



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
AMBIENTAL**

THIAGO PEREIRA CHAVES

**VARIAÇÃO SAZONAL NA PRODUÇÃO DE METABÓLITOS
SECUNDÁRIOS E NA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE
ESPÉCIES VEGETAIS DO SEMIÁRIDO BRASILEIRO**

CAMPINA GRANDE – PB
2012

THIAGO PEREIRA CHAVES

**VARIAÇÃO SAZONAL NA PRODUÇÃO DE METABÓLITOS
SECUNDÁRIOS E NA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE
ESPÉCIES VEGETAIS DO SEMIÁRIDO BRASILEIRO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental da Universidade Estadual da Paraíba em cumprimento às exigências para obtenção do título de Mestre.

ORIENTADORA: PROF.^a. Dr.^a. Dilma Maria de Brito Melo Trovão

CO-ORIENTADORA: PROF.^a. Dr.^a. Ana Cláudia Dantas de Medeiros

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na sua forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL-UEPB

C512v Chaves, Thiago Pereira.
Variação sazonal na produção de metabólitos secundários e na atividade antimicrobiana de espécies vegetais do semiárido brasileiro [manuscrito] / Thiago Pereira Chaves. – 2012.

77 f.: il. color.

Digitado

Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental), Centro de Ciências e Tecnologias, Universidade Estadual da Paraíba, 2012.

“Orientação: Prof^ª. Dr^ª. Dilma Maria de Brito Melo Trovão, Departamento de Biologia”.

1. Plantas medicinais. 2. Semiárido. 3. Fitoquímica. I. Título.

22. ed. CDD 615.32

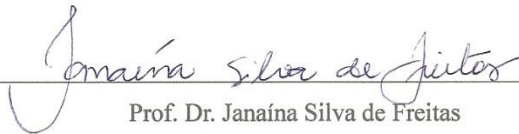
THIAGO PEREIRA CHAVES

**VARIAÇÃO SAZONAL NA PRODUÇÃO DE METABÓLITOS
SECUNDÁRIOS E NA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE
ESPÉCIES VEGETAIS DO SEMIÁRIDO BRASILEIRO**

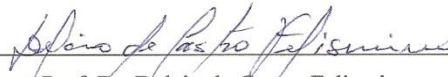
Banca Examinadora:



Prof. Dra. Dilma Maria de Brito Melo Trovão
(Orientadora DB/MCTA/UEPB)



Prof. Dr. Janaína Silva de Freitas
(PPG CIÊNCIAS AMBIENTAIS/UESB)



Prof. Dr. Delcio de Castro Felismino
(DB/UEPB)

Dedico este trabalho à minha Família e
aos meus amigos

AGRADECIMENTOS

Certamente esta é a parte mais difícil de escrever, já que dentre tantas pessoas que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho, alguém pode ser omitido.

Começo agradecendo a Deus, que me deu saúde e paz para que eu pudesse realizar este trabalho, além de todas as maravilhas que Ele tem reservado para a minha vida.

À minha família, pelo exemplo, incentivo e constante apoio, que foram fundamentais para o meu crescimento.

À Prof. Dilma Maria de Brito Melo Trovão pela orientação.

Aos professores DSc Ana Cláudia Dantas de Medeiros e DSc José Germano Vêras Neto pela paciência, incentivo, ensinamentos e amizade construída durante a realização deste trabalho, além da ajuda sem a qual não seria possível a realização deste trabalho.

Aos companheiros de LABDEM Alinne Barbosa, Amaro Lafayette, Anne Virgynnia, Carlos Alan, Cleildo Santana, Deysiane Oliveira, Eveline Rocha, Felipe Hugo, Fernanda Nóbrega, Jocimar Santos, Karla Monik, Laianne Alencar, Ravelly Lucena e René Monteiro, pelas trocas de conhecimento e pelos incentivos e ajuda na execução do trabalho.

Aos amigos do LQAQ David, Gean, Marcelo, Clediano, Priscila e Valber pelo companheirismo e boas risadas nos raríssimos momentos de folga, como também pela ajuda em alguns trabalhos instrumentais.

Ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental.

À Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), por ceder o espaço físico para a realização desta pesquisa.

À CAPES pelo auxílio financeiro.

À FIOCRUZ por ceder as cepas microbianas.

Aos amigos Walker Gomes e Eric Bezerra pela amizade e convivência enriquecedora.

Em especial, à minha namorada Elaine Laíse Cavalcante Clementino, pelo carinho, amor, amizade e compreensão que sempre me confortaram nos momentos de dificuldade.

Enfim, agradeço a todos que contribuíram de forma direta ou indireta na minha formação acadêmica e na realização deste trabalho.

RESUMO

A região semiárida brasileira, onde o bioma predominante é a Caatinga, apresenta uma alta fitodiversidade quando se compara a outras formações naturais tropicais, porém esta fitodiversidade é pouco explorada quanto ao potencial farmacológico. O bioma Caatinga, por ser inserido em uma região com características ambientais e de solo peculiares apresenta metabolismo diferenciado das espécies ali presentes e, em especial, das espécies vegetais. Com base no exposto, este estudo objetivou avaliar a influência da sazonalidade na produção de metabólitos secundários e na ação antimicrobiana frente a *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus oralis*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans*, *Candida krusei* e *Candida guilliermondii* dos extratos das espécies vegetais, *Guapira graciliflora* (Mart.) Lundell e *Pseudobombax marginatum* (A. St.-Hil., Juss. & Cambess.) A. Robyns. As coletas dos espécimes vegetais foram realizadas no período de seca (fevereiro de 2011) e ao final do período de chuvas (agosto de 2011). Após a secagem, obteve-se os extratos etanólicos, os quais foram submetidos a análise fitoquímica qualitativa e quantitativa, determinando-se o teor de polifenóis totais e flavonoides totais. Foi realizado ainda o *screening* microbiológico dos extratos frente a bactérias gram positivas, gram negativas e leveduras através do método de microdiluição em caldo, definindo-se a CIM e a CMM. Constatou-se, em ambos os extratos, a presença de taninos, fenóis, alcaloides e flavonoides para os dois períodos analisados, no entanto, a concentração de polifenóis foi maior no inverno para *P. marginatum* e no verão para *G. graciliflora*, enquanto que para os flavonoides ocorreu o contrário. Quanto à atividade antimicrobiana apenas *P. marginatum* apresentou inibição contra *S. salivarius*, *S. oralis*, *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli*, *K. pneumoniae* e *C. guilliermondii* e antibiose contra *S. salivarius*, *S. aureus*, *K. pneumoniae* e *E. coli*, havendo variação na CIM e na CMM entre as duas estações. Os resultados apresentados indicam que estas plantas podem ser utilizadas como fonte natural de materiais para fins medicinais e como base para a produção de substâncias sintéticas com finalidade terapêutica frente aos microrganismos que apresentaram sensibilidade neste estudo.

Palavras-chave: Plantas medicinais, semiárido, fitoquímica, Ecofisiologia vegetal, Concentração Inibitória Mínima.

ABSTRACT

The Brazilian semiarid region, where the dominant biome is Caatinga, presents high phytodiversity when compared to other tropical natural formations, but this phytodiversity is not explored about its pharmacological potential. The Caatinga biome, being inserted into a region with soil and environmental peculiar characteristics, features differentiated metabolism of species presented, and in particular plant species. The objective of this study was to evaluate the chemical composition and antimicrobial activity against *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus oralis*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans*, *Candida krusei* and *Candida guilliermondii* of the extracts from plant species *Guapira graciliflora* (Mart.) Lundell and *Pseudobombax marginatum* (A. St. - Hil., Juss. Cambess &.) A. Robyns, testing the hypothesis that there would be differences in the production of analyzed secondary metabolites due to climatic changes occurring between the rainy and dry seasons, the seasonality of rainfall striking the Brazilian semiarid region. The collects of plant specimens were carried out during the dry season (February 2011) and at the end of the rainy season (August 2011) in Vereda Grande location (7 ° 32.013 'S, 36 ° 3.018' W), municipality of Barra Santana. After drying of the plants the ethanolic extracts were obtained, and subjected to qualitative and quantitative phytochemical screening, in order to determine the content of total polyphenols and total flavonoids. Further microbial screening of extracts was conducted against gram positive, gram negative bacteria and yeasts by broth microdilution method, defining the MIC and the MMC. It was detected the presence of tannins, phenols, flavonoids and alkaloids in tested species for both two time periods, however the concentration of polyphenols was higher in the winter for *P. marginatum* and summer for *G. graciliflora*, while for the flavonoids occurred otherwise. Antimicrobial activity only *P. marginatum* showed inhibition against *S. salivarius*, *S. oralis*, *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli*, *K. pneumoniae* and *C. guilliermondii* and antibiosis against *S. salivarius*, *S. aureus*, *K. pneumoniae* and *E. coli*, with variation in MIC and MMC between the two stations. The results presented indicate that these plants can be used as a natural source of materials for medicinal purposes and as a basis for the production of synthetic substances for therapeutic purposes against the organisms that were sensitive in this study.

Keywords: Medicinal Plants, Semiarid, Phytochemical, Plant Ecophysiology, Minimum Inhibitory Concentration

LISTA DE TABELAS

	Pág.
Tabela 1 Classes de substâncias químicas presentes nos extratos de <i>Guapira graciliflora</i> e <i>Pseudobombax marginatum</i>	45
Tabela 2 Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Microbicida Mínima (CMM) dos extratos de <i>Pseudobombax marginatum</i> frente aos microrganismos testados	53
Tabela 3 Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Microbicida Mínima (CMM) dos extratos de <i>Guapira graciliflora</i> frente aos microrganismos testados	54

LISTA DE FIGURAS

		Pág.
Figura 1	Ciclo biossintético dos metabólitos secundários	20
Figura 2	Principais fatores que podem influenciar a produção de metabólitos secundários em plantas	20
Figura 3	<i>Pseudobombax marginatum</i> . A – Visão geral; B – Detalhe da casca; C – Folha	29
Figura 4	<i>Guapira graciliflora</i> . A – Visão geral; B – Detalhe da casca; C – Folha	31
Figura 5	Coleta do material vegetal. A - <i>Guapira graciliflora</i> ; B - <i>Pseudobombax marginatum</i>	33
Figura 6	Mapa demonstrando o local da coleta do material vegetal, município de Barra de Santana, Semiárido Brasileiro.....	34
Figura 7	Esquema representando a preparação dos extratos etanólicos	36
Figura 8	Curva de calibração construída com padrão Ácido Gálico (1 – 40 $\mu\text{g mL}^{-1}$) a 757 nm	47
Figura 9	Concentração de polifenóis totais de <i>G. graciliflora</i> e <i>P. marginatum</i> em diferentes estações do ano	47
Figura 10	Curva de calibração construída com padrão Quercetina (2 – 30 $\mu\text{g mL}^{-1}$) a 415 nm	50
Figura 11	Concentração de flavonoides totais de <i>G. graciliflora</i> e <i>P. marginatum</i> em diferentes estações do ano	51

LISTA DE QUADROS

	Pág.
Quadro 1 Resultados dos testes para Antocianidina, Antocianina e Flavonoides	37
Quadro 2 Resultados dos testes para Leucoantocianidinas, Catequinas e Flavonas	38

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AESA	Agência Executiva de Gestão das Águas do Estado da Paraíba
AlCl_3	Cloreto de Alumínio
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATCC	American Type Culture Collection
BiONO_3	Subnitrato de Bismuto
$\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7$	Citrato de Sódio
CHCl_3	Clorofórmio
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
DMSO	Dimetilsulfóxido
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FeCl_3	Cloreto Férrico
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
GAE	Equivalente em Ácido Gálico
HCl	Ácido Clorídrico
HNO_3	Ácido Nítrico
H_2SO_4	Ácido Sulfúrico
Hg_2Cl_2	Cloreto de Mercúrio
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
KI	Iodeto de Potássio
Km	Quilômetro
MeOH	Metanol
Na_2CO_3	Carbonato de Sódio
NaOH	Hidróxido de Sódio

NH ₄ OH	Hidróxido de Amônio
pH	Potencial hidrogeniônico
UV	Ultravioleta
°C	Graus Celsius
UEPB	Universidade Estadual da Paraíba
UFC	Unidades Formadoras de Colônias

SUMÁRIO

	Pág.
1. INTRODUÇÃO	15
2. OBJETIVOS	17
2.1. Objetivo Geral	17
2.2. Objetivos Específicos	17
3. REVISÃO DE LITERATURA	18
3.1. Metabolismo secundário	18
3.2. Resistência Microbiana	23
3.3. Caatinga	26
3.4. <i>Pseudobombax marginatum</i>	28
3.5. <i>Guapira graciliflora</i>	30
4. MATERIAL E MÉTODOS	33
4.1. Obtenção do material vegetal	33
4.2. Secagem	35
4.3. Moagem	35
4.4. Obtenção dos extratos etanólicos	35
4.5. Prospecção fitoquímica	36
4.5.1. <i>Screening</i> fitoquímico qualitativo	36
4.5.2. <i>Screening</i> fitoquímico quantitativo	40
4.5.2.1. Determinação de Polifenóis totais	40
4.5.2.2. Determinação de Flavonoides	40
4.5.2.3. Figuras de Mérito	41
4.6. <i>Screening</i> Microbiológico	43
4.6.1. Cepas Microbianas	43
4.6.2. Preparação da Suspensão Microbiana	43
4.6.3. Teste de Suscetibilidade Microbiana	43

4.6.4. Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)	44
4.6.5. Determinação da Concentração Microbicida Mínima (CMM)	44
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
5.1. Prospecção Fitoquímica	45
5.1.1. <i>Screening</i> Fitoquímico Qualitativo	45
5.1.2. <i>Screening</i> Fitoquímico Quantitativo	47
5.1.2.1. Polifenóis totais	47
5.1.2.2. Flavonoides totais	50
5.2. Teste de Suscetibilidade Microbiana	52
6. CONCLUSÃO	56
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	57

1. INTRODUÇÃO

O emprego de plantas no tratamento de doenças começou de maneira empírica e é conhecido desde a mais remota antiguidade. Através do efeito de algumas plantas por ele ingeridas, o homem, com o passar do tempo, observou que se controlasse a dosagem, essas plantas poderiam ser usadas para outros fins além da alimentação, como curar e/ou aliviar suas dores e enfermidades. Além disso, o homem também observou os animais, as plantas que eles utilizavam para se curar e o efeito que estas causavam neles e em si próprio (LORENZI, MATOS, 2002; SARTI, CARVALHO, 2004; DANTAS 2007). Todas as civilizações, em todos os continentes, desenvolveram pesquisas para conhecer o mecanismo das propriedades terapêuticas dos vegetais (SILVA, CARVALHO, 2004). Pouco a pouco a experimentação foi selecionando os de maior interesse.

Sallé (1996) acrescenta que, desde o fim do século XIX, a medicina fez progressos prodigiosos, evoluindo em especializações médicas e farmacêuticas. Com isso, o homem conseguiu isolar e posteriormente sintetizar os princípios ativos das plantas, com a finalidade de obter produtos novos. A partir daí a medicina alopática tornou-se oficial, em detrimento de algumas formas das medicinas ancestrais, o ensino de fitoterapia foi então abandonado em diversas Faculdades de Medicina e esta terapia foi caindo em desuso.

Paulatinamente as pesquisas com plantas medicinais foram retomadas na busca de novos vegetais ou novas substâncias que possam ser empregadas no tratamento de enfermidades. Neste contexto, o Bioma Caatinga predominante na região Semiárida brasileira surge como uma fonte de recursos vegetais ainda pouco explorados do ponto de vista do seu potencial farmacêutico. De acordo com Giulietti et al. (2003), apesar de bastante alterada, a caatinga, vegetação predominante do bioma que leva o mesmo nome, contém uma grande variedade de tipos vegetacionais, com elevado número de espécies e também remanescentes de vegetação ainda bem preservados, que incluem um número expressivo de táxons raros e endêmicos com forte potencial farmacológico, sendo, muitos deles, aplicados na etnomedicina.

A necessidade de se avaliar este potencial farmacêutico presente nos fragmentos residuais de Caatinga compreende não só a importância de descobrir-se novas substâncias a partir de plantas não estudadas, mas também a valorização ecológica dessa região fitogeográfica, pois o conhecimento dessas espécies possibilitará a proposição de plano de gestão para conservação da fitodiversidade existente, através do estímulo a exploração sustentável das plantas onde forem detectadas tais potencialidades.

A utilização de espécies vegetais da Caatinga pode ser de grande valia para tratar um dos maiores problemas encontrados pelos pesquisadores da área farmacêutica, a resistência microbiana. Os antimicrobianos estão entre os fármacos mais prescritos. Eles constituem uma ferramenta indispensável ao tratamento dos pacientes portadores de infecções microbianas, contudo, seu uso inadequado acarreta sérios prejuízos para o paciente, e para a população, uma vez que a resistência dos patógenos às várias classes de antimicrobianos é mundialmente crescente o que, de acordo com Silveira et al. (2006), estabelece sérias limitações às opções para o tratamento de infecções causadas por microrganismos resistentes, representando uma ameaça para a saúde pública.

A Caatinga, dentre as demais formações vegetais ocorrentes no Brasil, apresenta características marcantes que influenciam na produção dos metabólitos das espécies vegetais, citando-se entre outros, as características climáticas como alta radiação solar, a alta temperatura média anual, as baixas taxas de umidade relativa, evapotranspiração potencial elevada, e, sobretudo, precipitações mais baixas (médias) e irregulares, sendo esta a característica principal do ponto de vista climático e por conseguinte definidora dos processos ecológicos chaves daquele ecossistema, a sazonalidade dos períodos chuvoso e de estiagem (PRADO, 2003). Assim, essa sazonalidade que difere a região semiárida de outras na mesma faixa latitudinal proporciona a vegetação ali existente, períodos de abundância e de estresse hídrico que afetam na síntese de metabólitos secundários e, conseqüentemente, nas atividades biológicas da planta (LARCHER, 2004).

Considerando-se que pouco ainda se conhece sobre o potencial das espécies vegetais encontradas nessa cobertura vegetal que ocupa aproximadamente 1.900 mil km² do Nordeste brasileiro, buscou-se realizar um estudo que pudesse contribuir com informações sobre aspectos ecofisiológicos e farmacológicos de plantas da Caatinga.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Avaliar a composição química e a ação antimicrobiana dos extratos das espécies vegetais, *Guapira graciliflora* (Mart.) Lundell e *Pseudobombax marginatum* (A. St.-Hil., Juss. & Cambess.) A. Robyns verificando diferenças na concentração de metabólitos secundários analisados em virtude das modificações climáticas ocorridas nos períodos seco e chuvoso, marcantes da sazonalidade das chuvas da região semiárida brasileira.

2.2. Objetivos específicos

- Obter extratos das referidas plantas coletadas em diferentes épocas do ano;
- Realizar *screenings* fitoquímico e microbiológico dos respectivos extratos;
- Verificar as mudanças ocorridas na concentração de metabólitos secundários nos respectivos extratos obtidos dos referidos materiais vegetais;
- Determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Microbicida Mínima (CMM) dos extratos vegetais testados.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Metabolismo secundário

Metabolismo é definido como o conjunto de reações que estão ocorrendo continuamente dentro da célula de um organismo. Estas reações visam, primeiramente, ao aproveitamento de nutrientes para satisfazer as exigências fundamentais da célula: ATP (energia), NADPH (poder redutor) e biossíntese das substâncias essenciais a sua sobrevivência (macromoléculas celulares). Os compostos químicos formados, degradados ou transformados são denominados de metabólitos. Metabólitos primários são aqueles considerados imprescindíveis à vida, exercendo papéis fundamentais associadas à fotossíntese, respiração, crescimento e desenvolvimento. O metabolismo secundário origina compostos que são estruturalmente diferentes, sendo, muitos deles distribuídos entre um número muito limitado de espécies dentro do reino vegetal, pois não são necessários para todas as plantas, por isso podem ser utilizados para diagnósticos em estudos quimiotaxonômicos (ALVES, 2001; SANTOS, 2002; CROZIER et al., 2006).

Segundo Fávero e Pavan (1997) existem cerca de 40.000 substâncias diferentes identificadas a partir da análise do metabolismo secundário vegetal, no entanto, nenhuma delas sugere generalização da atividade vital para a planta, sendo na grande maioria micromoléculas, as quais indicam vantagem competitiva no reino vegetal.

