

ESTUDO COMPARATIVO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE ALGUMAS ÁRVORES NATIVAS

A.L. Gonçalves, A. Alves Filho, H. Menezes

Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Departamento de Bioquímica e Microbiologia, Av. 24-A, 1515, CEP 13506-900, Rio Claro, SP, Brasil. E-mail: airtonlgoncalves@ig.com.br

RESUMO

Este estudo avaliou as atividades antimicrobianas (AA) de extratos hidro-alcoólicos, obtidos de 17 espécies de árvores nativas do Brasil. Para os ensaios de antibiose foi utilizado o método da difusão em ágar, frente a 10 diferentes microrganismos, isolados de inóculos obtidos de focos de infecções clínicas. Dos 170 testes realizados, 25% mostraram alta AA, destacando-se extratos de *Bixa orellana*, *Psidium guajava* e *Anacardium occidentale*. Excepcional AA foi observada em *Mimosa tenuiflora* contra *Streptococcus pyogenes*, *Proteus mirabilis*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus* spp. coagulase-negativa, e os extratos de *Stryphnodendron adstringens* e *Eugenia uniflora* contra *Escherichia coli*, *Providencia* spp., *Streptococcus pyogenes*, *Proteus mirabilis*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus* spp. coagulase-negativa. Ensaios de antibiose com antibióticos comerciais foram realizados contra estas bactérias, com a finalidade de se comparar o potencial de AA de extratos destas árvores.

PALAVRAS-CHAVE: Atividade antimicrobiana, plantas medicinais, antibiose.

ABSTRACT

COMPARATIVE STUDY ON ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF SOME NATIVE TREE EXTRACTS. This study evaluated the antimicrobial activities (AA) of hydroalcoholic extracts obtained from 17 species of native Brazilian trees. The agar diffusion method was used against 10 different microorganisms isolated from inoculi obtained from clinically infected spots, for antibiosis assay purposes. Of the 170 tested carried out, 25% exhibited high AA, with *Bixa orellana*, *Psidium guajava* and *Anacardium occidentale* showing the most outstanding extract qualities. Exceptional AA was observed for *Mimosa tenuiflora* against *Streptococcus pyogenes*, *Proteus mirabilis*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative *Staphylococcus* spp. and *Stryphnodendron adstringens*, and for *Eugenia uniflora* extracts against *Escherichia coli*, *Providencia* spp., *Streptococcus pyogenes*, *Proteus mirabilis*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative *Staphylococcus* spp. Antibiosis essays with commercially available antibiotics were simultaneously conducted against the above-mentioned bacteria to compare with the AA potential of the trees extracts studied.

KEY WORDS: Antimicrobial activity, medicinal plants, antibiosis.

INTRODUÇÃO

O uso de extratos vegetais e fitoquímicos com fins medicinais é uma das mais antigas formas de prática medicinal da humanidade. A Organização Mundial de Saúde (WHO, 1998) estima que 65-80% da população dos países em desenvolvimento dependem das plantas medicinais como única forma de acesso aos cuidados básicos de saúde.

Graças a sua atividade metabólica secundária, os vegetais superiores são capazes de produzir substâncias antibióticas, utilizadas como mecanismo de defesa contra predação por microrganismos, insetos e herbívoros (GOTLIEB, 1981). Alguns pesquisadores preferem dar a essas substâncias inibidoras, de origem vegetal, a denominação de fentocidas ou de subs-

tâncias semelhantes a antibióticos "Antibiotic Like-Substances" (GEISMANN, 1963).

Os principais grupos de compostos com propriedades antimicrobianas, extraídos de plantas incluem: terpenóides e óleos essenciais (TORSEL, 1989); alcalóides (FESSENDEN, 1982); lectinas e polipeptídeos (TERRAS *et al.*, 1993; ZHANG & LEWIS, 1997) e substâncias fenólicas e polifenóis, que são: fenóis simples, ácidos fenólicos, quinonas (STERN *et al.*, 1996), flavonas, flavonóis e flavonóides (FESSENDEN, 1982), tanino (SCALBERT, 1991) e cumarinas (O'KENNEDY & THORNES, 1997).

