 mg/mL para a mesma sequencia de extratos citada acima.

Em estudos com a *Pouteria ramiflora*, Nogueira (2012) encontrou valores de atividade antimicrobiana bem abaixo dos valores encontrados neste trabalho. Esse autor obteve para *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli*, *P. aeruginosa* e *S. setubal* valores de CIM de 125, 250, 500, 62,5 e 250 µg/mL, respectivamente. Já Silva (2013) pesquisando extrato etanólico da folha e hexânico do caule encontrou atividade somente para *S. aureus* com uma concentração de 1000 µg/disco, muito maior que o valor deste trabalho.

Não foi encontrado na literatura informações sobre atividade antimicrobiana de *L. lactescens* Ducke, porém em estudos realizados com outras espécies da família Malpighiaceae mostraram que plantas dessa família possuem potencial atividade contra micro-organismos (MICHELIN et al., 2008; PEREIRA, 2011; PÁDUA et al., 2013).

De maneira geral, com os resultados obtidos neste trabalho, observou-se que as três espécies de plantas avaliadas têm potencial de uso para elaboração de novos produtos com atividade antimicrobiana, na farmácia com os antibióticos e antissépticos, em alimentos com os aditivos e biofilmes.

6 CONCLUSÃO

As três espécies de plantas avaliadas apresentaram atividade antimicrobiana, sendo a espécie *Parkia platycephala* Benth a que obteve um maior espectro de ação, inibindo os três tipos de micro-organismos testados.

Quanto aos tipos de extratos, os extratos hidroalcoólicos obtiveram melhor potencial ativo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABIOYE, E. O.; AKINPELU, D. A.; AIYEGORO, O. A.; ADEGBOYE, M. F.; ONI, M. O.; OKOH, A. I. Preliminary Phytochemical Screening and Antibacterial Properties of Crude Stem Bark Extracts and Fractions of *Parkia biglobosa* (Jacq.). **Molecules**, v. 18, p. 8485-8499, 2013.
- ABREU, H. S.; BRAZ-FILHO, R.; GOTTLIEB, H. E.; SHOOLERY, J. N. A *nor*-triterpenoid from *Lophanthera lactescens*. **Phytochemistry**, v. 29, n. 7, p. 2257-2261, 1990.
- ADARAMOLA, T. F.; ARIWAODO, J. O.; ADENIJI, K. A. Distribution, Phytochemistry and Antioxidant Properties of the Genus *Parkia* R.br. (Mimosaceae) in Nigeria. **International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research**, v. 4, n. 4, p. 172-178, 2012.
- AJAIYEoba, E. O. Phytochemical and antibacterial properties of *Parkia biglobosa* and *Parkia bicolor* leaf extracts. **African Journal of Biomedical Research**, v. 5, p. 125-129, 2002.
- AMORIM, V. R.; FILHO, H. L. A. S.; BEZERRA, R. D. S.; CHAVES, M. H.; ALMEIDA, F. R. C.; BRITO, S. M. R. C. Antinociceptive potential of *Parkia platycephala* Benth. in streptozotocin-induced diabetic rats. **African Journal of Biotechnology**, v. 11, n. 43, p. 10149-10154, 2012.
- ANIBAL, P. C. **Potencial de ação antimicrobiana in vitro de extratos de plantas na inibição de *Candida* spp, *Streptococcus mutans* e *Staphylococcus aureus***. 2007. 71 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Buco-Dental) - Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, Piracicaba, 2007.
- ARAÚJO, E. R. D.; OLIVEIRA, D. C.; SOARES, T. C.; LANGASSNER, S. M. Z.; TAVARES, J. C. M.; SILVA, D. G. K. C. Avaliação do potencial antimicrobiano de extrato hidroalcoólico e aquoso da espécie *Anadenanthera colubrina* frente à bactérias gram negativa e gram positiva. **Biota Amazônia**, v. 5, n. 3, p. 66-71, 2015.
- ARAÚJO, J. M. **Química de Alimentos: Teoria e Prática**. 4. ed. Viçosa: UFV, 2008. 477 p.
- BADKE, M. R.; BUDÓ, M. L. D.; SILVA, F. M.; RESSEL, L. B. Plantas Medicinais: o saber sustentado na prática do cotidiano popular. **Escola Anna Nery Revista de Enfermagem**, v. 15, n. 1, p. 132-139, 2011.
- BESSA, N. G. F. DE; BORGES, J. C. M.; BESERRA, F. P.; CARVALHO, R. H. A.; PEREIRA, M. A. B.; FAGUNDES, R.; CAMPOS, S. L.; RIBEIRO, L. U.; QUIRINO, M. S.; CHAGAS JUNIOR, A. F.; ALVES, A. Prospecção fitoquímica preliminar de plantas nativas do cerrado de uso popular medicinal pela comunidade rural do assentamento vale verde - Tocantins. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 4, supl. 1, p. 692-707, 2013 .
- BISIGNANO, G.; SANOGO, R.; MARINO, A.; AQUINO, R.; D'ANGELO, V.; GERMANÒ, M. P.; DE PASQUALE, R.; PIZZA, C. Antimicrobial activity of *Mtracarpus scaber* extract and isolated constituents. **Letters in Applied Microbiology**, v. 30, n. 2, p. 105-108, 2000.

