



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE RORAIMA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS NATURAIS**

BIANCA JORGE SEQUEIRA COSTA

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE *Himatanthus articulatus* (Vahl)
Wood. (sucuba).**

Boa Vista

2006

BIANCA JORGE SEQUEIRA COSTA

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE *Himatanthus articulatus* (Vahl)
Wood. (sucuba).**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Recursos Naturais do Programa de Pós-graduação – PRONAT da Universidade Federal de Roraima como pré-requisito para a obtenção do título de Mestre em Recursos Naturais, com área de concentração em Bioprospecção.

Orientador: Prof. Dr Marcos José Salgado Vital

Boa Vista

2006

FOLHA DE APROVAÇÃO

BIANCA JORGE SEQUEIRA COSTA

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE *Himatanthus articulatus* (Vahl)
Wood. (sucuba).**

Dissertação apresentada como pré-requisito para conclusão do Curso de Mestrado em Recursos Naturais da Universidade Federal de Roraima, defendida em 15/08/2006 e avaliada pela seguinte banca examinadora:

Prof. Dr. Marcos José Salgado Vital
Orientador

Dr. Adrian Martin Pohlit
INPA – AM

Prof. Dr. Reinaldo Imbrozio Barbosa
INPA – RR

Prof. Dr. Pablo Amenzaga Acosta
UFRR – RR

Prof. Dr. Francisco das Chagas do Nascimento
URRR – RR (suplente)

DEDICATÓRIA

Ao Guinho por todo o amor e paciência a mim
direcionados e por tornar meus dias sempre
mais belos e felizes.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais que me ensinaram a lutar pela vida;

A Wagner Costa que me ensinou a buscar o impossível;

Ao meu orientador Dr. Marcos José Salgado Vital por tornar este mestrado realidade e pela indicação das diretrizes que tornaram esse trabalho possível;

Ao Dr. Adrian Martin Pohlit que me ensinou a pensar quimicamente, por toda a sua disponibilidade;

Ao Dr. Reinaldo Imbrozio Barbosa que me apresentou o lavrado e todas as suas belezas, flores e velhos caimbés;

A Universidade Federal de Roraima e ao PRONAT pela oportunidade;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio;

A Marcela Nayara Silva, Isabel Pararols e Gláucia de Barros Cauper (LAPAAM-INPA) que me auxiliaram nos experimentos;

Ao meu amigo Evangelista Lima que me estimulou a sonhar com o mestrado;

A minha amiga Flávia Pinto, mulher lógica, que me ajudou a pensar estatisticamente;

Ao meu amigo Romério Brígia que me apresentou a sucuba;

A minha amiga Estela Dal Ri por todos os cafés da manhã científicos;

Aos amigos Marconi Gomes e Mônica Quirino (querida chefe), pela compreensão em todos os momentos em que precisei me ausentar do trabalho;

A sucuba por toda a sua boa vontade para com esse trabalho;

E a Deus por colocar todas esses seres especiais em minha vida.

“Nem tudo o que importa pode ser medido. Nem tudo o que pode ser medido importa.”

Albert Einstein

RESUMO

O uso de plantas medicinais no estado de Roraima - Brasil é uma prática terapêutica muito frequente e bastante difundida nas comunidades locais. Diversas plantas características das principais paisagens locais (savana e floresta) são utilizadas como agentes no tratamento de doenças tropicais inerentes à região como malária, infecções bacterianas, infecções fúngicas, verminoses, dentre outras. Neste trabalho, extratos metanólicos, hexânicos e de acetato de etila, foram preparados utilizando folhas, cascas, galhos e entrecasca de *Himatanthus articulatus* (Vahl) Wood, uma espécie característica das savanas de Roraima, extremo norte da Amazônia brasileira. Todos os extratos foram testados contra cepas ATCC e clínica das bactérias *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* e *Escherichia coli*, bem como contra a levedura *Candida albicans* nas cargas de 1,0 mg/disco, 0,5mg/disco e 0,25 mg/disco. Além dos extratos, o látex colhido desta planta foi também testado contra os mesmos microrganismos, utilizando as mesmas concentrações e seus resultados foram comparados com aqueles produzidos pelo látex da planta comercializado em uma feira livre do Estado. Os resultados obtidos indicaram que somente os extratos metanólicos de algumas partes da planta, além do látex colhido da planta e o comercial demonstraram ação antimicrobiana impedindo o crescimento das cepas clínica e ATCC de *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* e *Candida albicans*. Por outro lado, nenhuma atividade foi observada em *Escherichia coli* em quaisquer das concentrações testadas.

Palavras – chave:

Candida albicans, *Staphylococcus aureus*, sucuba, *Himatanthus articulatus*, savana, Roraima

ABSTRACT

The use of medicinal plants in the state of Roraima - Brazil is a very frequent and widespread therapeutical practice in the local community. Many characteristic plants of the main local landscapes (savannah and rainforest) are used as agents in the treatment of endemic tropical diseases in region such as malaria, bacterial, fungal and worm infections, among others. In this work, methanol, hexane and ethyl acetate extracts were prepared using leaves, bark, stems and interbark of *Himatanthus articulatus* (Vahl) Wood., a characteristic species of Roraima's savannah (*lavrado*), from the northern Brazilian Amazon. All the extracts were tested against ATCC and clinic strains of bacteria *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli*, as well as against the yeast *Candida albicans* in 1,0 mg/disc, 0,5 mg/disc and 0,25 mg/disc. Besides extracts, the plant's harvested latex was also tested against the same microorganisms, using equal concentrations and its results were compared with the results produced for the latex of the plant commercialized in a open market in Roraima. The results indicated that only extracts of methanol of some parts of this plant, beside the harvested latex of this plant and the commercial latex demonstrated antimicrobial action hindering the growth of ATCC and clinic strains of *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* and *C. albicans*. On the other hand, no activity was observed in *E. coli* in any of the concentrations tested.

Key words:

Candida albicans, *Staphylococcus aureus*, sucuba, *Himatanthus articulatus*, savannah, Roraima

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Exemplos de substâncias naturais bioativas e seus respectivos isoladores e sintetizadores.....	16
Tabela 2	Algumas plantas usadas no tratamento de malária no estado de Roraima	25
Tabela 3	Massa do material vegetal fresco e seco (folha, galho, casca e entrecasca) de indivíduos de <i>Himatanthus articulatus</i>	44
Tabela 4	Massa dos extratos de partes vegetais de <i>Himatanthus articulatus</i> e seus teores extrativos	45
Tabela 5	Ação dos extratos metanólicos brutos e em polaridade crescente de folhas de <i>Himatanthus articulatus</i> em diferentes cargas contra o crescimento de cepas clínica e ATCC de <i>Staphylococcus aureus</i>	47
Tabela 6	Ação de extratos metanólicos brutos e em polaridade crescente de <i>Himatanthus articulatus</i> em diferentes cargas contra o crescimento de cepas clínica e ATCC de <i>Bacillus subtilis</i>	49
Tabela 7	Ação de extratos metanólicos brutos e em polaridade crescente de <i>Himatanthus articulatus</i> em diferentes cargas contra o crescimento de cepas clínica e ATCC de <i>Candida albicans</i>	51
Tabela 8	Efeito antimicrobiano de extratos metanólicos brutos e em gradiente de polaridade crescente (hexano, acetato de etila e metanol) produzidos com partes de <i>Himatanthus articulatus</i> , do látex colhido e do látex comercial contra algumas cepas de microrganismos	53

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Aspecto geral de uma savana parque (Sp) do Estado de Roraima	19
Figura 2	Folhas e frutos de <i>Himatanthus articulatus</i>	28
Figura 3	Flores de <i>Himatanthus articulatus</i>	28
Figura 4	Aspecto da casca de <i>Himatanthus articulatus</i> com incisões para extração do látex	28
Figura 5	Indivíduo de <i>Himatanthus articulatus</i> em savana do município de Boa Vista	28
Figura 6	Indivíduo de <i>Himatanthus articulatus</i> em savana do município de Boa Vista	28
Figura 7	Localização dos indivíduos 1 e 2 de <i>Himatanthus articulatus</i> em área de savana da Universidade Federal de Roraima, município de Boa Vista.....	38
Figura 8	Ação dos discos contendo extratos metanólicos da folha de <i>Himatanthus articulatus</i> sobre o patógeno <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC.	46
Figura 9	Ação dos discos impregnados com látex de <i>Himatanthus articulatus</i> comprado na feira sobre a levedura <i>Candida albicans</i> ATCC.	46
Figura 10	Ação do extrato metanólico bruto das folhas de <i>Himatanthus articulatus</i> contra cepas ATCC de <i>Candida albicans</i> , <i>Bacillus subtilis</i> e <i>Staphylococcus aureus</i>	54
Figura 11	Ação do extrato metanólico bruto das folhas de <i>Himathantus articulatus</i> contra cepas clínicas de <i>Candida albicans</i> , <i>Bacillus subtilis</i> e <i>Staphylococcus aureus</i>	55
Figura 12	Ação do extrato metanólico em gradiente de polaridade crescente (hexano, acetato de etila e metanol) das folhas de <i>Himatanthus articulatus</i> contra cepas ATCC de <i>Candida albicans</i> , <i>Bacillus subtilis</i> e <i>Staphylococcus aureus</i>	57
Figura 13	Ação do extrato metanólico em gradiente de polaridade crescente (hexano, acetato de etila e metanol) das folhas de <i>Himatanthus articulatus</i> contra cepas clínicas de <i>Candida albicans</i> , <i>Bacillus subtilis</i> e <i>Staphylococcua aureus</i>	58
Figura 14	Ação do extrato metanólico bruto dos galhos dos indivíduos de <i>Himatanthus articulatus</i> contra cepas ATCC e clínica de <i>Candida albicans</i>	59
Figura 15	Ação do extrato metanólico em gradiente de polaridade crescente (hexano, acetato de etila e metanol) dos galhos de <i>Himatanthus articulatus</i> contra cepas ATCC e clínica de <i>Candida albicans</i>	60
Figura 16	Ação do extrato metanólico bruto da casca de <i>Himatanthus articulatus</i> contra cepas ATCC e clínica de <i>Candida albicans</i> e <i>Bacillus subtilis</i>	61

Figura 17	Ação do extrato metanólico em polaridade crescente (hexano, acetato de etila e metanol) da casca de <i>Himathantus articulatus</i> contra cepas ATCC e clínica de <i>Candida albicans</i> e <i>Bacillus subtilis</i>	62
Figura 18	Ação do extrato metanólico bruto da entrecasca de <i>Himatanthus articulatus</i> contra cepas ATCC e clínica de <i>Candida albicans</i>	63
Figura 19	Ação do látex colhido dos indivíduos 1 e 2 e do látex comercial de <i>Himatanthus articulatus</i> contra cepas ATCC e clínica de <i>Candida albicans</i>	64
Figura 20	Análise comparativa entre a eficiência (média e desvio padrão) das partes dos indivíduos 1 e 2 e do látex comercializado de <i>Himatanthus articulatus</i> contra os microrganismos testes	65
Figura 21	Análise comparativa (média e desvio padrão) entre o comportamento das cepas ATCC e clínica de <i>Candida albicans</i> , <i>Bacillus subtilis</i> e <i>Staphylococcus aureus</i> frente aos látex e aos extratos metanólicos de partes de <i>Himatanthus articulatus</i> na concentração de 10mg/ml	66
Figura 22	Análise comparativa da eficiência (média e desvio padrão) entre as concentrações de 5 mg/ml e 10 mg/ml dos extratos metanólicos de <i>Himatanthus articulatus</i> contra os microrganismos testes.	67
Figura 23	Análise comparativa entre (média e desvio padrão) os diâmetros dos halos produzidos por extratos de partes de <i>Himatanthus articulatus</i> contra o crescimento dos microrganismos testes	68
Figura 24	Análise comparativa da eficiência dos extratos das diversas partes de <i>Himatanthus articulatus</i>	69

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AcOEt	Acetato de etila
ATCC	American Type Culture Collection
g	Gramma
Hex	Hexano
Ind	Indivíduo
INPA	Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia
Kg	Quilograma
Km	Kilômetro
LACEN	Laboratório Central de Roraima
LAPAAM	Laboratório de Princípios Ativos da Amazônia
LIAC	Laboratório Integrado de Análises Clínicas
MeOH	Metanol
mg	Miligrama
MIC	Concentração Inibitória Mínima
ml	Mililitro
P.C.	Polaridade crescente
UFRR	Universidade Federal de Roraima
OprK	Proteína externa

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	14
1.1 Uso de Plantas Medicinais no Brasil.....	17
1.2 Utilização de plantas medicinais em Roraima.....	18
1.2.1 Caracterização de Roraima.....	18
1.2.2 Conhecimento tradicional em Roraima.....	20
Palicourea rigida Kunth.....	25
1.3 Caracterização de <i>Himatanthus articulatus</i> (Vahl) Wood.....	25
1.3.1 Família: <i>Apocynaceae</i>	25
1.3.2 Gênero: <i>Himatanthus</i>	26
1.3.3 Espécie: <i>Himatanthus articulatus</i> (Vahl) Wood.....	27
1.4 Doenças fúngicas e bacterianas no Estado de Roraima.....	29
1.4.1 <i>Escherichia coli</i>	30
1.4.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	31
1.4.3 <i>Bacillus subtilis</i>	31
1.4.4 <i>Candida albicans</i>	31
1.5 Resistência bacteriana e fúngica aos agentes antimicrobianos.....	32
1.6 Diagnóstico da saúde em Roraima.....	34
2 OBJETIVOS.....	36
2.1 Objetivo Geral.....	36
2.2 Objetivos Específicos.....	36
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	37
3.1 Escolha da espécie.....	37
3.2 Local de coleta.....	37
3.3 Desenho experimental.....	37
3.4 Secagem das amostras.....	38
3.5 Moagem das amostras.....	39
3.6 Extração metanólica.....	39
3.7 Extração com solventes de polaridade crescente (P.C.).....	39
3.8 Evaporação rotatória dos extratos.....	40

3.9 Acondicionamento dos extratos concentrados	40
3.10 Liofilização dos extratos.....	40
3.11 Solubilização dos extratos liofilizados	40
3.12 Ensaio farmacológicos <i>in vitro</i> (bioensaio)	41
3.12.1 Microrganismos utilizados no bioensaio	41
3.12.2 Procedimentos.....	41
3.12.3 Aplicação dos discos contendo os extratos.....	42
3.12.4 Concentração inibitória mínima (MIC)	42
3.13 Análise dos dados	43
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
4.1 Determinação do peso do material colhido	44
4.2 Extratos brutos e em polaridade crescente	44
4.3 Ação antimicrobiana.....	46
5 CONCLUSÃO.....	70
REFERÊNCIAS	71

1 INTRODUÇÃO

Atualmente vivenciamos um grande embate de conhecimentos, onde a era tecnológica e seus grandes adventos tentam se sobrepor em importância e eficiência aos conhecimentos ditos tradicionais. Por outro lado, o conhecimento tradicional tenta sobreviver e manter-se fiel às suas raízes utilizando para isso a cultura popular que é repassada principalmente por oralidade através de várias gerações. Porém, o avanço da tecnologia científica e a inexistência de leis eficientes que protejam tal legado, colocam em risco a sobrevivência destes conhecimentos tornando-os vulneráveis ao desaparecimento e à apropriação indevida. A desagregação dos sistemas de vidas tradicionais que acompanha a devastação do ambiente e a intrusão de novos elementos culturais ameaça muito de perto um acervo de conhecimentos empíricos e um patrimônio genético de valor inestimável para as gerações futuras (GELY, 1988).

