

## Avaliação das atividades antioxidante, antimicrobiana e citotóxica de *Couepia grandiflora* Benth. (Chrysobalanaceae)

Zuque, A.L.F.<sup>1</sup>; Watanabe, E.S.<sup>2</sup>; Ferreira, A.M.T.<sup>2</sup>; Arruda A.L.A.<sup>2</sup>; Resende, U.M.<sup>3</sup>.,  
Bueno, N.R.<sup>2</sup> ; Castilho, R.O.<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Curso de Biologia, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde; <sup>2</sup>Curso de Farmácia, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Católica Dom Bosco, Campo Grande, MS.

<sup>3</sup>Laboratório de Botânica, Departamento de Biologia, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS.

Recebido para publicação em: 12/11/2003  
Aceito para publicação em: 09/08/2004

**RESUMO:** *Couepia grandiflora* Benth. é conhecida popularmente como fruta-de-ema, pertence à família Chrysobalanaceae, e ocorre em regiões tropicais e subtropicais. Plantas dessa família são utilizadas pelas populações, principalmente, para o tratamento da diarreia, disenteria e malária. Neste trabalho, avaliou-se as atividades citotóxica, antibacteriana, antifúngica e antioxidante dos extratos hexânico e etanólico de *C. grandiflora*. O teste com *Artemia salina* usado para avaliar a citotoxicidade dos extratos hexânico e etanólico apresentou valores de CL<sub>50</sub> de 0,1082 mg/mL e 0,1408 mg/mL, respectivamente. O extrato etanólico de *C. grandiflora* mostrou atividade antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, enquanto que o extrato hexânico mostrou atividade somente contra *P. aeruginosa*. Os dois extratos não mostraram atividade contra *Escherichia coli*. As Concentrações Inibitórias Mínimas (CIM) do extrato etanólico foram de 188, 125, 188 µL/mL, para *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*, respectivamente. Quanto à avaliação da atividade antioxidante, os extratos hexânico e etanólico mostraram-se ativos com valores de CE<sub>50</sub>= 3,1 e 5,6 µg/mL, respectivamente, quando comparados com os padrões. Na avaliação da atividade antifúngica, os extratos etanólico e hexânico de *C. grandiflora* não apresentaram tal atividade. Conclui-se que os extratos etanólico e hexânico de *C. grandiflora* demonstraram atividades antibacteriana, antioxidante e citotoxicidade frente à *Artemia salina* e ausência de atividade antifúngica.

**Unitermos:** *Couepia grandiflora*; Chrysobalanaceae; citotoxicidade; antibacteriana; antifúngica; antioxidante.

**ABSTRACT:** Evaluation of cytotoxicity, antioxidant, antibacterial and antifungal activities of *Couepia grandiflora* Benth. (Chrysobalanaceae). *Couepia grandiflora* Benth., known popularly as ema fruit, belongs to the family Chrysobalanaceae, and is distributed in tropical and subtropical areas. Plants of this family are used mainly for the treatment of the diarrhea, dysentery and malaria. In this work, it was evaluated the cytotoxic, antibacterial, antifungal and antioxidant activities of the hexanic and ethanolic extracts of *C. grandiflora*. The test with *Artemia salina* used to evaluate the cytotoxicity of the hexanic and ethanolic extracts presented values of CL<sub>50</sub> of 0,1082 mg/mL and 0,1408 mg/mL, respectively. The ethanolic extract of *C. grandiflora* showed antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*, while the hexanic extract showed activity only against *P. aeruginosa*. Both extracts did not show activity against *Escherichia coli*. The Minimum Inhibitory Concentrations (MIC) of the ethanolic extract were 188, 125, 188 µL/mL, for *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*, respectively. As for the evaluation of antioxidant activity, the hexanic and ethanolic extracts proved to be active with values of CE<sub>50</sub>= 3,1 and 5,6 µg/mL, respectively, when compared with the standards. In the evaluation of antifungal activity, the ethanolic and hexanic extracts of *C. grandiflora* did not present such activity. It is concluded that the ethanolic and hexanic extracts of *C. grandiflora* demonstrated antibacterial, antioxidant and cytotoxicity against *Artemia salina* and absence of antifungal activity.