BRESOLIN, T. M. B.; CECHINEL FILHO, V. **Fármacos e medicamentos: uma abordagem multidisciplinar**. São Paulo: Santos. 2010. 416 p.

BRUNTON, L. L.; LAZO, J. S.; PARKER, K. L. **Goodman & Gilman. As bases farmacológicas da terapêutica**. 11. ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana do Brasil, 2007. 1821 p.

BYLKA, W.; MATLAWSKA, I.; PILEWSKI, N. A. Natural flavonoids as antimicrobial agents. **JANA**, v. 7, n. 2, p. 24 - 31, 2004.

CASTRO, C. F. S.; SILVA, C. A. M.; PERFEITO, J. P.; SANTOS, M. L.; RESCK, I. S.; PAULA, J. E.; SILVEIRA, D. Avaliação da atividade antioxidante de algumas espécies de *Pouteria*. In: 29ª REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA. 2006, Águas de Lindóia.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). An Atlas of *Salmonella* in the United States, 1968-2011: Laboratory-based Enteric Disease Surveillance. Atlanta, Georgia: US Department of Health and Human Services, CDC, 2013. Disponível no site <<http://www.cdc.gov/salmonella/pdf/typhimurium-508c.pdf>> Acesso em: 19 Jul. 2015.

CHAH, K. F.; EZE, C. A.; EMUELOSI, C. E.; ESIMONE, C. O. Antibacterial and wound healing properties of methanolic extracts of some Nigerian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 104, n. 1-2, p. 164–167, 2006.

CHAMPE, P. C.; HARVEY, R. A.; FERRIER, D. R. **Bioquímica Ilustrada**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2008. 533 p.

CHATURVEDI, D. 10. Sesquiterpene lactones: Structural diversity and their biological activities. **Opportunity, Challenge and Scope of Natural Products in Medicinal Chemistry**, p. 313-334, 2011.

CHEVREUIL, L. R.; GONCALVES, J. F. C.; SCHIMPL, F. C.; SOUZA, C. S. C. R.; SOUZA, L. A. G.; PANDO, S. C. Prospecção de inibidores de serinoproteínases em folhas de leguminosas arbóreas da floresta Amazônica. **Acta Amazônica**, v. 41, n. 1, p. 163-170, 2011.

CIOLFI, F. **Potencial antimicrobiano de extratos e óleos essenciais de vegetais não tradicionais sobre patógenos de origem alimentar**. 2010. 55 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2010.

CLEMENTINO-NETO, J.; PEREIRA, J. C.; VASCONCELOS, L. H. C.; SOUZA, I. L. L.; SILVA, A. D. S.; SILVA, T. M. G.; RAMOS, N. S. M.; PESSÔA, H. L. F.; SILVA, T. M. S.; SILVA, B. A.; CAVALCANTE, F. A. Toxicological, Antidiarrheal and Spasmolytic Activities of *Solanum paniculatum*. **Planta Med**, v. 82, p. 58-64, 2016.

COSTA, A. F.; SILVA, G. F.; ESCUDERO, M. C. Estudo comparativo entre produtos químicos preservantes e licores pirolenhosos na inibição de fungos emboloradores. **Brasil Florestal**, v. 21, p. 24-30, 2003.

COSTA, A. V.; CALÁBRIA, L. K.; FURTADO, F. B.; GOUVEIA, N. M.; OLIVEIRA, R. J. S.; VANESSA OLIVEIRA, V. N.; M. E.; ESPINDOLA, F. S. Neuroprotective effects of

Pouteria ramiflora (Mart.) Radlk (Sapotaceae) extract on the brains of rats with streptozotocin-induced diabetes. **Metabolic Brain Disease**, v. 28, p. 411-419, 2013.