Esses compostos estão envolvidos na defesa contra herbívoros e patógenos, como atrativos para polinizadores e dispersão de sementes por animais, controle da germinação de sementes e inibição das espécies de plantas concorrentes (alelopatia), sendo, portanto, parte integrante das interações de espécies em comunidades vegetais e animais (BOURGAUD et al., 2001; SANTOS, 2002; TAIZ, ZEIGER, 2004; MAKKAR et al., 2007). Peres (2011) completa enunciando que produtos secundários também possuem ação protetora em relação a estresses abióticos, como aqueles associados com mudanças de temperatura, conteúdo de água, níveis de luz, exposição a UV e deficiência de nutrientes minerais.

Os vários compostos provenientes do metabolismo das plantas interessam ao homem por serem comercialmente importantes para os setores alimentício, agrônômico, de perfumaria e principalmente por sua potencialidade em se tornar um produto terapêutico. Muitos desses componentes, quando utilizados em doses adequadas convertem-se em medicamentos. A surpreendente variedade de metabólitos secundários vegetais vem despertando o interesse de pesquisadores de vários campos da ciência que visam neles uma promissora fonte de moléculas potencialmente úteis ao homem (BRISKIN, 2000; SANTOS,

2002).

A abrangente atuação dos metabólitos secundários dos vegetais, desde produção de substâncias farmacologicamente ativas até a interferência na interação entre vegetais em um sistema de produção, mostra a importância e a necessidade do conhecimento sobre esses compostos. Compreender a sua atuação pode abrir inúmeras possibilidades de estudos que direcionem a busca pela solução de importantes problemas enfrentados atualmente como a resistência microbiana às drogas sintéticas; prejuízos causados pelo uso desordenado de pesticidas, enfim, conhecer esse lado pouco explorado das plantas pode abrir caminhos para solucionar problemas de forma sustentável (BEZERRA, 2008).

Os metabólitos secundários são sintetizados por vários caminhos biossintéticos os quais produzem moléculas dotadas de grande diversidade de esqueletos e grupamentos funcionais (ALVES, 2001). A origem de todas essas moléculas pode ser resumida a partir do metabolismo da glicose, via dois intermediários principais, o ácido chiquímico e o acetato (Figura 1). O primeiro origina os aminoácidos aromáticos, que por sua vez tem como sucessores a maioria dos metabólitos secundários aromáticos. Já os derivados do acetato, podem ser classificados segundo a via metabólica em derivados do acetato via ciclo do ácido cítrico, derivados do acetato via mevalonato e produtos da condensação do acetato (SANTOS, 2002).

Santos (2002) completa que algumas moléculas de metabólitos secundários como as antraquinonas, os flavonoides e os taninos condensados são resultantes da mescla de uma unidade de ácido chiquímico e uma ou mais unidades de acetato ou de seus derivados.

A síntese de metabólitos secundários é influenciada por diversos fatores (Figura 2). Gobbo Neto, Lopes (2007) enfatizam que estudos sobre esse tema geralmente são restritos a um pequeno grupo de espécies comercialmente importantes, com ocorrência predominante em regiões temperadas e que podem ter sofrido pressões seletivas intensas por humanos, visando determinadas características desejadas. Portanto, o comportamento dessas plantas pode não ser representativo de plantas selvagens ou de outros tipos de habitat.

A estação em que uma planta é coletada é um dos fatores de maior importância, visto que a quantidade e, às vezes, até mesmo a composição dos constituintes ativos não é constante durante o ano.

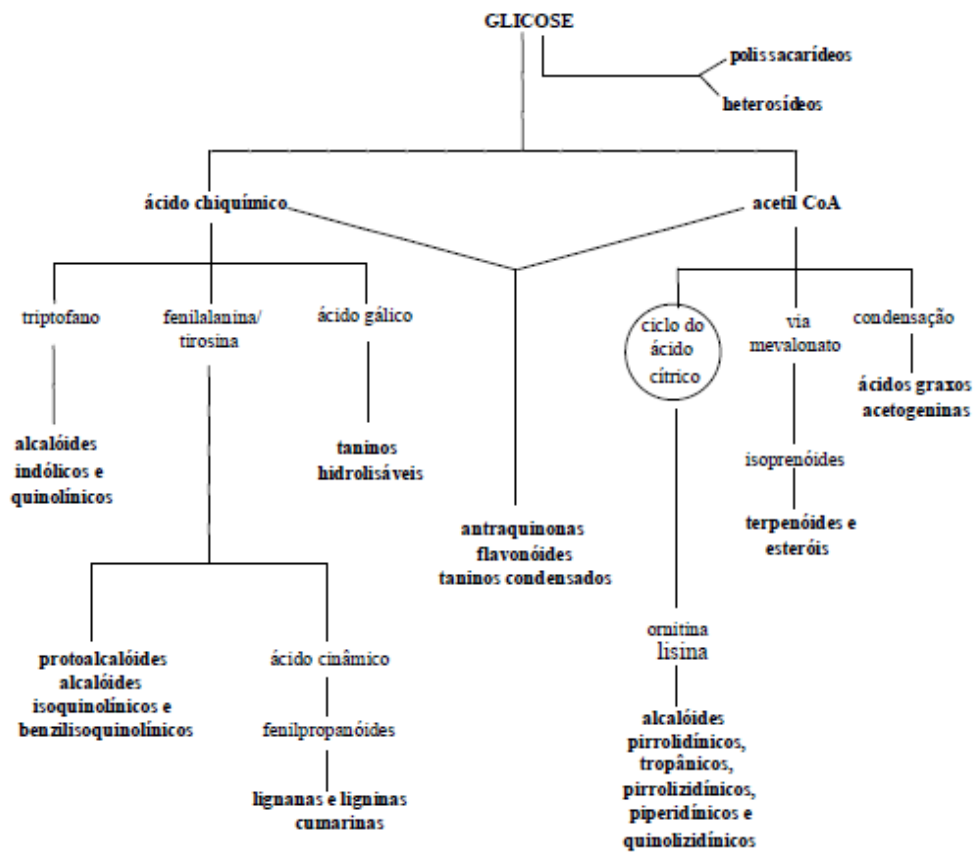


Figura 1. Ciclo biossintético dos metabólitos secundários.

Fonte: Santos (2002)

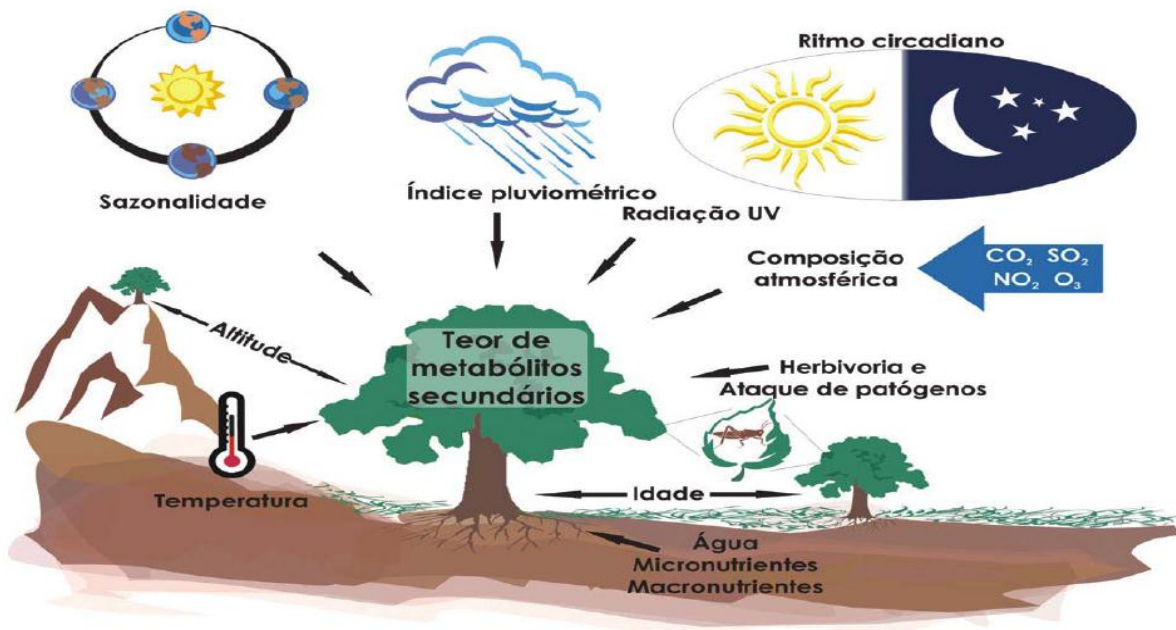


Figura 2. Principais fatores que podem influenciar a produção de metabólitos secundários em plantas.

Fonte: Extraído de Gobbo Neto, Lopes (2007)

Ncube et al., (2010) estudando a variação sazonal do conteúdo de taninos condensados de plantas medicinais da África do Sul, observaram que os bulbos e folhas de *Tulbaghia violacea* e *Hypoxis hemerocallidea* e as folhas de *Merwillia plumbea* exibiram maiores concentrações durante o inverno, enquanto bulbos e folhas de *Drimia robusta* durante a primavera. Já os bulbos de *M. plumbea* tiveram os maiores valores dos referidos taninos durante o verão.

No estudo realizado por Pála-Paúl et al., (2001) que avaliou a variação sazonal do óleo essencial extraído das partes aéreas de *Santolina rosmarinifolia* L coletadas na Espanha, constatou-se os maiores valores de rendimento no mês de abril. Angelopoulou et al. (2002) realizando estudo semelhante com *Cistus monspeliensis* L. cujas amostras foram obtidas na Grécia, constataram que o rendimento de óleos essenciais das folhas foi maior no mês de maio. A maior quantidade de óleo em *Ocimum basilicum* L. foi encontrada durante o mês de dezembro por Hussain et al., (2008) em estudo realizado com plantas coletadas no Paquistão. Kamatou et al., (2008) estudando a composição do óleo essencial de três espécies Sul africanas de *Salvia* constataram o maior rendimento em plantas coletadas no final do inverno para *Salvia africana-caerulea*, e primavera para *S. lutea-africana* e *S. lanceolata*, bem como o menor rendimento em todas as espécies no início ou meados de inverno.

Quanto à variação do conteúdo de flavonoides, Brooks, Feeny (2004) estudando *Daucus carota*, observaram os maiores níveis em junho, com decréscimo no restante do ano. Ncube et al., (2010) observaram as maiores concentrações de flavonoides em *H. hemerocallidea* e *M. plumbea* no inverno, enquanto *T. violacea* e *D. robusta* as apresentaram no verão.

Roca-Pérez et al., (2004) avaliando a produção sazonal de cardenolídeo de *Digitalis obscura* observaram que as produções mais baixas foram registradas em maio, seguida por uma fase de rápido acúmulo, e as máximas produções foram alcançadas em julho. A produção de cardenolídeos diminuiu após a temporada de verão, representando uma fase decrescente correspondente ao outono.

Ncube et al., (2010) observaram a variação na concentração do total de saponinas, onde todas as plantas apresentaram os maiores teores em extratos produzidos com amostras coletadas no inverno, com exceção das folhas de *D. robusta*, onde as maiores concentrações foram registradas nas amostras coletadas no outono.

De acordo com Gobbo-Neto, Lopes, (2007) os outros fatores que podem influenciar o conteúdo de metabólitos secundários (Figura 2) são o ritmo circadiano, desenvolvimento, temperatura, disponibilidade hídrica, radiação ultravioleta, nutrientes, altitude, poluição

atmosférica e estímulos mecânicos ou ataque de patógenos.

Høgedal, Mølgaard (2000) constataram que o conteúdo de iridoides em cultivares de *Antirrhinum majus* variam durante o ciclo dia/noite, sendo, esta variação entre 20 e 60 mg g⁻¹. De forma similar, Angelopoulou et al. (2002) observaram que tal ciclo influenciou na variação na quantidade e composição do óleo essencial das folhas de *Cistus monspeliensis* L.

Os resultados obtidos por Fillipini et al., (2010), avaliando variações nos metabólitos secundários de *Hypericum perforatum* L., mostraram que o conteúdo de flavonoides foi maior no período em que se inicia a floração e menor durante a frutificação, enquanto o conteúdo de hipericina e hiperforina foram maiores no período após a floração e durante a frutificação, respectivamente e os menores valores no início da floração. Hosni et al., (2011) também observaram que o estágio do desenvolvimento regula a biossíntese de óleo essencial de *Hypericum triquetrifolium* Turra, havendo um aumento durante a floração e sua diminuição na fase de frutificação.

Zobayed et al., (2005) avaliando se o estresse de temperatura pode alterar a concentração dos metabólitos secundários de *Hypericum perforatum*, evidenciaram que temperaturas maiores que 35°C e menores que 15°C, reduziram a eficiência fotossintética das folhas da planta citada, resultando em uma menor assimilação de CO₂, o que influencia na síntese de metabólitos secundários. De acordo com os autores, a temperatura é um importante fator ambiental para otimizar a produção metabólitos secundários em *Hypericum perforatum*.

Ao avaliar a influência da indução de UV-B na mudança na produção de metabólitos secundários em folhas de *Ginkgo biloba* L, Sun et al., (2010) observaram que houve um aumento no teor de flavonoides à medida que o tempo de exposição aumentava, chegando a um aumento de 57,2% em 240 minutos com posterior decréscimo, chegando a 40,7% aos 360 minutos de exposição. Eicholz et al., (2011) também observaram que a exposição de *Vaccinium corymbosum* L. a UV-B resultou em um aumento em compostos fenólicos mostrando um máximo na dose UV-B mais alta.

Vazquez-Flota et al., (2004) avaliando o efeito de danos artificiais em plântulas de *Catharanthus roseus*, constataram que tais danos resultaram em cerca de 100% no conteúdo dos alcaloides ajmalicina e vindolina 48 horas após o tratamento.

3.2. Resistência Microbiana

A resistência aos antimicrobianos foi relatada muito cedo no desenvolvimento desses remédios milagrosos. O relatório original de Sir Alexander Fleming, em 1929, observou que

algumas bactérias, incluindo o micróbio chamado agora de *Escherichia coli*, foram resistentes ao efeito da penicilina. Nos anos que precederam a produção de antibióticos em grandes quantidades, as doenças infecciosas aterrorizaram gerações, onde era comum o óbito de pacientes com infecções bacterianas sem tratamento. A partir da década de 1960, muitas dessas doenças foram controladas e o risco de morte por causa delas diminuiu drasticamente. Entretanto, com a produção de antibióticos, surgiu um novo problema: os microrganismos desenvolveram resistência a medicamentos até então eficazes (HOGG, 2004; GUILFOILE, 2007; SUMMERS, 2008). A consequência foi o aparecimento de patógenos resistentes aos referidos fármacos, levando a uma necessidade cada vez maior de novas substâncias, contribuindo para a elevação dos custos da assistência médica (CHAMBERS, 2005).

A resistência a agentes antimicrobianos é definida como a capacidade adquirida por um micro-organismo para resistir aos efeitos de um agente quimioterapêutico ao qual é habitualmente sensível. Algumas espécies são resistentes de forma inata a determinadas classes de antibióticos, enquanto, entre as espécies sensíveis, há cepas que desenvolvem ou adquirem resistência (MIMS et al., 1999; MADIGAN, 2003).

Os mecanismos de resistência incluem inativação da droga por enzimas desintoxicantes, redução da permeabilidade celular ou a expulsão da droga por bombas específicas ou não específicas e alteração dos alvos dos antibióticos (BARBOSA, LEVY, 2000).

A aquisição da resistência microbiana está relacionada a mecanismos genéticos, podendo ser desenvolvida através de mutações cromossômicas ou adquirida por meio de plasmídeos de resistência. O primeiro mecanismo pode ser originado por mutações que ocorrem durante seu processo de divisão celular e resultam de erros de cópia na sequência de bases que formam o DNA cromossômico, sendo, os genes de resistência versões mutantes de genes normais. Os plasmídeos são elementos extracromossômicos que podem conceder resistência ao micro-organismo hospedeiro, podendo um único plasmídeo levar traços de resistência diversos agentes quimioterápicos. (MOAT et al., 2002; PRESCOT, et al., 2002; DALE, PARK, 2004).

Genes de resistência a antibióticos são transferidos através de vários mecanismos: a transformação, conjugação ou transdução. Transformação é uma característica do processo fisiológico de muitas espécies de bactérias que envolve a absorção de DNA a partir do líquido que envolve o micróbio. Esses fragmentos de DNA são procedentes da lise de outros microrganismos. Se o DNA absorvido contém um gene de resistência, a bactéria pode ser capaz de incorporá-lo em seu genoma e perder a sua suscetibilidade a um antibiótico (MIMS

et al., 1999; DAVIES,WEBB, 2004; GUILFOILE, 2007).

O processo de conjugação pode ser considerado o equivalente ao sexo bacteriano. Durante este processo, o material genético é transferido de uma bactéria doadora para uma bactéria destinatária. Especificamente plasmídeos, são transferidos. Tais plasmídeos frequentemente contêm genes de resistência a antibióticos, fazendo com que o destinatário perca a sensibilidade bacteriana a um antibiótico. Este mecanismo é considerado o mais importante para a disseminação de genes de resistência antibiótica (JAWETZ, et al., 1998; MOAT et al.,2002; MADIGAN et al., 2003). Outros elementos genéticos, chamados transposons, têm a capacidade de se deslocar de uma região de um cromossomo para outro local no genoma, e, finalmente a partir de uma bactéria para outra. Estes elementos genéticos são transferidos de forma semelhante a um plasmídeo e também frequentemente contêm genes de resistência a antibióticos (GUILFOILE, 2007).

Transdução é um outro método de transferência de DNA. Consiste no intercâmbio de genes de bactérias mediada por um bacteriófago ou fago e ocorre quando plasmídeos ou fragmentos cromossômicos de DNA do hospedeiro são erroneamente empacotados junto com o material genético do fago durante o processo de replicação (BARBOSA, LEVY, 2000; DALE, PARK, 2004; RYAN, RAY, 2004).

Esta atividade de transferência de DNA entre microrganismos, em especial as transferências que cruzam as linhas de gênero, provavelmente está sendo mediada por transferência conjugativa de genes. Os processos de transformação e transdução, provavelmente, contribuem principalmente para transferências dentro de cada espécie ou grupo de espécies intimamente relacionadas (SALYERS et al., 2008).

A seleção de cepas resistentes é mantida por uma forte pressão seletiva que favorece bactérias resistentes, onde tais microrganismos sobrevivem ao ataque de um antibiótico ao qual, normalmente, seriam susceptíveis (GUILFOILE, 2007). Essa pressão é ocasionada principalmente pelo uso difundido de antibióticos em pacientes, animais, agricultura e aquicultura. A utilização dessas substâncias juntamente com hormônios visando a promoção rápida do crescimento e engorda dos animais, é um importante fator da disseminação da resistência às bactérias patogênicas para o homem (TAVARES, 2000; WANNMACHER, 2004).

Kolpin et al., (2002) estudando contaminantes orgânicos em corpos d'água nos Estados Unidos, evidenciaram que 22% dos rios e riachos amostrados apresentaram quantidades detectáveis de antibióticos, o que pode ajudar bactérias a desenvolverem resistência. A ligação entre a exposição aos antibióticos e resistência foi constatada por

Gilliver et al., (1999) que observaram que ratos e outros roedores silvestres em dois habitats florestais na Inglaterra abrigaram uma grande população de bactérias resistentes aos antibióticos, onde 90% das bactérias intestinais estudadas pelos pesquisadores foram resistentes à amoxicilina. Isto sugere que os animais que vivem muito próximos aos seres humanos são mais propensos a abrigar bactérias resistentes, provavelmente devido à maior exposição a essas substâncias no meio ambiente.

O uso inadequado de drogas antimicrobianas por pacientes é um problema comum, principalmente em países de baixa renda. Mamun et al., (2006) examinando a prescrição e as práticas no uso de antimicrobianos em Bangladesh, constataram que essas substâncias são frequentemente "prescritas" por profissionais não diplomados, ou estão disponíveis gratuitamente nos mercados em certas localidades do mundo. Em tais situações, doses sub-terapêuticas são muitas vezes tomadas, aumentando o risco de seleção de cepas resistentes. A transferência de cepas resistentes é recorrente em comunidades caracterizadas pelo tratamento de água e instalações sanitárias inadequados (SHEARS et al., 1995). Estes autores realizando um estudo na área rural de Bangladesh observaram que o transporte entérico de bactérias resistentes tem sido responsável pela contaminação das fontes de armazenamento de água com posterior transferência para outros membros da comunidade.