antifungal and antioxidant activities of the hexane and ethanolic extracts from *C. grandiflora*. The cytotoxic activity of the hexane and ethanolic extracts showed a  $LC_{50}$  of 0.1082 mg/mL and 0.1408 mg/mL, respectively. The ethanolic extract of *C. grandiflora* showed antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*, while the hexane extract showed activity just against *P. aeruginosa*. The two extracts did not show activity against *Escherichia coli*. The Minimum Inhibitory Concentrations (MIC) of the ethanolic extract were 188, 125 and 188  $\mu$ L/mL for *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*, respectively. The evaluation of the antioxidant activity of the hexane and ethanolic extracts showed good results when compared to the reference drugs ( $EC_{50}$  = 3.1 and 5.6 mg/mL, respectively). It was not detected antifungal activity for the hexane and ethanolic extracts from *C. grandiflora*.

**Key words:** *Couepia grandiflora*; Chrysobalanaceae; cytotoxicity; antifungal; antibacterial; antioxidant.

## INTRODUÇÃO

*Couepia grandiflora* é conhecida como fruta-de-ema e pertence à família Chrysobalanaceae, ordem Rosales, superordem Rosiflorae (DALHGREN, 1980), que contém 17 gêneros e cerca de 450 espécies de hábito arbustivo e arbóreo (BRUMMITT, 1992). Esta espécie vegetal ocorre em regiões tropicais e subtropicais. A química da família Chrysobalanaceae tem sido pouco investigada. Os estudos já realizados demonstram a presença de flavonóides, triterpenóides, diterpenóides, esteróides e taninos (CASTILHO, 2001). Plantas desta família são utilizadas pelas populações, principalmente, para o tratamento de diarreia, disenteria e malária (LONGUEFOSSE; NOSSIN, 1996; LEE et al., 1996; GESSLER et al., 1995).

Os gêneros mais estudados do ponto de vista químico são: *Chrysobalanus*, *Couepia*, *Licania* e *Parinari*. O gênero *Couepia* é composto de 55 espécies que não foram muito estudadas do ponto de vista químico e farmacológico. De *Couepia paraensis* isolou-se sitosterol, ácido oleanólico, ácido 3-acetileanólico, naringenina, quercetina, rutina, ácido espinósico, 5-hidróxi-2,8-dimetil-6,7-dimetóxicromona e 5-hidróxi-8-dimetil-6,7-desmetóxi-benzopirano-4-ona (SANDUJA et al., 1982 e 1983).

Como dito anteriormente, na medicina popular, espécies da família Chrysobalanaceae são utilizadas para diversos fins. *Parinari sp.* é utilizada na África para o tratamento da malária, enquanto que, em El Salvador, *Chrysobalanus icaco* é utilizado para o tratamento da diarreia e disenteria. No Brasil, esta mesma planta é usada como diurética e hipoglicemiante (LACET et al., 1983). Algumas dessas indicações já foram comprovadas farmacologicamente. Os frutos de *Atuna racemosa* inibem a biossíntese de prostaglandinas (DUNSTAN et al., 1997), o infuso de *Chrysobalanus icaco* tem atividade hipoglicemiante e diurética, enquanto seus diterpenos têm potencialidades para o tratamento da AIDS (PRESTA; PEREIRA, 1987; GUSTAFSON et al., 1991), já os diterpenos de *Parinari capensis* e *P. curatelifolia* são antifúngicos e citotóxicos (GARO et al., 1997; LEE et al., 1996).