COSTA, J. P. R.; ALMEIDA, A. C.; MARTINS, E. R.; RODRIGUES, M. N.; SANTOS, C. A.; MENEZES, I. R. Atividade antimicrobiana do óleo essencial de alecrim-pimenta e do extrato bruto seco do barbatimão diante de bactérias isoladas do leite. **Biotemas**, v. 24, n. 4, p. 1-6, 2011.

COWAN, M. M. Plant products as antimicrobial agents. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 12, n. 4, p. 564-582, 1999.

COZZOLINO, S. M. F. **Biodisponibilidade de Nutrientes**. 3. ed. São Paulo: Manole, 2009. 1200 p.

DANELLI, M. G. M.; SOARES, D. C.; ABREU, H. S.; PEÇANHA L. M. T.; SARAIVA E. M. Leishmanicidal effect of LLD-3 (1), a nor-triterpene isolated from *Lophanthera lactescens*. **Phytochemistry**, v. 70, p. 608-614, 2009.

DE BONA, et al. Avaliação da Atividade Antimicrobiana de Extratos Vegetais Frente a Sorovares de *Salmonella* spp. de Origem Avícola. **UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 15, n. 1, p. 41-46, 2013.

DIAS, M. T.; SANTOS, P. C. R. F.; OLIVEIRA, L. A. T.; MARIN, V. A. Avaliação da sensibilidade de cepas de *Escherichia coli* isoladas de mexilhões (*Perna perna* linnaeus, 1758) à antimicrobianos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 2, p. 319-324, 2010.

DIAZ, M. A. N.; ROSSI, C. C.; MENDONÇA, V. R.; SILVA, D. M.; RIBON, A. O. B.; AGUILAR, A. P.; MUÑOZ, G. D. Screening of medicinal plants for antibacterial activities on *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine mastitis. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 5, p. 724-728, 2010.

DURAIKANDIYAN, V.; AL-HARBI, N. A.; IGNACIMUTHU, S.; MUTHUKUMAR, C. Antimicrobial activity of sesquiterpene lactones isolated from traditional medicinal plant, *Costus speciosus* (Koen ex.Retz.) Sm. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 12, n. 13, p. 1-6, 2012.

EL-MAHMOOD, A. M.; AMEH, J. M. *In vitro* antibacterial activity of *Parkia biglobosa* (Jacq.) root bark extract against some microorganisms associated with urinary tract infections. **African Journal of Biotechnology**, v. 6, n. 11, p. 1272-1275, 2007.

FALEIROS, A. C. P.; SILVA, C. A. M.; PAULA, J. E.; SANTOS, M. L.; PERFEITO, J. P.; RESENDE, L. C. M.; FRANÇA, C. V.; SILVA, J. C. B.; SILVEIRA, D.; SIMEONI, L. A. Avaliação de extratos de espécies do cerrado quanto ao potencial fotoprotetor. In: XII CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNB E 3º CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DO DF, 2006, Brasília. Livro de Resumos, 2006.

FARIAS, D. F.; SOUZA, T. M.; VIANA, M. P.; SOARES, B. M.; 3 ARCELINA CUNHA, A. P.; VASCONCELOS, I. M.; RICARDO, N. M. P. S.; FERREIRA, P. M. P.; MELO, V. M. M.; CARVALHO, A. F. U. Antibacterial, Antioxidant, and Anticholinesterase Activities of

Plant Seed Extracts from Brazilian Semiarid Region. **BioMed Research Internationa**, v. 2013, p. 1-9, 2013.

FERNANDES, H. B.; SILVA, F. V.; PASSOS, F. F. B.; BEZERRA, R. D. S.; CHAVES, M. H.; OLIVEIRA, F. A.; OLIVEIRA, R. C. M. Gastroprotective effect of the ethanolic extract of *Parkia platycephala* Benth. leaves against acute gastric lesion models in rodents. **Biological Research**, v. 43, p. 451-457, 2010.

FERREIRA, S. B.; PALMEIRA, J. D.; SOUZA, J. H.; ALMEIDA, J. M.; FIGUEIREDO, M. C. P.; PEQUENO, A. S.; ARRUDA, T. A.; ANTUNES, R. M. P.; CATÃO, R. M. R. Avaliação da Atividade Antimicrobiana *in vitro* do extrato hidroalcolólico de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville sobre isolados ambulatoriais de *Staphylococcus aureus*. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 42, n. 1, p. 27-31, 2010.