O aumento de casos de pacientes infectados por bactérias resistentes a vários agentes antimicrobianos acarreta internações mais prolongadas, apresentam risco aumentado de mortalidade devido à infecção, promovem a utilização de drogas antimicrobianas mais potentes, que normalmente são mais caras e/ou mais tóxicas. Tais fatores elevam substancialmente os custos associados a essa resistência que, nos Estados Unidos, são estimados em US \$ 4 a US \$ 5 bilhões por ano. Além disso, há problemas complexos de quantificar financeiramente, como mortes individuais devido aos referidos microrganismos ; maior prevalência de infecções e, portanto, mais pessoas sofrendo a dor e o trauma associados a uma doença; um maior número de infecções intratáveis, o que pode diminuir a confiança no sistema médico, acarretando, entre outras coisas, o aumento da procura por tratamentos não-ortodoxos ineficazes (CASTRO et al., 2002; GUILFOILE, 2007).

Para combater bactérias resistentes a antibióticos, muitos especialistas em saúde recomendam um foco renovado sobre o desenvolvimento de novas drogas, visto que na última década, o ritmo de desenvolvimento de novos antibióticos tem diminuído substancialmente (CHAMBERS, 2005; GUILFOILE, 2007). O último autor aponta algumas estratégias importantes para o combate a resistência, como melhorar as medidas de controle de infecção, especialmente em ambientes médicos, reduzir a prescrição e a utilização inadequadas de

antibióticos e administrar simultaneamente múltiplos antibióticos em determinados casos.

No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), através da Resolução da Diretoria Colegiada – RDC N° 44, de 26 de outubro de 2010 estabeleceu novos critérios para a embalagem, rotulagem, dispensação e controle de medicamentos antimicrobianos de uso sob prescrição, isoladas ou em associação. Tal resolução visa um controle maior na prescrição e comercialização de 93 antimicrobianos registrados no referido órgão.

Nessa perspectiva, ações como essa de monitorização de ações sobre o uso racional de antimicrobianos associadas à busca de novos compostos antimicrobianos, sintéticos ou naturais, devem ser intensificados no propósito de controlar a ação de microrganismos patogênicos resistentes.

3.3. Caatinga

A Caatinga ocupa uma área de 844.453 Km², o que equivale a cerca de 11% do território brasileiro, estando, quase em sua totalidade, na região semiárida do país, incluindo os estados do Ceará, Rio Grande do Norte, a maior parte da Paraíba e Pernambuco, sudeste do Piauí, oeste de Alagoas e Sergipe, região norte e central da Bahia e parte de Minas Gerais (DRUMMOND, 2000; PRADO, 2003).

A Caatinga possui clima semiárido, dispondo de abundante intensidade luminosa durante todo o ano, com temperaturas elevadas. A disponibilidade hídrica é bastante variável, com precipitações médias anuais menores que 750 mm irregularmente distribuídos, contrastando com uma evapotranspiração bem menos variável entre 1500 e 2000 mm anuais, e que, conjugadas, caracterizam os déficits hídricos que definem a semiaridez climática. Os solos também apresentam uma grande variabilidade, com profundidades que vão desde o quase nada das superfícies rochosas até camadas de alguns metros, característica que, juntamente com o material originário, influencia na capacidade de retenção de água e disponibilidade de nutrientes (ARAÚJO et al., 2005; SAMPAIO, 2010). O relevo da Caatinga é caracterizado por planaltos, depressões e planícies e sua rede fluvial é composta por muitos rios temporários, que passam boa parte do ano secos (RIBEIRO et al., 2008).

Em virtude da heterogeneidade do relevo, clima e solo, a Caatinga apresenta diversas fitofisionomias, onde se pode observar caatingas arbóreas, com árvores de 15 a 20 metros, que se interconectam com as matas secas, nas áreas mais úmidas e nos brejos de altitude (PEREIRA et al., 2002; ALCOFORADO FILHO et al., 2003; CESTARO, SOARES, 2004;

PÔRTO et al., 2004). Na maior parte da caatinga a vegetação apresenta características de adaptação ao déficit hídrico. Entre tais características, Sampaio (2010) cita caducifolia, plantas herbáceas anuais, suculência, acúleos e espinhos, predominância de arbustos e arvoretas e cobertura descontínua de copas.

Por ser mal conhecida botanicamente, a Caatinga tem sido descrita como pobre, abrigando poucas espécies endêmicas e, portanto, de baixo valor para fins de conservação (TABARELLI, VICENTE, 2003). Essa descrição contrasta com a diversidade observada em estudos florísticos como os realizados por Amorim et al., (2005); Araújo et al., (2005); Gomes et al., (2006); Barbosa et al., (2007); Fabricante, Andrade (2007); Andrade et al., (2009); Ramalho et al., (2009).

No mosaico de ambientes que forma a Caatinga, Giulietti et al., (2006) afirmam que o número de espécies de fanerógamas ultrapassa 5000, sendo 1512 presentes nas caatingas no seu sentido mais restrito, com pelo menos 318 endêmicas.

Apesar de ainda pouco estudada, a flora da Caatinga é utilizada para as mais diversas finalidades. Entre os principais usos dessa destaca-se o farmacológico, que, muitas vezes, configura a única fonte de recursos terapêuticos de muitas comunidades e grupos étnicos locais. Diversos autores citam a utilização de espécies vegetais nativas pelos efeitos medicamentosos que produzem (BRAGA, 1978; AGRA, 1996; SILVA, ALBUQUERQUE, 2005; ANDRADE et al., 2006; TEIXEIRA, MELO, 2006; CHAVES et al., 2007; AGRA et al., 2008; MOSCA, LOIOLA, 2009; GUERRA et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2010; SILVA, FREIRE, 2010). Muitas dessas plantas não são conhecidas quanto à sua constituição química e suas atividades biológicas, sendo, as mesmas, empregadas através do conhecimento tradicional acumulado ao longo dos séculos.

Entretanto, essa biodiversidade está ameaçada, pois a utilização da mesma pelos moradores locais, na maioria dos casos, ainda se fundamenta em processos que não respeitam a complexidade da Caatinga e carecem de elementos básicos de sustentabilidade, como expansão pecuária de bovinos, ovinos e caprinos, caça e desmatamento para utilização da lenha como matriz energética e conversão da mata nativa em pastagens e cultivos (ALBUQUERQUE, ANDRADE, 2002; NUNES et al., 2006). Tal processo está levando à rápida perda de espécies endêmicas, à eliminação de processos ecológicos chaves e à formação de extensos núcleos de desertificação em vários setores da região (BRASIL, 2002; LEAL et al., 2003; SANTANA, 2007) de forma que muitas espécies podem desaparecer antes mesmo de terem suas propriedades terapêuticas estudadas.

Nesse sentido, é necessária a intensificação dos estudos sobre a Caatinga para o

entendimento da dinâmica desse bioma visando a conservação de sua biodiversidade.

3.4. *Pseudobombax marginatum*

Originária do Brasil, esta planta pertencente à família Bombacaceae tem como sinonímia científica *Pachira marginata* A. St. Hil., *P. rufescens* A. St. Hil. et Naud, *Bombax marginatum* Schum., *B. carolinum* Vell. ex A. St. Hil & Naud. e é conhecida popularmente como embiratanha, imbiricu, paineira-imiricu, sumaúma, (CORRÊA, 1969; LORENZI, 1998).

P. marginatum (Figura 3) é uma árvore decídua, heliófita, com altura entre 2,5-8 m dotada de copa alongada e rala, com ramos novos grossos, com entrenós alongados. Folhas compostas sobre pecíolo comum glabro na base e levemente pubescente no ápice de 12-24 cm de comprimento e 2 a 4 mm de grossura, glabro, mas, para o ápice, um pouco pubescente; Foliolos em número de 7-9, com 4,5-17,5 cm de comprimento por 2-5 cm de largura, não articulados, sésseis, lanceolados ou obovado-oblongos, de margens inteiras, tomentosos nas duas faces, na ventral passando a glabros, na dorsal, ferrugíneos; flores solitárias, geminadas ou tríades, geralmente nas extremidades dos ramos; pedúnculo longo e grosso; corola com pétalas muito mais longas que o cálice, oliváceo-tomentelados por fora, vilosas na base e por dentro, apresentando tricomas tanto na face adaxial como na abaxial; floresce durante um longo período do ano, predominando entre abril-maio. Fruto tipo cápsula elipsoide, lenhosa, deiscente, de superfície denso-tomentosa, que se abre em 5-9 valvas, com muitas sementes envoltas em fibras lanuginosas de cor esbranquiçada. (CORRÊA, 1969; LORENZI, 1998; DU BOCAGE, SALES, 2002; CARVALHO-SOBRINHO et al., 2009).

P. marginatum apresenta distribuição exclusiva na América do Sul, especialmente na Bolívia, Paraguai, Brasil e Peru (FERNANDEZ-ALONSO, 2001; DU BOCAGE, SALES, 2002). No Brasil, ocorre nas regiões Sudeste (SIQUEIRA, 2008) e Centro-Oeste (BORGES, SHEPHERD, 2005; MORAIS, SILVA, 2010), alcançando o Nordeste nos Estados de Pernambuco (DU BOCAGE, SALES, 2002), Ceará (CAMPANHA, ARAÚJO, 2010) e Paraíba (LUNA, COUTINHO, 2007; DAMASCENO et al., 2010).

Entre os seus usos destacam-se o da sua madeira que é leve, sendo indicada para confecção de caixotes, forros, brinquedos e calçados. As fibras da casca são muito resistentes e são utilizadas como matéria-prima na produção de cordas, usadas, entre outros fins, para a construção de casas de taipa. A raiz da planta jovem pode ser utilizada para alimentação humana em tempos de escassez. Pode ser empregada também para restauração florestal, para enriquecer capoeiras e matas ciliares (CAMPANHA, ARAÚJO, 2010). Em virtude de sua

copa ornamental e bela da floração, pode ser utilizada com fins paisagísticos (LORENZI, 1998).

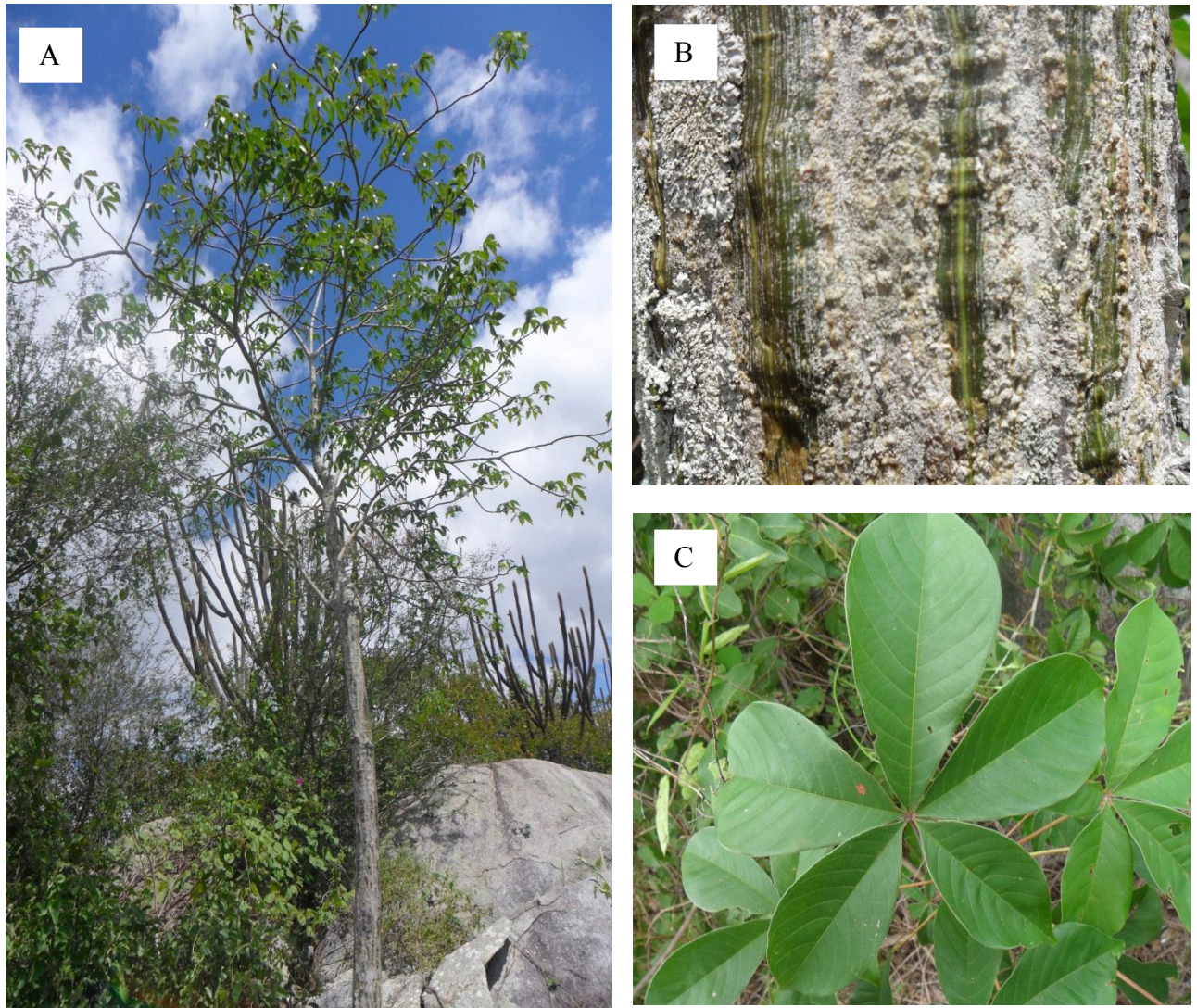


Figura 3: *Pseudobombax marginatum*. **A** – Visão Geral; **B** – Detalhe da casca; **C** – Folha.

Fotos: Thiago Pereira Chaves (2011)

Na comunidade de Estirão Comprido, localizada às margens do Rio Cuiabá, Barão de Melgaço, Pantanal Mato-grossense, seus frutos são utilizados para pescar (MORAIS, SILVA, 2010), enquanto no semiárido paraibano *P. marginatum* é utilizada como forrageira (DAMASCENO et al., 2010).

Quanto à utilização de *P. marginatum* como medicinal, a literatura é bastante escassa, observando-se poucos registros como o da comunidade rural de Laginhas município de Caicó

– RN, onde a maceração de sua entrecasca empregada contra dor na coluna (ROQUE et al., 2010). Agra et al., (2008) citam o uso da decocção da casca dessa planta como anti-inflamatório no Nordeste brasileiro.

3.5. *Guapira graciliflora*

Este vegetal pertencente à família Nyctaginaceae, é de origem brasileira e tem como sinonímia científica *Pisonia graciliflora* Mart. ex J. A. Schmidt; e *Pisonia graciliflora* Mart. var. *B. subferruginosa* Mart., popularmente é conhecida como João-mole, pau-mole, João-dormindo (LORENZI, 1998), pau-piranha (COELHO et al., 2005).

Os espécimes de *G. graciliflora* (Figura 4) são arbustos, arvoretas ou árvores com altura variando entre 0,3-8 m, dotada de copa globosa, ramos novos rufo-tomentosos. Apresenta tronco geralmente ereto e cilíndrico, de 20-30 cm de diâmetro, revestido por uma casca pouco fissurada; os ramos novos são verde-ferrugíneos a vináceos. As folhas são opostas, com pecíolos com comprimento variando entre 1-7 cm, inteiras, coriáceas, rígidas, de margens um pouco revolutas, tamanho variando entre 5-12 cm de comprimento por 2-7 cm de largura. As lâminas são elípticas a oblongas, raro ligeiramente obovadas, base aguda, obtusa a arredondada, ápice obtuso a arredondado, curto acuminado, quando secas marrom-claras, raramente verde-oliva, face adaxial lustrosa e abaxial opaca, nervuras salientes nas duas faces. As inflorescências são dispostas em cimeiras corimbiformes terminais, 4,6-10,5 x 3,5- 6,8 cm, as femininas menores, 2,8 x 2,3 cm, ramos opostos ou subopostos, patentes, ferrugíneo pubérulas a glabrescentes; pedúnculos 1-4,5 cm compr., geralmente delgados, 0,2-0,5 mm de espessura; Flores masculinas 3,5-4 x 2-3 mm, infundibuliformes, verdes a verde-avermelhadas, glabras ou com tricomas ferrugíneos na base; estames em número de 5-9. Flores femininas 2-3 x 0,6-1,8 mm, tubulosas, verdes, raramente com ápice rosado; floresce nos meses de agosto-setembro. O fruto é uma drupa elipsoide, de cor vermelho-vinácea, levemente pubescente, com polpa carnosa, contendo uma única semente; amadurecem nos meses de outubro a novembro (LORENZI, 1998; FURLAN et al., 2008).

G. graciliflora ocorre nos estados de Alagoas, Paraíba, Sergipe, Bahia, Mato Grosso do Sul, São Paulo (LORENZI, 1998), Minas Gerais (FURLAN et al., 2008), Goiás (SILVA, SCARIOT, 2004), Tocantins (COELHO et al., 2005), Mato Grosso (MARIMON JÚNIOR, HARIDASAN, 2005; SILVEIRA et al., 2009), Maranhão (AQUINO et al., 2007), Ceará (ARAÚJO et al., 1999) e Distrito Federal (FONSECA, SILVA JÚNIOR, 2004).

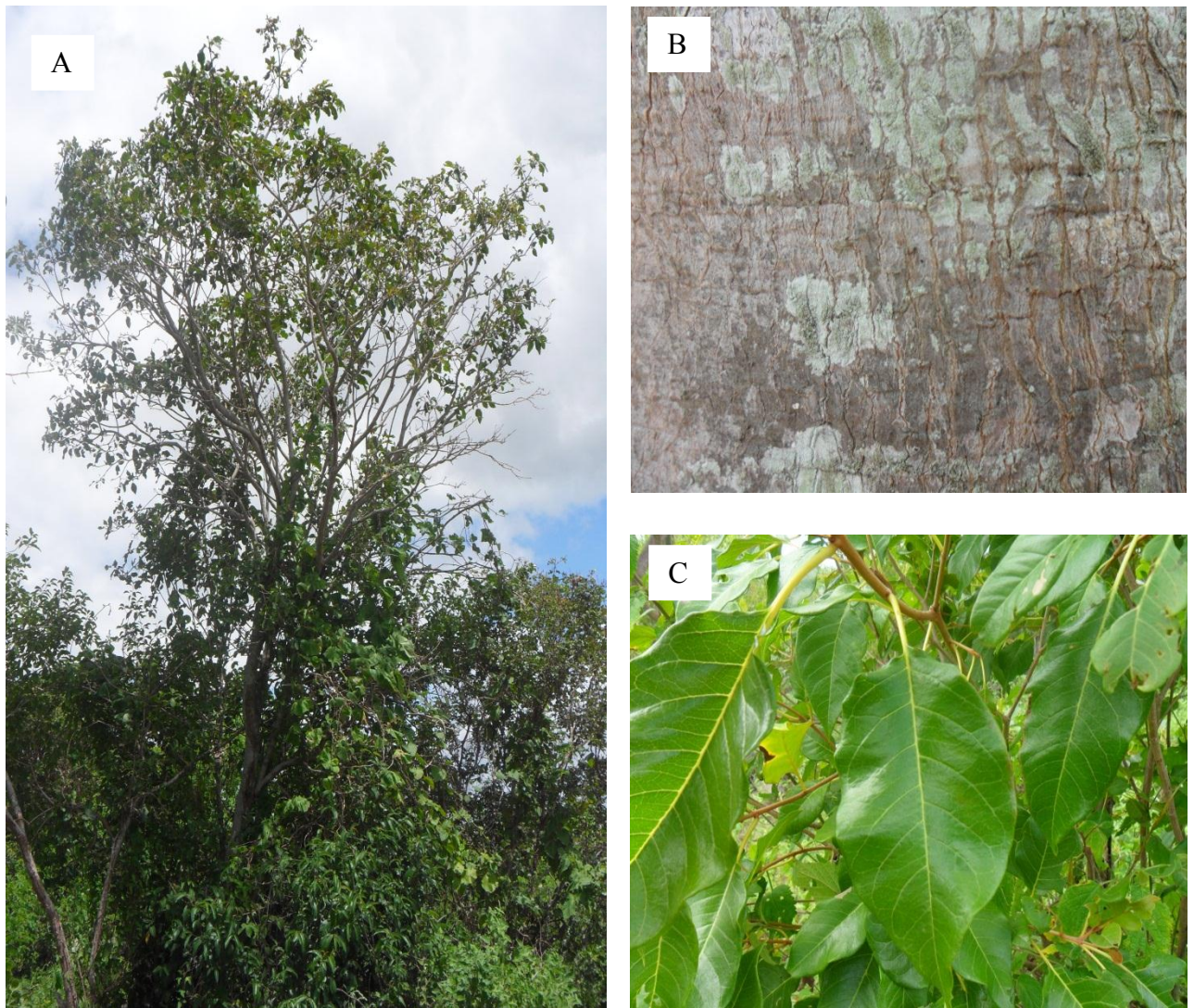


Figura 4. *Guapira graciliflora*. **A** – Visão Geral; **B** – Detalhe da casca; **C** – Folha.