Um dos principais exemplos que compõem o legado do conhecimento tradicional é a utilização da natureza como fonte de manutenção da vida, não restringindo sua importância apenas a seu papel básico de provedora alimentar da espécie humana, mas utilizando-a em todas as suas potencialidades e possibilidades. Dentre as suas potencialidades, o papel de cura de várias enfermidades e de mantenedora do estado de saúde é indiscutivelmente de extremo valor e merece ser pesquisado e discutido com muito mais afinco.

Estudar e conhecer a natureza depende de pressupostos e de práticas, e essas duas dimensões do conhecimento não se separam, pois se informam e se enriquecem mutuamente (CUNHA; ALMEIDA, 2002). Os pressupostos são as verdades culturais de um povo e através deles é que são geradas as possibilidades e os mecanismos para inventariarmos e testarmos o conhecimento dito empírico. Desta forma, se o conhecimento ficasse enclausurado dentro das comunidades, a ciência não teria avançado tanto como nos últimos anos.

O conhecimento do poder de cura de muitas espécies vegetais data de longos anos, e essa experiência vem sendo transmitida de geração em geração, de modo que grande parte da população brasileira recorre primeiramente aos produtos de origem natural em busca da cura de seus males (LIMA, 1999). Segundo Esquenazi et al. (2002) o uso de produtos naturais com propriedades terapêuticas é tão antigo quanto à civilização humana e por um longo tempo, minerais, plantas e produtos animais foram a principal base para as drogas. A Organização Mundial de Saúde (OMS) reconhece que 80% da população dos países em desenvolvimento utiliza plantas medicinais nos seus cuidados primários de saúde (LIMA, 1999).

Diversos medicamentos utilizados hoje em dia, especialmente, alcalóides, antibióticos, vitaminas e hormônios resultaram da purificação de extratos e do isolamento de seus princípios ativos (KOROKOLVAS, 1998), porém o potencial farmacológico de grande parte da flora brasileira ainda é desconhecido dos nossos pesquisadores.

Até o final dos anos 80, existiam catalogadas cerca de 121 substâncias químicas de estrutura conhecida, extraídas diretamente de plantas e que eram utilizadas como medicamento em todo o mundo, sendo que, destas, 45 eram provenientes de plantas oriundas das florestas tropicais. Segundo Korokolvas (1998), das mais de 120.000 espécies vegetais brasileiras, foram estudados apenas alguns constituintes de cerca de 470 (0,4 %) dessas plantas.

Nos últimos anos, o potencial farmacológico dos organismos vivos vem despertando interesse das indústrias químicas, farmacêuticas, alimentícias, cosméticas, entre outras, na busca de insumos naturais. Tentando aliar o conhecimento cultural com a realidade atual, pesquisas científicas, em diferentes partes do mundo, vêm sendo realizadas no sentido de verificar a bioatividade destes produtos no tratamento de diversas patologias (MIRANDA et al., 2000; DEHARO et al., 2001).

De acordo com Pinto e Maduro (2003), dados relatados pelo Ministério do Meio Ambiente (MMA, 1998) indicam que atualmente, pelo menos 150 produtos de origem vegetal (plantas medicinais) são reconhecidos pela Organização Mundial de Saúde como de real valor terapêutico. Porém, além destes compostos relatados, muitos outros são utilizados na medicina popular no combate às mais variadas patologias e sintomas associados.

A etnobotânica, ciência que estuda as interações entre populações humanas e plantas (MARTÍN, 1995), assim como investiga novos recursos vegetais, tem merecido destaque na atualidade, devido ao crescente interesse pelos produtos naturais. Estudos relacionados com a medicina popular têm merecido cada vez maior atenção devido a gama de informações e esclarecimentos que fornecem à ciência contemporânea (PARENTE; ROSA, 2001).

Um outro fator ao qual podemos atribuir a intensificação das pesquisas direcionadas para a utilização das plantas medicinais é a consciência dos diversos males atribuídos ao uso continuado de quimioterápicos, haja vista que o uso prolongado de alguns medicamentos pode gerar intolerância ou ainda intoxicações nos seus usuários. Além disso, a busca por novos fármacos a partir dos recursos naturais é uma alternativa para o combate a muitos microrganismos patogênicos, como alguns fungos e bactérias, que já adquiriram resistência aos quimioterápicos disponíveis no mercado atual. Segundo Rojas et al. (2003), os compostos

antimicrobianos produzidos pelas plantas são ativos contra microrganismos patogênicos a plantas e humanos.

Fungos e bactérias causam importantes infecções em humanos, especialmente em regiões tropicais e apesar da existência de inúmeros medicamentos apropriados, o surgimento de microrganismos resistentes ou multi-resistentes tem se tornado cada vez mais comum (ALVES et al., 2000). Agregado a isso, também há uma carência vigente de recursos dos órgãos públicos de saúde e os incessantes aumentos dos preços dos medicamentos corroborando essa situação (PARENTE; ROSA, 2001). Se levarmos em conta a situação atual do Brasil, principalmente na região amazônica, verificamos que a utilização de medicamentos naturais é muitas vezes a única forma de combater doenças em muitas comunidades indígenas e ribeirinhas, devido ao difícil acesso ao sistema de saúde.

Para Milliken (1997), manter o conhecimento tradicional ativo nas populações amazônicas e garantir que esse conhecimento seja trocado entre comunidades distintas é garantir a sua sobrevivência, bem como a sobrevivência das próprias comunidades. Pensando desta forma, Korokolvas (1988) e Ucko (1992) compilaram algumas das principais substâncias bioativas extraídas de elementos da natureza (tabela 1).

Tabela 1. Exemplos de substâncias naturais bioativas e seus respectivos isoladores e sintetizadores.

Fármaco	Isolado por	Ano	Sintetizado por	Ano
Morfina	Sertuner	1805	Gates e Tschudi	1956
Atropina	Mein	1831	Ladenburg	1883
Papaverina	Merck	1848	Pictet e Gams	1909
Cocaína	Wohle	1859	Willstatter et al.	1901
Efedrina	Nagai	1885	Schimidt	1908
Penicilina	Fleming	1929	Sheehan	1957
Dicumarol	Link et al.	1941	Link	1943
Cloranfenicol	Burkholder	1947	Controulis et al.	1949
Encefalinas	Hughes et al.	1975	Voelter et al.	1976

Fonte: Korokolvas (1988); Ucko (1992) modificados.

A história do descobrimento de novos fármacos encontra-se intimamente relacionada com o desenvolvimento das ciências experimentais (LIMA, 1999). Com o surgimento de avançados métodos de análises, aplicação da informática, assim como o desenvolvimento da

biologia molecular, hoje, torna-se muito mais seguro estabelecermos doses terapêuticas eficientes e utilizarmos os produtos da natureza de maneira consciente, pois ao contrário do que muitas pessoas imaginam, as plantas medicinais se não utilizadas de maneira correta podem acarretar graves casos de intoxicação, podendo ter efeito letal (DI STASI et al., 2002)

Estimular o conhecimento e a manutenção das práticas primitivas é uma forma de não deixar fenecer a cultura de um povo, bem como de possibilitar à população uma alternativa terapêutica mais simples e acessível. Neste aspecto, devemos salientar que qualquer proposta ou estudo que contribua para o conhecimento desses ecossistemas é valiosa, uma vez que permitirá avanços na detecção de alternativas de conservação (DI STASI et al., 2002).

Vale ressaltar ainda que a exploração de espécies medicinais pelo homem tem levado a reduções drásticas em suas populações naturais, especialmente pelo desconhecimento dos mecanismos de perpetuação delas no ecossistema. Dessa forma, a identificação e o estudo das espécies medicinais trarão subsídios para a sua exploração sustentável em seu ambiente natural (REIS, 1996).

Aliar o conhecimento popular ao conhecimento científico, somando-se a isso a busca de novos medicamentos, farmacoterápicos e especialmente fitoterápicos, assim como a obtenção de renda adicional para as famílias que habitam os ecossistemas florestais ou seu entorno com a exploração sustentável desses recursos e sua conseqüente conservação não pode ser apenas retórica, mas a base das pesquisas na área de plantas medicinais (DI STASI et al., 2002).

Vivenciar o equilíbrio dos conhecimentos ditos tradicionais e científicos é um grande passo para o desenvolvimento sustentável, para a conservação ambiental e para a melhoria da qualidade de vida da população local. Partindo dessa premissa, conhecer melhor a flora do estado de Roraima e suas potencialidades, é justificar a sua conservação, bem como a conservação de todo o acervo cultural das comunidades locais.

1.1 Uso de Plantas Medicinais no Brasil

Segundo Ribeiro et al. (1999) as plantas constituem a base da pirâmide da vida, usando água, dióxido de carbono e a energia do sol para produzir açúcares. Todas as outras formas de vida dependem direta ou indiretamente delas. Além de fornecer alimento, as plantas compõem os ambientes providenciando espaço físico para muitos animais, bem como

produzem substâncias químicas que atuam no combate a seus predadores e agem contra agentes patogênicos de seres humanos.

No Brasil, a utilização dos produtos originados do conhecimento tradicional na medicina popular são datados desde muito antes da colonização. Os índios usavam tais produtos para a cura de doenças ou para fazer “poções” que ajudavam a manter o espírito purificado (PINTO; MADURO, 2003).

Com a colonização brasileira e o período de escravidão dos povos africanos, a miscigenação cultural existente no Brasil entre brancos, índios e negros, tornou-se fator determinante para a formação do acervo cultural de nosso povo. Muitas informações acerca de curas caseiras foram repassadas e trocadas entre as comunidades, e hoje somos detentores de um legado extremamente rico, mas que pode fenecer e se perder ao longo do tempo, por não conseguir sobreviver frente à indústria de medicamentos e as novas tecnologias.

Conforme Cunha e Almeida (2002), na Amazônia brasileira, o uso das plantas está associado a alguns tipos de saberes. O primeiro é generalizado em relação ao conjunto da população e estrutura-se ao redor das plantas medicinais do universo doméstico. É o domínio da medicina caseira aplicada principalmente a sintomas como dores de cabeça e dores no fígado. Geralmente esse conhecimento é praticado mais pelas mulheres das comunidades que pelos homens. Sobreposto a esse saber, está o conhecimento dos curadores ou benzedores que atuam em situações de curas mais específicas e que exigem um conhecimento maior sobre as plantas.

1.2 Utilização de plantas medicinais em Roraima

1.2.1 Caracterização de Roraima

O estado de Roraima, situado no extremo setentrional do Brasil, possui uma área de 224.298,98 Km² (IBGE, 2006), o que equivale a 2,6% da superfície do Brasil e a 5,9% da região Norte. Seu espaço físico original pode ser dividido em 3 grandes sistemas ecológicos: florestas, campinas-campinaranas e savanas ou cerrados (BARBOSA; COSTA E SOUZA; XAUD, 2005). Apresenta atualmente uma população de 403.340 habitantes (IBGE, 2006) e limita-se ao norte com a República Bolivariana da Venezuela e com a República Cooperativista da Guiana, ao sul com o estado do Amazonas, a leste com a República Cooperativista da Guiana e com o estado do Pará; e a oeste com o estado do Amazonas e com

a República Bolivariana da Venezuela (AMBTEC, 1994). Segundo esta publicação, de todos os estados amazônicos, Roraima apresenta a maior variedade de fisionomias vegetais.

As savanas, localmente conhecidas como lavrado, são unidades de vegetação situadas principalmente ao longo do sistema geomorfológico da Formação Boa Vista e em quase todo o sistema da Formação Surumu. Em sua porção mais ao sul e central, são caracterizadas por formar um mosaico com lagos que abastecem os cursos d'água caracterizados pela presença de buritizais (*Mauritia flexuosa* L.). Podem ser classificadas pela porcentagem de cobertura das copas de suas árvores, pela densidade de indivíduos ou espécies presentes, bem como pelo relevo, em Savana arbórea densa (Sd), Savana arbórea aberta (Sa), Savana parque (Sp) e Savana gramínea ou gramíneo-lenhosa (Sg) (BARBOSA; MIRANDA, 2005). A savana parque é considerada intermediária entre a arbórea aberta e a gramínea no que diz respeito a porcentagem de cobertura de copas de árvores, conforme figura 1.



Foto: R. I. Barbosa

Figura 1. Aspecto geral de uma savana parque (Sp) do Estado de Roraima.