Já que outras espécies da família Chrysobalanaceae apresentam grande potencialidade terapêutica, o objetivo desse trabalho foi obter conhecimentos sobre a atividade biológica de *Couepia grandiflora*, uma planta do cerrado sul-mato-grossense.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Material vegetal

A coleta de *Couepia grandiflora* foi realizada no ano de 2002 no fragmento de Cerrado do Campus da Universidade Católica Dom Bosco em Campo Grande (MS). Esta área possui 43 hectares, está localizado entre as coordenadas 20°24'-37°4's e 54°36'-52°5'w a 5,2 Km ocupando uma das regiões mais altas da cidade com altitude variando entre 569 a 640 m. O material vegetal foi identificado pela Dra. Ubirazilda Maria Resende, da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul e uma amostra foi depositada no Herbário da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (HMS), sob o nº 11.694. Após coleta, as folhas foram secas em estufa com circulação de ar e temperatura de 40°C e trituradas em moinho de facas.

Posteriormente, esse material vegetal foi extraído com hexano e etanol em aparelho de Soxhlet até o esgotamento e seco em evaporador rotatório.

### Avaliação da citotoxicidade

Para avaliação da citotoxicidade utilizou-se o microcrustáceo *Artemia salina*. Dez larvas de *Artemia salina* foram transferidas para os tubos de ensaio contendo soluções dos extratos etanólico e hexânico de *C. grandiflora* em solução salina nas concentrações: 1, 0; 0,6; 0,4; 0,2; 0,1 e 0,05 mg/mL. Os ensaios foram realizados em quadruplicata. Os tubos de ensaio foram mantidos sob iluminação e as larvas sobreviventes foram contadas após 24 h. A CL<sub>50</sub> foi determinada por regressão linear. Realizou-se o ensaio em branco e, posteriormente, comparou-se os resultados com padrões positivos (MEYER et al., 1982).

### Avaliação da atividade antioxidante

Soluções etanólicas nas concentrações de 5, 10, 25, 50, 125 e 250 mg/mL foram preparadas utilizando-se os extratos etanólico e hexânico e solução de DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila) a 0,3 mM em etanol. O teste foi realizado em triplicata. Os padrões positivos foram rutina e BHT (butil-hidróxi-tolueno). Após um período de 30 min, foram feitas as leituras das absorbâncias a 516 nm no espectrofotômetro. As médias dos percentuais da atividade antioxidante (%AAO) das amostras, foram calculadas e o gráfico da %AAO versus concentração foi construído para se obter a concentração efetiva em 50% de atividade por regressão linear (CHEVOLLEAU et al., 2003).

### Avaliação da atividade antibacteriana

Para avaliação da atividade antibacteriana dos extratos, foram utilizadas cepas bacterianas obtidas da American Type Culture Collection (ATCC) Gram positiva: *Staphylococcus aureus* (ATCC 13709) e Gram negativas: *Escherichia coli* (ATCC 11229) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853). As amostras isoladas foram inoculadas em caldo Mueller Hinton até atingir uma densidade 10<sup>8</sup>, quando foram então distribuídas sobre a superfície do ágar Mueller Hinton em placas de petri de 150 mm de diâmetro. Os extratos hexânico e etanólico de *C. grandiflora* foram diluídos em solventes apropriados nas concentrações de 66 a 0,125 mg/mL. Discos de papel foram impregnados com 20mL de cada diluição dos extratos e aplicados na superfície do meio de cultura. Em cada placa foram adicionados discos, obtidos comercialmente, contendo concentração padronizada dos antimicrobianos: penicilina, ampicilina, cefalotina, tetraciclina e gentamicina

(Cecon®). A atividade antibacteriana dos extratos foi avaliada pela medida do halo de inibição (mm) após 24 h de incubação a 37°C.

Os extratos que apresentaram halo de inibição no teste de difusão foram selecionados para a determinação da concentração inibitória mínima (CIM) capaz de inibir o crescimento bacteriano.