Os compostos isolados de plantas são substâncias cuja estrutura química, com raras exceções, apresentam grandes diferenças estruturais em relação aos antibióticos derivados de microrganismos. Estes agentes antimicrobianos isolados de plantas superiores podem

agir como reguladores do metabolismo intermediário, ativando ou bloqueando reações enzimáticas, afetando diretamente uma síntese enzimática seja em nível nuclear ou ribossomal, ou mesmo alterando estruturas de membranas (SINGH & SHUKLA, 1984).

Entretanto, a grande maioria das plantas, normalmente empregadas como fitoterápicos populares, não tiveram suas potencialidades terapêuticas efetivamente comprovadas. Uma parcela significativa destes estudos foi realizada frente a microrganismos referência sem a utilização de ensaios paralelos, utilizando-se antibióticos comerciais que pudessem fornecer parâmetros mais precisos quanto ao real potencial antimicrobiano destes extratos.

RODRIGUES (1996) cita diversas árvores nativas conhecidas pela etnofarmacologia por terem propriedades antimicrobianas e que ao mesmo tempo, podem preencher critérios de preservação ambiental e manejo auto-sustentável tais como: *Anacardium occidentale* (cajuero), *Pterodon emarginatus* (sucupira), *Copaifera langsdorffii* (copaíba), *Anadenanthera colubrina* (angico), *Myroxylon peruiferum* (bálsamo-do-peru), *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão), *Bixa orellana* (urucum), *Eugenia uniflora* (pitanga), *Psidium guajava* (goiabeira), *Mimosa tenuiflora* (tepezcuíte), *Ilex paraguariensis* (erva-mate), *Ocotea odorifera* (sassafrás), *Hymenaea courbaril* (jatobá), *Schinus terebinthifolia* (aroeira), *Genipa americana* (jenipapo), *Tabebuia avellanedae* (ipê-roxo) e *Casearia sylvestris* (guaçatonga).

O objetivo deste trabalho foi o de testar a AA de extratos de 17 árvores nativas do Brasil, contra microrganismos isolados de infecções clínicas. Também foram realizados ensaios de antibiose com diferentes antibióticos comerciais, visando a obtenção de

parâmetros para uma avaliação mais precisa desta atividade antimicrobiana.

MATERIAIS E MÉTODOS

Plantas

Os órgãos das plantas utilizadas foram coletados em diferentes viveiros, nas vizinhanças de Iracemápolis, Limeira e Rio Claro, SP, Brasil, sendo confirmada a identificação no Departamento de Botânica do IB da Unesp-Rio Claro, SP. As 17 espécies vegetais, distribuídas em famílias, nome local e órgãos testados, estão tabuladas na Tabela 1.

Preparo dos Extratos

Para o preparo dos extratos hidro-alcoólicos seguiu-se a orientação do processo A da farmacopéia brasileira (DIAS DA SILVA, 1929), adaptado por YOUNES *et al.* (2000), onde a secagem do material vegetal foi inicialmente realizada à temperatura ambiente e completada em estufa a 50°C até obter-se um teor-padrão de umidade de 20%. O material foi moído em moinho de grãos e misturou-se o pó resultante com solução hidro-alcoólica (etanol 70%), na proporção de 10% (m.v⁻¹). Estocou-se essa solução à temperatura ambiente, protegida da luz, por um período de 25 dias, procedendo-se em seguida a filtração do material. A partir da solução filtrada, produziu-se o extrato, com auxílio de roto-evaporador a 50°C retirando-se todo o solvente. O evaporado final recebeu o nome de "extrato hidro-alcoólico" do órgão da planta estudada a 10% e foi testado.

Tabela 1 - Espécie da planta, família, nome local e parte testada.