Foto: Thiago Pereira Chaves

A madeira é indicada para instrumentos agrícolas, caixotaria e confecção de brinquedos, bem como para lenha e carvão. Também é indicada para a composição de reflorestamentos heterogêneos destinados à recuperação da vegetação em áreas degradadas. Os frutos são muito apetecidos por diversas espécies de pássaros (LORENZI, 1998; AQUINO et al., 2007) e até por alguns mamíferos (ALVES-COSTA, ETEROVICK, 2007).

A árvore possui qualidades ornamentais que a recomendam para paisagismo, principalmente para a arborização urbana, como no trabalho realizado por Silva e colaboradores (2007) que indicaram *G. graciliflora* para a arborização de ruas em Americana-SP.

Na literatura são encontrados poucos registros de uso medicinal de *G. graciliflora*. Em um levantamento etnofarmacológico realizado na comunidade Mumbuca, município de Jalapão – TO, evidenciou-se que a infusão da entrecasca é utilizada como cicatrizante (COELHO et al., 2005).

Costa et al., (2010) realizando testes de toxicidade aguda em plantas medicinais da bacia do Araripe, constatou que o extrato *G. graciliflora*, provocou letalidade de larvas de *Artemia salina*.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Obtenção do material vegetal

O material vegetal, que consistiu em cascas do caule de João-Mole (*Guapira graciliflora* e Embiratanha (*Pseudobombax marginatum*), foi obtido nos períodos seco (fevereiro de 2011) e chuvoso (agosto de 2011) a partir de plantas adultas devidamente selecionadas levando-se em consideração as características fitossanitárias e anotadas em ficha de campo.

A coleta do material botânico (Figura 5) foi realizada na Fazenda Vereda Grande, localizada na zona rural do município de Barra de Santana-PB, sendo, os pontos de coleta georreferenciados com auxílio de um aparelho de GPS. Estando a espécie *Guapira graciliflora* localizada nas coordenadas 7° 31,613' S, 36° 2,991' W com elevação de 514 m e *Pseudobombax marginatum* a 7° 32,013' S, 36° 3,018' W, com elevação de 416 m.



Figura 5. Coleta do material vegetal. **A-** *G. graciliflora*; **B-** *P. marginatum*.

Foto: Thiago Pereira Chaves.

O referido município está inserido na Microrregião de Barra de Santana, Mesorregião Borborema do Estado da Paraíba, limitando-se ao norte com os municípios de Caturité e Queimadas, a leste com Gado Bravo, ao sul com Santa Cecília, Alcantil e Riacho de Santo Antônio e a oeste com Boqueirão, entre as coordenadas 7° 31' 12" S, 36° 0' 0" W (Figura 6), estando, dessa forma incluído na área geográfica de abrangência do semiárido brasileiro. A sede do município tem uma altitude aproximada de 350 metros distando 133,15 Km da capital do Estado, João Pessoa. (MASCARENHAS et al., 2005; BRASIL, 2008; IBGE, 2010).

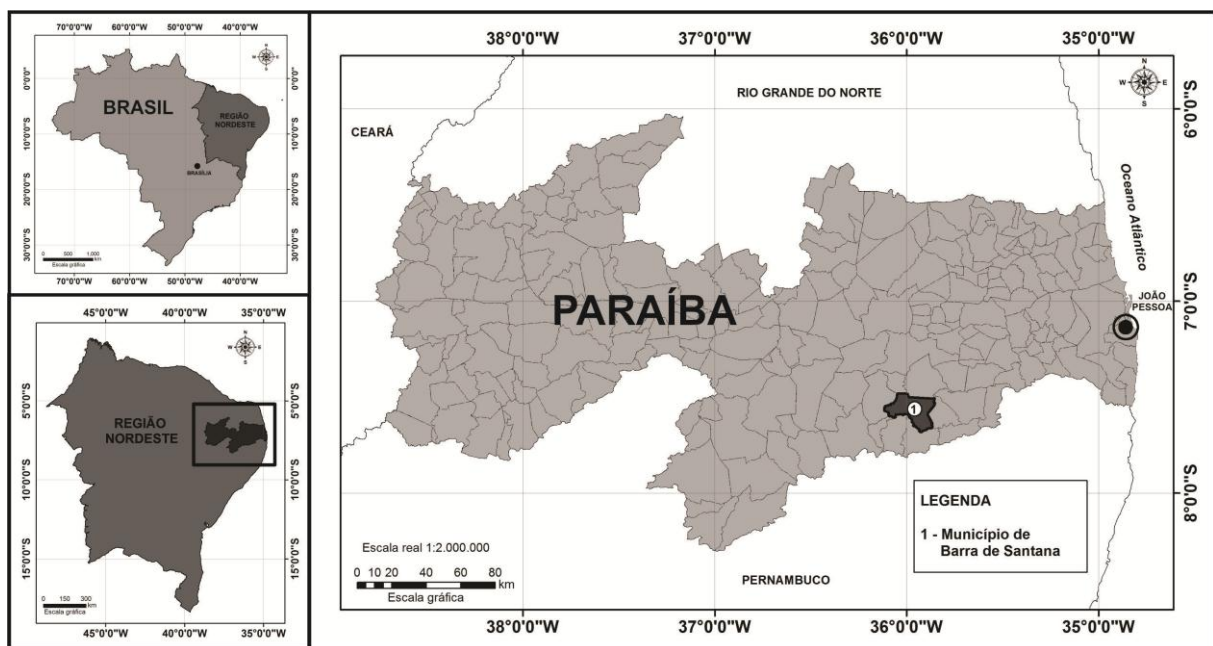


Figura 6. Mapa demonstrando o local da coleta do material vegetal, município de Barra de Santana, Semiárido Brasileiro.

O relevo é bastante movimentado, sendo moderadamente dissecado, apresentando altitudes entre 300 e 700 metros. A vegetação é composta por Floresta Caducifólia, Cerrado e Caatinga. O clima é caracteristicamente muito quente, com estação chuvosa no inverno. O período de chuvas inicia-se em março e se estende até setembro. Com respeito aos solos, nos topos de relevos arredondados e vertentes íngremes ocorrem os solos do tipo Litólicos, rasos pedregosos e fertilidade natural média; nas baixas vertentes os solos são Bruno não Cálculos, textura argilosa, e fertilidade natural alta e nos topos (MASCARENHAS et al., 2005).

Após a coleta do material botânico houve o acondicionamento em sacos de papel tipo *Kraft*, sendo estes transportados para o Laboratório de Botânica da Universidade Estadual da

Paraíba, na cidade de Campina Grande. As amostras coletadas durante o período seco (verão) foram denominadas *G. Graciliflora* 1 e *P. Marginatum* 1, enquanto as amostras coletadas na estação chuvosa (inverno) foram denominadas *G. graciliflora* 2 e *P. marginatum* 2.

Além das cascas, foram realizadas coletas de órgãos das plantas nos estados vegetativo e reprodutivo, sendo, o material botânico prensado no local e submetido à dessecação em estufa elétrica de 60°C, segundo as técnicas de herborização, para a posterior confecção de exsiccatas, as quais foram identificadas e depositadas no Herbário Arruda Câmara (HAC) da UEPB sob os números 906 e 907 para *P. marginatum* e *G. graciliflora*, respectivamente.

4.2. Secagem

Nesse processo, o material vegetal foi acondicionado em sacos de papel, sendo posteriormente levados a uma estufa de circulação de ar (FANEM[®], modelo 330), à uma temperatura de 40 °C até a obtenção de peso constante.

4.3. Moagem

Após a secagem, o material foi triturado em um moinho do tipo Willey[®], até a obtenção de um pó fino, o qual, posteriormente foi peneirado em tamis de numeração 10 mesh. Sendo, em seguida, acondicionado em recipientes de vidro, hermeticamente fechados e protegidas do ar e da luz solar.

4.4. Obtenção dos extratos etanólicos

Foram obtidos extratos etanólicos por percolação a frio (Figura 7), adotando procedimento semelhante ao proposto por Chernoviz (1920) e Prista et al., (1990). As amostras foram umedecidas com álcool etílico absoluto, logo após, foram transferidas para um recipiente de vidro, onde permaneceram em repouso por 20 minutos. Em seguida foi realizado o processo de lixiviação convencional, onde o material vegetal foi transferido para percoladores de aço inoxidável, onde permaneceram durante 5 dias. Após a retirada do extrato, foi realizada uma segunda extração para o esgotamento dos princípios ativos. Após esse processo, os extratos foram acondicionados em recipientes de vidro âmbar e armazenados a temperatura ambiente protegido da luz solar.

Para a retirada do solvente utilizou-se evaporador rotativo (Quimis[®] Q344M) a 40°C com bomba de vácuo.

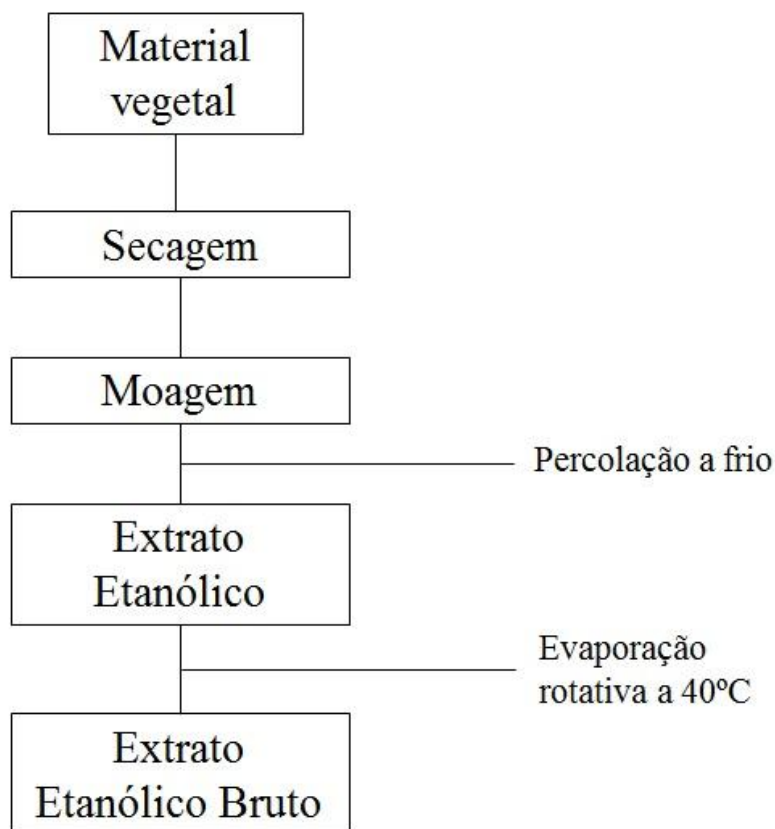


Figura 7. Esquema representando a preparação de extratos etanólicos.

4.5. Prospecção Fitoquímica

4.5.1. *Screening* fitoquímico qualitativo

A prospecção fitoquímica dos principais grupos de substâncias ativas foi realizada através de reações químicas que caracterizam a presença dos mesmos através de precipitação, floculação ou coloração, segundo protocolos específicos propostos por Morita e Assumpção (1972), Matos (1988), Costa (2000) e Simões (2004):

Taninos

Solução aquosa de FeCl₃ a 1%: 1 g de cloreto férrico foi dissolvido em quantidade suficiente de água para 100 ml. A presença de precipitação de cor azul indica taninos pirogálicos (taninos hidrolisáveis) e verde, taninos catéquicos (taninos condensados).

Solução alcoólica de FeCl₃ a 9%: foram dissolvidos 9 g de cloreto férrico em 50 ml de água e

2 ml de ácido clorídrico 3 N. O volume foi completado para 100 ml com álcool etílico. Precipitação escura de tonalidade azul indica a presença de taninos pirogálicos e verde, a presença de taninos catéquicos.

Em dois tubos de ensaio depositou-se 6 mL do extrato, sendo 3 mL em cada e posteriormente adicionou-se algumas gotas da solução de FeCl₃ a 1% no tubo 1 e da solução de FeCl₃ a 9% no tubo 2, observando-se a formação de precipitado e a mudança na coloração.

Fenóis

Reagente de Candússio: 1 g de ferricianeto de potássio foi dissolvido em 100 ml de água e adicionado amônia a 10 a 20%. Esta solução reage com vários compostos fenólicos, formando um precipitado ou coloração.

Foi utilizada também a Solução alcoólica de FeCl₃ a 9%. A coloração variando entre o azul e o vermelho indica a presença de fenóis. Para cada reação, tomou-se um tubo de ensaio contendo 3 mL do extrato ao qual adicionou-se algumas gotas do respectivo reagente.

Antocianidina, Antocianina e Flavonóides

Para este teste, foram adicionados, em três tubos de ensaio diferentes, 3 mL do extrato. O extrato no primeiro tubo foi acidulado a pH variando entre 1 e 3, enquanto outro foi alcalinizado a pH 8,5 e o terceiro a pH 11. A mudança na coloração do extrato indicou a presença dos compostos testados (Quadro1).

Quadro 1: Resultados dos testes para Antocianidina, Antocianina e Flavonóides

Constituintes	Cor em meio		
	pH 3 (Ácido)	pH 8,5 (Alcalino)	pH 11 (Alcalino)
Antocianinas e antocianidinas	Vermelha	Lilás	Azul-Púrpura
Flavonas, Flavonóis e Xantonas	-	-	Amarela
Chalconas e Auronas	Vermelha	-	Verm. Púrpura
Flavonóides	-	-	Verm. Laranja

Fonte: Matos (1988)

Leucoantocianidinas, Catequinas e Flavanonas

Para identificação destas substâncias foram tomados dois tubos de ensaio, cada um contendo 3 mL do extrato, onde o primeiro foi acidificado por adição de HCl até pH 1-3 e o outro alcalinizado com NaOH até pH 11. Os tubos foram aquecidos cuidadosamente durante um período de 2-3 minutos. Modificação ou intensificação de cor, em comparação com os tubos correspondentes usados no teste anterior indicam a presença de constituintes especificados no Quadro 2.

Quadro 2: Resultados dos testes para Leucoantocianidinas, Catequinas e Flavonas

Constituintes	Cor em meio	
	Ácido	Alcalino
Leucoantocianidinas	Vermelho	-
Catequinas (taninos catéquicos)	Pardo amarelada	-
Flavonas	-	Verm. Laranja

Fonte: Matos (1988)

Flavonóis, Flavanonas e Xantonas

Para a identificação desses metabólitos utilizou-se a solução de cloreto férrico a 4,5% em álcool. Em um tubo de ensaio contendo 3 mL do extrato foram adicionadas algumas gotas do referido reagente. O resultado positivo é evidenciado pela mudança de coloração, variando entre verde, amarela, castanha ou violeta.

Alcaloides

A reação geral para alcaloides foi baseada na formação de complexos insolúveis (precipitados). Para a identificação da presença de alcaloides foram separadas porções de 3 mL dos extratos em tubos de ensaio diferentes e adicionados os seguintes reagentes:

Tubo 1: *Solução de Erdmann*: 1 ml de HNO₃ foi diluído em 60 mL de H₂SO₄ concentrado e homogeneizado. A mudança de coloração indica a presença de alcaloides.

Tubo 2: *Solução de Marquis*: 4 mL de solução de formaldeído a 40% foi misturado com 100 ml de H₂SO₄ concentrado. A presença de alcaloides é indicada pelo surgimento de coloração característica.

Tubo 3: *Reagente de Mayer*: foi dissolvido 1,35 g de Hg_2Cl_2 e 5 g de KI em água e até chegar a 100 mL. Esta solução reage com quase todos os alcaloides em meio ácido dando precipitados brancos.

Tubo 4 : *Solução de Ácido tânico*: foram dissolvidos 10 g de ácido tânico em 80 mL de água e 12 mL de álcool. Os alcaloides reagirão formando precipitado branco ou amarelo.

Tubo 5: *Reagente de Bouchardat*: foram dissolvidos 4 g de KI e 2 g de I_2 em 100 mL de água. A solução reage com alcaloides formando precipitado marrom.

Tubo 6: *Reagente de Dragendorff*: para este reagente foram preparadas duas soluções:

- Solução A: 8g de $\text{BiONO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ foram dissolvidos em 20mL de Ácido Acético.
- Solução B: dissolveu-se 27,2g KI em 50mL de água destilada.

A solução A foi adicionada aos poucos sobre a solução B. A formação de precipitado vermelho após a adição deste reagente indica a presença de alcaloides.

Albumina

Para este teste foram utilizados três tubos de ensaio, com 3 mL do extrato. Aos tubos foram adicionadas algumas gotas dos seguintes reagentes:

Tubo 1: *Reagente de Molisch*: 20 g de alfa-naftol foram dissolvidos em 100 mL de álcool. Em um tubo de ensaio 2 gotas deste reagente foram adicionadas a 1 ml de amostra e 5 ml de ácido sulfúrico concentrado. A coloração vermelha ou violeta indica a presença de albumina ou peptona.

Tubo 2: *Reagente de Claudius*: foram dissolvidos 2 g de ácido tricloro-acético, 0,5 g de ácido tânico e 0,1 g de fucsina ácida em 100 mL de água. A presença de albumina será indicada pela formação de precipitado.

Tubo 3: *Reagente de Dohmée*: foram dissolvidos 1 g de ácido pícrico, 1 g de ácido tricloro-acético e 10 mL de ácido acético glacial em água e até chegar a 100ml. Se tal solução apresentar precipitado, indicará a presença de albumina.

Glicose

Reagente de Benedict: 17,3 g de $C_6H_5Na_3O_7$ e 10 g de Na_2CO_3 anidro em cerca de 80 mL de água de volume total. Em seguida, foi colocada gradativamente solução de sulfato de cobre (1,8 g dissolvida em 10 ml de água) agitando-se continuamente até chegar a 100 ml. Algumas gotas deste reagente foram acrescentadas a um tubo de ensaio contendo 3 mL do extrato. A presença de glicose é observada pela formação de precipitado que pode variar de vermelho a verde por aquecimento.

4.5.2. Screening fitoquímico quantitativo

4.5.2.1. Determinação de polifenóis totais

O conteúdo de polifenóis totais dos extratos vegetais foi mensurado por meio de espectroscopia na região do visível através do método de Folin-Ciocalteu descrito por Chandra e Mejia (2004) com adaptações. Os extratos etanólicos (25 mg) foram dissolvidos em água destilada, e filtrados conforme o caso, e posteriormente transferidos para um balão volumétrico de 25 mL. Estas soluções foram diluídas de modo a obter uma concentração final de 300 e 200 $\mu\text{g/mL}$ para *G. graciliflora* e *P. marginatum* respectivamente. De cada solução, uma alíquota de 1 mL foi adicionada a 1 mL do reagente de Folin-Ciocalteu 1N. Esta mistura permaneceu em repouso durante 2 minutos antes da adição de 2 mL da solução de Na_2CO_3 a 20% (p/v). A solução foi deixada em repouso pelo período de 10 minutos e posteriormente foi realizada a leitura no comprimento de onda de 757 nm em espectrofotômetro UVmini – 1240, marca Shimadzu, tendo como “branco” água destilada. A curva de calibração foi obtida com solução estoque de ácido gálico (1mg mL^{-1}), da qual foram feitas diluições seriadas nas concentrações 1, 3, 6, 9, 12, 15, 20, 25, 30, 35 e 40 $\mu\text{g mL}^{-1}$ em balões volumétricos de 10 mL. As leituras foram realizadas da mesma forma descrita anteriormente, substituindo-se as amostras dos extratos vegetais pelas soluções de ácido gálico. O conteúdo total de polifenóis foi expresso em miligramas equivalentes do padrão utilizado.