No método de diluição foram utilizadas concentrações de 188, 125, 63 e 30 µL/mL do extrato etanólico de *C. grandiflora* dissolvido em solução fisiológica 0,85%. A cada tubo foram adicionados 62 µL de suspensão bacteriana de *S. aureus*, *E. coli* e *P. aeruginosa*. Após o período de incubação de 24 h a temperatura de 37°C, fez-se a leitura, através da ausência de turvação no meio de cultura. A concentração inibitória mínima foi considerada a concentração do extrato contida no primeiro tubo de cultura da série que inibiu o crescimento bacteriano. A confirmação da atividade antibacteriana foi obtida através da semeadura das amostras, submetidas ao teste, em placas contendo meio de cultura apropriado para a verificação da viabilidade das mesmas. A ausência de crescimento foi o critério decisivo para a determinação da concentração inibitória mínima.

### **Avaliação da atividade antifúngica**

Para a avaliação da atividade antifúngica dos extratos foram utilizadas uma cepa de *Candida albicans* (ATCC 10231) obtida da American Type Culture Collection e o fungo *Cladosporium sphaerospermum* obtido do Instituto Botânico da Universidade de São Paulo. Com *C. sphaerospermum*, utilizou-se o método de bioautografia (HOMANS; FUCHS, 1970) em alíquotas de 100 µL dos extratos etanólico e hexânico de *Couepia grandiflora*. Foram utilizados como controle positivo o antifúngico fluconazol e como controle negativo o solvente utilizado na extração. Após aplicação na cromatoplaça e completa eliminação dos solventes, uma suspensão de esporos de *Cladosporium sphaerospermum* (inóculo:  $2 \times 10^8$  UFC/mL) foi borrifada e as cromatoplaças foram incubadas por três dias em ambiente úmido, na temperatura de 35°C. Com *Candida albicans* utilizou-se o método de difusão em ágar (SMANIA et al., 1995). Preparou-se uma suspensão com diluição de 1:10000, até atingir uma densidade óptica aproximada de  $2 \times 10^6$  UFC/mL, para posterior semeadura em placas contendo Agar Sabouraud. Discos de papel foram impregnados com 50 µL dos extratos etanólico e hexânico de *Couepia grandiflora*, nas concentrações: 10000; 1000; 100; 50; 25 µg/mL. Da mesma forma, foram adicionados discos, obtidos comercialmente, contendo concentração padronizada de fluconazol (50 µg). A atividade antifúngica dos extratos foi avaliada pela medida do halo de inibição (mm) após 72 h de incubação a 37°C.

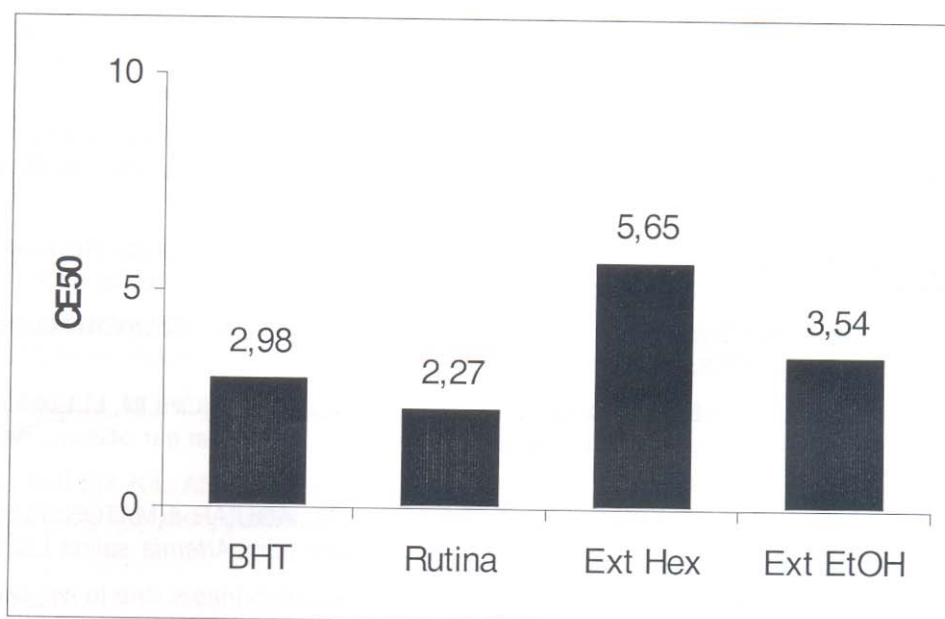
## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