A flora da savana é caracterizada por espécies de potenciais extremamente promissores, porém pouco estudados como *Himatanthus articulatus* (Vahl) Wood. (sucuba), *Byrsonima crassifolia* (L.) H.B.K (mirixi), *Roupala montana* Aubl. (congonha), *Curatella americana* L. (caimbé), *Antonia ovata* Pohl (timbó do lavrado), dentre outras. A paisagem em questão é pontuada por lagos e igarapés ladeados por buritizais e aningás. Conforme relatos

de Barbosa e Miranda (2005), este tipo de paisagem está localizada ao longo de toda a bacia do rio Branco e caracteriza-se pelos campos que se estendem pelas ondulações do pediplano de Boa Vista, entremeados de lagoas temporárias, algumas vezes permanentes, e densa rede de drenagem.

As savanas do Estado devem sua manutenção ao período prolongado de estiagem, a compactação do solo e a ação antrópica principalmente com a produção de queimadas (AMBTEC, 1994). O clima é do tipo “Aw” segundo classificação de Köppen, caracterizando-se por um período seco definido, de cerca de 4 meses ao ano, que ocorre entre dezembro e março, conhecido pela extrema queda nos índices pluviométricos e pela maior incidência de raios solares e por um outro período mais chuvoso que ocorre geralmente entre os meses de maio e julho. A precipitação média da área das savanas situadas próximo a Boa Vista varia entre 1.400 a 1.700 mm/ano (BARBOSA, 1997).

De acordo com Vale Júnior e Sousa (2005), as principais classes de solos das savanas de Roraima são latossolo amarelo, argissolo amarelo, latossolo vermelho-amarelo, latossolo vermelho, argissolo vermelho-amarelo, neossolo flúvico, neossolo quartzarênico, gleissolo, plintossolo e planossolo. Os solos das savanas locais possuem características muito diferentes dos solos sob o cerrado do Brasil Central, com predominância do tipo latossolo, caracterizado por ter como material de origem produtos de decomposição de basalto, gnaisses e sedimentos argilo-arenosos, variando de distróficos a eutróficos, por ser considerado um solo com alto teor de acidez e por apresentar limitações químicas, que poderão ser reduzidas com o uso de corretivos e fertilizantes e o tipo gleissolo que compreende um solo mineral hidromórfico, com restrição a percolação de água e que quimicamente é caracterizado por ser ácido, álico, distrófico. Por serem solos de baixa fertilidade natural, são limitados a um pequeno número de culturas, podendo ser utilizados para pequenas pastagens e para o cultivo de arroz.

1.2.2 Conhecimento tradicional em Roraima

Em Roraima, a utilização de produtos naturais por grupos indígenas, ainda hoje tem um valor significativo, porém, no passado, o valor do conhecimento medicinal das ervas e líquidos era bem maior em várias dessas comunidades (MILLIKEN, 1997). O conhecimento tradicional sempre foi repassado por oralidade entre as diversas gerações, entretanto com o passar do tempo e aumento do acesso aos fármacos industrializados pelas comunidades, esse conhecimento tradicional enfraquece a cada dia. Porém, as populações mais isoladas deste

Estado, especificamente as populações indígenas, precisam manter viva as raízes de seu conhecimento, pois segundo Milliken (1995), sofreram muito com as epidemias, principalmente de malária, durante e após a época do garimpo. Algumas continuam sofrendo esse impacto até hoje. Desta forma, a dependência total dos produtos farmacêuticos para o tratamento de doenças como esta, constitui uma situação bastante perigosa, haja vista que essa população não pode ficar a mercê de órgãos governamentais e postos de saúde que na maioria das vezes não oferecem condições de segurança e muito menos tratamento adequado. Infelizmente mesmo com toda a necessidade de manutenção do conhecimento, já existem restrições dentro de algumas comunidades ao uso de fármacos naturais devido ao advento da medicina alopática e a erosão de modos e costumes tradicionais (PINTO; MADURO, 2003).

No estado de Roraima, que se caracteriza por apresentar uma rica miscelânea cultural e por ser composto por diversas etnias indígenas como Wapixana, Makuxi, Ingarikó, Patamona, Taurepang, Waimiri-Atroari e Yanomami (LUZ, 1998) juntamente com migrantes de outros estados, o uso do conhecimento terapêutico popular é muito comum e bastante difundido entre determinadas comunidades, porém isso não assegura a conservação de seu meio ambiente que está cada vez mais vulnerável à ação humana.

Conforme Luz (1998), o fenômeno da violabilidade das formas elementares que gerenciam a simetria das sociedades indígenas na região é causa não só da descontinuidade de longos e variados modos culturais, mas também de profundas rupturas na relação entre sociedade e meio ambiente, podendo resultar em implicações mais acentuadas.

Os índios representantes da etnia Yanomami são detentores de um vasto conhecimento sobre a fitoterapia utilizando plantas nativas. Um total de 113 espécies de plantas e fungos medicinais pertencendo a um amplo espectro de grupos taxonômicos (92 gêneros e 51 famílias) foram coletados na aldeia Watokiri (MILLIKEN; ALBERT, 1997).

De acordo com os anciões de Watokiri, o uso das plantas medicinais era amplamente divulgado no passado entre as mulheres em complemento ao xamanismo praticado pelos homens (MILLIKEN; ALBERT, 1997), porém a disponibilidade permanente de remédios ocidentais na aldeia de Watokiri teve um impacto significativo sobre a atitude dos índios em relação ao tratamento das doenças, fazendo com que o conhecimento das plantas fosse progressivamente desvalorizado, particularmente pelos mais jovens.

Apesar de todos esses entraves, na cidade de Boa Vista há uma constante comercialização de produtos da medicina popular em feiras e bancas espalhadas na cidade, onde além de um número considerável de produtos nativos (animais e vegetais), existe uma elevada quantidade de produtos originários de outros Estados do país. A mesclagem e a

diversidade dos produtos têm sua explicação nas diferentes culturas que transitam na região (PINTO; MADURO, 2003). Em pesquisa realizada *in loco* através de entrevistas, verificamos que a grande maioria dos vendedores que comercializam produtos naturais nas feiras livres da cidade tem um conhecimento prévio de sua utilização e posologia, o que nem sempre é comprovado cientificamente, podendo determinadas vezes ser utilizado como placebo. Segundo os comerciantes, a maioria das plantas vendidas ou utilizadas em soluções denominadas garrafadas, são ervas. Produtos baseados em copaíba (*Copaifera officinalis*), pata-de-vaca (*Bauhinia unguolata*) e barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*) são comumente comercializadas nas barracas.

De acordo com Alves et al. (2000), muitas plantas da savana brasileira como as espécies: *Bowdichia virgilioides* Kunth (paricarana), *B. coccolobifolia* Kunth. (mirixi-cajú), *B. intermedia* A. Juss., *B. verbascifolia* (L.) Richard (mirixi anão), *Roupala montana* Aubl. (congonha) e *Xylopia aromatica* (Lam.) Mart. (envira), presentes no estado de Roraima, são utilizadas como alternativas medicinais contra infecções tropicais como leishmaniose, esquistossomose, malária, infecções fúngicas e bacterianas.

Segundo Silva e Cechinel-Filho (2001), a savana brasileira é muito diversificada e rica, muitas das plantas encontradas nesse ecossistema são usadas na medicina natural, no tratamento de doenças tropicais, incluindo infecções bacterianas. Por outro lado, devido ao desconhecimento da possível existência da ação tóxica, bem como de sua indicação adequada, as plantas medicinais são muitas vezes usadas de forma incorreta, não produzindo o efeito desejado.

A pesquisa das atividades dos extratos de plantas baseada no seu uso tradicional é extremamente importante para a manutenção da cultura popular, bem como para a geração de novas possibilidades de disponibilização de medicamentos para a população (LOPEZ; HUDSON; TOWERS, 2001).

Vários trabalhos foram realizados com intuito de testar a atividade antimicrobiana de extratos de plantas da savana brasileira, que ocorrem também na savana de Roraima. Dentre esses estudos podemos citar o de Alves et al. (2000) que testou a atividade de extratos metanólicos de folhas e cascas de *B. virgilioides*, *B. coccolobifolia*, *B. intermedia* e *B. verbascifolia* contra os patógenos *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, o de Vásquez et al. (1998) que produziu extratos metanólicos e de acetato de etila a partir de cascas e galhos da espécie *B. crassifolia* e os testou contra os microrganismos *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* e *Escherichia coli*. Convém citarmos também Carceres et al. (1990) e Lopez et al. (2001) que testaram a atividade de extratos etanólicos e metanólicos respectivamente de

B. crassifolia contra enterobactérias e Cáceres et al. (1991) que testaram a atividade de extratos aquosos de *B. crassifolia* contra a levedura *Candida albicans*. Mesmo encontrando relatos de vários trabalhos que testam a atividade antimicrobiana de plantas de savana, não encontramos nenhum indício na literatura científica de testes antimicrobianos realizados com extratos da espécie *H. articulatus*.

Em relação à flora das savanas locais, podemos citar as seguintes espécies comercializadas que refletem uma boa demanda como:

***Himatanthus articulatus* (Vahl) Wood. – (Sucuba) – Apocynaceae**

Utilizada como agente anti-inflamatório, analgésico (MIRANDA et al., 2000) e antimalárico (MILLIKEN, 1995). As suas porções geralmente utilizadas são a casca, o látex e as folhas, sendo administradas principalmente por ingestão do látex puro ou diluído em água e pela infusão ou chá da casca e das suas folhas.

***Bauhinia unguolata* L. – (Pata de vaca) - Fabaceae**

Entre as inúmeras espécies vegetais de interesse medicinal, encontram-se as plantas do gênero *Bauhinia*, pertencentes à família Leguminosae, as quais são encontradas principalmente nas áreas tropicais do planeta, compreendendo aproximadamente 300 espécies. Muitas destas plantas são usadas como remédio na medicina popular em várias regiões do mundo, incluindo África, Ásia e América Central e do Sul. Os estudos fitoquímicos e farmacológicos realizados com estas plantas indicam que as mesmas são constituídas principalmente de glicosídeos esteroídicos, triterpenos, lactonas e flavonóides. No Brasil, as plantas do gênero *Bauhinia* são conhecidas como "pata-de-vaca" ou "unha-de-boi". As folhas, caules e raízes das espécies de *Bauhinia*, especialmente *B. manca*, *B. rufescens*, *B. forficata*, *B. cheitantha* e *B. splendens*, são amplamente utilizadas no Brasil e em outros países em forma de chás e outras preparações fitoterápicas para o tratamento de várias enfermidades, principalmente infecções, processos dolorosos e diabetes (SILVA; CECHINEL-FILHO, 2001).

Byrsonima crassifolia* (L.) H.B.K. - (Muruci, Mirixi) - *Malpighiaceae

A espécie *B. crassifolia*, localmente conhecida como muruci ou mirixi, se apresenta muito bem representada na savana do estado de Roraima e se caracteriza por uma eficiente ação antibacteriana, sendo utilizada medicinalmente por vários grupos étnicos das Américas (VASQUEZ et al., 1998). Suas cascas e folhas são utilizadas contra distúrbios gastro-intestinais, infecções cutâneas e como agentes anti-fúngicos. Segundo Cáceres et al. (1998), espécies como a *B. crassifolia* e a *Bixa orellana* L. são plantas utilizadas por comunidades indígenas para o tratamento de infecções contra fungos, bactérias e protozoários.

Esta espécie é geralmente utilizada como agente antibacteriano (CÁCERES et al., 1990; VASQUEZ et al., 1998), contra infecções provocadas pelo protozoário *Trypanosoma cruzi* (BERGER et al., 1998), como antimalárico (MILLIKEN, 1995), como reguladora das atividades do sistema nervoso central (CIFUENTES et al., 2001) e como agente antifúngico (CACERES et al., 1991). Suas porções mais utilizadas são casca, entrecasca, folhas e frutos e sua forma de administração é através de chás e infusões. Entretanto, nos últimos anos, este conhecimento está desaparecendo juntamente com as reservas naturais.

Curatella americana* L. - (Caimbé, Lixeira) - *Dilleniaceae

Utilizada como analgésico e anti-inflamatório (MOREIRA-ALEXANDRE, 1999), como agente vasodilatador (GUERRERO, 2002) e como antimalárico (MILLIKEN, 1995). Suas porções mais utilizadas são casca, entrecasca e folhas sob a forma de chás e infusões.

Além das espécies citadas, várias outras foram catalogadas por Milliken (1995) em um manual de plantas usadas no tratamento de malária no estado de Roraima (tabela 2).

Tabela 2. Algumas plantas usadas no tratamento de malária no estado de Roraima

Espécie	Nome vernacular	Família
<i>Artemisia vulgaris</i> L.	artemísia	Asteraceae
<i>Bauhinia unguolata</i> L.	mororó	Fabaceae
<i>Bidens cynapifolia</i> Kunth	picão	Asteraceae
<i>Bixa orellana</i> L.	urucum bravo	Bixaceae
<i>Carica papaya</i> L.	mamoeiro	Caricaceae
<i>Cecropia</i> spp.	embaúba	Cecropiaceae
<i>Cedrela odorata</i> L.	cedro amargo	Meliaceae
<i>Cenchrus echinatus</i> L.	capim carrapicho	Poaceae
<i>Croton cajucara</i> Benth	sacaca	Euphorbiaceae
<i>Eucalyptus</i> sp.	eucalipto	Myrtaceae
<i>Gossypium barbadense</i> L.	algodão roxo	Malvaceae
<i>Palicourea rigida</i> Kunth	douradão	Rubiaceae
<i>Persea americana</i> Mill.	abacateiro	Lauraceae
<i>Physalis angulata</i> L.	canapum	Solanaceae
<i>Phyllanthus niruri</i> L.	quebra-pedra	Euphorbiaceae
<i>Portulaca pilosa</i> L.	amor crescido	Portulacaceae
<i>Pothomorphe peltata</i> L.	caapeba	Piperaceae
<i>Scoparia dulcis</i> L.	vassourinha	Euphorbiaceae
<i>Solanum</i> spp.	jurubeba	Solanaceae
<i>Terminalia catappa</i> L.	castanhola	Combretaceae
<i>Vernonia condensata</i> Baker	boldo do chile	Asteraceae

Fonte: Milliken (1995) modificado.