4.5.2.2. Determinação de Flavonoides totais

O total de flavonoides foi determinado através do método descrito por Meda et al., (2005). Inicialmente 5 mL dos extratos vegetais diluídos em metanol nas seguintes concentrações: *G. graciliflora* 1 e 2 e *P. marginatum* 1 a 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e *P. marginatum* 2 a 5000 $\mu\text{g mL}^{-1}$. A 5 mL de cada solução foi adicionado o mesmo volume da solução de $AlCl_3$ a 2% em metanol (p/v). Esta mistura permaneceu em repouso durante 10 minutos antes da

leitura da absorvância no comprimento de onda de 415 nm. Foram realizadas ainda leituras dos extratos com metanol no lugar da solução de AlCl_3 e o valor da absorvância da leitura anterior foi subtraído do valor desta para que a coloração dos extratos não influenciassem na absorvância, superestimando a quantidade de flavonoides. A amostra do “branco” consistiu em metanol. O total de flavonoides foi determinado utilizando a curva de calibração utilizando quercetina (Sigma–Aldrich Chemie, Steinheim, Germany) nas concentrações 2, 4, 6, 8, 10, 13, 16, 19, 22, 26, 28 e 30 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e expresso em mg equivalente de quercetina.

4.5.2.3. Figuras de Mérito

As figuras de mérito de interesse para análise univariada para os extratos são descritas a seguir.

a) Limites de Concentração

O sinal de branco foi medido no comprimento de onda de interesse nos dois extratos. Com este procedimento foi possível calcular os limites de detecção (LOD, do inglês “Limit Of Detection”) e de quantificação (LOQ, do inglês “Limit Of Quantification”), para cada um dos extratos. O valor do LOD representa a menor concentração do extrato que pode ser detectada ao nível de 95% de confiança estatística. Para isso, foram utilizados os parâmetros da curva analítica construída para cada extrato e a estimativa do desvio-padrão de 20 medições do sinal do branco. O valor estimado para o LOQ, corresponde a 3,33 vezes o valor do LOD.

b) Linearidade

Para cada um dos analitos foram obtidas as faixas lineares de trabalho, que correspondem às concentrações do analito que fornecem uma resposta analítica diretamente proporcional a estas concentrações. A concentração de uma dada solução em que começa a existir uma falta de linearidade em sua resposta é denominada de limite de linearidade (LOL, do inglês “Limit Of Linearity”).

c) Precisão (repetitividade)

Foram realizadas medidas em replicatas autênticas, 03 ($n = 3$), dos padrões para cada um dos analitos para o cálculo do desvio-padrão, o qual representa a dispersão dos resultados entre ensaios independentes, repetidos de uma mesma amostra, sob condições definidas.

3.3.2.2 – Etapas do procedimento

As etapas seguintes foram utilizadas a fim de estimar os valores das figuras de mérito dos métodos para quantificação de cada analito.

a) Medida dos sinais do branco.

b) Medida dos sinais das soluções-padrão.

c) Regressão linear, pelo Método dos Mínimos Quadrados (MMQ), para obtenção da relação absorvância–concentração.

d) Análise de Variância (ANOVA) (BARROS NETO et al., 2003) utilizando o teste F com 95 % de confiança para ajuste do modelo linear.

Caso a ANOVA indique que a relação absorvância-concentração não está adequadamente ajustada a um modelo linear, o limite superior da faixa de concentração é eliminado e as etapas c e d são executadas novamente, até que a faixa dinâmica de trabalho seja determinada.

e) Medida dos sinais das soluções-padrão para construção da curva analítica pelo MMQ.

f) Estimativa dos valores de LOD e de LOQ, empregando as equações

$$\text{LOD} = 3 * s / S \quad (1)$$

$$\text{LOQ} = 10 * s / S \quad (2)$$

onde: s é o desvio-padrão do branco (Etapa 1).

S é a inclinação da curva analítica.

g) Aplicação da curva analítica para obtenção dos valores de concentração do analito.

4.6. Screening Microbiológico

4.6.1. Cepas Microbianas

Para avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos obtidos a partir das espécies vegetais coletadas, foram utilizadas cepas padrão American Type Culture Collection (ATCC) dos microrganismos patogênicos *Staphylococcus aureus* (25923), *Escherichia coli* (25922), *Pseudomonas aeruginosa* (27853), *Klebsiella pneumoniae* (4352), *Streptococcus mutans* (25175), *Streptococcus oralis* (10557), *Streptococcus salivarius* (7073), *Enterococcus faecalis* (29212), *Candida albicans* (10231), *Candida guilliermondii* (6260) e *Candida krusei* (34135) as quais foram disponibilizadas pela Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ – RJ). As cepas liofilizadas foram reativadas, em câmara asséptica, seguindo as recomendações da referida Fundação.

4.6.2. Preparação da suspensão microbiana

A suspensão de cada microrganismo foi obtida transferindo a culturas crescidas sobre o meio de cultura, com alça estéril, para um tubo de ensaio contendo 3 ml de solução salina 0,9% estéril.

O inóculo microbiano foi padronizado de acordo com Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2005), em espectrofotômetro BIOSPECTRO[®] com comprimento de onda a 625 nm, onde as referidas suspensões foram diluídas de modo a obter-se uma preparação microbiana com concentração final próxima a 10^6 UFC ml⁻¹.

4.6.3. Teste de Suscetibilidade Microbiana

Para este teste, houve a tentativa de dissolução dos extratos na concentração de 200 mg mL⁻¹ na solução de DMSO a 10% entretanto, apenas *P. marginatum* foi solúvel. *G. graciliflora*, na concentração citada, se mostrou insolúvel em diversos tensoativos como solução de DMSO a 10%, Miristato de Isopropila e Tween 80, mostrando-se solúvel apenas em Clorofórmio na concentração de 50 mg mL⁻¹. Não se tentou dissolver esse extrato em outros solventes como acetato de etila e metanol, pois estes apresentaram atividade antimicrobiana, conforme testes realizados, o que iria interferir no resultado final.

A suscetibilidade microbiana aos extratos foi determinada pelo método de microdiluição em caldo utilizando microplacas com 96 poços como descrito pelo CLSI (2003), com adaptações.

Para *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* e *E. faecalis* utilizou-se caldo Mueller Hinton, para *S. oralis*, *S. salivarius* utilizou-se caldo BHI e para as cepas de *Candida*

utilizou-se caldo Saboraud dextrose.

Nas microplacas foram distribuídos assepticamente 100 μ L do respectivo meio de cultura em cada poço. Na cavidade 1 da linha A da placa, adicionou-se 100 μ L do extrato, fazendo-se, em seguida, diluições sucessivas transferindo-se 100 μ L da linha 1A até a linha 1H da placa. Após as diluições, adicionou-se em cada cavidade 10 μ L do inóculo bacteriano. As placas contendo bactérias foram incubadas a 37°C e as placas com fungos a 25°C, ambas por um período de 24 h.

O crescimento microbiano foi indicado pela adição de 20 μ L da solução aquosa de resazurina (Sigma-Aldrich) a 0,01% em cada poço e incubação de 2 h a temperatura ambiente. A resazurina é um corante azul não-fluorescente e não-tóxico que se torna rosa e fluorescente quando reduzido a resorufina por oxidorreduzases dentro das células microbianas viáveis (PALOMINO et al., 2002; SARKER et al., 2007; ANG et al., 2010).

Controles do meio de cultura, do inóculo microbiano e apenas dos extratos de plantas foram incluídos no experimento. Como controle negativo foram utilizados os solventes utilizados para dissolver os extratos e como controle positivo, utilizou-se gluconato de clorexidina a 0,12% para *S. oralis*, *S. salivarius* e *E. faecalis*; Cefalotina para *S. aureus*; Gentamicina para *E. coli*, *P. aeruginosa* e *K. pneumoniae* e Nistatina para os fungos. Os ensaios foram realizados em triplicata.

4.6.4. Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A leitura foi realizada de forma visual, observando-se a mudança de coloração da resazurina. A mudança da coloração azul para rosa, caracterizada pela redução do corante, indica a presença de células microbianas viáveis, enquanto nas cavidades onde a coloração permaneceu azul, não houve redução do corante, indicando inviabilidade microbiana. Dessa forma, pode-se determinar a CIM, ou seja, a menor concentração do extrato capaz de inibir o crescimento microbiano.

4.6.5. Determinação da Concentração Microbica Mínima (CMM)

Para a detecção de atividade microbica, 20 μ L das suspensões dos poços que não apresentaram mudança de coloração foram repicados em placas de Petri contendo ágar BHI, as quais foram incubadas nas mesmas condições descritas para as microplacas. A ausência de crescimento microbiano indicou a atividade bactericida/fungicida do extrato. A menor concentração capaz de inibir o crescimento dos microrganismos, após a repicagem em placas de Petri foi considerada a CMM.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Prospecção Fitoquímica

5.1.1. *Screening* Fitoquímico Qualitativo

Os resultados obtidos no *screening* fitoquímico realizado com os extratos das espécies estudadas, nos dois períodos analisados, podem ser observados na Tabela 1. Pelos resultados expostos observa-se que taninos, fenóis, alcaloides e flavonoides estão presentes nas duas espécies analisadas, *Guapira graciliflora* e *Pseudobombax marginatum* e que não houve influência da sazonalidade climática na produção de tais metabólitos.

A presença de antocianidina, antocianina, leucoantocianidinas, catequinas, flavanonas, glicose e quinonas não foi observada.

Tabela 1: Classes de substâncias químicas presentes nos extratos de *Guapira graciliflora* e *Pseudobombax marginatum* nos dois períodos de estudo.

Constituintes Fitoquímicos	<i>G. graciliflora</i>	<i>P. marginatum</i>
Taninos	+	+
Fenóis	+	+
Antocianidina e Antocianina	-	-
Flavonóides	+	+
Leucoantocianidinas, Catequinas e Flavanonas	-	-
Flavonóis, Flavanonas e Xantonas	+	+
Saponinas	-	-
Alcalóides	+	+
Albumina	-	-
Glicose	-	-
Quinonas	-	-

+ (Presença); - (Ausência)

Boligon et al., (2009) e Rodrigues et al., (2009) relatam que a ocorrência de resultados negativos no *screening* fitoquímico não necessariamente sugere a ausência

dos grupos químicos na planta, podendo ocorrer que o solvente utilizado na fase de extração não tenha sido o mais apropriado para determinadas classes de compostos ou que concentração da substância a ser pesquisada seja muito baixa nos tecidos da planta inviabilizando sua detecção por reações qualitativas. Gindri et al., (2010) confirmaram esta afirmação realizando análise fitoquímica em *Urera baccifera* (L.) Gaudich, onde os testes preliminares para alcaloides totais foram negativos e os testes para doseamento desses compostos os detectaram, embora em baixos valores.

Estudos que buscam conhecer a fitoquímica de plantas da Caatinga ainda são escassos, ainda mais no que se refere a influência das condições climáticas e/ou ambientais sobre a produção dos seus constituintes. Com esse interesse, porém não com plantas da Caatinga, pode-se citar os trabalhos de Ma et al. (2003), Brooks, Feeny (2004), Ercisli et al., (2008), Ruiz-Terán et al., (2008); Kaye (2009), Siatka, Kašparová (2010) e Chavarria et al., (2011), havendo todos eles identificado a interferência do meio na produção de algumas substâncias.

Paula et al., (1997) procederam uma revisão de todos os estudos químicos realizados em espécies da família Bombacaceae e verificaram que as substâncias mais significativas isoladas foram alcaloides, naftalenos oxidados, cumarinas, lignanas e ácidos graxos com anel ciclopropeno. Verma et al., (2011) desenvolvendo estudo semelhante com *Bombax ceiba* L. reporta a presença de lupeol, β -sitosterol, flavonoides, glicosídeos, esterol, terpenoides e ausência de alcaloides e saponinas. A análise fitoquímica de *Ceiba glaziovii* (Kuntze) K. Schum (Bombacaceae) realizada por Leal et al., (2011) indicou a presença de taninos catéquicos, flavonóis, fenóis, flavonas, xantonas, alcalóides, albumina e quantidades menores de antocianina e antocianidina na casca, enquanto nas folhas constatou-se a presença de taninos catéquicos, flavonóis, alcalóides, albumina, antocianina, antocianidina e traços de saponina. Paula et al., (2006) estudando os constituintes químicos de *Bombacopsis glabra* (Pasq.) A. Robyns isolaram e identificaram o lupeol, os esteroides, β -sitosterol e estigmasterol e as flavonas 5-hidroxi-3,7,4'-trimetoxiflavona e 5-hidroxi-3,6,7,4'-tetrametoxiflavona, da casca do caule, além da naftoquinona isoemigossipolona e do éster p-cumarato de triacontila, da casca externa da raiz.

Investigações fitoquímicas de plantas da família Nyctaginaceae encontraram em algumas espécies, classes de substâncias químicas em comum com *G. graciliflora*, podendo-se citar os estudos realizados por Edeoga e Ikem (2002) com *Boerhavia coccinea* e *B. erecta* que levaram ao isolamento de taninos e saponinas, enquanto Severi

(2007) constataram a presença de esteroides, terpenóides e flavonoides em *Guapira noxia*. Palanivel et al., (2008) em estudo com *Pisonia aculeata* L. encontraram alcaloides, esteroides, triterpenos, saponinas, flavonoides e compostos polifenólicos. Darsini et al., (2009) em *screening* fitoquímico em *Boerhaavia diffusa* Linn. detectaram a presença de glicosídeos, flavonoides, taninos e triterpenos. Rinaldo et al., (2007) em investigação fitoquímica das folhas de *Neea theifera* permitiu o isolamento e identificação da nova flavona luteolina-7-O-[2"-O-(5'''-O-feruloil)- β -D-apiofuranosil]- β -D-glucopiranosídeo, além dos oito compostos conhecidos vitexina, isovitexina, isoorientina, orientina, vicenina-2, crisoeriol, apigenina e luteolina.

5.1.2. Screening Fitoquímico Quantitativo

5.1.2.1. Polifenóis totais

A curva de calibração obtida com ácido gálico nas concentrações descritas no item 4.5.2.1. está representada na figura 8, juntamente com a equação da reta e o coeficiente de relação. O conteúdo de polifenóis totais determinados nas plantas estudadas está descrito na figura 9. Observa-se que a maior concentração das referidas substâncias em *P. marginatum* foi detectada no inverno, onde atingiu $37,21 \mu\text{g g}^{-1}$, enquanto no verão o valor mensurado foi de $19,54 \mu\text{g g}^{-1}$. Com *G. graciliflora* ocorreu o oposto, no verão a concentração atingiu $14,19 \mu\text{g g}^{-1}$ e no inverno $9,5 \mu\text{g g}^{-1}$.

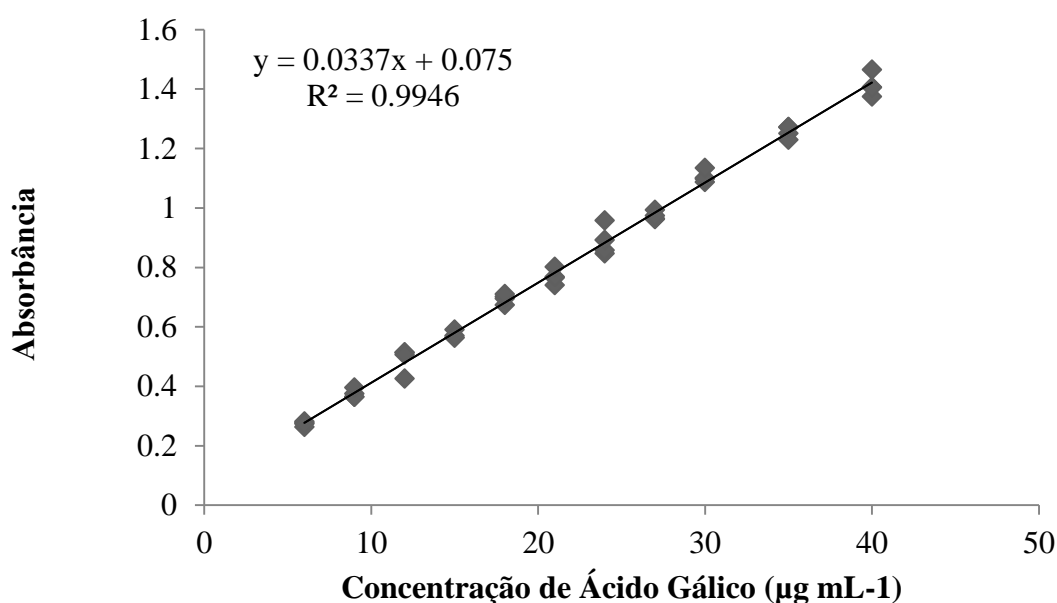


Figura 8: Curva de calibração construída com padrão Ácido Gálico ($1-40 \mu\text{g mL}^{-1}$) a 757 nm .

As diferenças observadas nas concentrações de polifenóis nos vegetais estudados decorrem, provavelmente, das distintas características climáticas nas duas estações, inverno e verão, na região de estudo, uma vez que o metabolismo é influenciado, em muitos aspectos por essas condições. Fatores como, nível de água no solo, taxa de evapotranspiração, intensidade luminosa, eficiência fotossintética, potencial hídrico vegetal, estágio da planta respondem diretamente a essas variações (FERRI 1986; LARCHER 2004; TAIZ, ZEIGER, 2004). Para Ncube et al., (2010), que encontraram variação na produção de polifenóis em *Tulbaghia violacea*, *Hypoxis hemerocallidea*, *Merwillia plumbea* e *Drimia robusta* em estações diferentes a explicação está justamente na diferenças no clima, condições bióticas e ambientais além das condições genéticas.

Gobbo Neto, Lopes (2007) relatam que tais fatores apresentam correlações entre si e não atuam isoladamente, podendo influir em conjunto no metabolismo secundário, como por ex.: desenvolvimento e sazonalidade; índice pluviométrico e sazonalidade; temperatura e altitude, entre outros. Como o material vegetal analisado neste estudo foi coletado de plantas que crescem em condições naturais, não é fácil separar os efeitos de fatores individuais da influência multifatorial do meio ambiente.

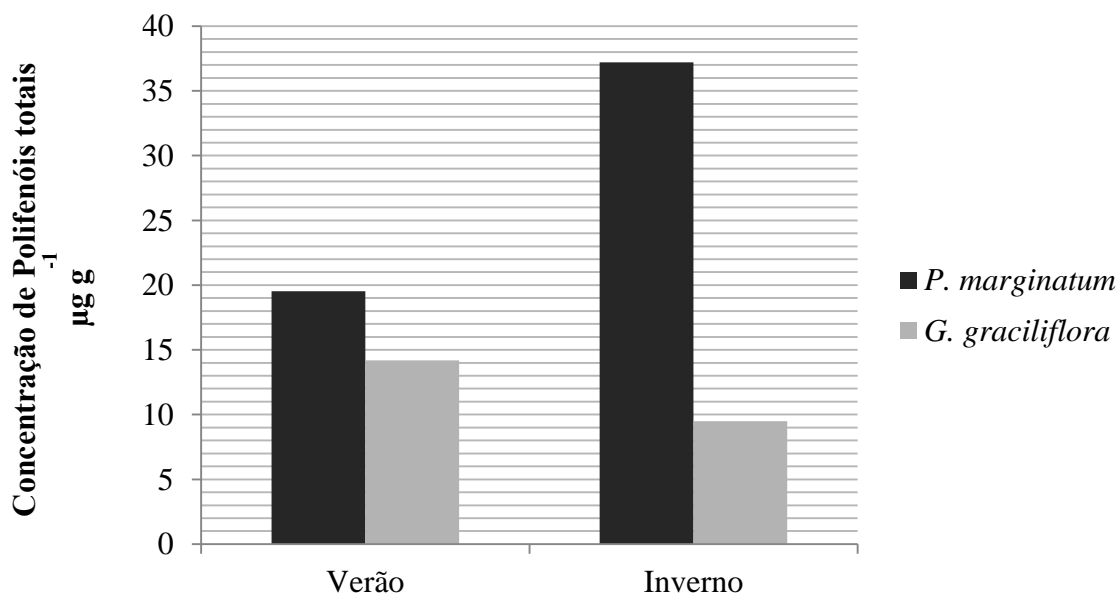


Figura 9: Concentração de polifenóis totais de *G. graciliflora* e *P. marginatum* em diferentes estações do ano.