FERRO, D. **Fitorerapia: conceitos clínicos**. São Paulo: Atheneu, 2006. 502 p.

FLEMING, L. R.; BOLZAN, D. N.; BANDEIRA, S. O.; NASCIMENTO, J. S. Quantificação e resistência a antibióticos de *Staphylococcus* isolados de queijos. **Perspectivas da Ciência e Tecnologia**, v. 2, n. 1-2, p. 13-19, 2010.

FONTES JÚNIOR, E. A.; SOUZA, P. J. C.; NASCIMENTO, J. L. M.; SANTOS, S. N.; ESPINDOLA, L. S.; FERREIRA, V. M. M. Antinociceptive and Antiinflammatory Properties of the Ethanolic Extract of *Pouteria ramiflora* Roots. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 28, n. 6, p. 812-818, 2009.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança dos alimentos**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 607 p.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008. 182 p.

FORZZA, R. C.; BAUMGRATZ, J. F. A.; BICUDO, C. E. M.; CARVALHO JR., A. A.; COSTA, A.; COSTA, D. P.; HOPKINS, M.; LEITMAN, P. M.; LOHMANN, L. G.; MAIA, L. C.; MARTINELLI, G.; MENEZES, M.; MORIM, M. P.; COELHO, M. A. N.; PEIXOTO, A. L.; PIRANI, J. R.; PRADO, J.; QUEIROZ, L. P.; SOUZA, V. C.; STEHMANN, J. R.; SYLVESTRE, L. S.; WALTER, B. M. T.; ZAPPI, D. **Catálogo de plantas e fungos do Brasil**. Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson Estúdio: Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2010a. v. 1, 873 p.

FORZZA, R. C.; BAUMGRATZ, J. F. A.; BICUDO, C. E. M.; CARVALHO JR., A. A.; COSTA, A.; COSTA, D. P.; HOPKINS, M.; LEITMAN, P. M.; LOHMANN, L. G.; MAIA, L. C.; MARTINELLI, G.; MENEZES, M.; MORIM, M. P.; COELHO, M. A. N.; PEIXOTO, A. L.; PIRANI, J. R.; PRADO, J.; QUEIROZ, L. P.; SOUZA, V. C.; STEHMANN, J. R.; SYLVESTRE, L. S.; WALTER, B. M. T.; ZAPPI, D. **Catálogo de plantas e fungos do Brasil**. Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson Estúdio: Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2010b. v. 2, 828 p.

FRANCO, R. M.; MANTILLA, S. P. S.; GOUVÊA, R.; OLIVEIRA, L. A. T. Resistência antimicrobiana de *Escherichia coli* isoladas de carne e dejetos suínos. **Acta Veterinária Brasília**, v. 4, n. 1, p. 31-36, 2010.

FRATAMICO, P. M.; BHUNIA, A. K.; SMITH, J. L. Food-borne pathogens: microbiology and molecular biology. **The Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 60, n. 24, p. 1180, 2007.

GARCIA, C. S.; UEDA, S. M. Y.; MIMICA, L. M. J. Avaliação da atividade antibacteriana *in vitro* de extratos hidroetanólicos de plantas sobre *Staphylococcus aureus* MRSA e MSSA. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 70, n. 4, p. 589-598, 2011.

GARCIA-LAFUENTE, A.; GUILLAMON, E.; VILLARES, A.; ROSTAGNO, M. A.; MARTINEZ, J. A. Flavonoids as anti-inflammatory agents: implications in câncer and cardiovascular disease. **Inflammation Research**, v. 58, n. 9, p. 537-552, 2009.

GELATTI, L. C.; BONAMIGO, R. R.; BECKER, A. P.; D'AZEVEDO, P. A. *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina: disseminação emergente na comunidade. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 84, n. 5, p. 501-506, 2009.

GOUVEIA, N. M.; ALBUQUERQUE, C. L.; ESPINDOLA, L. S.; FOUED S. ESPINDOLA, F. S. *Pouteria ramiflora* extract inhibits salivary amylolytic activity and decreases glycemic level in mice. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 85, n. 3, p. 1141-1148, 2013.

HARAGUCHI, L. M. M.; CARVALHO, O. B. **Plantas Medicinais**. 1. ed. São Paulo: Escola Municipal de Jardinagem, 2010. 248 p.