1.3 Caracterização de *Himathantus articulatus* (Vahl) Wood.

1.3.1 Família: *Apocynaceae*

É uma família tropical e subtropical com poucos representantes em clima temperado, totalizando cerca de 200 gêneros e 2000 espécies. São plantas com látex branco e abundante, em alguns casos visíveis apenas nos ramos terminais e, neste caso, com coloração diferenciada vermelho-sangue ou acastanhado.

As folhas de suas árvores são opostas, verticuladas ou alternas, geralmente apresentando glândulas na base do limbo ou pecíolo. As estípulas são ausentes ou inconspícuas. As flores são bissexuais e geralmente vistosas, com corola tubulosa e os lobos torcidos no botão. Os seus filetes são parcialmente unidos ao tubo da corola e as anteras freqüentemente adnadas à dilatação terminal do estilete. Possui frutos simples, bagos, drupas, cápsulas ou mais freqüentemente folículos. Apresenta de uma a muitas sementes, secas ou ariladas, simples, aladas ou com coma apical. Seus frutos são dispersos por ventos e animais,

sendo relatadas várias espécies de macacos e aves consumindo os frutos (RIBEIRO et al., 1999).

1.3.2 Gênero: *Himatanthus*

Caracterizado por árvores pequenas a medianas com folhas alterno-espíraladas concentradas no ápice dos ramos. Dotadas de tronco circular com látex abundante, muito utilizado em emplastos e fraturas, e venação broquidódroma. Apresenta flores brancas, tubulosas e perfumadas que são freqüentemente polinizadas durante a noite por lagartas grandes e muito coloridas da espécie *Sphingidae* (RIBEIRO et al., 1999).

A distribuição destas espécies vicariantes ainda é confusa em Roraima, os primeiros levantamentos indicam que as principais espécies encontradas no estado de Roraima são *Himatanthus sucuuba* Spruce (M.Arg.) Wood., *H. articulatus* (Vahl) Wood. e *H. falax* (Müell. Arg.) Plumel. A primeira caracterizada como planta de floresta, a segunda espécie incidente em vegetação de savana e a terceira em campina-campinarana.

A espécie *H. sucuuba* é muito utilizada como planta medicinal e indicada para diversos tratamentos no Perú. A infusão de sua casca é muito utilizada contra tumores, artrite, como vermífugo e laxante (PERSINOS-PERDUE; BLOMSTER, 1978). No Brasil, seu látex é usado como agente anti-tumoral enquanto são atribuídos à sua casca propriedades anti-ulcerativas e afrodisíacas (VAN DEN BERG, 1984). Os caboclos e índios da Amazônia brasileira, geralmente bebem o chá da casca da sucuba como antitussígeno e analgésico (ELISABETSKY; CASTILHOS, 1990). Segundo Miranda et al. (2000), foi comprovada a atividade anti-inflamatória do seu látex, sendo este potencial atribuído a presença de triterpenos isolados e de acordo com Wood et al. (2001), testes com extratos da casca de *H. sucuuba* mostraram que esta espécie provoca a inibição da monoamino oxidase-B e significativa atividade cicatrizante *in vivo*.

Extratos etanólicos da casca de *H. ovatus*, espécie constituinte do cerrado brasileiro, demonstraram significativa ação contra formas amastigotas do parasita *Trypanossoma cruzi* e contra formas promastigotas de *Leishmania donovani*, sendo esta espécie utilizada ainda no combate ao câncer, herpes e verminoses (MESQUITA et al., 2005). Além destas bioatividades, esta espécie, segundo Fagundes et al. (2002), tem a capacidade de inibir “*in vitro*” a proliferação celular de células mononucleares presentes no sangue humano.

H. lancifolius, conhecida vulgarmente como “agoniada”, é amplamente utilizada no Brasil contra acessos de asma, dismenorréia e principalmente como agente abortivo, devido a sua capacidade de promover contrações e espasmos musculares (RATMANN et al., 2005) e de acordo com relatos de Souza, Sttinghen e Santos (2004), frações de alcalóides presentes na casca de indivíduos da espécie *H. lancifolius*, encontrada no Brasil, demonstraram um largo espectro de ação contra bactérias Gram (+) e Gram (-).

1.3.3 Espécie: *Himatanthus articulatus* (Vahl) Wood.

Árvore que pode alcançar aproximadamente 10 m de altura. É dotada de folhas simples e alterna-espíraladas (figura 2) e flores brancas, em campânulas de base amarela (figura 3). Apresenta tronco grosso e casca gretada, conforme visualizado nas figuras 4, 5 e 6, frutos fálicos verdes quando imaturos e marrom escuro quando maduro. Expele um tipo de leite (látex) branco, quando sofre algum tipo de corte em qualquer parte de sua estrutura. Em Roraima, sua casca, e seu leite (látex), são muito utilizados no combate ao câncer, malária, inflamação na garganta, dentre outras, sendo fartamente comercializada nas feiras livres de Boa Vista (PINTO; MADURO, 2003). É encontrada facilmente em beiras de estrada, mas principalmente em ambientes de savana parque à florestada, conforme definição de Barbosa e Miranda (2005), derivada de Ribeiro e Walter (1998) para ambientes similares do Brasil Central. Com relação à atividade farmacológica desta espécie, existem diversos relatos de utilizações, como os compilados por Milliken (1995; 1997), porém nenhum trabalho comprobatório foi realizado para nos servir como referencial.



Foto: R. I. Barbosa

2



5



Foto: R. I. Barbosa

3



6



4

Figura 2: Folhas e frutos de *Himatanthus articulatus*.

Figura 3. Flores de *Himatanthus articulatus*.

Figura 4. Aspecto da casca de *Himatanthus articulatus* com incisões para extração do látex.

Figura 5. Indivíduo de *Himatanthus articulatus* em savana do município de Boa Vista.

Figura 6. Indivíduo de *Himatanthus articulatus* em savana do município de Boa Vista.

1.4 Doenças fúngicas e bacterianas no Estado de Roraima.

A convivência de indígenas, migrantes atraídos pelo garimpo e para as colônias agrícolas e dos descendentes dos primeiros exploradores, muitas vezes gera situações de risco para as comunidades mais vulneráveis (MILLIKEN; ALBERT, 1997). Além do garimpo e da agricultura, um outro incentivo muito utilizado pelos políticos e governantes locais para atrair migrantes é a promessa de empregos públicos e moradias em conjuntos habitacionais subsidiados pelo governo em troca de votos em períodos eleitorais. Porém este enlace cultural não se dá de uma forma muito equilibrada, pois grande parte dessa população vive em condições precárias, insalubres e submetida a uma baixíssima qualidade de vida.

Esta realidade vivenciada por grande parte da população que vive em Roraima associada ao clima quente propicia um aumento na incidência de patologias infecciosas causadas por fungos, como a *Candida albicans*, bactérias Gram (+) como *Staphylococcus aureus* e Gram (-) como a *Escherichia coli*. Devido a estas condições, segundo as estatísticas hospitalares, o número de pacientes atendidos em hospitais públicos de Roraima portando doenças provocadas por microrganismos tem se tornado cada vez mais crescente, demonstrando um aumento considerável dos quadros de infecções do trato genitourinário, piodermites, infecções oculares, do aparelho respiratório, entre outras.

Segundo dados estatísticos do Laboratório Central de Roraima (LACEN), o principal agente etiológico de infecções urinárias de pacientes atendidos neste local entre os anos de 2004 e 2006 é a bactéria *E. coli*, correspondendo a cerca de 80% dos diagnósticos. No mesmo período foi evidenciado que o principal causador de infecções cutâneo-mucosas de origem fúngica é a levedura *C. albicans*, caracterizando cerca de 70% dos resultados e que o agente etiológico predominante nos casos de infecções oculares, piodermites, sepse e infecções hospitalares é a bactéria *S. aureus*, refletindo cerca de 90% dos casos e levando inclusive pacientes a óbito.

Os dados citados acima corroboram os dados obtidos no mesmo período no Laboratório Integrado de Análises Clínicas (LIAC), laboratório particular situado no município de Boa Vista - Roraima, que evidenciou *E. coli* como o agente prevalente em caso de infecções genitourinárias (90%), *C. albicans* como o principal ator nos casos de infecções fúngicas cutâneo-mucosas (65%) e a bactéria *S. aureus* como causadora em potencial de quadros de infecções ocular, piodermite, dentre outras (93%).

Tal incidência torna-se preocupante se levarmos em consideração que a população indígena tem sua existência sustentada por uma complexa interdependência entre sistema

produtivo, espaço territorial e equilíbrio nutricional; condições estas que não são respeitadas pelo convívio danoso com garimpeiros, posseiros e grandes latifundiários, o que gerou uma situação de imunodepressão nesses indivíduos tornando-os suscetíveis e conseqüentemente alvo constante deste grupo de patologias infecciosas, que são agravadas pelo déficit nutricional. Ao nos deslocarmos das regiões indígenas para a área urbana em especial às áreas periféricas da capital do Estado, cidade de Boa Vista, nos deparamos com uma situação não muito diferente, onde as precárias condições de higiene e saneamento básico, a falta de informações e principalmente o deficiente sistema de saúde tornam-se fatores colaboradores em potencial para a instalação dos quadros patológicos anteriormente citados. Sabe-se que muitas vezes tais microrganismos tornam-se resistentes aos antimicrobianos convencionais e a utilização de antibióticos naturais pode se tornar uma terapia alternativa de baixo custo e mais acessível para as populações que residem longe dos pólos urbanos que detêm o atendimento básico. Levando em consideração os dados fornecidos pelos laboratórios e a importância clínica destes dados no Estado de Roraima, é de extrema relevância a caracterização das espécies de microrganismos patogênicos mais incidentes nesse Estado.

1.4.1 *Escherichia coli*

Bacilo fermentador Gram (-) predominante no intestino grosso. Sua presença em água de abastecimento costuma indicar contaminação fecal e por isso as provas de sua presença são amplamente usadas em laboratórios de saúde pública (KONEMAN et al., 1999).

As doenças humanas mais comumente causadas por esta bactéria são as do trato urinário acometendo principalmente crianças, gestantes, indivíduos imunodeprimidos e pacientes com lesões obstrutivas do trato urinário ou com doenças neurológicas que afetam a micção (DAVIS et al., 1985). As infecções urinárias provocadas por *E. coli* podem produzir lesões renais, uretrais e na bexiga. Além disso, é via de regra encontrada juntamente com outras enterobactérias em casos de peritonite e apendicite e infectando a pele dos períneos e dos genitais, bem como os ferimentos que se contaminam com fezes ou urina (CANÇADO et al., 2001).

1.4.2 *Staphylococcus aureus*

Microrganismo esférico Gram (+) que se organiza crescendo em forma de cachos. Causa uma ampla variedade de doenças supurativas no homem, incluindo furúnculos, antraz, osteomielite, abscessos de tecidos profundos, infecções de traumatismos, pneumonia, empiema, endocardite, meningite, infecções oculares, piodermites, sepses etc. (CANÇADO et al., 2001). Além disso, certas estirpes elaboram uma enterotoxina que causa intoxicação alimentar.

Uma grande preocupação da ciência é que o *S. aureus* frequentemente se torna resistente às drogas, passando a ocupar dessa forma, em uma época em que a quimioterapia moderna avança juntamente com a tecnologia, uma posição de especial significado em clínica (HENRY, 1995).

1.4.3 *Bacillus subtilis*

É uma espécie de bacilo saprófita, Gram (+), que na maioria das vezes é cultivado na pele, no trato respiratório, ou mesmo no sangue como componente da microbiota, ou seja, sem causar nenhum quadro infeccioso (HENRY, 1995). Porém, em alguns casos pode causar infecções oculares ou tornar-se um invasor oportunista na presença de um material prostético estranho no corpo humano (DAVIS et al., 1985). Este bacilo é de extrema importância comercial, pois a partir dele é produzido o antibiótico polipeptídico bacitracina (CANÇADO et al., 2001).

1.4.4 *Candida albicans*

É um fungo dimórfico que pode crescer tanto sob a forma de células leveduriformes quanto sob a forma de pseudo-hifas. A *C. albicans* está frequentemente presente nas mucosas normais da boca, da vagina e do trato intestinal em pessoas saudáveis. Porém, pode tornar-se patógeno virulento nas pessoas imunodeprimidas, nas pessoas intensamente tratadas com antibioticoterapia ou com imunossupressores (DAVIS et al., 1985). Nos casos citados anteriormente, o microrganismo pode tornar-se invasivo, produzindo uma série de lesões agudas ou crônicas como as candidíases oral, vulvovaginal, broncopulmonar e intertriginosa bem como a endocardite (CANÇADO et al., 2001).

1.5 Resistência bacteriana e fúngica aos agentes antimicrobianos

Os mecanismos de resistência bacteriana são complexos e variados e ainda não foram compreendidos por completo pela ciência. Porém com o avanço das ferramentas da biologia molecular estes mecanismos passaram a ser elucidados com mais facilidade (KONEMAN et al., 1999). Para compreender os mecanismos de resistência bacteriana, se faz necessário co-relacionar a fisiologia bacteriana, a farmacologia das drogas antimicrobianas e a biologia molecular dos agentes infecciosos (HENRY, 1995). Além destes fatores isolados, muitas bactérias apresentam múltiplos mecanismos de resistência que se complementam.

Vários métodos laboratoriais podem ser utilizados para verificar a sensibilidade ou a resistência dos microrganismos frente aos inúmeros antimicrobianos disponíveis no mercado. Um dos mais empregados atualmente é o que utiliza discos impregnados com substâncias antimicrobianas que serão difundidas em ágar contendo o inóculo semeado. Caso o patógeno seja sensível à droga, haverá a formação de um halo inibitório do seu crescimento, caso contrário, isso não ocorrerá. Porém não basta apenas testarmos a sensibilidade do agente patogênico, é necessário sabermos também em que concentração mínima (MIC) a droga é capaz de produzir efeito sobre o microrganismo inibindo seu crescimento (CANÇADO et al., 2001). Desta forma, utilizando a MIC é mais seguro estabelecermos as concentrações adequadas para a produção do efeito desejado.