Espécie vegetal	Família	Nome local	Órgão testado
<i>Anacardium occidentale</i> L	Anacardiaceae	Cajueiro	Castanha de caju
<i>Pterodon emarginatus</i> Vogel	Fabaceae	Sucupira	Fruto-sâmara
<i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.	Caesalpiniaceae	Copaíba	Casca do tronco
<i>Anadenanthera colubrina</i> (Vell.) Brenan	Mimosoideae	Angico	Casca do tronco
<i>Myroxylon peruiferum</i> L. F.	Fabaceae	Bálsamo-do-peru	Casca do tronco
<i>Stryphnodendron adstringens</i> (Mart.) Coville	Mimosoideae	Barbatimão	Casca do tronco
<i>Bixa orellana</i> L.	Bixaceae	Urucum	Sementes
<i>Eugenia uniflora</i> L.	Myrtaceae	Pitangueira	Fruto
<i>Psidium guajava</i> L.	Myrtaceae	Goiabeira	Folhas
<i>Mimosa tenuiflora</i> Willd.	Leguminosae	Tepezcuíte	Casca do tronco
<i>Ilex paraguariensis</i> A. St.-Hil.	Aquifoliaceae	Erva-mate	Folhas
<i>Ocotea odorifera</i> (Vell.) Rohwer	Lauraceae	Sassafrás	Casca do tronco
<i>Hymenaea courbaril</i> L.	Caesalpiniaceae	Jatobá	Casca do tronco
<i>Schinus terebinthifolia</i> Raddi	Anacardiaceae	Aroeira	Casca do tronco
<i>Genipa americana</i> L.	Rubiaceae	Genipapo	Fruto
<i>Tabebuia avellanedae</i> Lor. ex. Griseb	Bignoniaceae	Ipê-roxo	Casca do tronco
<i>Casearia sylvestris</i> Sw.	Flacourtiaceae	Guaçatonga	Folhas

Padronização do Inóculo e Semeadura

Os inóculos foram obtidos de infecções clínicas, sendo coletados com swab de algodão estéril. Dez diferentes microrganismos foram isolados de diferentes focos infecciosos: *Escherichia coli* (infecção intrabdominal), *Enterobacter aerogenes* (ferida na região do osso ilíaco), *Streptococcus pyogenes* (infecção de orofaringe), *Klebsiella pneumoniae* (secreção pulmonar), *Providencia* spp. (ferida em MMII), *Proteus mirabilis* (infecção intrabdominal), *Pseudomonas aeruginosa* (ferida em MMII), *Shigella sonnei* (fezes), *Staphylococcus aureus* (infecção de MMII) e *Staphylococcus* spp. coagulase- (secreção de conjuntivite), sendo inoculados em nutriente ágar para serem desenvolvidas por 24h à temperatura de 35° C. Após este período foram ressuspensas em solução fisiológica 0,9% (p/v) até obter-se uma turvação equivalente ao padrão 0,5 da escala de Mac Farland, o que corresponde aproximadamente a $1,5 \times 10^6$ UFC / mL. Uma alíquota de 100mL dessa suspensão foi semeada em placas de Petri contendo 15 mL do meio Mueller-Hinton ágar, com uma espessura de aproximadamente 4 mm (SHADOMY & SPNEL-INGROF, 1980).

Ensaios de Antibiose

Para a avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos hidro-alcoólicos foi empregado o método da

difusão em ágar, baseado na técnica descrita por BAUER *et al.* (1966), utilizando discos de papel de filtro Framex 389 faixa preta estéreis com 6 mm de diâmetro. Os discos receberam 100 mL dos extratos hidro-alcoólicos de cada planta, foram mantidos em estufa à temperatura de 35° C por 24h para a secagem e posteriormente foram acondicionados em recipientes estéreis, devidamente identificados e armazenados em geladeira a 5,4° C. Após as semeaduras dos microrganismos nas placas de Petri, os discos com os extratos hidro-alcoólicos e os discos com os antibióticos comerciais (variável de acordo com a espécie bacteriana) foram distribuídos e pressionados sobre o ágar. Foi mantida uma distância de 40 mm entre os discos para evitar interferências entre os possíveis halos de inibição. Após este procedimento, as placas foram fechadas com tampa, invertidas e incubadas a 35° C. Após 24h de incubação foi realizada a leitura dos resultados, que consistiu na medição do diâmetro dos halos de inibição, incluindo o próprio disco de 6 mm.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 2 estão sumarizados os resultados dos ensaios de antibiose e na Tabela 3 os resultados dos testes de controle de antibióticos comerciais com relação a cada microrganismo.