HILL, S. M.; PHILLIPS, A. D.; WALKER-SMITH, J. A.; SANDERSON, I. R.; MILLA, P. J. Antibiotics for *Escherichia coli* gastroenteritis. **The Lancet**, v. 331, n. 8588, p. 771-772, 1988.

HODEK, P.; TREFIL, P.; STIBOROVÁ, M. Flavonoids-potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P450. **Chemico Biological Interactions**, v. 139, n. 1, p. 1-21, 2002.

JAIMES, G.; CASTRO, C.; ARISTIZABA, F. A.; MURCIA, T. R.; TORRENEGRA, R.; ALFONSO, A. N. T. Principio activo citotoxico de *Espeletia killipii* Cuatr. sobre células tumorales y su toxicidad frente a células normales humanas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 2, p. 140-145, 2006.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 711 p.

JIRSCHITZKA, J.; SCHMIDT, G. W.; REICHEL, M.; SCHNEIDER, B.; GERSHENZON, J.; D'AURIA, J. C. Plant tropane alkaloid biosynthesis evolved independently in the Solanaceae and Erythroxylaceae. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 109, n. 26, p. 103-104, 2012.

JUNQUEIRA, V. M. S.; SILVA, M. A.; LAURA CARNEIRO MATOSO NUNES CANABRAVA, L. C. M. N.; ROSSI, D. A.; BELETTI, M. E.; CANABRAVA, H. A. N. Avaliação antimicrobiana e antiulcerogênica da *Eugenia dysenterica*. **Horizonte Científico**, v. 1, n. 1 p. 1-14, 2007.

KUCHENBECKER, B. S.; RIBEIRO, A. R.; CARDOSO, M. Perfil de resistência de isolados de *Staphylococcus aureus* obtidos de produtos de origem animal analisados pelo Serviço de Inspeção Federal do Brasil. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 37, n. 2, p. 143-149, 2009.

- LAMARAO, R. C.; FIALHO, E. Aspectos funcionais das catequinas do chá verde no metabolismo celular e sua relação com a redução da gordura corporal. **Revista de Nutrição**, v. 22, n. 2, p. 257-269, 2009.
- LEE, J. -H.; KIM, Y. -G.; RYU, S. Y.; LEE, J. Calcium-chelating alizarin and other anthraquinones inhibit biofilm formation and the hemolytic activity of *Staphylococcus aureus*. **Scientific Reports**, v. 6, p. 1-11, 2016.
- LEWIS, K.; AUSUBEL, F. M. Prospects for plant derived antibacterials. **Nature Biotechnology**, v. 24, n. 12, p. 1504-1507, 2006.
- LIMA, M. R. F.; LUNA, J. S.; SANTOS, A. F.; ANDRADE, M. C. C.; SANT'ANA, A. E. G.; GENET, J. P.; MARQUEZ, B.; NEUVILLE, L.; MOREAU, N. Anti-bacterial activity of some Brazilian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 105, n. 1-2, p. 137-147, 2006.
- LIN, D.; CHEN, S. First Detection of Conjugative Plasmid-Borne Fosfomycin Resistance Gene *fosA3* in *Salmonella* Isolates of Food Origin. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 59, n. 2, p. 1381-1383, 2015.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 2. ed. Nova Odessa/São Paulo: Instituto Plantarum, 1998. v. 2, 368 p.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil**, 5. ed. Nova Odessa/São Paulo: Instituto Plantarum, 2008. v. 1, 384 p.
- MA, J.; YANG, H.; BASILE, M. J.; KENNELLY, E. J. Analysis of Polyphenolic Antioxidants from the Fruits of Three *Pouteria* Species by Selected Ion Monitoring Liquid Chromatography–Mass Spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 19, p. 5873–5878, 2004.
- MATOS, F. J. A. **Introdução à Fitoquímica Experimental**. Fortaleza, Edições UFC, 1988.
- MELENDÉZ, P. A.; CAPRILES, V. A. Antibacterial properties of tropical plants from Puerto Rico. **Phytomedicine**. v. 13 p. 272-276, 2006.
- MENDOZA, L.; WILKENS, M.; URZUA, A. Antimicrobial study of the resinous exudates and of diterpenoids and flavonoids isolated from some Chilean *Pseudognaphalium* (Asteraceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 58, p. 85-88, 1997.
- MICHELIN, D. C.; SANNOMIYA, M.; FIGUEIREDO, M. E.; RINALDO, D.; SANTOS, L. C.; SOUZA-BRITO, A. R. M.; VILEGAS, W.; SALGADO, H. R. N. Antimicrobial activity of *Byrsonima* species (Malpighiaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 690-695, 2008.
- MIN, B. R.; PINCHAK, W. E.; MERKEL, R.; WAKER, S.; TOMITA, G.; ANDERSON, R. C. Comparative antimicrobial activity of tannins extracts from perennial plants on mastitis pathogens. **Scientific Research and Essay**, v. 3, n. 2, p. 66-73, 2008.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (Brasil). **Vigilância Epidemiológica das Doenças Transmitidas por Alimentos**. Brasília, DF, 2014. 23 p. (Serie A. Normas e Manuais Técnicos).