O emprego da técnica da identificação da bioatividade, medida pela toxicidade empregando *Artemia salina*, pode fornecer informações valiosas ao trabalho de químicos de produtos naturais e farmacólogos, indicando fontes vegetais com importantes atividades biológicas (TROTTER et al., 1983; SOLIS et al., 1993; FONTENELE et al., 1998).

Os resultados do teste de citotoxicidade mostraram que os extratos hexânico e etanólico de *C. grandiflora* apresentaram toxicidade frente ao microcrustáceo *Artemia salina*. O extrato hexânico de *C. grandiflora* apresentou uma  $CL_{50}$  de 0,1082 mg/mL, enquanto o extrato etanólico de 0,1408 mg/mL. Os extratos etanólico e hexânico, na concentração de 1 mg/mL, apresentaram maior índice de mortalidade após 24 h, o que demonstra que quanto maior a dose desses extratos maior é o efeito citotóxico. Esses resultados sugerem que *C. grandiflora* tem potencial atividade

citotóxica. Nos estudos de Oliveira et al. (1995), os resultados da pesquisa de toxicidade em 55 extratos de plantas da família Verbenaceae, espécies do gênero *Aegiphila*, *Clerodendron*, *Stachytarpheta*, *Verbena* e *Vitex* demonstraram toxicidade em concentrações menores do que 1000  $\mu\text{g/mL}$ , empregando *Artemia salina*. Como também em algumas espécies da família Euphorbiaceae, os extratos etanólicos destas apresentaram uma  $\text{CL}_{50} > 1000 \mu\text{g/mL}$  (MEYER et al., 1982). Esses resultados incentivam novos testes com *Artemia salina*, pois permite a avaliação da toxicidade geral e é considerado um bioensaio preliminar no estudo de extratos com potencial atividade biológica.

Na última década, os estudos de espécies ativas de oxigênio e seu envolvimento em um grande número de patologias, revelaram que substâncias antioxidantes são capazes de prevenir os efeitos do estresse oxidativo (SIES, 1993) As substâncias antioxidantes presentes nos vegetais neutralizam a ação dos radicais livres e o consumo destas substâncias pode fortalecer o sistema imunológico, além de reduzir o risco de uma série de doenças. A atividade antioxidante pode ser avaliada *in vitro* com êxito pelo teste do DPPH, um radical livre estável à temperatura ambiente, com coloração violeta característica em solução etanólica (MENSOR et al., 2001). Os resultados do teste antioxidante estão representados na Figura 1. O extrato hexânico de *Couepia grandiflora* apresentou uma  $\text{CE}_{50}$  de 5,65  $\mu\text{g/mL}$ , enquanto o extrato etanólico de 3,154  $\mu\text{g/mL}$ . O padrão positivo BHT apresentou uma  $\text{CE}_{50}$  de 2,98  $\mu\text{g/mL}$ , e a rutina de 2,27  $\mu\text{g/mL}$ . Portanto, os extratos hexânico e etanólico das folhas de *Couepia grandiflora* mostraram-se ativos frente ao radical DPPH, podendo-se sugerir uma provável atividade antioxidante. De acordo com MACIEL et al. (2002), propriedades antioxidantes foram descritas para o extrato metanólico das cascas de *Copaifera reticulata*. Testado quanto à redução de radicais livres indutores de danos ao DNA, o extrato metanólico mostrou-se bastante ativo, apresentando uma  $\text{CL}_{50}$  de 3 $\mu\text{g/mL}$ , menor que o padrão utilizado, a catequina ( $\text{CL}_{50}$  de 5  $\mu\text{g/mL}$ ). Contudo avaliando os extratos e frações através do teste químico do DDPH, as folhas de *Pseudopiptadenia contorta* apresentaram a presença de taninos condensados e substâncias fenólicas de baixo peso molecular, os quais mostraram ser os responsáveis pela atividade antioxidante com  $\text{CL}_{50}$  14 $\mu\text{g/mL}$ , semelhante à da rutina utilizada como padrão ( $\text{CL}_{50}$  de 12,90  $\mu\text{g/mL}$ ) (MOREIRA et al., 2002).