Tabela 2 - Resultados da AA de 17 extratos de árvores nativas do Brasil, frente a 10 diferentes microrganismos.

Espécie vegetal	<i>Ec</i>	<i>Ea</i>	<i>Sp</i>	<i>Kp</i>	<i>Ps</i>	<i>Pm</i>	<i>Pa</i>	<i>Ss</i>	<i>Sa</i>	<i>St-</i>
<i>A. occidentale</i>	R	R	R	R	R	S18	R	S18	S24	S12
<i>P. emarginatus</i>	R	R	R	R	R	S26	R	R	R	R
<i>C. langsdorffii</i>	R	R	R	R	R	S9	R	S14	R	R
<i>A. colubrina</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
<i>M. peruiferum</i>	R	R	S9	R	R	R	R	S12	R	S9
<i>S. adstringens</i>	S9	R	S28	R	S11	S30	R	S30	S20	S16
<i>B. orellana</i>	R	R	S16	R	R	S22	R	R	S22	R
<i>E. uniflora</i>	S14	R	S28	R	S12	S32	R	S34	S24	S14
<i>P. guajava</i>	R	R	S16	R	R	S28	R	R	S21	R
<i>M. tenuiflora</i>	R	R	S24	R	R	S33	R	S20	S23	S12
<i>I. paraguariensis</i>	R	R	R	R	R	R	R	S14	S24	S10
<i>O. odorifera</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	S22	R
<i>H. courbaril</i>	R	R	R	R	R	S28	R	R	S23	R
<i>S. terebinthifolia</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	S24	R
<i>G. americana</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
<i>T. avellanadae</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
<i>C. sylvestris</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R

Ec=*Escherichia coli*, *Ea*=*Enterobacter aerogenes*, *Sp*=*Streptococcus pyogenes*, *Kp*=*Klebsiella pneumoniae*, *Ps*=*Providencia* spp., *Pm*=*Proteus mirabilis*, *Pa*=*Pseudomonas aeruginosa*, *Ss*=*Shigella sonnei*, *Sa*=*Staphylococcus aureus*, *St-*=*Staphylococcus* spp. coagulase-, R=resistente (não houve desenvolvimento do halo de inibição), S=sensível (houve desenvolvimento do halo de inibição) em mm, incluindo o próprio disco de 6 mm.

Apesar dos relatos na literatura consultada indicarem uma evidente atividade antimicrobiana (AA) de extratos hidro-alcoólicos das espécies *Anadenanthera colubrina* (MORS et al., 2000), *Genipa americana* (GARNACCIA, 1972), *Tabebuia avellanedae* (OLIVEIRA et al., 1990) e *Casearia sylvestris* (BASILE, 1990), nos resultados aqui obtidos (Tabela 2), não foi observada ação antibacteriana dos extratos destas plantas. Todos os microrganismos utilizados neste estudo apresentaram resistência a alguns antibióticos comerciais (Tabela 3), sugerindo que sejam também resistentes aos extratos destas plantas. As linhagens de bactérias, empregadas nos estudos encontrados na literatura não tiveram suas resistências testadas contra antibióticos comerciais, o que dificulta uma comparação mais acurada entre estes resultados discrepantes.

O extrato de *Pterodon emarginatus* apresentou AA somente contra *Proteus mirabilis*, e os de *Ocotea odorifera* e *Schinus terebinthifolia* apresentaram AA somente contra *Staphylococcus aureus*. Os extratos destas plantas são conhecidos por apresentarem atividade antimicrobiana também contra *Pseudomonas* (BANDEIRA & WANICK, 1974), o que não foi confirmado nos resultados da Tabela 2.

Dois extratos apresentaram AA contra dois microrganismos, o de *Hymenaea courbaril* apresentou AA contra *Proteus mirabilis* e *Staphylococcus aureus* e o de *Copaifera langsdorffii* apresentou AA contra *Proteus mirabilis*, e *Shigella sonnei*. *Hymenaea courbaril* é conhecida por conter terpenos e compostos fenólicos com comprovada propriedade antimicrobiana (MARSAIOLI,

1975). O segundo extrato, o de *Copaifera langsdorffii*, é referido na literatura como tendo ação também contra *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (EL NUNZIO, 1985), o que não se confirmou nos resultados da Tabela 2, onde estes dois últimos microrganismos mostraram-se resistentes.