As bactérias apresentam genes de resistência que podem encontrar-se tanto no cromossomo, quanto em um elemento extracromossômico denominado plasmídeo. Os plasmídeos são peças circulares de DNA que atuam independente dos cromossomos. Desta forma, enquanto o DNA cromossômico é relativamente estável, o DNA plasmidial se modifica com facilidade entre gêneros diferentes, espécies diferentes e até mesmo cepas diferentes. Além disso, a vinculação dos genes de resistência para múltiplos antibióticos permite a transferência em massa da capacidade de resistência para novos microrganismos (KONEMAN et al., 1999).

O mecanismo mais comum de transferência de genes de resistência é a conjugação, principal forma de reprodução bacteriana, mas para que isso ocorra é necessária a presença de um fator de transferência genética adicional antes que um plasmídeo que transporta um gene possa transmitir-se de um microrganismo para outro. O fator de transferência mais utilizado é o transposon (elemento genético transponível) que transporta porções inteiras de plasmídeos, contendo os genes de resistência, de uma bactéria para outra. Um outro fator que é determinante para o desenvolvimento da resistência bacteriana é a sua velocidade de

reprodução extremamente rápida, o que possibilita a transferência dos genes resistentes para outras bactérias de forma muito acelerada, onde os microrganismos variantes surgem mais resistentes e conseqüentemente mais aptos a lutarem pela sua sobrevivência (HENRY, 1995).

Para produzir o efeito desejado, o antibiótico deve encontrar sítios de ligação no interior da célula bacteriana, porém até que haja o contato com os sítios ativos, o antimicrobiano deve penetrar a parede e a membrana celular; o que gera algumas diferenças de ação entre as bactérias Gram (+) e Gram (-), já que as mesmas apresentam constituição diferenciada.

As bactérias Gram (+) apresentam uma única membrana celular com uma generosa capa externa formada por peptidoglicana. Já as bactérias Gram (-), possuem além da membrana plasmática interna, uma membrana celular externa e entre as duas uma capa delgada de peptidoglicana. Logo, o transporte das drogas através da membrana das bactérias Gram (+) é mais fácil que aquele que se dá entre as bactérias Gram (-), que por sua vez apresentam duas membranas atuando como obstáculos (BURROWS; MOULDER; LEWERT, 1965).

O método mais simples para a entrada das drogas no interior das células é a difusão direta através da membrana lipídica, porém substâncias muito hidrófilas têm dificuldades de atravessar a bicapa lipídica.

Um outro mecanismo importante de resistência presente em algumas bactérias é a eliminação ativa de antibióticos pela célula, de tal forma que as concentrações intracelulares nunca alcançam um nível suficiente para ter efeito antimicrobiano. Esta eliminação é feita através de substâncias transportadoras como a proteína externa de membrana (OprK). As cepas mutantes que têm produção excessiva desta proteína mostram resistência a múltiplos antibióticos, enquanto as cepas que perderam essa capacidade de produção apresentam maior suscetibilidade aos antimicrobianos (HENRY, 1995).

Para utilização adequada do antibiótico é necessário levar em consideração alguns fatores indispensáveis como a escolha da droga adequada para a espécie bacteriana em questão, a posologia e a via de administração. Respeitar os intervalos indicados para a administração da droga é imprescindível para impedir a replicação do microrganismo, caso contrário o medicamento não produzirá o efeito desejado, além de contribuir para o desenvolvimento do processo de resistência bacteriana. Utilizar sub-doses também implicará na não obtenção do efeito desejado do fármaco (CANÇADO et al., 2001).

Com relação à resistência desenvolvida por fungos existem poucas informações. Sabe-se muito pouco a respeito dos mecanismos genéticos, bioquímicos e antigênicos que

regulam esses microrganismos. Sabe-se que em vista das diferenças fisiológicas entre fungos e bactérias, eles respondem de maneira diferente aos quimioterápicos (KONEMAN et al., 1999).

1.6 Diagnóstico da saúde em Roraima

Segundo minha experiência pessoal, atuar como profissional de saúde no estado de Roraima é vivenciar diariamente as idas e vindas de uma parcela da população, a de menor poder aquisitivo, em busca de uma assistência em saúde adequada. Vivemos em um Estado onde a maior parte da população é constituída de imigrantes que vieram em busca de melhores condições de vida, geralmente fazendo parte de um fluxo migratório estimulado pelos períodos eleitorais, com o objetivo de criar verdadeiros currais eleitorais ou massas de manobra.

Com a chegada ao Estado, essas pessoas passam a integrar uma parcela de desvalidos que vivem a margem da sociedade, refletindo o sentido literal da palavra periferia, sem nenhuma condição de saneamento básico, higiene e muitas vezes sem ter sequer energia elétrica, ou seja, vivendo em condições insalubres e tendo que conviver com verdadeiras valas a céu aberto que encham e transbordam a cada chuva mais intensa. Geralmente nesses períodos há um aumento considerável na incidência de patologias de veiculação hídrica e transmissão fecal-oral como infecções bacterianas, micoses e infecções virais.

Além disso, convém citarmos que uma parcela da população reside em assentamentos e bairros que já saíram dos limites urbanos e adentraram nas áreas de vegetação nativa, invadindo dessa forma o hábitat natural de animais vertebrados e invertebrados como o mosquito *Anopheles*, agente transmissor da malária. Devido a isso o Estado tem atravessado epidemias cada vez mais sérias de malária, tanto causada pelo *Plasmodium vivax* quanto pelo *falciparum*.

Se nos detivermos sobre as comunidades indígenas de Roraima, podemos relatar um aumento vertiginoso de doenças infecto-contagiosas que até algum tempo atrás não faziam parte da rotina dessas comunidades como a tuberculose, a hepatite, a gripe e a hanseníase, dentre outras, devido ao contato mais intenso com os “brancos”, posseiros, garimpeiros e fazendeiros que invadem o espaço indígena sem nenhum respeito ou cuidado.

Aliado a todo esse quadro está a ineficiência de políticas públicas nacionais e estaduais que não garantem atendimento adequado e digno à sociedade e um mercado

industrial farmacêutico que produz medicamentos cotados em preços que não condizem com a realidade aquisitiva da população.

Neste caso, uma forma de tentar minimizar essa situação caótica é estimular a pesquisa sobre o potencial natural de Roraima, através da utilização de seus recursos naturais como agentes terapêuticos. A flora da savana (lavrado) do Estado apresenta um rico acervo de espécies que são costumeiramente utilizadas como fármacos e as quais são atribuídos inúmeros efeitos curativos, como é o caso da sucuba (*H. articulatus*), que é considerada uma das plantas mais utilizadas pela população local. Estimular o estudo da flora local é gerar novas possibilidades e perspectivas de produção de medicamentos com preços mais acessíveis e quem sabe até com maior eficiência do que os já disponíveis no mercado atual, bem como educar a sociedade para a conservação ambiental de uma paisagem que gradativamente está sendo substituída por plantações de soja, de arroz irrigado, de espécies exóticas como a *Acacia mangium* e por garimpos “clandestinos”.

Buscar e gerar informações sobre o potencial antimicrobiano da sucuba é também uma maneira de proteger seu potencial genético, desta forma tanto a natureza quanto a espécie humana são beneficiadas com mais uma alternativa farmacológica.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Estudar a atividade antimicrobiana de extratos de *Himathantus articulatus* (Vahl.) Wood. contra cepas ATCC e clínicas de interesse epidemiológico.

2.2 Objetivos Específicos

- ✓ Comparar qualitativamente a atividade antimicrobiana de dois indivíduos de *H. articulatus*;
- ✓ Testar a atividade antimicrobiana dos extratos frente a cepas ATCC e clínicas de *S. aureus*, *E. coli*, *B. subtilis* e *C. albicans*;
- ✓ Descobrir extratos com atividade antimicrobiana e relacionar sua atividade com o uso popular;
- ✓ Determinar a Carga Inibitória Mínima (MIC) de extrato capaz de produzir efeito antimicrobiano contra os microrganismos testes;
- ✓ Comparar a atividade antimicrobiana do látex de *H. articulatus* colhido de dois indivíduos durante o experimento com a atividade do látex comercializado nas feiras;
- ✓ Selecionar os extratos com atividade significativa para realização do fracionamento biomonitorado.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Escolha da espécie

A espécie *H. articulatus* foi selecionada a partir de informações obtidas junto à comunidade local que preconiza sua utilização em larga escala contra infecções fúngicas, úlceras gástricas e como agente cicatrizante. As várias partes dessa planta, conhecida vulgarmente como sucuba, são comumente comercializadas nas barracas de plantas medicinais das feiras livres do município de Boa Vista, Estado de Roraima. Das porções da planta que são comercializadas, o látex; substância extraída da casca e da entrecasca da mesma é a mais procurada pela comunidade local. O valor do mililitro deste material para a venda em feiras está em torno de R\$ 0,37 centavos (Junho/2006) e pode variar conforme o aumento da demanda.

3.2 Local de coleta

Os espécimes selecionados foram coletados no município de Boa Vista, Estado de Roraima, em área da Universidade Federal de Roraima – Campus do Cauamé, na região do Monte Cristo, conforme visualizado na figura 7. A área amostral caracteriza-se por constituir uma Savana Parque, apresentando um estrato herbáceo do qual emergem arvoretas de troncos tortuosos, casca espessa e rachada. A coleta foi realizada no dia 03 de setembro de 2005 às 7 horas da manhã em dia de sol e forte calor.

3.3 Desenho experimental

Foram selecionados dois indivíduos de classe ontogênica adulta, para evitar traumas aos indivíduos mais jovens, da espécie *H. articulatus*. Ambos foram georeferenciados com as seguintes coordenadas: indivíduo 1 (02°52'03''n / 60°43'01''w) e indivíduo 2 (02°52'02''n / 60°42'59''w). Do indivíduo 1 foram coletados 1.600 g de folhas, 2.000 g de galhos e 500 g de casca distribuídos igualmente em sua porção inferior, média e superior, além de 300 ml de látex que foi extraído segundo o método utilizado pela comunidade local, que promove cortes na casca e na entrecasca da árvore, espera o látex ser liberado e coleta o mesmo com uma esponja embebida em água. Do indivíduo 2, foram coletados 1.700 g de folhas, 2.300 g de

galhos, 500 g de casca e 300 ml de látex, conforme o padrão de coleta usado com o indivíduo 1. Além destas porções, no indivíduo 2, foi possível realizarmos a coleta de 100 g de entrecasca, diferindo assim do indivíduo 1, onde havia escassez deste material e por este motivo, para não sacrificarmos a árvore, não foi efetuada a coleta. Além de utilizarmos o látex coletado em campo, também adquirimos 400 ml de látex de sucuba comercializado na feira para compararmos os resultados referentes a sua atividade antimicrobiana.

Foram confeccionadas exsicatas de cada indivíduo contendo folhas, flores e frutos que posteriormente foram depositadas nos herbários do Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia (INPA), sito à cidade de Manaus, Estado do Amazonas, com a numeração 216.259 e da Universidade Federal de Roraima (UFRR), Boa Vista, Roraima.



Figura 7. Localização dos indivíduos 1 e 2 de *Himatanthus articulatus* em área de savana da Universidade Federal de Roraima, município de Boa Vista.

3.4 Secagem das amostras

O material vegetal coletado menos suculento como folhas, casca e entrecasca foram secos à sombra (ar condicionado) até peso constante. Já o material vegetal suculento ou com alto teor aparente de umidade, como os galhos, foi seco em estufa a 50 °C (KOROKOLVAS, 1988).

Após o período de secagem, o material foi novamente pesado e o peso seco comparado com o peso úmido obtido a partir do material fresco, para a obtenção do percentual de umidade.

3.5 Moagem das amostras

As amostras previamente secas (folhas, galhos e cascas dos indivíduos 1 e 2 e a entrecasca do indivíduo 2) foram moídas em moinho tipo Willye TE-650-Tecnal. O látex, por ter consistência líquida teve seu volume determinado em proveta graduada.

3.6 Extração metanólica

Os extratos foram preparados no Laboratório de Princípios Ativos da Amazônia (LAPAAM – INPA) seguindo os padrões comumente adotados pela equipe desse laboratório.

As amostras pulverizadas dos indivíduos 1 e 2 (exceto o látex) foram submetidas a 3 extrações contínuas de 6 horas cada em aparelho soxhlet, utilizando para este fim 800 ml do solvente metanol (MeOH). Depois do término das extrações, as amostras foram reservadas em balões devidamente etiquetados e identificados com os códigos de cada extrato. O látex não sofreu nenhum tipo de extração.

3.7 Extração com solventes de polaridade crescente (P.C.)

As amostras de material vegetal pulverizado dos indivíduos 1 e 2 (exceto o látex e a entrecasca) foram submetidas a duas extrações contínuas de 6 horas cada em aparelho soxhlet, utilizando para este fim 800 ml dos seguintes solventes em ordem de utilização: hexano (Hex), acetato de etila (AcOEt) e metanol (MeOH). As amostras foram secas sempre antes de cada troca de solvente. Após o término das extrações, os extratos foram acondicionados em balões volumétricos devidamente identificados com etiquetas contendo o código de cada extrato.

3.8 Evaporação rotatória dos extratos

Após a produção dos extratos, os mesmos foram submetidos a um processo de rotaevaporação, com o objetivo de concentrá-los ao máximo (SIMÕES et al., 1999). Para este procedimento foi utilizado um aparelho rotaevaporador que funciona sob vácuo com auxílio de banho de aquecimento. A partir do vácuo e dos movimentos rotatórios, ocorre a separação do extrato da planta e dos solventes, os quais foram então recuperados a partir desse processo e serão reutilizados pelo laboratório após processo de purificação por destilação fracionada.