MONTENEGRO, L. H. M.; OLIVEIRA, P. E. S.; CONSERVA, L. M.; ROCHA, E. M. M.; BRITO, A. C.; ARAÚJO, R. M.; TREVISAN, M. T. S.; LEMOS, R. P. L. Triterpenóides e avaliação do potencial antimalárico, larvicida, anti-radicalar e anticolinesterásico de *Pouteria venonosa* (Sapotaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, p. 611-617, 2006.

NADER, T. T. **Potencial de atividade antimicrobiana *in vitro* de extratos vegetais do cerrado frente estirpes de *Staphylococcus aureus***. 2010. 56 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, Jaboticabal, 2010.

NAKAJARA, K.; KAWABATA, S.; ONO, H.; OGURA, K.; TANAKA, T.; OOSHIMA, T.; HAMADA, S. Inhibitory effect of oolong tea polyphenols on glucosyltransferases of *mutans streptococci*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 49, n. 4, p. 968-973, 1993.

NASCIMENTO, J. E.; MELO, A. F. M.; LIMA E SILVA, T. C.; VERAS FILHO, J.; SANTOS, E. M.; ALBUQUERQUE, U. P.; AMORIM, E. L. C. Estudo fitoquímico e bioensaio toxicológico frente a larvas de *Artemia salina* Leach. de três espécies medicinais do gênero *Phyllanthus* (Phyllanthaceae). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 29, n. 2, p. 145-150, 2008.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS (NCCLS). *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Sixth Edition*. NCCLS document M7-A6 (ISBN 1-56238-486-4). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2003.

NOGUEIRA, L. G. **Avaliação do potencial antimicrobiano de *Pouteria* spp. e de triterpenos quinonametóides com enfoque no *Helicobacter pylori***. 2012. 106 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Araraquara, 2012.

OLIVEIRA, A. K. M.; PEREIRA, K. C. L.; MULLER, J. A. I.; MATIAS, R. 2014. Análise fitoquímica e potencial alelopático das cascas de *Pouteria ramiflora* na germinação de alface. **Horticultura Brasileira**, v. 32, p. 41-47, 2014.

OLIVEIRA, R. B.; GODOY, S. A. P.; COSTA, F. B. Plantas tóxicas. Conhecimento e prevenção de acidentes. Ribeirão Preto: Holos, 2003, 64 p.

PÁDUA, M. S.; MENDES-COSTA, M. C.; FERREIRA, J. M. S.; MAGALHÃES, J. C.; CASTRO, A. H. F. Assessment of antimicrobial activity *in vitro* of ethanolic extracts of *Banisteriopsis anisandra* (A. Juss.) B. Gates (Malpighiaceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.15, n.3, p.431-437, 2013.

PALMEIRA, J. D.; FERREIRA, S. B.; SOUZA, J. H.; ALMEIDA, J. M.; FIGUEIREDO, M. C.; PEQUENO, A. S.; ARRUDA, T. A.; ANTUNES, R. M. P.; CATÃO, R. M. R. Avaliação da atividade antimicrobiana *in vitro* e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de extratos hidroalcoólicos de angico sobre cepas de *Staphylococcus aureus*. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 42, n. 1, p. 33-37, 2010.

PALOMINO, J.C.; MARTIN, A.; CAMACHO, M.; GUERRA, H.; SWINGS, J.; PORTAELS, F. Resazurin Microtiter Assay Plate: simple and inexpensive method for detection of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 46, n. 8, p. 2720-2722, 2002.

PEREIRA, M. S. V.; SIQUEIRA-JÚNIOR, J. P.; TAKAKI, G. M. C. Elimination of resistance to drugs by fluoroquinolones in bovine strains of *Staphylococcus aureus*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 24, p. 11-14, 2004.