Alguns extratos apresentaram maior amplitude de AA, como é o caso de *Myroxylon peruiferum* que apresentou atividade contra *Streptococcus pyogenes*, *Shigella sonnei* e *Staphylococcus aureus*; e o extrato de *Ilex paraguariensis* que inibiu os microrganismos *Shigella sonnei*, *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus* spp. coagulase; Estas atividades não estão descritas em nenhuma das referências consultadas.

O extrato de *Bixa orellana* apresentou AA contra *Streptococcus pyogenes*, *Proteus mirabilis* e *Staphylococcus aureus*, embora recentes dados da literatura não tenham constatado AA deste extrato contra estas bactérias (ALMEIDA ALVES et al., 2000). Já a atividade do extrato de *Psidium guajava*, citado como sensível para *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans* (HOLETZ et al., 2002; GNAN & DEMELLO, 1999), apresentou nos resultados da Tabela 2, sensibilidade frente a *Streptococcus pyogenes*, *Proteus mirabilis* e *Staphylococcus aureus*, não sendo constatado ação contra a *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*.

A AA do extrato de *Anacardium occidentale* confirmou plenamente os dados obtidos na literatura (LORENZI, 1992), inibindo o crescimento de *Proteus mirabilis*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus* spp. coagulase.

Tabela 3 - Resultados dos testes de controle de antibióticos comerciais com relação a cada microrganismo.

Microorganismo	Controle Resistente	Controle Sensível*
Ec <i>Escherichia coli</i>	AMP, CFL.	ATM, IPM, CIP.
Ea <i>Enterobacter aerogenes</i>	CFL, AMP, CFO.	IPM, GEN, CRO.
Sp <i>Streptococcus pyogenes</i>	ERI, SFT.	VAN, LVX, CRO.
Kp <i>Klebsiella pneumoniae</i>	AMP, SFT, TET.	GEN, CIP, LVX.
Ps <i>Providencia</i> spp.	TET, CFL.	CIP, CRO, GEN.
Pm <i>Proteus mirabilis</i>	AMP, CFL, TET.	AMI, IPM, GEN.
Pa <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	AMP, CLO, SFT.	CAZ, IPM, RIF.
Ss <i>Shigella sonnei</i>	AMP.	LVX, CIP, CRO
Sa <i>Staphylococcus aureus</i>	ERI, SFT.	VAN, RIF, TET.
St- <i>Staphylococcus</i> spp. coagulase-	PEN, SFT.	CIP, LVX, VAN.

AMP=(ampicilina 10µg), CFO=(cefoxitina 30µg), CFL=(cefalotina 30µg), TET=(tetraciclina 30µg), CLO=(cloranfenicol 30 µg), SFT=(sulfazotrim 25 µg), CIP=(ciprofloxacina 5 µg), ERI=(eritromicina 15 µg), PEN=(penicilina G 10 µg), IPM=(imipinem 10µg), GEN=(gentamicina 10µg), CRO=(ceftriaxona 30µg), AMI=(amicacina 30µg), ATM=(aztreonam 30 µg), CAZ=(ceftazidima 30µg), RIF=(rifampicina 5µg), VAN=(vancomicina 30µg), LVX=(levofloxacina 5µg). Controle Resistente (não houve desenvolvimento do halo de inibição), Controle Sensível (houve desenvolvimento do halo de inibição), variável de acordo com o antibiótico utilizado. *Medidas padrões em mm dos halos de inibição de antibióticos comerciais no teste de controle sensível ATM(20), IPM(15), CIP(18), GEN(15), CRO(20), VAN(17), LVX(16), AMI(17), CAZ(18), RIF(30), TET(18).

Alta AA foi obtida com o extrato de *Mimosatenuiflora*. Citado na literatura por apresentar atividade contra *Streptococcus* spp. e *Staphylococcus* spp. (HEINRICH *et al.*, 1992), além da confirmação destes resultados (Tabela 2), também apresentou AA contra *Proteus mirabilis* e *Shigella sonnei*.