3.9 Acondicionamento dos extratos concentrados

Os extratos já concentrados por rotaevaporação, foram transferidos para frascos de vidros etiquetados e com pesos previamente determinados em balança analítica e posteriormente foram acondicionados em estufa a 40°C por 24 horas para garantir evaporação mais eficiente dos possíveis resíduos de solventes. Após este intervalo de 24 horas, os extratos foram então congelados em freezer com temperatura de -19°C pelo período de um mês.

3.10 Liofilização dos extratos

Após o período de um mês, os extratos produzidos e o látex sofreram processo de liofilização para garantir a evaporação máxima de resíduos de solvente e água, garantindo dessa forma sua máxima concentração. O látex adquirido na feira não sofreu liofilização, pois foi interessante testá-lo na maneira como é consumido pela população local, ou seja, sem passar por nenhum processo laboratorial de concentração da amostra. Os extratos liofilizados foram armazenados no freezer.

3.11 Solubilização dos extratos liofilizados

As amostras liofilizadas foram então solubilizadas novamente MeOH, utilizando uma proporção de 10 mg de cada extrato para 1 ml de solvente (10g/L). Posteriormente os extratos e os látex solubilizados foram acondicionados em vidros identificados, devidamente

vedados por um período de 48 h até a realização dos bioensaios. O látex adquirido na feira também foi misturado em solvente, seguindo a proporção das amostras liofilizadas.

3.12 Ensaios farmacológicos *in vitro* (bioensaio)

A atividade antimicrobiana foi verificada no laboratório de Microbiologia da Universidade Federal de Roraima, segundo o método de Kirby e Bauer (KONEMAN et al., 1999). A técnica baseia-se na inibição do crescimento de microrganismos na superfície de um meio de cultura inoculado com as bactérias testes (clínicas e ATCC - American Type Culture Collection), através da utilização de discos do tipo blank de papel de filtro estéreis, impregnados com 25 extratos de *Himathantus articulatus* (sucuba) e com látex da mesma. O resultado positivo para a atividade inibitória foi evidenciado pela presença de halos de inibição em torno dos discos que foram medidos com régua.

3.12.1 Microrganismos utilizados no bioensaio

Para este ensaio foram utilizadas as seguintes cepas:

- *Candida albicans* ATCC 0028L / UFRGS
- *Candida albicans* (LACEN)
- *Staphylococcus aureus* ATCC 12600
- *Staphylococcus aureus* (LACEN)
- *Bacillus subtilis* ATCC 6633 / DAUFPE-86
- *Bacillus subtilis* (LACEN)
- *Escherichia coli* ATCC 25922 / DAUFPE
- *Escherichia coli* (LACEN)

3.12.2 Procedimentos

As cepas de bactérias citadas acima (ítem 3.12.1), inicialmente foram semeadas em placas de Petri contendo ágar nutriente, enquanto as fúngicas em placas contendo ágar Sabouraud, utilizando para isso a técnica em esgotamento de placa (HENRY, 1995) e acondicionadas em estufa a 36° C por um intervalo de 48 horas. De acordo com Cançado et al. (2001), após este período, aproximadamente 5 colônias foram transferidas das placas de

Petri para tubos de ensaio contendo 5 ml de caldo de enriquecimento BHI, perfazendo a turbidez 0,5 (escala de Mac Farland) e novamente incubadas em estufa a 36°C por um período de 24 horas. Enquanto as cepas permaneciam na estufa, aplicaram-se 100 µl, utilizando pipeta semi-automática, dos extratos solubilizados em cada disco blank, o que significa a carga de 1 mg de extrato por disco. Depois de receberem os extratos, os discos impregnados foram incubados em estufa a 40°C por 12 horas para evaporação do solvente de modo que nos discos permanecessem apenas os extratos sem os solventes de solubilização, que se estivessem presentes poderiam interferir nos testes microbianos. Com o término deste período, cada inóculo bacteriano semeado em caldo BHI foi repicado utilizando a metodologia da placa cheia, através de um swab, para placas de Petri contendo o meio de cultura ágar Mueller Hinton, enquanto as duas cepas fúngicas foram semeadas em ágar Sabouraud.

3.12.3 Aplicação dos discos contendo os extratos

Cada placa de ágar Mueller Hinton já contendo o inóculo, recebeu 9 discos blank de 6 mm cada, impregnados com 3 extratos distintos. Cada extrato estava representado por 3 discos, de forma que se houvesse formação de halo inibitório de crescimento do microrganismo, os diâmetros dos halos dos 3 discos de cada extrato seriam somados e obter-se-ia a média e o desvio padrão dos três como resultado final. Após aplicação dos discos contendo os extratos e os látex para cada microrganismo, incubou-se as placas (10 placas por microrganismo) em estufa a 36° por 24 horas (KONEMAN et al., 1999). Passado o intervalo preconizado, as placas foram retiradas da estufa e com auxílio de uma régua milimetrada os halos formados ao redor dos discos foram mensurados, sendo considerado positivo o diâmetro a partir de 12 mm, equivalente ao do antibiótico industrial vancomicina.

3.12.4 Concentração inibitória mínima (MIC)

Os extratos com resultados inibitórios mais significativos passaram por sucessivos processos de diluição a partir da concentração padrão que é de 10 mg do extrato para 1 ml do solvente. Após essas diluições, que produziram concentrações de 5,0 mg/ml (carga de 0,5 mg por disco) e 2,5 mg/ml (carga de 0,25 mg por disco), repetiu-se todo o procedimento citado no item 3.12.2 e novamente realizou-se a leitura do diâmetro dos halos inibitórios. As diluições

sucessivas cessaram ao tingirmos a última carga de extrato em disco capaz de produzir ação antimicrobiana.

3.13 Análise dos dados

Inicialmente os dados foram analisados visualmente pela medição do diâmetro dos halos de inibição do crescimento bacteriano e pela determinação das médias e dos desvios padrão, comparando-os com o diâmetro do halo produzido pelo antibiótico comercial vancomicina (12 mm) que atua como controle positivo. Através de agrupamento dos dados, a eficiência dos extratos, das concentrações utilizadas e o comportamento das cepas ATCC e clínicas dos microrganismos foram comparada através de tabelas de contingência dicotômicas, que tratam variáveis com frequências independentes, utilizando o método qui-quadrado. Este método é segundo Zar (1999), o mais comum para analisar dados de tabelas de contingência.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Determinação do peso do material colhido

O material vegetal colhido teve seu peso determinado em balança analítica antes e após secagem e moagem conforme tabela 3.

Tabela 3. Massa do material vegetal fresco e seco (folha, galho, casca e entrecasca) de indivíduos de *Himatanthus articulatus*.

Indivíduo	Parte	Fresco (g)	Seco (g)	Perda de massa ao secar (%)
1	Folha	1.600	922	42,4
	Galho	2.000	1005	49,7
	Casca	500	458	8,4
2	Folha	1.700	888	47,8
	Galho	2.300	1490	35,3
	Casca	500	460	8,0
	Entrecasca	100	56	44,0

A diferença entre as massas das partes da planta frescas e secas pode estar relacionada com o teor de água presente em cada uma e com o comportamento dos espécimes durante a secagem. O método de moagem pode explicar a diferença grande entre a massa do material seco e do pulverizado, haja vista que o moinho de facas é responsável por uma grande perda de água durante a moagem.

4.2 Extratos brutos e em polaridade crescente

Nesse trabalho optou-se pela extração a quente em metanol de material vegetal moído (tabela 4), isso devido à capacidade do metanol extrair constituintes detentores de uma gama de polaridades, relacionada às propriedades desse solvente. Para efetuar screening, os extratos metanólicos foram considerados adequados, refletindo uma boa detecção da atividade antimicrobiana.

Por outro lado, a extração das amostras de material vegetal utilizando a seqüência de polaridade crescente (hexano, acetato de etila e metanol), nos permite avaliar separadamente a fração de constituintes menos polares, a fração de polaridade intermediária e a de maior polaridade respectivamente para a atividade antimicrobiana. Desta forma gerando um entendimento maior sobre a natureza química dos princípios ativos, além de priorizar extratos para uso fitoterápico e isolamento biomonitorado futuro.

O teor extrativo de cada extrato foi então calculado com a utilização da seguinte fórmula: [massa do extrato liofilizado (g) x 100] / massa da serragem (g).

Tabela 4. Massa dos extratos de partes vegetais de *Himatanthus articulatus* e seus teores extrativos.

Espécimes	Parte	Serragem (g)	Extrato	Extrato (g)	Extrato liofilizado (g)	Teor extrativo (%)
1	Folha	70	MeOH	114,3607	17,45	24,93
			Hex	115,2062	4,65	6,64
			AcOEt	114,1619	2,79	3,99
			MeOH	112,7328	4,98	7,11
	Galho	70	MeOH	49,4233	6,33	9,04
			Hex	113,5613	0,99	1,41
			AcOEt	113,0178	1,02	1,46
			MeOH	115,6922	1,65	2,36
	Casca	50	MeOH	49,7760	1,02	2,04
			Hex	115,4241	1,13	2,26
			AcOEt	115,0020	0,94	1,88
			MeOH	113,9471	0,61	1,22
2	Folha	70	MeOH	115,3943	20,32	29,03
			Hex	112,6372	4,58	6,54
			AcOEt	115,3530	2,59	3,70
			MeOH	113,3754	9,93	14,19
	Galho	70	MeOH	50,3301	7,28	10,40
			Hex	115,0984	0,92	1,31
			AcOEt	114,0399	0,90	1,29
			MeOH	114,2437	1,14	1,63
	Casca	50	MeOH	49,8922	2,03	4,06
			Hex	115,0022	0,48	0,96
			AcOEt	115,1510	0,39	0,78
			MeOH	117,0985	0,71	1,42
Entrecasca		35	MeOH	48,1940	7,09	20,25

4.3 Ação antimicrobiana

Dos extratos testados contra os microrganismos (metanólicos, acetato de etila e hexânicos) produzidos a partir das partes (galhos, folhas, casca e entrecasca) de *H. articulatus*, somente os extratos metanólicos produziram halo de inibição de crescimento bacteriano, bem como o látex colhido durante o experimento e o látex comercial (figuras 8 e 9).

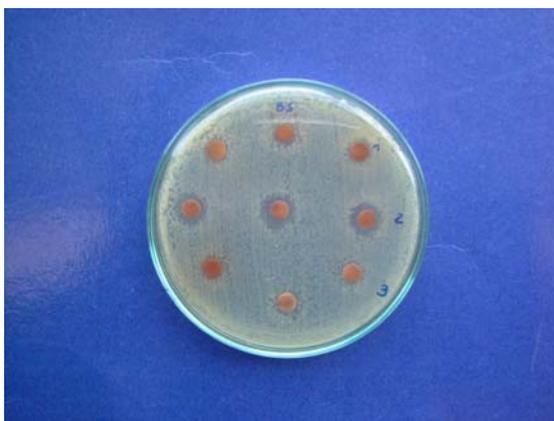


Figura 8. Ação dos discos contendo extratos metanólicos da folha de *Himatanthus articulatus* sobre o patógeno *Staphylococcus aureus* ATCC.



Figura 9 Ação dos discos impregnados com látex de *Himatanthus Articulatus* comprado na feira sobre a levedura *Candida albicans* ATCC.

Do total de 25 extratos testados contra *S. aureus* ATCC e clínico (metanólicos, acetato de etila e hexânicos) produzidos a partir das partes (galhos, folhas, casca e entrecasca) dos indivíduos 1 e 2 de *H. articulatus*, somente os extratos metanólicos brutos e em P.C. das

folhas dos indivíduos 1 e 2 produziram halo de inibição de crescimento bacteriano (tabela 5). O látex colhido dos indivíduos, bem como o comprado na feira não produziu nenhum efeito inibitório contra o referido patógeno.

Tabela 5. Ação dos extratos metanólicos brutos e em polaridade crescente de folhas de *Himatanthus articulatus* em diferentes cargas contra o crescimento de cepas clínica e ATCC de *Staphylococcus aureus*.

Indivíduos	Parte / Extrato	Cepas	Carga (mg/disco) / halo (mm)		
			0,25	0,5	1,0
Indivíduo 1	folha / bruto	ATCC	-	12 ± 0,5	13 ± 0,5
		Clínica	-	14 ± 0,5	15 ± 0,0
	folha / P.C.	ATCC	-	13 ± 0,5	14 ± 0,5
		Clínica	-	14 ± 0,0	16 ± 0,5
Indivíduo 2	folha / bruto	ATCC	-	14 ± 0,5	16 ± 0,5
		Clínica	-	13 ± 0,0	15 ± 1,0
	folha / P.C.	ATCC	-	13 ± 0,5	14 ± 0,5
		Clínica	-	13 ± 0,0	15 ± 0,5

Os extratos metanólicos brutos e P.C. de folhas de *H. articulatus* produziram inibição do crescimento de cepas de *S. aureus* em concentrações de 5 mg/ml (0,5 mg/disco) e 10 mg/ml (1,0 mg/disco), gerando halos com diâmetros que variam entre 12 mm e 16 mm, sendo considerados dessa forma como produtores de resultados positivos. Ao compararmos esses resultados com os obtidos com os extratos de folhas de outras plantas do cerrado brasileiro como *B. virgilioides*, *B. coccolobifolia*, *B. intermedia* e *B. verbascifolia* (ALVES et al., 2000) em uma carga de 1,0 mg de extrato por disco, percebe-se que os halos de inibição produzidos pelos extratos de folhas de *B. virgilioides*, *B. coccolobifolia* e *B. verbascifolia* apresentaram um diâmetro situado entre 13 e 18 mm, enquanto que os extratos de folhas de *B. intermedia* não produziram nenhum halo de inibição de crescimento bacteriano. Esquenazi et al. (2002) encontraram atividade inibitória positiva contra *S. aureus* utilizando extratos aquosos de *Cocos nucifera* L. utilizando 1,0 mg de extrato por disco, enquanto Cáceres et al. (1998) utilizando extratos metanólicos de *Bixa orellana* L. e *B. crassifolia* contra o mesmo patógeno atingiram o resultado positivo com uma MIC de 5,0 mg de extrato. Segundo Lopez, Hudson e Towers (2001), extratos metanólicos de *B. verbascifolia* e *Solanum sp.* produziram inibição do crescimento desse microrganismo a partir de 2,0 mg por disco, já para VAZQUEZ et al.