De acordo com Ma et al. (2003) e Brooks, Feeny (2004) estudos sobre variação sazonal de polifenóis ainda são raros e têm indicado que alterações no fenótipo da planta, que alteram seu padrão de produção de polifenóis, são influenciados pelas alterações climáticas ocorridas ao longo do ano, principalmente aquelas relacionadas à quantidade de precipitação e variação de temperatura, induzindo aclimatação da planta para situações como excesso ou carência de água. Estudos realizados por Santos, Kaye (2009) e Chavarria et al., (2011) verificando a influência de estresse hídrico em *Vitis vinifera* L. concluíram que a restrição hídrica proporcionou maiores teores polifenóis totais.

Siatka, Kašparová (2010) avaliando a variação sazonal no conteúdo de polifenóis nas flores de *Bellis perennis* L. em três regiões da República Tcheca em três anos diferentes observaram que o conteúdo de fenólicos totais variam de 2,94-3,41, 3,03-3,52, e 2,81-3,57 mg 100 mg⁻¹, e o valor máximo foi de 1,16; 1,16 e 1,27 vezes maior do que o mínimo em flores de Ústí nad Labem, Dobruška, e Hradec Králové, respectivamente. Os autores atribuíram essa variação a flutuações imediatas dos fatores ambientais, como a temperatura do dia e da noite, chuvas e secas, bem como a duração e intensidade da luz do sol.

Ercisli et al., (2008) também fizeram referência a tais condições ambientais como responsável pela variação da concentração de Polifenóis em *Camellia sinensis* var. *sinensis* obtidas na Turquia. O maior nível de Polifenóis (80,69 µg mg⁻¹) foi observado em julho, mês mais quente, com maior duração do dia e maior incidência solar.

Ruiz-Terán et al., (2008) determinando o conteúdo total de Polifenóis dos extratos metanólicos de plantas utilizadas na medicina popular mexicana, entre elas *Pseudobombax ellipticum* HB&K, encontraram valores próximos a 230 mg de ácido gálico por cada grama de extrato, valores muito maiores do que os encontrados em *P. marginatum*.

Ao buscar a comparação entre a concentração de polifenóis de *P. marginatum* e com outras plantas das mesmas famílias, poucos estudos foram encontrados. Lamien-Meda et al., (2008) observaram que os frutos de *Adansonia digitata* L. (Bombacaceae) coletados em Burkina Faso obtiveram valores de 3.518,33 ± 17.80 e 4.057,50 ± 57,34 de GAE/100 g do fruto em extrações com MeOH e acetona respectivamente. Vaghasiya et al., (2011) encontraram valores de 31,11 ± 0,77 para o extrato acetônico e 45,64 ± 0,24 para o extrato metanólico de *Bombax ceiba* L.

5.1.2.2. Flavonoides totais

Na figura 10 observa-se a curva de calibração obtida com quercetina, bem como a equação da reta e o coeficiente de relação. Os teores de flavonóides determinados de acordo com a metodologia descrita no item 4.3.3.3. podem ser observados na figura 11. O teor dessas substâncias em *G. graciliflora* quase dobrou, indo de $7,56 \mu\text{g g}^{-1}$ no verão para $14,52 \mu\text{g g}^{-1}$ no inverno, enquanto em *P. marginatum* esse número foi menos variável, sendo ligeiramente maior durante o verão, com $7,82 \mu\text{g g}^{-1}$ e decrescendo para $6,45 \mu\text{g g}^{-1}$ no inverno, não havendo diferença significativa.

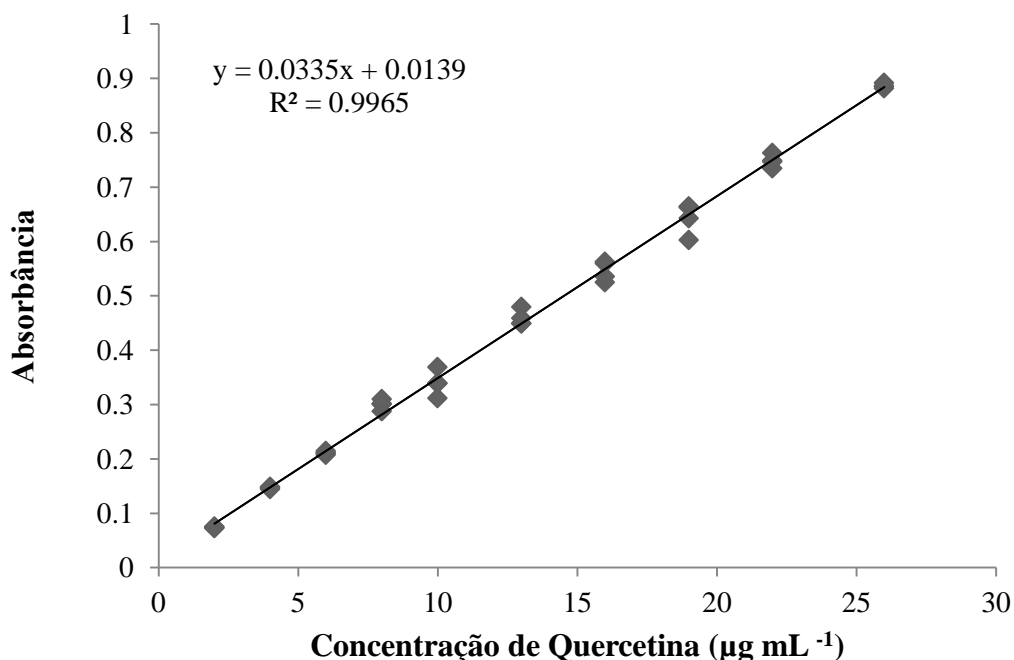


Figura 10: Curva de calibração construída com padrão Quercetina ($2 - 30 \mu\text{g mL}^{-1}$) a 415 nm .

A variação para os teores de flavonoides entre as duas espécies avaliadas, apresenta tendência contrária observada para os teores com Polifenóis. Para *P. marginatum* o teor de Polifenóis foi maior no inverno, estação em que foi observada o menor teor de flavonoides. Em *G. graciliflora* esta situação se inverteu. Observa-se que as referidas plantas respondem de maneira diferente a mudanças ambientais, e de acordo com Gobbo Neto, Lopes (2007) e Ncube et al., (2010) as características fisiológicas associadas às condições genéticas são responsáveis pelas variações citadas.

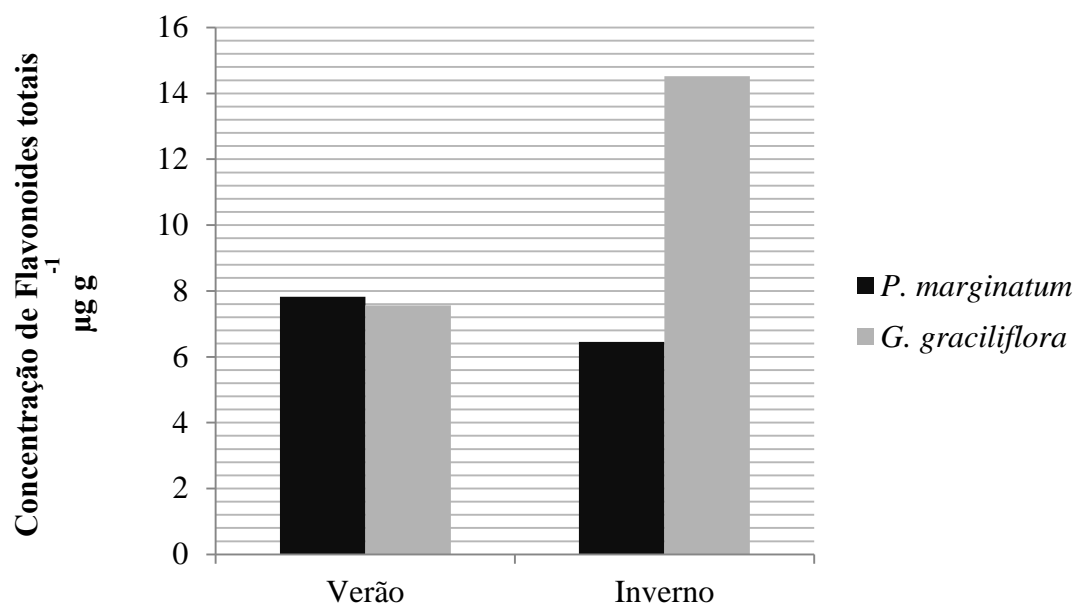


Figura 11: Concentração de flavonoides totais de *G. graciliflora* e *P. marginatum* no verão e no inverno.

Nas plantas os Flavonoides têm várias funções fisiológicas, entre elas, efeitos protetores contra radiação UV (KOES et al., 2005). Dessa forma, era de se esperar que as maiores concentrações de Flavonoides fossem maior durante o verão, onde a intensidade luminosa é maior, e apenas *P. marginatum* apresentou tal característica.

Característica semelhante foi observada por Ncube et al., (2010) que trabalharam com quatro espécies da África do Sul, das quais *T. violacea* e *D. robusta* apresentaram os maiores níveis de flavonoides durante o verão e *H. hemerocallidea* e *M. plumbea*, durante o inverno.

Modak et al., (2011) estudando a variação sazonal de flavonoides de *Heliotropium stenophyllum* cultivado no Chile observaram um padrão na variação desses metabólitos, com um aumento da produção nas estações primavera-verão, exceto em janeiro, com uma diminuição considerável no outono-inverno, particularmente durante o trimestre maio-julho. Tais autores atribuíram à radiação UV, alta temperatura, estresse hídrico e aumento da pressão de insetos herbívoros, o rendimento mais elevado no período primavera-verão. Coutinho et al., (2010) e Siatka, Kašparová (2010) também

constataram variação sazonal na produção de flavonoides em *Campomanesia adamantium* (Cambess.) O. Berg e *Bellis perennis* L., respectivamente, embora, na segunda planta, as diferenças nos teores dessa substância tenham sido relativamente pequenas. Por outro lado, Cardoso et al, (2010) observaram que extratos obtidos a partir das folhas de *Aloe arborescens* Mill. coletadas durante as quatro estações climáticas, não foram influenciados pelas variações estacionais, apresentando teores de flavonoides semelhantes.

Comparar os teores de flavonoides das plantas estudadas com os teores obtidos em outros estudos com a mesma espécie, espécies do mesmo gênero e da mesma família se torna uma tarefa difícil pela escassez de trabalhos referentes a tal assunto. Vaghasiya; Chanda (2011) constataram em *Bombax ceiba* L. $25,74 \pm 0,14 \text{ mg g}^{-1}$ no extrato acetônico e $76,94 \pm 0,60 \text{ mg g}^{-1}$ no extrato metanólico. Lamien-Meda et al., (2008) encontraram valores de $31,70 \pm 3,35$ e $42,73 \pm 0,46 \text{ mg QE/100 g}$ para os extratos metanólico e acetônico em *Adansonia digitata* L. respectivamente.

Com relação à *G. graciliflora*, ocorreu situação semelhante, com tal planta apresentando menores índices de flavonoides totais que outros representantes da família Nyctaginaceae. Kaisoon et al., (2011) reportaram o valor de $140,3 \pm 7,8 \mu\text{g g}^{-1}$ para *Bougainvillea hybrida* e Hajji et al., (2010), o valor de $65,2 \pm 4,50 \text{ mg g}^{-1}$ para o extrato metanólico de *Mirabilis jalapa*.

5.3. Teste de Suscetibilidade Microbiana

A Tabela 2 apresenta os valores de Concentração Inibitória Mínima (CIM) e de Concentração Microbica Mínima (CMM) dos extratos de *P. marginatum*. Nas concentrações testadas, os extratos geraram inibição do crescimento e morte de todas as cepas avaliadas, com exceção de *Pseudomonas aeruginosa*. O extrato de verão apresentou a menores CIM frente a *Klebsiella pneumoniae* com valor de $12,5 \text{ mg mL}^{-1}$ enquanto, para o extrato 2, a menor CIM obtida foi frente a *Staphylococcus aureus*, na mesma concentração. A menor CMM para ambos os extratos foi de 50 mg mL^{-1} frente a *S. aureus*. Das leveduras testadas, apenas *Candida guilliermondii* teve seu crescimento inibido por ambos os extratos, na concentração de 100 mg mL^{-1} , embora esta concentração não tenha sido fungicida.

Tabela 2: Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Microbicida Mínima (CMM) dos extratos de *Pseudobombax marginatum* frente às bactérias testadas.

Microrganismos	Concentração mg mL ⁻¹					
	<i>Pseudobombax marginatum</i> ¹		<i>Pseudobombax marginatum</i> ²		Controle positivo	
	CIM	CMM	CIM	CMM	CIM	CMM
<i>Streptococcus salivarius</i>	50	100	50	100	< 1	< 1
<i>Streptococcus oralis</i>	100	>100	100	>100	< 1	< 1
<i>Staphylococcus aureus</i>	25	50	12,5	50	< 1	< 1
<i>Enterococcus faecalis</i>	50	>100	100	>100	< 1	< 1
<i>Escherichia coli</i>	50	>100	50	100	< 1	< 1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	>100	>100	>100	>100	< 1	< 1
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	12,5	100	>100	>100	< 1	< 1
<i>Candida albicans</i>	> 100	> 100	> 100	> 100	< 1	< 1
<i>Candida krusei</i>	> 100	> 100	> 100	> 100	< 1	< 1
<i>Candida guilliermondii</i>	100	> 100	100	> 100	< 1	< 1

¹ Coleta realizada no verão; ² Coleta realizada no inverno;

Os resultados de CIM e CMM dos extratos de *G. graciliflora* frente aos microrganismos testados estão expostos na Tabela 3. Nenhuma das cepas testadas se mostrou sensível aos extratos nas concentrações testadas.

Tabela 3: Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Microbicida Mínima (CMM) dos extratos de *Guapira graciliflora* frente às bactérias testadas.

Microrganismos	Concentração mg mL ⁻¹					
	<i>Guapira graciliflora</i> ¹		<i>Guapira graciliflora</i> ²		Controle positivo	
	CIM	CMM	CIM	CMM	CIM	CMM
<i>Streptococcus salivarius</i>	>25	>25	>25	>25	< 1	< 1
<i>Streptococcus oralis</i>	>25	>25	>25	>25	< 1	< 1
<i>Staphylococcus aureus</i>	>25	>25	>25	>25	< 1	< 1
<i>Enterococcus faecalis</i>	>25	>25	>25	>25	< 1	< 1
<i>Escherichia coli</i>	>25	>25	>25	>25	< 1	< 1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	>25	>25	>25	>25	< 1	< 1
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	>25	>25	>25	>25	< 1	< 1
<i>Candida albicans</i>	>25	>25	>25	>25	< 1	< 1
<i>Candida krusei</i>	>25	>25	>25	>25	< 1	< 1
<i>Candida guilliermondii</i>	>25	>25	>25	>25	< 1	< 1

¹ Coleta realizada no verão; ² Coleta realizada no inverno.

Apesar de *G. graciliflora* e *P. marginatum* apresentarem metabólitos secundários com atividade antimicrobiana comprovada (COWAN, 1999; MONTEIRO et al., 2005), a atividade aqui apresentada foi discreta. Isso talvez possa ser explicado porque os metabólitos que apresentam a referida atividade biológica não estejam presentes em quantidades suficientes para que o extrato apresente atividade antimicrobiana, o que pode estar relacionado com o solvente extrator utilizado na sua preparação. Outra explicação é que a atividade não pode ser atribuída unicamente a um único composto, mas sim compostos ou combinações diferentes com os mesmos efeitos e / ou sinérgicos sobre o micro-organismo (NCUBE et al., 2010), pois, de acordo com Silva et al. (2003), a atividade antimicrobiana de extratos vegetais ocorre pela ação conjunta de compostos químicos presentes nas plantas, e não pela atividade de compostos isolados.

A atividade antimicrobiana apresentada por *P. marginatum* foi ligeiramente melhor no verão, onde os flavonoides apresentaram maior concentração, mostrando que

a sazonalidade influenciou a atividade biológica em questão, o que não aconteceu com *G. graciliflora*.

Estudos que procuram observar a ação da sazonalidade sobre o potencial antimicrobiano de extratos vegetais ainda são muito escassos. Hess et al. (2007) estudando o efeito da sazonalidade sobre o potencial antibacteriano de extratos etanólicos obtidos a partir de partes aéreas de *Elyonurus miticus* observaram que os extratos da primavera foram mais efetivos sobre bactérias gram-positivas avaliadas. Em contrapartida, Schimidt et al., (2008) observaram que a atividade antimicrobiana de *Baccharis trimera* (Less.) DC. não foi alterada significativamente em função do período de coleta.

Ordoñez et al., (2004) avaliando a atividade antimicrobiana de *Boerhaavia erecta* L. (Nyctaginaceae) encontraram pequena atividade bacteriostática frente a *K. pneumoniae* (CMI=100 mg mL⁻¹) e resistência de *C. albicans* a todas as concentrações testadas do extrato. Por outro lado, o extrato de *Bougainvillea glabra* Choisy. Apresentou atividade antimicrobiana frente a *E. coli*, *S. aureus* e *K. pneumoniae* (EDWIN et al., 2007) assim como *Mirabilis jalapa* L. que, além desses microrganismos, apresentou atividade frente a *P. aeruginosa* e *C. albicans* (WALKER et al., 2009).

Estudos microbiológicos realizados com espécies da família Bombacaceae foram semelhantes aos resultados de *P. marginatum*, cujos extratos apresentaram melhor atividade frente a *S. aureus*. Em *screening* microbiológico realizado por Leal et al., (2011) com extrato da casca de *Ceiba glaziovii* Kuntze K. Schum. observou-se que *S. aureus* se mostrou sensível enquanto *E. coli* e *C. albicans* foram resistentes ao referido extrato. O extrato de *Adansonia digitata* avaliado por Masola et al., (2009), mostrou atividade antimicrobiana significativa frente a diversos microrganismos, entre eles, *S. aureus*.

6. CONCLUSÃO

Estudos fitoquímicos e antimicrobianos de *G. graciliflora* e *P. marginatum* foram realizados pela primeira vez neste trabalho. Tais plantas apresentam metabólitos secundários que lhes conferem diversas atividades farmacológicas, o que pode justificar sua utilização na medicina popular. Os grupos de substâncias ativas avaliados quanto à variação sazonal, mostraram diferenças de concentração entre as estações de chuva e de estiagem nas duas espécies. Com relação à atividade antimicrobiana, a Concentração Inibitória Mínima e a Concentração Bactericida Mínima também apresentaram algumas variações, porém apenas *P. marginatum*, mostrou atividades inibitória e bactericida frente a bactérias gram positivas e gram negativas testadas. Nenhum micro-organismo foi inibido pelos extratos de *G. graciliflora* nas concentrações testadas. Sugere-se uma investigação fitoquímica mais detalhada, bem como estudos sobre as condições ambientais que aumentam a produção de substâncias ativas de interesse, os quais podem ter impacto positivo no uso farmacológico e no aproveitamento do material vegetal.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRA, M.F. **Plantas da medicina popular dos Cariris Velhos Paraíba**. João Pessoa: Ed. União, 1996.

AGRA, M. F.; SILVA, K. N.; BASÍLIO, I. J. L. D.; FREITAS, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.18, n. 3, p. 472-508, 2008.

ALBUQUERQUE, U. P. de; ANDRADE, L. H. C. Uso de recursos vegetais na Caatinga: o caso do Agreste de Pernambuco (Nordeste do Brasil). **Interciencia**. v. 7, n. 7, p. 336-346, 2002.