Comparativamente aos demais extratos, dois mostraram maior AA, o extrato de *Stryphnodendron adstringens*, que na literatura consultada é referido por apresentar atividade contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* e *Pseudomonas aeruginosa* (ALMEIDA ALVES *et al.*, 2000), teve os resultados confirmados contra *Escherichia coli*, bem como contra *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus* spp. coagulase, *Streptococcus pyogenes*, *Providencia* spp., *Proteus mirabilis* e *Shigella sonnei*, porém, não inibiu o crescimento de *Pseudomonas aeruginosa*. Outro extrato que apresentou alta AA foi o de *Eugenia uniflora*, que também é citado na literatura como tendo atividade contra *Streptococcus*, *Escherichia coli*, e *Bacillus cereus* e resistência a *Pseudomonas aeruginosa* (ALMEIDA ALVES *et al.*, 2000). Nos dados da Tabela 2 estão confirmados nos resultados com atividade contra *Escherichia coli*, *Streptococcus pyogenes*, *Providencia* spp., *Proteus mirabilis*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus* spp. coagulase, confirmando também a ausência de inibição de *Pseudomonas aeruginosa*. Em um outro estudo mais recente foi demonstrado a atividade da *Eugenia uniflora* contra *Staphylococcus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* e inclusive, contra *Pseudomonas aeruginosa* (HOLETZ *et al.*, 2002).

De todos os microrganismos utilizados neste trabalho, três mostraram total resistência aos extratos das 17 espécies de plantas estudadas: *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa*.

CONCLUSÃO

Neste estudo preliminar de AA, obteve-se relevante número de plantas com comprovada AA. Certamente os resultados obtidos com os extratos de algumas destas árvores corroboram os seus usos como antimicrobianos em terapêutica popular. Entretanto, é possível também constatar que alguns microrganismos são resistentes a todos estes extratos, o que torna inócua a utilização destas plantas frente a uma infecção por estes microrganismos resistentes. A continuidade deste estudo, que está sendo realizado com o emprego de extratos de demais árvores nativas e com microrganismos oriundos de um leque mais amplo de infecções, deverá fornecer resultados que indiquem de maneira mais precisa, a real aplicabilidade destes extratos.

O melhor conhecimento da atividade antimicrobiana destas plantas, certamente propiciaria um impulso, tanto direto como indireto, para a melhora nas condições de vida de populações de países em desenvolvimento, considerando-se a importância das plantas medicinais, não apenas como recurso terapêutico, mas também como fonte de recursos econômicos (DI STASI *et al.*, 1996).

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA ALVES, T.M.; SILVA, A.F.; BRANDÃO, M.; GRANDI, T.S.M.; SMÂNIA, E.F.; SMÂNIA JUNIOR, A.; ZANI, C.L. Biological screening of Brazilian medicinal plants. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.95, n.3, p.367-373, 2000.
- BANDEIRA, J.A. & WANICK, M.C. Ação anti-inflamatória e cicatrizante de *Schinus molle* Vell., em pacientes com cervicite e cervicovaginite. *Revista do Instituto de Antibióticos*, v.14, p.105-106, 1974.
- BASILE, A.C. Pharmacological assay of *Cassia sylvestris*. 1. Preventive anti-ulcer activity and toxicity of the leaf crude extract. *Journal of Ethnopharmacology*, v.30, p.187-197, 1990.
- BAUER, A.W.; KIRBY, W.M.M.; SHERRIS, J.C.; TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. *American Journal of Clinical Pathology*, v.45, p.493-496, 1966.
- DIAS DA SILVA, R.A. *Pharmacopéia dos Estados Unidos do Brasil*. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1929. 634p.
- DI STASI, L.C. *Plantas medicinais: arte e ciência. Um guia de estudo interdisciplinar*. São Paulo: Editora Fundação Unesp, 1996. Introdução.
- EL NUNZIO, M.J. Óleo de copaíba e seu emprego cosmético. *Aerosol e Cosméticos*, v.7, n.41, p.7-9, 1985.
- FESSENDEN, R.J. *Organic chemistry*. Boston: Willard Grant Press, 1982.
- GEISSMAN, T.A. *Flavonoid compounds, tannins, lignins, and related compounds*. New York: Elsevier, 1963. 265p.
- GNAN, S.O. & DEMELLO, M.T. Inhibition of *Staphylococcus aureus* by aqueous goiaba extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, v.68, p.103-108, 1999.
- GOTLIEB, O. New and underutilized plants in the Americas: solution to problems of inventory through systematics. *Interciência*, v.6, n.1, p.22-29, 1981.
- GUARNACCIA, R.; MADYASTHA, K.M.; TEGTMEYER, E.; OSCIA, C.J. Geniposidic acid, an glucoside from *Genipa americana*. *Tetrahedron Letters*, v.50, p.5125-5127, 1972.
- HEINRICH, M.M.; KUHNT, M.; WRIGHT, C.W.; RIMPLER, H.; PHILLIPSON, J.D.; SCHANDELMAIER, A. & WARHURST, D.C. Parasitological and microbiological evaluation of mixed Indian medical plants. *Journal of Ethnopharmacology*, v.36, p.81-85, 1992.
- HOLETZ, F.B.; PESSINI, G.L.; SANCHES, N.R.; CORTEZ, D.A.G.; NAKAMURA, C.V.; DIAS FILHO, B.P. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.97, n.7, p.1027-1031, 2002.