**Figura 1.** Valores de  $\text{CE}_{50}$  ( $\mu\text{g/mL}$ ) do BHT e rutina (padrões), dos extratos hexânico (Hex) e etanólico (EtOH) de *Couepia grandiflora* ( $R > 0,9$  e  $P < 0,05$ ).

Atualmente, o desenvolvimento de novos antibióticos contra microorganismos, cada vez mais resistentes, passa pela pesquisa com produtos naturais (COLE, 1994). Na avaliação da atividade antibacteriana, o extrato etanólico de *C. grandiflora* mostrou atividade antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*, nas concentrações de 50 e 66 mg/mL (halo de inibição de 9 mm) e *Pseudomonas aeruginosa* nas concentrações de 50 e 66 mg/mL (halo de inibição de 19 mm), enquanto que o extrato hexânico mostrou atividade contra *Pseudomonas aeruginosa*, nas concentrações de 50 e 66 mg/mL (halo de inibição de 13 e 9 mm, respectivamente). Os dois extratos não mostraram atividade contra *Escherichia coli*. As Concentrações Inibitórias Mínimas (CIM) do extrato etanólico foram de 188, 125 e 188 µL/mL para *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*, respectivamente. Os antimicrobianos obtidos comercialmente e utilizados no teste de difusão em ágar apresentaram halo de inibição com medidas compatíveis com o esperado frente aos microrganismos testados, diferentes dos controles negativos, que não apresentaram halo de inibição. Relatos da atividade antibacteriana de várias espécies vegetais têm sido recentemente publicados. Na avaliação da atividade antifúngica utilizando o fungo *Cladosporium sphaerospermum* e *Candida albicans* do extrato etanólico e hexânico de *C. grandiflora* não houve a formação de halo de inibição, pois os extratos não foram capazes de inibir o desenvolvimento e o crescimento dos microrganismos. O extrato etanólico de *Harpullia petiolaris* (Sapindaceae) apresentou atividade antibacteriana com halo de inibição de 14 mm frente a *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*. Já *Pseudognaphalium moritzianum* demonstrou atividade somente frente a *S. aureus*, mas não apresentou atividade antifúngica contra *C. albicans* (KHAN; OMOLOSO, 2002; RANGEL et al., 2002).

Os resultados desse trabalho indicam que *C. grandiflora* é uma planta brasileira com grande potencial terapêutico, pois seus extratos apresentam atividade citotóxica, antioxidante e antibacteriana. Esse fato reforça a importância dos produtos naturais como fonte de novos fármacos.