ALCOFORADO FILHO, F. G.; SAMPAIO, E. V. S. B.; RODAL, M. J. N. Florística e fitossociologia de um remanescente de vegetação caducifolia arbórea em Caruaru, Pernambuco. **Acta Botanica Brasilica**, v. 17, p. 287-303, 2003.

ALVES, H. M. A diversidade química das plantas como fonte de fitofármacos. **Cadernos temáticos de química Nova na Escola**, n. 3, p. 10-15, 2001.

ALVES-COSTA, C. P.; ETEROVICK, P. C. Seed dispersal services by coatis (*Nasua nasua*, Procyonidae) and their redundancy with other frugivores in southeastern Brazil. **Acta Oecologica** v. 32,p. 77-92, 2007.

AMORIM, I. L.; SAMPAIO, E. V. S. B.; ARAÚJO, E. L. Flora e estrutura da vegetação arbustivo-arbórea de uma área de caatinga do Seridó, RN, Brasil. **Acta bot. bras.** v. 19, n. 3, p. 615-623, 2005.

ANDRADE, C. T. S.; MARQUES, J.G.W.; ZAPPI, D. C. Utilização medicinal de cactáceas por sertanejos baianos. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v.8, n.3, p.36-42, 2006.

ANDRADE, M. V. M.; ANDRADE, A. P.; SILVA, D. S.; BRUNO, R. L. A.; GUEDES, D. S. Levantamento florístico e estrutura fitossociológica do estrato herbáceo e

subarbustivo em áreas de Caatinga no Cariri Paraibano. **Caatinga**, v. 22, n. 1, p. 229-237, 2009.

ANG, C. F.; R.M.T., MENDOZA, M. T.; BULATAO, W. C. Evaluation of the Resazurin Microtiter Assay for Drug Susceptibility Testing of Clinical Isolates of *Mycobacterium tuberculosis*. **Philippine Journal of Microbiology and Infectious Diseases**. v. 39, n. 1, 2010.

ANGELOPOULOU, D.; DEMETZOS, C.; PERDETZOGLOU, D. Diurnal and seasonal variation of the essential oil labdanes and clerodanes from *Cistusmons peliensis* L. leaves. **Biochemical Systematics and Ecology**. v. 30, p. 189–203, 2002.

ANVISA. **Resolução da Diretoria Colegiada – RDC N° 44**, de 26 de outubro de 2010. Disponível em:
<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/c13443804478bef68eefcf7d15359461/resolucao+antibioticos.pdf?MOD=AJPERES> Acesso em: 10/02/2011

AQUINO, F. G.; WALTER, B. M. T.; RIBEIRO, J. F. Espécies vegetais de uso múltiplo em reservas legais de cerrado – Balsas, MA. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, supl. 1, p. 147-149, 2007.

ARAÚJO, E. L.; SILVA, K. A.; FERRAZ, E. M. N.; SAMPAIO, E. V. S. B; SILVA, S. I. Diversidade de herbáceas em microhabitats rochoso, plano e ciliar em uma área de caatinga, Caruaru, PE, Brasil. **Acta bot. bras.** v. 19, n. 2, p. 285-294, 2005.

ARAÚJO, F. S.; MATINS, F. R.; SHEPHERD, G. J. Variações estruturais e florísticas do carrasco no planalto da Ibiapaba, Estado do Ceará. **Rev. Brasil. Biol.**, v. 59, n.4, p. 663-678, 1999.

ARAÚJO, F. S.; RODAL, M. J. N.; BARBOSA, M. R. V.; MARTINS, F. R. Repartição da flora lenhosa no domínio da Caatinga. In: ARAÚJO, F. S.; RODAL, M. J. N.; BARBOSA, M. R. V. (Eds.). **Análise das variações da biodiversidade do bioma Caatinga: Suporte a estratégias regionais de conservação**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2005.

BARBOSA, M. R. V.; LIMA, I. B.; LIMA, J.R.; CUNHA, J. P.; AGRA, M. F.; THOMAS W. W. Vegetação e flora no Cariri Paraibano. **Oecol. Bras.**, v. 11, n. 3, p. 313-322, 2007.

BARBOSA, T. M.; LEVY, S. B. The impact of antibiotic use on resistance development and persistence. **Drug. Resist. Updat.** v. 3, p. 303–11, 2000.

BEZERRA, D. A. C. **Estudo fitoquímico, bromatológico e microbiológico de *Mimosa tenuiflora* (Wild) Poiret e *Piptadenia stipulacea* (Benth) Ducke.** Patos, PB: UFCG, 2008. 62 p. (Dissertação – Mestrado em Zootecnia – Sistemas Agrossilvipastoris no Semi-Árido).

BOLIGON, A. A.; FELTRIN, A. C.; JANOVIK, V.; FROHLICH, J. K.; ATHAYDE, M. L. Estudo fitoquímico das cascas do tronco de *Scutia buxifolia* Reissek. **Saúde**, v. 35 n.2, 2009.

BORGES, H. B. N.; SHEPHERD, G. J. Flora e estrutura do estrato lenhoso numa comunidade de Cerrado em Santo Antônio do Leverger, MT, Brasil. **Revista Brasil. Bot.**, v.28, n.1, p.61-74. 2005.

BOURGAUD, F.; GRAVOT, A.; MILESI, S.; GONTIER, E. Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. **Plant Science**. v. 161, p. 839–851, 2001.

BRAGA, R. **Plantas do nordeste especialmente do Ceará.** 3.ed. Fortaleza: Mossoroense, 1978.

BRASIL, Ministério do Meio Ambiente. **Avaliação de ações prioritárias para a conservação da biodiversidade da Caatinga.** Brasília, 2002.

BRASIL. **Nova Delimitação do Semiárido Brasileiro.** Ministério da Integração Nacional. Secretaria de Políticas de Desenvolvimento Regional. Brasília: MIC, 2008.

BRASIL. **Programa nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Brasília: Ministério da Saúde, 2009.

BRISKIN, D. B. Plants and Phytomedicines. Linking Plant. Biochemistry and Physiology to human Health. **Plant Physiology**, v. 124, p. 507–514, 2000.

BROOKS, J. S.; FEENY, P. Seasonal variation in *Daucus carota* leaf-surface and leaf-tissue chemical profiles. **Biochemical Systematics and Ecology**. v. 32, p.769–782, 2004.

CAMPANHA, M. M.; ARAÚJO, F. S. **Árvores e arbustos do sistema agrossilvipastoril Caprinos e Ovinos**. Sobral: Embrapa Caprinos e Ovinos, 2010.

CARDOSO, F. L.; MURAKAMI, C.; MAYWORM, M. A. S.; MARQUES, L. M. Análise sazonal do potencial antimicrobiano e teores de flavonoides e quinonas de extratos foliares de *Aloe arborescens* Mill., Xanthorrhoeaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.20, n. 1, p. 35-40, 2010.

CARVALHO-SOBRINHO, J. G.; SANTOS, F. A. R.; QUEIROZ, L. P. Morfologia dos tricomas das pétalas de espécies de *Pseudobombax* Dugand (Malvaceae, Bombacoideae) e seu significado taxonômico. **Acta bot. bras.** v. 23, n. 4, p. 929-934, 2009.

CASTRO, M.S.; PILGER, D.; FERREIRA, M.B.C.; KOPITTKE, L. Tendências na utilização de antimicrobiano sem um hospital universitário, 1990-1996. **Revista de Saúde Pública**. v.36 n. 5, p. 553- 558, 2002.

CESTARO, L. A.; SOARES, J. J. Variações florística e estrutural e relações fitogeográficas de um fragmento de floresta decídua no Rio Grande do Norte, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 18, p. 203-218, 2004.

CHAMBERS, H. F. Antimicrobianos: Considerações gerais. In: HARDMAN, J. G.; LIMBIRD, L. E. (eds.). **As bases farmacológicas da terapêutica**. 10. ed. Rio de Janeiro: Editora McGraw Hill, 2005.

CHAVARRIA, G.; BERGAMASCHI, H.; SILVA, L. C.; SANTOS, H. P.; MANDELLI, F.; GUERRA, C. C.; FLORES, C. A.; TONIETTO, J. Relações hídricas, rendimento e compostos fenólicos de uvas Cabernet Sauvignon em três tipos de solo. **Bragantia**, v. 70, n. 3, p.481-487, 2011.

CHAVES, T. P.; DANTAS, I. C.; FELISMINO, D. C. Lamedor. In: DANTAS, I. C. O **Raizeiro**. Campina Grande: EDUEPB, 2007.

CHANDRA, S.; MEJIA, E. G. Polyphenolic Compounds, Antioxidant Capacity, and Quinone Reductase Activity of an Aqueous Extract of *Ardisia compressa* in Comparison to Mate (*Ilex paraguariensis*) and Green (*Camellia sinensis*) Teas. **J. Agric. Food Chem.**, v. 52, n.1, p 3583–3589, 2004.

CHERNOVIZ, P. L. N. **Formularia e guia médico**. 19. ed. Paris: Livraria R. Roger e F. Chernoviz, 1920. v 1.

CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically**, v. 23 n. 2, 2003.

CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. **Normas de Desempenho para Testes de Sensibilidade Antimicrobiana: 15º Suplemento Informativo**. v. 25 n. 1, 2005.

COELHO, F. B. R.; DAL BELO, C. A.; LOLIS, S. F., SANTOS, M. G. Levantamento etnofarmacológico realizado na comunidade Mumbuca localizada no Jalapão – TO. **Revista Eletrônica de Farmácia**. Suplemento v. 2, n. 2, p. 52-55, 2005.

CORRÊA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil, e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Nacional, 1969. Vol.4.

COSTA, A. F. **Farmacognosia Experimental**. v. III, 3 ed. Lisboa: Calouste Gulbenkian, 2000.

COSTA, J. G. M.; CAMPOS, A. R.; BRITO, S. A.; PEREIRA, C. K. B.; SOUZA, E. O.; RODRIGUES, F. F. G. Biological screening of araripe basin medicinal plants using *Artemia salina* Leach and pathogenic bacteria. **Pharmacogn Mag.** v. 6, n. 24, p. 331–334, 2010.

COWAN, M. M. Plants products as antimicrobial agents. **Clin Microbiol Rev** v. 12, n. 4, p. 564-582, 1999.

CROZIER, A.; JAGANATH, I. B.; CLIFFORD, M. N. Phenols, Polyphenols and Tannins: An Overview. In: CROZIER, A.; CLIFFORD, M. N.; ASHIHARA, H. **Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet.** Ames, Iowa –EUA. Blackwell Publishing, 2006.

COUTINHO, I. D.; KATAOKA, V. M. F.; HONDA, N. K. COELHO, R. G.; VIEIRA, M. C.; CARDOSO, C. A. L. Influência da variação sazonal nos teores de flavonóides e atividade antioxidante das folhas de *Campomanesia adamantium* (Cambess.) O. Berg, Myrtaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia.** v. 20, n. 3, p. 322-327, 2010.

DALE, J. W.; PARK, S. F. **Molecular Genetics of bacteria.** 4. ed. Chichester-England: John Wiley & Sons Ltd. 2004.

DAMASCENO, M. M.; SOUTO, J. S.; SOUTO, P. C. Etnoconhecimento de espécies forrageiras no semiárido da Paraíba, Brasil. **Engenharia Ambiental,** v. 7, n. 3, p. 219 - 228, 2010.

DANTAS, I. C. O **Raizeiro.** Campina Grande: EDUEPB, 2007.

DARSINI, T. P.; SASIKUMAR, J. M.; KULANDHAIVEL M. In Vitro Antioxidant and Cytotoxic Analysis of *Boerhaavia diffusa* Linn. **Ethnobotanical Leaflets,** v.13, p. 263-68. 2009.

DAVIES, J.; WEBB, V. Antibiotic resistance in bacteria. In: SCHAECHTER, M. **The**

Desk Encyclopedia of Microbiology. San Diego, California: Elsevier, 2004.

DRUMMOND, M. A. (Coord.) **Avaliação e identificação de ações prioritárias para a conservação, utilização sustentável e repartição de benefícios da biodiversidade do bioma da Caatinga**. Petrolina, 23. 2000.

DU BOCAGE, A. L.; SALES, M. F. A família Bombacaceae Kunth no Estado de Pernambuco, Brasil. **Acta bot. bras.** v. 16, n. 2, p. 123-139, 2002.

EICHHOLZ, I.; HUYSKENS-KEIL, S.; KELLER, A.; ULRICH, D.; KROH, L. W.; ROHN, S. UV-B-induced changes of volatile metabolites and phenolic compounds in blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.). **Food Chemistry**. v. 126, p. 60–64, 2011.

EDEOGA, H. O.; IKEM, C. I.; Tannins, saponins and calcium oxalate crystals from Nigerian species of *Boerhavia* L. (Nyctaginaceae) **South African Journal of Botany**. v. 68, p 382, 2002.

EDWIN, E.; SHEEJA, E.; TOPPO, E.; TIWARI, V.; DUTT, K. R. Anti-diarrhoeal, anti ulcer and antimicrobial activities of leaves of *Bougainvillea glabra* Choisy. **Ars Pharmv.** 48, n. 2, p. 135-144, 2007.

EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Solos do Nordeste**. Disponível em: < <http://www.uep.cnps.embrapa.br/solos/index.php?link=pb> > Acesso em: 25/01/2012.

ERCISLI, S.; ORHAN, E.; OZDEMIR, O.; SENGUL, M.; GUNGOR, N. Seasonal variation of Total Phenolic, Antioxidant Activity, Plant Nutrition Elements, and Fatty Acids in Tea Leaves (*Camellia sinensis* var *sinensis* clone Derepazari 7) Grown in Turkey. **Pharmaceutical Biology**. v. 26, n. 10-11, p. 683-687, 2008.

FABRICANTE, J. R.; ANDRADE, L. A. de. Análise estrutural de um remanescente de caatinga no Seridó Paraibano. **Oecol. Bras.**, v. 11, n. 3, p. 341-349, 2007.

FÁVERO, O. A.; PAVAN, S. **Botânica Econômica**. Catálise Editora, 1997.

FERNANDEZ-ALONSO, J. L. Bombacaceae Neotropicae novae vel minus cónita ev. novedades en *Pseudobombax Dugand* y sinopsis de las espécies colombianas. **Rev. Acad. Colomb. Cienc.** v. 25, n. 97, 2001.

FILIPPINI, R.; PIOVAN, A.; BORSARINI, A.; CANIATO, R. Study of dynamic accumulation of secondary metabolites in three subspecies of *Hypericum perforatum*. **Fitoterapia**.v. 81, p. 115–119, 2010.

FLÓREZ, J. **Farmacología humana**. 3. Ed. Baelona: Masson, S.A., 1997.

FONSECA, M. S.; SILVA JÚNIOR, M. C. S. Fitossociologia e similaridade florística entre trechos de Cerrado sentido restrito em interflúvio e em vale no Jardim Botânico de Brasília, DF. **Acta bot. bras.** v. 18, n. 1, p. 19-29, 2004.

FURLAN, A.; UDULUTSCH, R. G.; DIAS, P. Flora da serra do Cipó, Minas Gerais: Nyctaginaceae. **Bol. Bot. Univ. São Paulo**, v. 26, n. 1, p. 51-59, 2008.

GILLIVER, M. A.; BENNETT, M.; BEGON, M.; HAZEL, S. M.; HART, C. A. Antibiotic resistance found in wild rodents. **Nature**. v. 401, n. 6750. p. 233, 1999.

GINDRI, A. L.; SILVA, M.; MARCHI, M. B.; BRUM, L. S.; ATHAYDE, M. L.; HOELZEL, S. C. S. M. Análise fitoquímica das cascas e do miolo da raiz de *Urera Baccifera* (L.) Gaudich (Urticaceae). **Saúde (Santa Maria)**, v.36, n.2, p. 6370, 2010.

GIULIETTI, A. M.; et al. Diagnóstico da vegetação nativa do bioma caatinga. In: SILVA, J. M. C. da; et al. (orgs). **Biodiversidade da caatinga: áreas e ações prioritárias para a conservação**. Brasília, DF: Ministério do Meio Ambiente: Universidade Federal de Pernambuco, 2003. 382 p.

GIULLIETTI, A. M.; CONCEIÇÃO, A.; QUEIROZ, L. P. **Diversidade e caracterização das fanerógamas do semi-árido brasileiro**. Recife: Associação Plantas do Nordeste, 2006. 488 p.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Quim. Nova**, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

GOMES, A. P. S.; RODAL, M. J. N.; MELO, A. L. Florística e fitogeografia da vegetação arbustiva subcaducifólia da Chapada de São José, Buíque, PE, Brasil. **Acta bot. bras.** v.20, n. 1, p. 37-48, 2006.

GUERRA, A. M. N. M.; PESSOA, M. F.; SOUZA, C. S. M.; MARACAJÁ, P. B. Utilização de plantas medicinais pela comunidade rural Moacir Lucena, Apodi-RN. **Biosci. J.**, v. 26, n. 3, p. 442-450, 2010.

GUILFOILE, P. G. **Antibiotic-Resistant Bacteria**. New York: Chelsea House Publishers, 2007.

HAJJI, M.; JARRAYA, R.; LASSOUEDA, I.; MASMOUDI, O.; DAMAK, M.; NASRIA, M. GC/MS and LC/MS analysis, and antioxidant and antimicrobial activities of various solvent extracts from *Mirabilis jalapa* tubers. **Process Biochemistry**, v. 45, p. 486–1493, 2010.

HESS, S. C.; PERES, T. L. P.; BATISTA, A. L.; RODRIGUES, J. P.; TIVIROLI, S. C.; OLIVEIRA, L. G. L.; SANTOS, W.C.; FEDEL, L. E. S. CRISPIM, S. M. A.; SMANIA JUNIOR, A.; SMANIA, E. F. A.; FLACH, A.; PANTAROTO, A. Evaluation of seasonal changes in chemical composition and antibacterial activity of *Elyonurus muticus* (Sprengel) O. Kuntze (Graminae). **Quim Nova**, v. 30, n. 2, p. 370-373, 2007.

HØGEDAL, B. D.; MØLGAARD, P. HPLC analysis of the seasonal and diurnal variation of iridoids in cultivars of *Antirrhinum majus*. **Biochemical Systematics and Ecology**. v. 28, p. 949-962. 2000.

HOGG, S. **Essential Microbiology**. Chichester- England: John Wiley & Sons Ltd. 2004.

HOSNI, K.; MSAADA, K.; TAÂRIT, M. B.; MARZOUK, B. Phenological variations of secondary metabolites from *Hypericum triquetrifolium* Turra. **Biochemical**

Systematics and Ecology.v.39, p. 43–50, 2011.

HUSSAIN, A. I.; ANWAR, F.; SHERAZI, S. T. H.; PRZYBYLSKI, R. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. **Food Chemistry**. v. 108, p. 986-995, 2008.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Cidades**. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/cidadesat/topwindow.htm?1> Acesso em: 14/10/2010.

JAWETZ, E.; MELNICK, J. L.; ADELBERG, E. A. **Microbiologia médica**.21 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1998.

KAISOON, O.; SIRIAMORNPNUN, S.; WEERAPREEYAKUL, N.; MEESO, N. Phenolic compounds and antioxidant activities of edible flowers from Thailand. **Journal of Functional Foods**. v. 3, p. 88 – 99, 2011.

KAMATOU, G. P. P.; VAN ZYL, R. L.; VAN VUUREN, S. F.; FIGUEIREDO, A. C.; BARROSO, J. G.; PEDRO, L. G.; VILJOEN, A. M. Seasonal variation in essential oil composition, oil toxicity and the biological activity of solvent extracts of three South African *Salvia* species. **South African Journal of Botany**. v. 74, p. 230–237, 2008.

KOES, R. E., QUATTROCCHIO, F., & MOL, J. N. M. The flavonoid biosynthetic pathway in plants: Function and evolution. **Bio Essays**, v. 16, n. 2, p. 123–132.2005

KOLPIN, D.W., FURLONG, E.T., MEYER, M.T., THURMAN, E.M., ZAUGG, S.D., BARBER, L.B., AND BUXTON, H.T. Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in U.S. streams, 1999-2000: a national reconnaissance: **Environmental Science and Technology**. v. 36, p. 1202-1211, 2002.