- LORENZI, H. *Árvores brasileiras – manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas no Brasil*. Nova Odessa: Ed. Plantarum, 1992. 360p.
- MARSAIOLI, A.J. Diterpenes in the bark of *Hymenaea courbaril*. *Phytochemistry*, v.14, p.1882-1883, 1975.
- MORS, W.B.; RIZZINI, C.T.; PEREIRA, N.A. *Medicinal plants of Brazil*. Michigan: Reference Publications, 2000. 372p.
- O'KENNEDY, R. & THORNES, R.D. *Coumarins: biology, applications and mode of action*. New York: John Wiley, 1997.
- OLIVEIRA, A.B.; ALMEIDA, E.R.; SILVA FILHO, A.A. Estrutura química e atividade biológica de naftoquinonas de Bigniaceas brasileiras. *Química Nova*, v.13 n.4, p.302-307, 1990.
- RODRIGUES, R.R. *Trilhas do parque da Esalq. Árvores medicinais*. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", USP, Departamento de Botânica, 1996. 28p.
- SCALBERT, A. Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, v.30, p.3875-3883, 1991.
- SINGH, K.V. & SHUKLA, N.P. Activity on multiple resistant bacteria of garlic (*Allium sativum*) extract. *Fitoterapia*, v.55, p.313-315, 1984.
- SHADOMY, S. & SPINEL-INGROF, A. Susceptibility testing: with antifungal drugs. In: LENNETTE, E. (Ed.). *Manual of clinical microbiology*. 3.ed. Washington: American Society for Microbiology, 1980. Cap.62, p.647-653.
- STERN, J.L.; HAGERMAN, A.E.; STEINBERG, P.D.; MASON, P.K. Phlorotannin-protein interactions. *Journal of Chemical Ecology*, v.22, p.1887-1899, 1996.
- TERRAS, F.R.G.; SCHOOF, H.M.E.; THEVISSSEN, H.M.E.; BROEKAERT, W.F. Synergistic enhancement of the antifungal activity of wheat and barley thionins by radish and oilseed rape 2S albumins and by barley trypsin inhibitors. *Plant Physiology*, v.103, p.1311-1319, 1993.
- TORSSEL, B.G. *Natural product chemistry. A mechanistic and biosynthetic approach to secondary metabolism*. New York: John Wiley, 1989. 401p.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Regulatory situation of herbal medicines: a worldwide review*. Geneva: WHO, 1998. 45p.
- YOUNES, R.N.; VARELLA, A.D.; SUFFREDINI, I.B. Extração e rastreamento de novas drogas em plantas brasileiras. *Acta Oncológica Brasileira*, v.20, p.15-19, 2000.
- ZHANG, Y. & LEWIS, K. Faba-tins: new antimicrobial plant peptides. *FEMS Microbiological Letters*, v.149, p.59-64, 1997.

Recebido em 10/9/05

Aceito em 29/9/05