(1998) os halos inibitórios foram produzidos a partir de 0,25 mg de extratos de acetato de etila preparados com cascas de *B. crassifolia* por disco. Esta diminuição de concentração pode estar relacionada a uma maior afinidade do solvente. De maneira geral, os extratos de sucuba, produziram ótimos resultados quando comparados aos produzidos por outras plantas do cerrado. A maioria dos autores citados acima obteve resultados positivos apenas a partir da carga de 1,0 mg de extrato por disco, enquanto os extratos de folha de sucuba produziram ação inibitória utilizando carga de 0,5 mg por disco, o que demonstra um ótimo desempenho como agente antimicrobiano.

Os resultados obtidos neste trabalho corroboram o conhecimento tradicional quando preconiza a utilização de chás e infusões de folhas de *H. articulatus* contra otites, piodermes, infecções oculares, dentre outras, haja vista serem esses quadros infecciosos causados na maioria das vezes (90 %) pela bactéria *S. aureus*. Porém, divergem da utilização tradicional quando mostram que o látex, porção mais utilizada terapeuticamente nestes casos, não demonstra nenhum efeito inibitório contra esta bactéria a partir da metodologia que foi aplicada neste trabalho. Talvez em outras concentrações, utilizando outra metodologia ou com a utilização de outros solventes se obtenha um resultado distinto.

De todos os extratos testados contra *B. subtilis* (metanólicos, acetato de etila e hexânicos) produzidos a partir das partes (galhos, folhas, casca e entrecasca) dos indivíduos de *H. articulatus*, somente os extratos metanólicos brutos e P.C. da folha e da casca, produziram halos de inibição de crescimento bacteriano. Porém, alguns halos produzidos apresentaram diâmetro inferior a 12 mm. (controle positivo), não sendo considerados ativos neste experimento. Semelhante a ação ocorrida contra *S. aureus*, o látex colhido dos indivíduos 1 e 2 e o comercializado na feira também não produziram nenhum efeito inibitório contra *B. subtilis* (tabela 6).

Comparando os resultados produzidos por extratos de *H. articulatus* com os de outras plantas do cerrado, verificamos que a partir de 0,5 mg de extrato por disco (MIC), os extratos de folhas e cascas de *H. articulatus* produziram halos inibitórios do crescimento de cepas ATCC e clínica de *B. subtilis*, produzindo halos de até 17 mm de diâmetro, o que demonstra uma relevante atividade antimicrobiana, se levarmos em consideração que o padrão utilizado para conferir positividade ao resultado é de 12 mm de diâmetro.

Vazquez et al. (1998), verificaram que com uma carga de 0,25 mg por disco, extratos de acetato de etila de cascas de *B. crassifolia* produziram halo de inibição de aproximadamente 21 mm de diâmetro, utilizando 0,5 mg produziram halos de 22 mm de diâmetro e 1,0 mg produziram halos com 26 mm de diâmetro.

Tabela 6. Ação de extratos metanólicos brutos e em polaridade crescente de *Himatanthus articulatus* em diferentes cargas contra o crescimento de cepas clínica e ATCC de *Bacillus subtilis*.

Indivíduos	Parte / Extrato	Cepas	Carga (mg/disco) / halo (mm)		
			0,25	0,5	1,0
Indivíduo 1	folha / bruto	ATCC	-	12 ± 0,5	13 ± 0,0
		Clínica	-	13 ± 0,0	15 ± 0,5
	folha / P.C.	ATCC	-	11 ± 0,5	12 ± 0,0
		Clínica	-	10 ± 0,0	12 ± 0,0
	casca / bruto	ATCC	-	10 ± 0,5	12 ± 0,5
		Clínica	-	10 ± 0,0	13 ± 0,5
casca / P.C.	ATCC	-	12 ± 0,5	13 ± 0,0	
	Clínica	-	11 ± 0,0	12 ± 0,0	
Indivíduo 2	folha / bruto	ATCC	-	10 ± 0,5	12 ± 0,5
		Clínica	-	10 ± 0,5	12 ± 0,5
	folha / P.C.	ATCC	-	13 ± 0,0	14 ± 0,0
		Clínica	-	14 ± 0,5	15 ± 0,5
	casca / bruto	ATCC	-	15 ± 0,5	17 ± 0,5
		Clínica	-	15 ± 0,0	16 ± 0,0
casca / P.C.	ATCC	-	14 ± 0,5	15 ± 0,0	
	Clínica	-	15 ± 0,0	17 ± 0,0	

Em compensação, segundo os mesmos autores, extratos metanólicos das cascas da mesma planta, não produziram nenhum halo de inibição, o que diverge dos resultados obtidos neste trabalho com extrato metanólico de cascas de sucuba, que demonstrou um excelente efeito. De acordo com Lopez, Hudson e Towers (2001), extratos metanólicos de *B. verbascifolia* e *Solanum sp.* também são ativos contra o *B. subtilis*. Contra este microrganismo, utilizando a metodologia descrita neste trabalho, também não houve produção de efeito antimicrobiano a partir da utilização do látex.

Com relação aos extratos testados contra a bactéria *E. coli*, no universo de 26 extratos, além do látex dos indivíduos e do comercial, nenhum produziu halo de inibição de crescimento bacteriano em nenhuma das concentrações testadas. Talvez este resultado esteja relacionado ao fato desta bactéria ter a constituição diferenciada por ser Gram (-), sendo dotada desta maneira de uma membrana plasmática interna, uma membrana celular externa e entre as duas membranas uma capa de peptidoglicana, dificultando assim a penetração dos extratos utilizados. O mesmo resultado foi obtido por Cáceres et al. (1990) quando utilizaram extratos etanólicos de *B. crassifolia* e *B. orellana*, por Alves et al. (2000), ao usarem extratos

metanólicos de folhas e cascas de *Bowdichia virgilioides*, *B. coccolobifolia*, *B. verbascifolia* e por Lopez, Hudson e Towers (2001) quando testaram o efeito dos extratos de *B. verbascifolia* e *Solanum sp.* Em contrapartida Vazquez et al. (1998), constataram que os extratos da casca de *B. crassifolia* em acetato de etila demonstraram efeito positivo contra *E. coli*. e segundo Alves et al. (2000), o mesmo ocorreu com extratos metanólicos de *Xylopiya aromatica* e *Roupala montana*. Esta heterogeneidade de resultados pode ser proveniente da diferença de solventes, que podem apresentar maior ou menor afinidade pelos componentes químicos das porções da planta, das próprias plantas que apresentam constituição diferenciada ou das concentrações que podem variar de efetivas a não efetivas.

Como os extratos de *H. articulatus* não apresentaram nenhuma eficiência contra *E. coli*, de acordo com as técnicas adotadas neste trabalho, a utilização desta planta contra infecções urinárias no estado de Roraima pode não ser adequada, haja vista que 80% dos quadros de infecção urinária neste estado são causados por esta bactéria. Porém convém ressaltar que o resultado *in vivo* pode ser diferente. Neste experimento o resultado diverge do conhecimento popular que preconiza a utilização desta planta para estes fins.

Dos extratos produzidos (metanólicos, acetato de etila e hexânicos) testados contra a levedura *C. albicans*, os metanólicos brutos e P.C. de todas as partes da planta (folha, casca, galho, entrecasca, látex e látex comercializado) de ambos os indivíduos demonstraram atividade com cargas de 0,5 e 1,0 mg de extratos por disco impregnado, bem como os látex colhidos dos indivíduos 1 e 2 durante o experimento e o látex comercializado na feira (tabela 7). Nenhum halo produzido teve diâmetro inferior a 12 mm (controle positivo), demonstrando desta forma uma ótima atividade dos extratos de partes dessa planta contra este patógeno. Os indivíduos 1 e 2 se comportaram de maneira semelhante produzindo halos com diâmetros muito semelhantes. Ao compararmos a ação dos extratos de sucuba contra os microrganismos testados neste trabalho, verificamos que as cepas de *C. albicans* demonstraram maior sensibilidade envolvendo um espectro maior de extratos de diferentes partes da planta.

Tabela 7. Ação de extratos metanólicos brutos e em polaridade crescente de *Himatanthus articulatus* em diferentes cargas contra o crescimento de cepas clínica e ATCC de *Candida albicans*.

Indivíduos	Parte / Extrato	Cepas	Carga (mg/disco) / halo (mm)			
			0,25	0,5	1,0	
Indivíduo 1	folha / bruto	ATCC	-	14 ± 0,0	16 ± 0,5	
		Clínica	-	13 ± 0,5	15 ± 0,0	
	folha / P.C.	ATCC	-	12 ± 0,0	14 ± 0,0	
		Clínica	-	12 ± 0,0	14 ± 0,0	
	casca / bruto	ATCC	-	13 ± 0,0	15 ± 1,0	
		Clínica	-	12 ± 0,5	14 ± 0,0	
	casca / P.C.	ATCC	-	13 ± 1,0	14 ± 1,0	
		Clínica	-	13 ± 0,0	13 ± 0,0	
	galho / bruto	ATCC	-	12 ± 0,5	13 ± 0,5	
		Clínica	-	11 ± 0,0	12 ± 0,0	
	galho / P.C.	ATCC	-	13 ± 0,5	14 ± 0,0	
		Clínica	-	13 ± 0,0	15 ± 0,0	
	Látex	ATCC	-	14 ± 0,0	16 ± 1,0	
		Clínica	-	13 ± 0,0	17 ± 0,0	
	Indivíduo 2	folha / bruto	ATCC	-	17 ± 1,0	19 ± 0,0
			Clínica	-	16 ± 1,0	18 ± 0,5
		folha / P.C.	ATCC	-	13 ± 0,0	14 ± 0,0
			Clínica	-	13 ± 0,0	15 ± 1,0
casca / bruto		ATCC	-	15 ± 1,0	17 ± 0,0	
		Clínica	-	13 ± 0,5	16 ± 0,5	
casca / P.C.		ATCC	-	14 ± 0,0	15 ± 0,5	
		Clínica	-	15 ± 0,0	17 ± 1,0	
galho / bruto		ATCC	-	14 ± 1,0	15 ± 0,0	
		Clínica	-	15 ± 0,5	16 ± 0,0	
galho / P.C.		ATCC	-	15 ± 0,0	17 ± 0,0	
		Clínica	-	14 ± 1,0	15 ± 0,0	
entrecasca / bruto		ATCC	-	14 ± 0,0	15 ± 0,5	
		Clínica	-	14 ± 0,5	16 ± 0,0	
Látex		ATCC	-	14 ± 0,0	16 ± 0,0	
		Clínica	-	13 ± 0,0	15 ± 0,0	
Comercial		Látex	ATCC	-	13 ± 0,5	15 ± 0,0
			Clínica	-	13 ± 1,0	16 ± 0,0

Os resultados produzidos por extratos de partes de *H. articulatus* contra a levedura *C. albicans*, demonstraram uma excelente atividade antifúngica. Ao compararmos esses resultados com aqueles obtidos por Cáceres et al. (1998), que testaram extratos metanólicos de espécies do cerrado, como *Bixa orellana* e *B. crassifolia*, contra esse patógeno, obtendo halos de inibição de 10 mm com a utilização de 5,0 mg de extrato por disco, evidenciamos que os resultados produzidos pelo extrato de sucuba foram muito superiores, haja vista a produção de halos inibitórios de até 19 mm com carga de 1,0 mg de extrato e de halos de 17 mm com 0,5 mg de extratos em cada disco. Lopez, Hudson e Towers (2001), não encontraram nenhuma atividade de extratos metanólicos de *B. verbascifolia* e *Solanum sp.* contra *C. albicans*.

Os resultados obtidos com esse trabalho estão de acordo tanto com a indicação terapêutica feita pela população tradicional, que utiliza esta planta contra infecções fúngicas cutâneo-mucosas, o que torna esta constatação extremamente importante como mais uma possível alternativa de melhoria da qualidade de vida de uma população, que convive com uma grande incidência desses processos infecciosos (70%), quanto com o relato de autores como Alves et al. (2000) que defendem a importância da utilização das plantas do cerrado para estes fins.

De acordo com os resultados obtidos, observados na tabela 8, verificamos que de todos os extratos testados, somente os metanólicos produziram ação antimicrobiana. Provavelmente este resultado está baseado na polaridade do metanol que, dos solventes utilizados neste experimento, é considerado o mais polar (MATOS, 1989), o que lhe confere afinidade por alcalóides, iridóides, terpenos, saponinas e taninos, dentre outros. Indivíduos do gênero *Himatanthus* apresentam em sua constituição fitoquímica muitos dos compostos presentes no extrato metanólico (ABDER-KADER et al., 1997; VELOSO; NAGEM; OLIVEIRA, 1998; WOOD et al., 2001; SOUZA et al., 2004; MESQUITA et al., 2005), justificando assim sua maior afinidade por este solvente. Este resultado corrobora as pesquisas realizadas pelos autores citados acima sobre este gênero de plantas. Convém ressaltar que não há na literatura referências sobre a composição fitoquímica da espécie *H. articulatus*, bem como da sua atividade antimicrobiana, o que condiciona este trabalho a estabelecer parâmetros de discussão com outras espécies do cerrado como *B. crassifolia*, *B. coccolobifolia*, *X. aromatica*, *B. unguolata*, dentre outras.

Tabela 8. Efeito antimicrobiano de extratos metanólicos brutos e em gradiente de polaridade crescente (hexano, acetato de etila e metanol) produzidos com partes de *Himatanthus articulatus*, do látex colhido e do látex comercial contra algumas cepas de microrganismos.