LAMIEN-MEDA, A.; LAMIEN, C. E.; COMPAORÉ, M. M. Y.; MEDA, R. N. T.; KIENDREBEOGO, M.; ZEBA, B.; MILLOGO, J. F.; NACOUUMA, O. G. Polyphenol Content and Antioxidant Activity of Fourteen Wild Edible Fruits from Burkina Faso. **Molecules**, v. 13, p. 581-594, 2008.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RiMa, 2004. 531p.

LEAL, A. J. B.; DANTAS, I. C.; CHAVES, T. P.; FELISMINO, D. C.; VIEIRA, K. V. M. Estudo Fitoquímico Antimicrobiano de *Ceiba glaziovii* Kuntze K. Schum. **Biofar**. v.5, n. 1,2011.

LEAL; I. R.; TABARELLI, M.; SILVA. M. C. da. Ecologia e conservação da Caatinga: uma introdução ao desafio. In: LEAL, I. R.; TABARELLI, M.; SILVA, J. M. C. (Eds.). **Ecologia e conservação da caatinga**. Recife: Editora Universitária UFPE, 2003.

LOPES, G.C.; NAKAMURA, C.V.; DIAS FILHO, B.P.; MELLO, J.C.P. Estudo físico-químico, químico e biológico de extrato das cascas de *Stryphnodendron polyphyllum* Mart. (Leguminosae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 13 supl 2, p. 24-27, 2003.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**. 2. ed. Nova Odessa, São Paulo: Editora Plantarum., 1998, Vol.II.

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

LUNA, R. G.; COUTINHO, H. D. M. Efeitos do pastejo descontrolado sobre a fitocenose de duas áreas do Cariri Oriental Paraibano. **Caatinga**, v.20, n.2, p.08-15, 2007.

MA, M., HONG, C., AN, S.; LI, B. Seasonal, spatial, and interspecific variation in quercetin in *Apocynum venetum* and *Poacynum herdersonii*, chinese traditional herbal teas. **Journal of Agriculture, Food and Chemistry** v. 51, p. 2390-2393, 2003.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. **Brock. Biología de los microorganismos**.10. ed. Madrid: Pearson-Prentice Hall, 2003.

MAKKAR, H. P.S.; SIDDHURAJU, P.; BECKER, K. **Plant Secondary Metabolites**.

New Jersey: Humana Press, 2007.

MAMUN, K. Z.; TABASSUM, S.; SHEARS, P.; HART, C. A. A survey of antimicrobial prescribing and dispensing practices in rural Bangladesh. **Mymensingh. Med. J.** v.15, p. 81–84, 2006.

MARIMON JÚNIOR, B. H.; HARIDASAN, M. Comparação da vegetação arbórea e características edáficas de um cerradão e um cerrado *sensu stricto* em áreas adjacentes sobre solo distrófico no leste de Mato Grosso, Brasil. **Acta bot. bras.** v. 19, n. 4, p. 913-926. 2005.

MASCARENHAS, J. de C.; et al. (Orgs.) **Projeto cadastro de fontes de abastecimento por água subterrânea. Diagnóstico do município de Barra de Santana.** Recife: CPRM/PRODEEM, 2005.

MASOLA, S. N.; MOSHA, R. D.; WAMBURA, P. N. Assessment of antimicrobial activity of crude extracts of stem and root barks from *Adansonia digitata* (Bombacaceae) (African baobab). **African Journal of Biotechnology** v. 8, n. 19, p. 5076-5083, 2009.

MATOS, F.J.A., **Introdução à fitoquímica experimental.** UFC Edições. p. 44-46, 1988.

MEDA, A.; LAMIEN, C. E.; ROMITO, M.; MILLOGO, J.; NACOULMA, O. G. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Faso honey, as well as their radical scavenging activity. **Food Chemistry**, v. 91, n. 3, 2005, p. 571–577.

MIMS, C.; PLAYFAIR, J.; ROITT, I.; WAKELIN, D.; WILLIAMS, R. **Microbiología Médica.** 2. ed. Harcourt Brace. Barcelona. 1999.

MOAT, A. G.; FOSTER, J. W.; SPECTOR, M. P. **Microbial physiology.** 4. ed. New York: John Wiley & Sons Ltd. 2002.

MODAK, B.; TORRES, R.; URZÚA, A. Seasonal variation of the Flavonoids Pinocembrin and 3-o-methylgalangin, in the surface component mixture (resinous exudates and waxy coating) of *Heliotropium stenophyllum*. **J. Chil. Chem. Soc.**, v. 56, n 1, 2011.

MONTEIRO, J. M.; ALBUQUERQUE, U. P.; ARAÚJO, E. L.; AMORIM, E. L. C. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Quim. Nova**, v. 28, n. 5, p. 892-896, 2005.

MORAIS, F.F.; SILVA, C. J. Conhecimento ecológico tradicional sobre fruteiras para pesca na Comunidade de Estirão Comprido, Barão de Melgaço - Pantanal Matogrossense. **Biota Neotrop.** v.10, n. 3, 2010.

MORITA, T.; ASSUMPÇÃO, R.M.V. **Manual de soluções, reagentes e solventes: padronização, preparo, purificação.** São Paulo: Edgard Blücher, 1972. 627p.

MOSCA, V. P.; LOIOLA, M. I. B. Uso popular de plantas medicinais no Rio Grande do Norte, Nordeste do Brasil. **Revista Caatinga.** v.22, n.4,p. 225-234, 2009.

NCUBE, B.; FINNIE, J.F.; VAN STADEN, J. Seasonal variation in antimicrobial and phytochemical properties of frequently used medicinal bulbous plants from South Africa. **South African Journal of Botany.** v. 79, 2010.

NUNES, L. A. P. L.; ARAÚJO FILHO, J. A.; MENEZES, R. I. Q. Impacto da queimada do pousio sobre a qualidade de um solo sob a caatinga no semiárido nordestino. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 19, n. 2, p. 200-208, 2006.

OLIVEIRA, F. C. S.; BARROS, R.F.M.; MOITA NETO, J. M. Plantas medicinais utilizadas em comunidades rurais de Oeiras, semiárido piauiense. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v.12, n.3, 2010, p.282-301.

ORDOÑEZ, M. G.; MONTALVO, R. V.; MARTÍNEZ, R. R.; CASTILLO, R. M.; PULIDO, R. G.; SARDIÑAS, I. G. Actividad antimicrobiana y toxicidad de un extracto acuoso de *Boerhaavia erecta* L. **Revista Cubana de Plantas Medicinales.** v.9 n.1,

2004.

PALÁ-PAÚL, J.; PÉREZ-ALONSO, M. J.; VELASCO-NEGUERUELA, A.; PALÁ-PAÚL, R.; SANZ, J.; CONEJERO, F. Seasonal variation in chemical constituents of *Santolina rosmarinifolia* L. ssp. *Rosmarinifolia*. **Biochemical Systematics and Ecology**.v. 29,p. 663–672, 2001.

PALANIVEL, M. G.; RAJKAPOOR, V.; SENTHIL KUMAR, R.; EINSTEIN, J. W.; KUMAR, E. P.; RUPESH KUMAR, M.; KAVITHA, K.; PRADEEP KUMAR, M.; JAYAKAR, B. Hepatoprotective and Antioxidant Effect of *Pisonia aculeata* L. against CCl₄- Induced Hepatic Damage in Rats. **Sci Pharm**. v. 76, p. 203–215, 2008.

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.

PAULA, V. F.; BARBOSA, L. C. A.; DEMUNER, A. J.; PILÓ-VELOSO, D. A Química da família Bombacaceae. **Química Nova**, v. 20, n. 6, 1997.

PAULA, V. F.; CRUZ, M. P.; BARBOSA, L. C. A. Constituintes Químicos de *Bombacopsis glabra* (Bombacaceae). **Quim. Nova**, v. 29, n. 2, p. 213-215, 2006.

PEREIRA, I. M.; ANDRADE, L. A.; BARBOSA, M. R. V.; SAMPAIO, E. V. S. B. Composição florística e análise fitossociológica do componente lenhoso de um remanescente de caatinga no Agreste Paraíbano. **Acta Botanica Brasilica**, v. 16, p. 357-369, 2002.

PERES, L. E. P. Metabolismo secundário. Disponível em:
<http://docentes.esalq.usp.br/lazaropp/FisioVegGradBio/MetSec.pdf> Acesso em:
10/02/2011.

PÔRTO, K. C.; CABRAL, J. J. P.; TABARELLI, M. **Brejos de altitude em Pernambuco e Paraíba**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2004. 324 p.

PRADO, D. E. As Caatingas da América do Sul. In: LEAL, I. R.; TABARELLI, M.; SILVA, J. M. C. (Eds.). **Ecologia e conservação da caatinga**. Recife: Editora Universitária UFPE, 2003.

PRESCOT, L. M.; HARLEY, J. P.; KLEIN, D. A. **Microbiology**. 5. ed. New York: McGraw-Hill Companies, Inc. 2002.

PRISTA, L. N. et al. **Técnica farmacêutica e farmácia galénica**. 3ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1990. Vol 1.

RAMALHO, C. I.; ANDRADE, A. P.; FÉLIX, L. P.; LACERDA, A. V.; MARACAJÁ, P. B. Flora arbóreo-arbustiva em áreas de Caatinga no Semiárido Baiano, Brasil. **Caatinga**, v.22, n. 3, p. 182- 190, 2009.

RIBEIRO, J. S.; LIMA, A. B. de; CUNHA, P. C. da; WILLADINO, L.; CAMARA, T. R. O estresse abiótico em regiões semiáridas: respostas metabólicas das plantas. In: MOURA, A. N.; ARAÚJO, E. L.; ALBUQUERQUE, U. P. de. **Biodiversidade, potencial econômico e processos ecofisiológicos em ecossistemas nordestinos**. Recife: COMUNIGRAF, 2008.

RINALDO, D.; RODRIGUES, C. M.; RODRIGUES, J.; SANNOMIYA, M.; SANTOS, L. C.; VILEGAS, W. New Flavone from the Leaves of *Neea theifera* (Nyctaginaceae). **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 18, n. 6, p.1132-1135, 2007.

ROCA-PÉREZ, L.; BOLUDA, R.; GAVIDIA, I.; PÉREZ-BERMÚDEZ, P. Seasonal cardenolide production and *Dop5βr* gene expression in natural populations of *Digitalis obscura*. **Phytochemistry**, v. 65, p. 1869–1878, 2004.

RODRIGUES, I. M. C.; SOUZA FILHO, A. P. S.; FERREIRA, F. A. Estudo fitoquímico de *Senna alata* por duas metodologias. **Planta Daninha**, v. 27, n. 3, p. 507-513, 2009.

ROQUE, A. A.; ROCHA, R. M.; LOIOLA, M. I. B. Uso e diversidade de plantas

medicinais da Caatinga na comunidade rural de Laginhas, município de Caicó, Rio Grande do Norte (nordeste do Brasil). **Rev. Bras. Pl. Med.**, v.12, n.1, p.31-42, 2010.

RUIZ-TERÁN, F.; MEDRANO-MARTÍNEZ, A.; NAVARRO-OCAÑA, A. Antioxidant and free radical scavenging activities of plant extracts used in traditional medicine in Mexico. **African Journal of Biotechnology**, v. 7, n. 12, p. 1886-1893, 2008.

RYAN, K. J.; RAY, C. G. **Sherris Medical Microbiology**. 4. ed. New York: McGraw-Hill, 2004.

SALLÉ, J. L. **O totum em fitoterapia: abordagem em fito-bioterapia**. São Paulo: Robe editorial, 1996.

SALYERS, A. A.; SHOEMAKER, N.; SCHLESINGER, D. Ecology of Antibiotic Resistance Genes. In: WAX, R. G.; LEWIS, K.; SALYERS, A. A.; TABER, H. **Bacterial resistance to antimicrobials**. 2. ed. Boca Raton, FL: CRC Press, 2008.

SAMPAIO, E. V. S. B. Características e potencialidades. In: GARIGLIO, M. A.; SAMPAIO, E.V.S.B.; CESTARO, L. A.; KAGEYAMA, P. Y. **Uso Sustentável e Conservação dos Recursos Florestais da Caatinga**. Brasília: Serviço Florestal Brasileiro, 2010.

SANTANA, M. O. (Org.) **Atlas das áreas susceptíveis à desertificação do Brasil**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2007.

SANTOS, R.I. Metabolismo Básico e origem dos metabólitos secundários. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMAN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 4. ed. Porto Alegre/Florianópolis. Editora da Universidade, p.333-365. 2002.

SANTOS, A. O.; KAYE, O. Composição quali-quantitativa da produção de ‘Syrah’ cultivada sob estresse hídrico transiente. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**.v.13, n.3, p.272–281, 2009.

SARKER, S. D.; NAHAR, L.; KUMARASAMY, Y. Microtitre plate-based antibacterial

assay incorporating resazurin as an indicator of cell growth, and its application in the *in vitro* antibacterial screening of phytochemicals. **Methods**, v. 42, pp. 321–324, 2007.

SARTI, S. J. e CARVALHO, J. C. T. Fitoterapia e fitoterápicos. In: CARVALHO, J. C. T. **Fitoterápicos anti-inflamatórios**: aspectos químicos, farmacológicos e aplicações terapêuticas. Ribeirão Preto, SP: Tecmedd, 2004.

SCHMIDT, F. B.; MARQUES, L. M.; MAYWORM, M. A. S. Efeito da sazonalidade sobre o potencial antibacteriano de extratos etanólicos de *Baccharis trimera* (Less.) DC. (Asteraceae). **Rev Bras Plant Med**, v. 30, n. 2, 370-373, 2007.

SCHWOB, I.; BESSIERE, J. M.; MASOTTI, V.; VIANO, J. Changes in essential oil composition in SaintJohn's wort (*Hypericum perforatum* L.) aerial parts during its phenological cycle. **Biochemical Systematics and Ecology**. v. 32, p. 735–745, 2004.

SEVERI, J. A, **Uso Sustentável da Biodiversidade Brasileira Prospecção Químico-farmacológica de Plantas Superiores: *Guapira noxia* (Nyctaginaceae)**. Araraquara – SP: 2007. 117f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual Paulista, 2007.

SHEARS, P.; HUSSEIN, M. A.; CHOWDHURY, A. H.; MAMUN, K. Z. Water sources and environmental transmission of multiply resistant enteric bacteria in rural Bangladesh. **Ann Trop Med Parasitol**. v. 89, p.297–303, 1995.

SIATKA, T.; KAŠPAROVÁ, M. Seasonal Variation in Total Phenolic and Flavonoid Contents and DPPH Scavenging Activity of *Bellis perennis* L. Flowers. **Molecules**, v.15, 2010.

SILVA, A. C. O.; ALBUQUERQUE, U. P. Woody medicinal plants of the caatinga in the state of Pernambuco (Northeast Brazil). **Acta bot. bras**. v. 19, n.1, p. 17-26, 2005.

SILVA, S. R. S.; DEMUNER, A. J.; BARBOSA, L. C. A.; ANDRADE, N. J.; NASCIMENTO, E. A.; PINHEIRO, A. L. Análise dos constituintes químicos e da atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Mameluca alternifolia* Cheel. **Rev Bras**

Plant Med v. 6, n. 1, p 63-70, 2003.

SIQUEIRA, L. C. **Levantamento florístico e etnobotânico do estrato arbóreo em Sistemas Naturais e Agroflorestais, Arapongas, Minas Gerais.** Universidade Federal de Viçosa, 2008. 133 f. (Dissertação – Mestrado em Botânica).

SILVA, L. A.; SCARIOT, A. Composição e estrutura da comunidade arbórea de uma floresta estacional decidual sobre afloramento calcário no Brasil Central. **R. Árvore**, Viçosa-MG, v. 28, n. 1, p. 69-75, 2004

SILVA, L. F.; VOLPE-FILIK, A.; LIMA, A. M. L. P.; SILVA-FILHO, D. F. Participação comunitária no planejamento viário de alguns bairros da cidade de Americana-SP. **Revista da Sociedade Brasileira de Arborização Urbana.** v. 2, n. 3, 2007.

SILVA, M. C. e CARVALHO, J. C. T. Plantas medicinais. In: CARVALHO, J. C. T. **Fitoterápicos anti-inflamatórios: aspectos químicos, farmacológicos e aplicações terapêuticas.** Ribeirão Preto, SP: Tecmedd, 2004.

SILVA, T. S.; FREIRE, E. M. X. Abordagem etnobotânica sobre plantas medicinais citadas por populações do entorno de uma unidade de conservação da caatinga do Rio Grande do Norte, Brasil. **Rev. Bras. Pl. Med.** v.12, n.4, p.427-435, 2010.

SILVEIRA, G. P. et al. estratégias utilizadas no combate a resistência bacteriana. **Quim. Nova**, v. 29, n. 4, p. 844-855, 2006.

SILVEIRA, E. P.; COSTA, R. B.; FELFILI, J. M. Florística da vegetação remanescente de Cerrado *sensu stricto* em terra indígena no noroeste de Mato Grosso, Brasil. **Rev. Biol. Neotrop.**v. 6, n. 2, p. 15-25, 2009.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** 5. ed. Florianópolis: Editora da UFSC; 2004.

SUMMERS, W. C. Microbial Drug Resistance: A Historical Perspective. In: WAX, R. G.; LEWIS, K.; SALYERS, A. A.; TABER, H. **Bacterial resistance to antimicrobials.**

2. ed. Boca Raton, FL: CRC Press, 2008.

SUN, M.; GU, X.; FU, H.; ZHANG, L.; CHEN, R.; CUI, L.; ZHENG, L.; ZHANG, D.; TIAN, J. Change of secondary metabolites in leaves of *Ginkgo biloba* L. in response to UV-B induction. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**.v.11, p. 672–676, 2010.

TABARELLI, M.; VICENTE, A. Conhecimento Sobre Plantas Lenhosas da Caatinga: lacunas geográficas e ecológicas. In: SILVA, J. M. C, TABARELLI, M.; FONSECA, M.F.; LINS, L.V. (orgs.). **Biodiversidade da Caatinga: áreas e ações prioritárias**. MMA, Brasília, DF, 2003.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**.3.ed. Porto Alegre, Artmed, 2004.

TAVARES, W. Bactérias gram-positivas problemas: resistência do estafilococo, do enterococo e do pneumococo aos antimicrobianos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 33, n. 3, p. 281-301, 2000.

TEIXEIRA, S. A.; MELO, J. I. M. Plantas medicinais utilizadas no município de Jupi, Pernambuco, Brasil. **IHERINGIA, Sér. Bot.**v. 61, n. 1-2, p. 5-11, 2006.

VAGHASIYA, Y.; DAVE, R.; CHANDA, S. Phytochemical analysis of some Medicinal Plants From Western Region of India. **Research Journal of Medicinal Plant**, v. 5, n.5, pp. 567-576, 2011.

VAZQUEZ-FLOTA, F.; CARRILO-PECH, M.; MINERO-GARCIA, Y.; MIRANDA-HAM, M. L. Alkaloid metabolism in wound ed *Catharathus roseus* seedings. **Plant.Physiol. Biochem.** v. 42, p. 263-268, 2004.

VERMA, V.; JALALPURE, S. S.; SAHU, A.; BHARDWAJ, L. K.; PRAKESH, Y. *Bombax ceiba* Linn: Pharmacognostical, Phytochemistry, Ethnobotany, and Pharmacology studies. **Internationale Pharmaceutica Scientia**.v.. 1, n. 1. 2011.

WALKER, C. I. B.; ZANOTTO, C. Z.; CERON, C. S.; POZZATTI, P.; ALVES, S. H.;

MANFRON, M. P. Atividade Farmacológica e Teor de Quercetina de *Mirabilis jalapa* L. **Latin American Journal of Pharmacy**. v.28, n. 2, pp. 241-6, 2009.

WANNMACHER, L. Uso indiscriminado de antibióticos e resistência microbiana: uma guerra perdida? **Uso racional de medicamentos: temas selecionados**. v. 1. n. 4, Brasília, 2004.

ZOBAYED, S. M. A.; AFREEN,F.; KOZAI, T. Temperature stress can alter the photo synthetic efficiency and secondary metabolite concentrations in St. John's wort. **Plant Physiology and Biochemistry**. v. 43, p. 977–984, 2005.