PEREIRA, V. V. **Estudo fitoquímico de *Byrsonima coccolobifolia* Kunth (Malpighiaceae) e de atividade biológica de espécies do gênero *Byrsonima***. 2011. 126 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Ciências Exatas e Tecnológicas, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2011.

PERFEITO, J. P.; SANTOS, M. L.; LOPEZ, K. S. E.; PAULA, J. E.; SILVEIRA, D. Characterization and biological properties of *Pouteria torta* extracts: a preliminary study. **Revista Brasileira Farmacognosia**, v. 15, p. 183-186, 2005.

PIETTA, P. G. Flavonoids as antioxidants. **Journal of Natural Products**, v. 63, n. 7, p. 1035-1042, 2000.

POPOVIC, M.; STEINORT, D.; PILLAI, S.; JOUKHADAR C. Fosfomicin: an old, new friend? **European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v. 29, n. 2, p. 127-142, 2010.

QUIROZ-SANTIAGO, C.; RODAS-SUÁREZ, O. R.; CARLOS, R. V.; FERNÁNDEZ, F. J.; QUIÑONES-RAMÍREZ, E. I.; VÁZQUEZ-SALINAS, C. Prevalence of *Salmonella* in vegetables from Mexico. **Journal of Food Protection**, v. 72, n. 6, p.1279-1282, 2009.

RIBEIRO FILHO, N. Resistência bacteriana aos antibióticos. In: Fernandes, A. T.; Fernandes, M. O. V.; Ribeiro Filho, N. **Infecção hospitalar e suas interfaces na área de saúde**. São Paulo: Atheneu, 2000.

SANCHES, N. R.; CORTEZ, D. A. G.; SCHIAVINI, M. S.; NAKAMURA, C. V.; DIAS-FILHO, B. P. An evaluation of antibacterial activities of *Psidium guajava* (L.). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 48, n. 3, p. 429-36, 2005.

SANTOS, A. L.; SANTOS, D. O.; FREITAS, C. C.; FERREIRA, B. L. A.; AFONSO, I. F.; RODRIGUES, C. R.; CASTRO, H. C. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 43, n. 6, p. 413-423, 2007.

SANTURIO, J. M.; SANTURIO, D. F.; POZZATTI, P.; MORAES, C.; FRANCHIN, P. R.; ALVES, S. H. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de orégano, tomilho e canela frente a sorovares de *Salmonella enterica* de origem avícola. **Ciência Rural**, v. 37, n. 3, p. 803-808, 2007.

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

SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G., ATHAYDE, M. L. Saponinas. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 5. ed. Florianópolis: UFSC, 2004. 1102 p.

SILVA JÚNIOR, A. A. **Essentia herba**: plantas bioativas. Florianópolis: Epagri, 2003. v.1, 441 p.

SILVA, C. A. M. **Contribuição ao estudo químico e biológico de *Pouteria gardnerii* (Mart. & Miq.) Baehni (Sapotaceae)**. 2007. 197 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Universidade de Brasília, Brasília, 2007.

SILVA, C. A. M.; SIMEONI, L. A.; SILVEIRA, D. Genus *Pouteria*: chemistry and biological activity. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, p. 501-509, 2009.

SILVA, N. C. C. **Estudo comparativo da ação antimicrobiana de extratos e óleos essenciais de plantas medicinais e sinergismo com drogas antimicrobianas**. 2010. 75 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Geral e Aplicada) – Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, Botucatu, 2010.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 4. ed. São Paulo: Varela, 2010. 632 p.

SILVA, S. M. M. **Avaliação da atividade antimicrobiana de espécies vegetais do bioma cerrado**. 2013. 113 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Farmacêutica) – Universidade de Brasília, Brasília, 2013.

SILVA, S.; ANSELMO, M. G. V.; DANTAS, W. M.; ROSA, J. H.; NUNES, E. N.; SOARES, J. P.; ALVES, C. A. B. Conhecimento e uso de plantas medicinais em uma comunidade rural no município de Cuitegi, Paraíba, Nordeste do Brasil. **Revista Gaia Scientia**, v. 8, n. 1, p. 248-265, 2014.

SILVA, F. S.; MENEZES, P. M. N.; SÁ, P. G. S.; OLIVEIRA, A. L. S.; SOUZA, E. A. A.; BAMBERG, V. M.; OLIVEIRA, H. R.; OLIVEIRA, S. A.; ARAÚJO, R. E.; UETANABARO, A. P. T.; SILVA, T. R. S.; ALMEIDA, J. R. G. S.; LUCCHESI, A. M. Pharmacological Basis for Traditional Use of the *Lippia thymoides*. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2015, p. 1-10, 2015.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMAN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Florianópolis: Editora da UFSC, 2007. 1102p.