## REFERÊNCIAS

- BRUMMITT, R. K. Vascular Plants Families and Genera, *Royal Botanic Gardens*, Kew, 1992.
- CASTILHO, R.O. *Química de *Crysobalanus icaco* e de *Licania tomentosa* (Crysobalanaceae): Plantas Brasileiras com potencial terapêutico*. Rio de Janeiro, 171p. Tese (Doutorado) – Núcleo de Pesquisa de Produtos Naturais, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2001.
- CHEVOLLEAU, S.; MALLET, J.F.; UCCIANI, E.; GAMISANS, J.; GRUBER, M. Antioxidant activity in leaves of some Mediterranean plants. *Journal of the American Oil Chemists Society*, v.69, n.12, p.1269-1271, 1992.
- COLE, M.D. Key Antifungal, antibacterial and anti-insect assays: A critical Review. *Biochemical Systematics and Ecology*, v.22, n.8, p.837-856, 1994.
- DAHLGREN, R.M.T. A revised system of classification of the angiosperms. *Botanical Journal of Linnean Society*, v.80, n.2, p.91-124, 1982.
- DUNSTAN, C.A.; NOREEN, Y.; SERRANO, G.; COX, P. A.; PEREIRA, P.; BOHLIN, L. Evaluation of some Samoan and Peruvian medicinal plants by prostaglandin biosynthesis and rat ear oedema assays. *Journal of Ethnopharmacology*, v.57, p.35-36, 1997.
- FONTENELLE, A.; CARVALHO, V.; MELO, V.M.M.; BRAGA, L.M.; AGUIAR & MATOS, F.J. Avaliação da toxicidade de extratos de plantas medicinais através de bioensaio com *Artemia salina* Leach. *Ciência e Cultura*, v.40 n.11, p.1109-1111, 1988.
- GARO, E; MAILLARD, M.; HOSTETTMANN, K.; STOECKLI, E.H.; MAVI, S. Absolute configuration of a diterterpene lactone from *Parinari capensis*. *Helvetica Chimica Acta*, v.80, p.538-544, 1997.

- GESSLER, M.L.; MSUYA, D.E.; NKUNYA, M.H.H.; Nwasumbi, L.B.; SCHAR, A.; HEIMICHI, M.; TANNER, M. Traditional healers in Tanzânia: the treatment of malaria with plant remedies. *Journal of Ethnopharmacology*, v.48, p.119-180, 1995.
- GUSTAFSON, K.R.; MUNRO, M.H.G.; BLUNT, J.W.; CARDELLINA, J.H.; Mc MALON, J.B.; GULAKOWSHI, R.J.; GRAGG, G.M.; COX, P.B.; LINDA, S.J. HIV inhibitory natural products. 3- diterpenes from *Homalonthus acumonathus* and *Crysobalanus icaco*. *Tetrahedron*, v.47, n.26, p.4547-4554, 1991.
- HOMANS, A.L.; FUCHS, A. Direct bioautography on thin layer chromatograms as a method for detecting fungitoxic substances. *Journal of Chromatography*, v.51, p.327-329, 1970.
- KHAN, M.R.; OMLOSO, A.D. Antibacterial, antifungal activities of *Barringtonia asiatica*. *Fitoterapia*, v.73, p.255-260, 2002.
- KHAN, M.R.; OMOLOSO, A.D. Antibacterial and antifungal activity of *Harpullia petiolaris*. *Fitoterapia*, v.73, p.331-335, 2002.
- LACET, M.A.B.; ALMEIDA, J.A.; ALMEIDA, R.N.; THOMAS, G. Propriedades Farmacológicas do Decocto da *Licania rigida* Benth (Chrysobalanaceae). *II Simpósio Nacional de Farmacologia e Química de Produtos Naturais*, Fortaleza, 1983.
- LEE, I.K-SOO; SHAMON, L.A.; CHAIA, H.B. CHAGWEDERA, T.E.; BESTLIMAM, Y.M.; FARNSWORTH, N.R.; CORDELL, G.A.; PIZZUTO, J.M.; DOUGLAS, K.A. Cellcycle specif cytotoxicity mediated by rearranged ent-Kaurene diterpenoids isolated from *Parinari curatelifolia*. *Chemical Biologic Interact*, v.99, n.1-3, p.193-204, 1996.
- LONGUEFOSSE, J.L.; NOSSIN, E. Medical ethnobotany survey in Martinique. *Journal of Ethnopharmacology*, v.53, p.117-142, 1996.
- MACIEL, M.A.M.; PINTO, A.C.; Veiga, V.F. Plantas Medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. *Química Nova*, v.25, n. 3, p.429-438, 2002.
- MENSOR, L.L.; MENEZES, F.S.; LEITÃO, G.G.; REIS, A.S.; SANTOS, T.C; COUBE, C.S.; LEITÃO, S.G. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DDPH free radical method. *Phytotherapy Research*, v.15, p.127-30, 2001.
- MEYER, B.N.; FERRIGNI, N.R.; PUTMAN, J.E.; JACOBSEN, L.B.; NICHOLS, D.E.; LAUGHIN, J.L. Brine Shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica*, v.45, p.31-34, 1982.
- MOREIRA, D.L; ENGELHARDT, R.L; REIS, A.S.; SANCHES, E. D.; LEITÃO, S.G.; LEITÃO, G.G. Substâncias fenólicas com atividade antioxidante de *Pseudopiptadenia contorta* (Leguminosae-Mimosoideae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.12, p.124-125, 2002.
- OLIVEIRA, A.L.F.; ZACHIS, M.; BRITO, N.R.S.; GUIMARÃES, L.A.S.; LAINETTI, R.; PIRES, F.R.S. Contribuição à farmacognosia de Verbenaceae II – Indicação de bioatividade em extratos vegetais. *Revista Brasileira de Farmácia*, v.73, n.4, p.83-84, 1992.
- PRESTA, G.A.; PEREIRA, N.A. Atividade do abagerú (*Crysobalanus icaco* Lin, Crysobalanaceae) em modelos experimentais para o estudo de plantas hipoglicemiantes. *Revista Brasileira de Farmácia*, v.68, p.91-101, 1987.
- RANGEL, D.; GARCIA, I.; VELASCO, J.; BUITRAGO, D.; VELAZCO, E. Antimicrobial activity of *Pseudognaphalium moritzianum*. *Fitoterapia*, v.73, p.719-720, 2002.
- SANDUJA, R.; ALAM, M.; EULER, K.L. Constituents of *Couepia paraensis*, *Journal of Natural Products*, v.46, n. 1, p.149, 1983.
- SANDUJA, R.; EULER, K.L; ALAM, M.; KORP, J.D.; BERNAL, I. Isolation and crystal structure of 5-hydroxy, 2, 8-dimethy-6,7-dimethoxybezpyran-4-one from *Couepia paraensis*. *Phytochemistry*, v.2, n.6, p.1451-1453, 1982.
- SIES, H. Strategies of antioxidant defense. *Journal of Biochemistry*, v.215, p.213-219, 1993.
- SMANIA, A.L.; DELLE, M.F.; SMANIA, E.F.A; GIL, M.L.; BENCHETRIT, L.C.; CRUZ, F.S. Antibacterial activity of substance produced by the fungus *Pycnoporus sanguineus* (Fr.) Merr. *Journal of Ethnopharmacology*, v.45, p.177, 1995.

SOLIS, P.N.; WRIGHT, C.W.; ANDERSON, M.M; GRUPTA, M.P.; PHILLIPSON, J.D. Cytotoxicity assay using *Artemia salina* (Brine Shrimp). *Planta Medica*, v.59, p.250-252, 1993.

TROTTER, R.T.; LOGAN, M.H.; ROCHA, J.M.; BONETA, J.L. Ethnography and bioassay: combined methods for a preliminary screen of home remedies or potential pharmacological activity. *Journal of Ethnopharmacology*, v.8, p.113-119, 1983.

---

**\*Autor para correspondência**

Profa. Rachel Oliveira Castilho  
Curso de Farmácia  
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde  
Universidade Católica Dom Bosco  
Av. Tamandaré, 6000 – Jardim Seminário  
79117-900 – Campo Grande – MS  
E-mail: rocastilho@ig.com.br