SIMONETTI, E. **Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos de *Eugenia anomala* e *Psidium salutare* (Myrtaceae) Frente à *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes***. 2015. 101 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Centro Universitário UNIVATES, Lajeado, 2015.

SOUZA FILHO, A. P. S.; FONSECA, M. L.; ARRUDA, M. S. P. Substâncias químicas com atividades alelopáticas presentes nas folhas de *Parkia pendula* (LEGUMINOSAE). **Planta Daninha**, v. 23, n. 4, p. 565-573, 2005.

SOUZA, T. M.; SEVERI, J. A.; SILVA, V. Y. A.; SANTOS, E.; PIETRO, R. C. L. R. Bioprospecção de atividade antioxidante e antimicrobiana da casca de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Leguminosae-Mimosoidae). **Revista de Ciências Farmacéuticas Básica e Aplicada**, v. 28, n. 2, p. 221-226, 2007.

TAGLIATI, C. A.; FÉRES, C. A. O. Pesquisas toxicológicas e farmacológicas. In: LEITE, J. P. V. (Ed.). **Fitoterapia: bases científicas e tecnológicas**. São Paulo: Atheneu, 2009. cap. 5, p. 119-140.

TAGURI, T.; TANAKA, T.; KOUNO, I. Antimicrobial activity of 10 different plant polyphenols against bacteria causing food-borne disease. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 27, n. 12, p. 1965-1969, 2004.

TONIAL, F. **Atividade antimicrobiana de endófitos e de extratos foliares de *Schinus terebenthifolius* Raddi (AROEIRA)**. 2010. 138 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.

TSAFFACK, M.; NGUEMEVING, J. R.; KUETE, V.; TCHIZE, B. L. S. N.; MKOUNGA, P.; BENG, V. P.; HULTIN, P. G.; TSAMO, E.; NKENGFACK, A. E. Two New Antimicrobial Dimeric Compounds: Febrifuquinone, a Vismione-Anthraquinone Coupled Pigment and Adamabianthrone, from two *Psorospermum* Species. **Chemical Pharmaceutical Bulletin**, v. 57, n. 10, p. 1113-1118, 2009.

UDOBI, C. E.; ONAOLAPO, A. J.; ABDULSALAAM, I. A. Bioautographic determination of the antistaphylococcal components of the stem bark of *Parkia biglobosa* (JACQ) BENTH (MIMOSACEAE). **Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy**, v. 2, n. 8, p. 108-112, 2010.

UDOBI, C. E.; ONAOLAPO, J. A. Bioactive Compounds of the Stem Bark of *Parkia Biglobosa*. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 2, n. 7, p. 133-137, 2012.

UDOBI, C. E.; ONAOLAPO, J. A. Phytochemical analysis and antibacterial evaluation of the leaf stem bark and root of the African locust bean (*Parkia biglobosa*). **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 3, n. 5, p. 338-344, 2009.

VALERIANO, C.; PICCOLI, R. H.; CARDOSO, M. G.; ALVES, E. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais em bactérias patogênicas de origem alimentar. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. 1, p. 57-67, 2012.

VERHOEF, J.; BEAUJEAN, D.; BLOK, H.; BAARS, A.; MEYLER, A.; VAN DER WERKEN, C.; WEERSINK, A. A dutch approach to methicillin-resistance *Staphylococcus aureus*. **European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v. 18, p. 461-466, 1999.

VON POSER, G. L.; MENTZ, L. Diversidade biológica e sistemas de classificação. In: SIMOES, C. M. O. et al.(org). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Ed UFRGS/Ed. UFSC, 2003, p. 75-89.

WINK, M. Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. **Phytochemistry**, v. 64, n. 1, p. 3-19, 2003.

World Health Organization (WHO). **Regulatory situation of herbal medicines.** A worldwide review, Geneva, 1998. 49 p. (Bulletin of the World Health Organization). Disponível em: <http://apps.who.int/medicinedocs/pdf/whozip57e/whozip57e.pdf>. Acesso em: 10 outubro 2015.

World Health Organization (WHO). WHO traditional medicine strategy: 2014-2023. Geneva, 2013. 77 p. Disponível em: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/92455/1/9789241506090_eng.pdf?ua=1. Acesso em: 13 outubro 2015.