Espécimes	Parte	Extrato	<i>C. albicans</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>E. coli</i>
1	Folha	MeOH	+	+	+	-
		Hex	-	-	-	-
		AcOEt	-	-	-	-
		MeOH	+	+	+	-
	Galho	MeOH	+	-	-	-
		Hex	-	-	-	-
		AcOEt	-	-	-	-
		MeOH	+	-	-	-
	Casca	MeOH	+	-	+	-
		Hex	-	-	-	-
		AcOEt	-	-	-	-
		MeOH	+	-	+	-
	Látex		+	-	-	-
2	Folha	MeOH	+	+	+	-
		Hex	-	-	-	-
		AcOEt	-	-	-	-
		MeOH	+	+	+	-
	Galho	MeOH	+	-	-	-
		Hex	-	-	-	-
		AcOEt	-	-	-	-
		MeOH	+	-	-	-
	Casca	MeOH	+	-	+	-
		Hex	-	-	-	-
		AcOEt	-	-	-	-
		MeOH	+	-	+	-
	Entrecasca	MeOH	+	-	-	-
Látex		+	-	-	-	
Látex comercial		+	-	-	-	

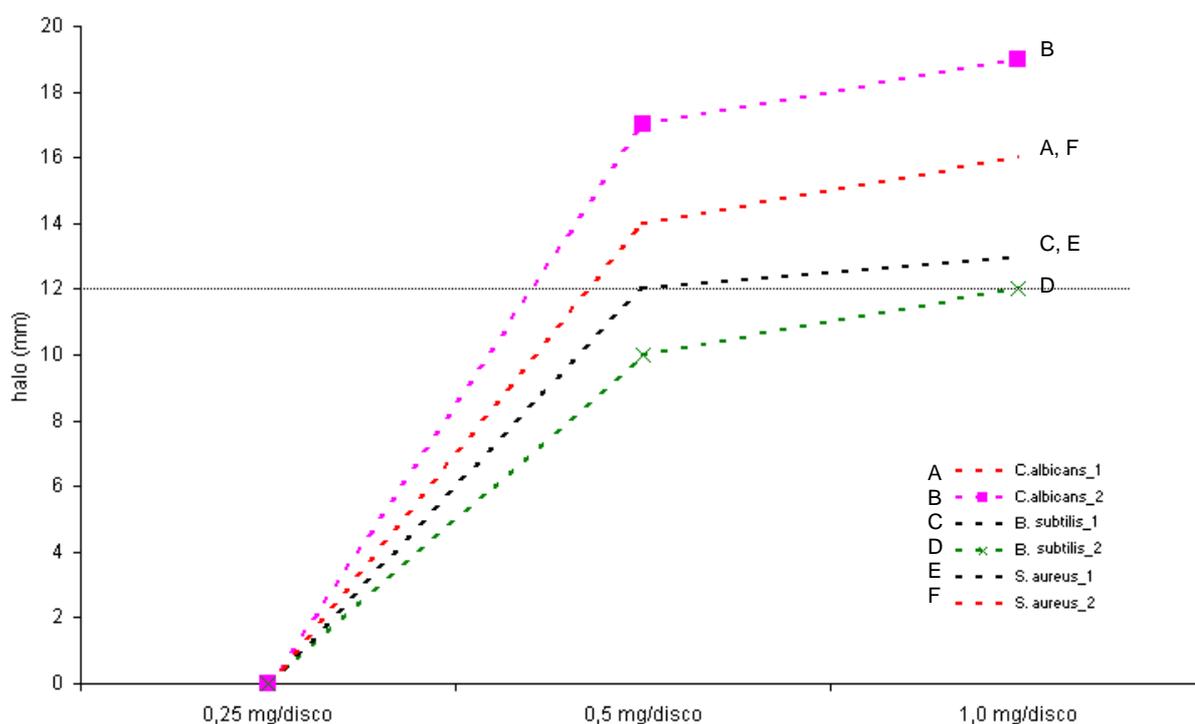
(+) Positivo – halos com diâmetro a partir de 12 mm.

(-) Negativo – ausência de halos ou halos com diâmetro inferior a 12mm.

MeOH – extrato metanólico bruto

Hex, AcOEt, MeOH – extratos em gradiente de polaridade crescente

A comparação visual dos halos produzidos pelos extratos metanólicos brutos das folhas dos indivíduos de *H. articulatus* contra todas as cepas ATCC testadas neste experimento produziram os seguintes resultados (figura 10).



1= Indivíduo 1 e 2= Indivíduo 2

Figura 10. Ação do extrato metanólico bruto das folhas de *Himatanthus articulatus* contra cepas ATCC de *Candida albicans*, *Bacillus subtilis* e *Staphylococcus aureus*.

Os extratos metanólicos brutos das folhas de *H. articulatus* produziram ação efetiva contra cepas de *C. albicans*, *B. subtilis* e *S. aureus* a partir da carga de 0,5 mg/disco (MIC). Utilizando 0,25 mg, não foi possível evidenciar nenhuma atividade antimicrobiana. Os maiores halos de inibição de crescimento (19 mm) foram produzidos contra o patógeno *C. albicans* que demonstrou maior sensibilidade ao extrato metanólico bruto de folhas do indivíduo 2 de *H. articulatus*. Já os menores halos produzidos (10 mm) foram os gerados contra o *B. subtilis* a partir de extrato metanólico bruto preparado com folhas do mesmo indivíduo.

Dessa maneira, dentre os extratos brutos de folhas de *H. articulatus*, produtores de efeito antimicrobiano, que demonstraram eficiência contra os patógenos testados, o extrato de menor eficiência foi o de folhas do indivíduo 2 quando em contato com o *B. subtilis*. Em contrapartida, o mesmo extrato foi também o produtor dos maiores halos de inibição quando frente à levedura *C. albicans*. Os resultados produzidos pelo extrato bruto do indivíduo 1 contra *B. subtilis* e *S. aureus* foram considerados semelhantes, o que explica a sobreposição de linhas gráficas e a utilização da mesma cor.

Com relação à ação dos mesmos extratos metanólicos brutos (folhas), contra os mesmos patógenos, utilizando cepas clínicas, evidenciamos que os extratos tiveram ação efetiva contra cepas de *C. albicans*, *B. subtilis* e *S. aureus* a partir de 0,5 mg/disco (figura 11), conforme ocorreu contra as cepas ATCC. Aplicando carga de 0,25 mg/disco, não foi possível evidenciar nenhuma atividade antimicrobiana.

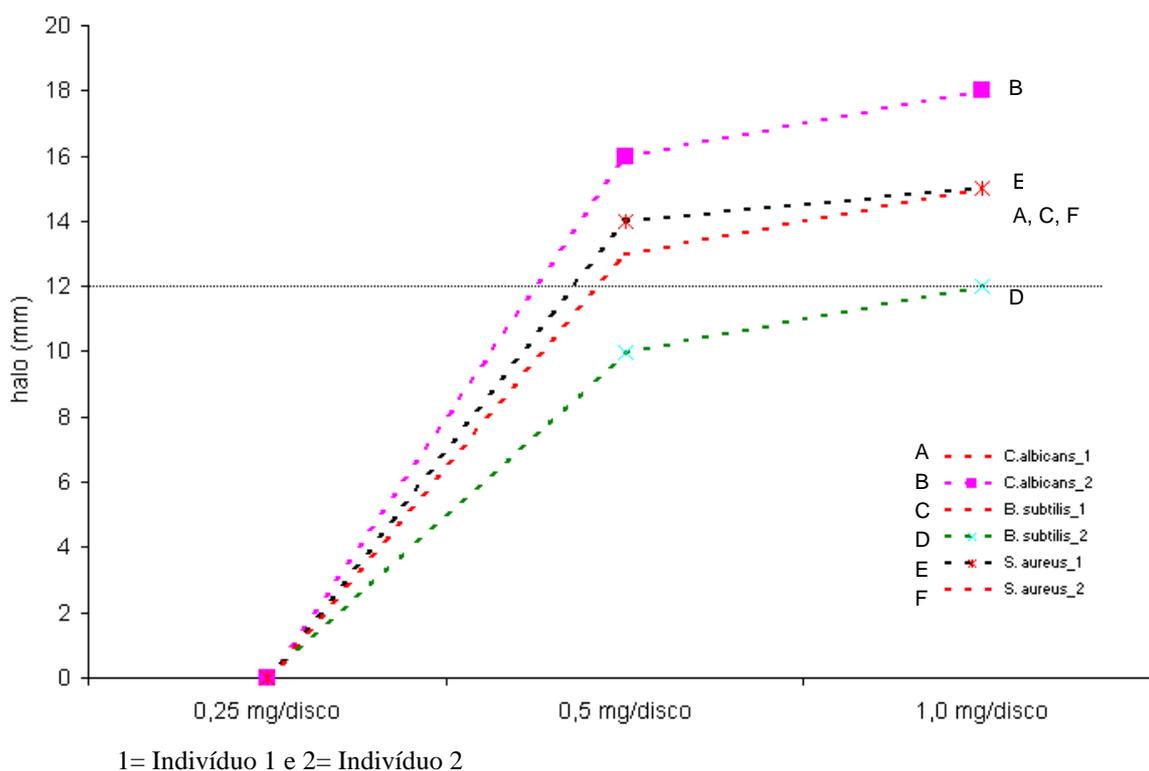


Figura 11. Ação do extrato metanólico bruto das folhas de *Himathantus articulatus* contra cepas clínicas de *Candida albicans*, *Bacillus subtilis* e *Staphylococcus aureus*.

Comparando os resultados demonstrados nas figuras 10 e 11, observamos que as cepas ATCC e clínica demonstraram padrões de sensibilidade semelhantes com relação aos halos de maior e menor diâmetros, ao entrarem em contato com o mesmo extrato.

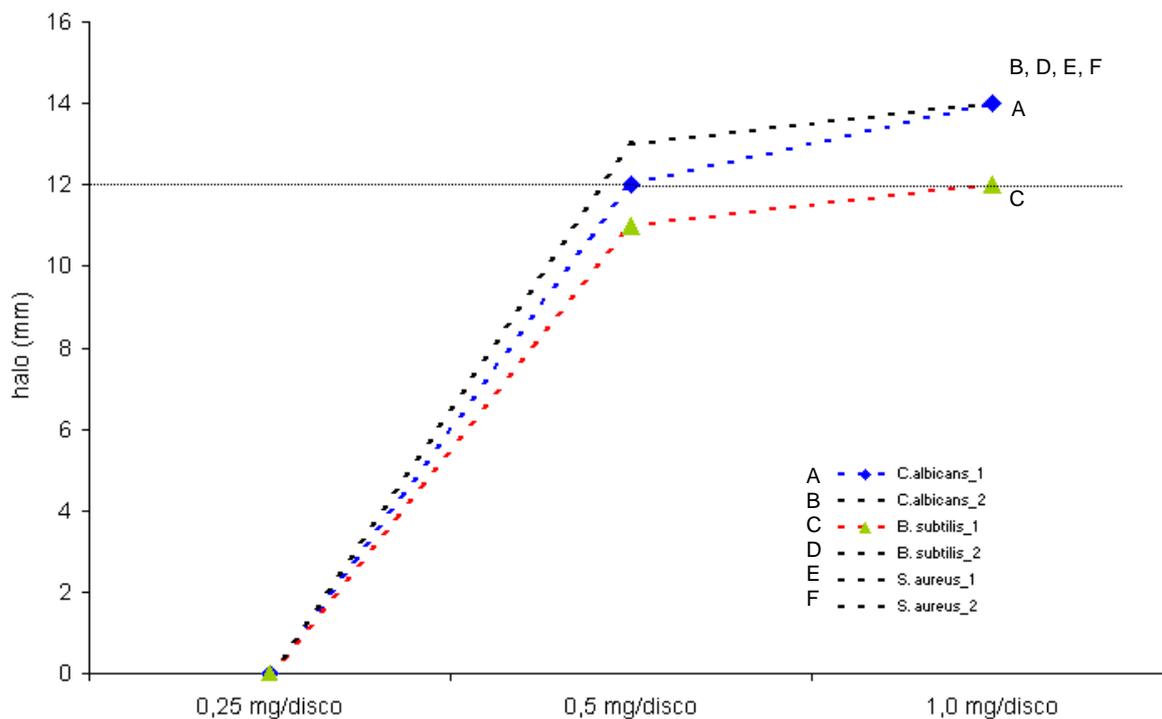
Os maiores halos de restrição de crescimento foram gerados contra *C. albicans* (18 mm) a partir de extrato metanólico bruto produzido com as folhas do indivíduo 2 de *H. articulatus*, enquanto os menores halos produzidos se mantiveram com média entre 10 mm e 12 mm contra o microrganismo *B. subtilis*, comprovando que o microrganismo e a parte da planta são atores importantes nesse processo. Dessa forma, este extrato se mostrou algumas vezes ineficiente quando comparado ao padrão de positividade adotado nesse trabalho que é

de 12 mm. Os resultados produzidos pelo extrato metanólico bruto do indivíduo 1 contra *C. albicans* e *B. subtilis*, bem como o produzido pelo indivíduo 2 contra *S. aureus* foram matematicamente iguais.

Dessa maneira, no universo dos extratos brutos de folhas de *H. articulatus*, produtores de efeito antimicrobiano, que demonstraram algum efeito contra os patógenos testados, o extrato de menor eficiência foi o de folhas do indivíduo 2, quando em contato com o *B. subtilis*, em contrapartida, o mesmo extrato foi também o produtor dos maiores halos de inibição quando frente à levedura *C. albicans*. Essa heterogeneidade de resultados provavelmente está relacionada com os padrões de resistências distintos apresentados pelos microrganismos testes. Os halos produzidos por ação do extrato metanólico do indivíduo 1 contra *B. subtilis* e *C. albicans*, bem como os produzidos pelo extrato do espécime 2 contra *S. aureus*, foram considerados visualmente iguais e positivos.

Ao considerarmos a ação do extrato metanólico das folhas dos indivíduos de *H. articulatus*, produzido seguindo um gradiente de polaridade crescente (hexano, acetato de etila e metanol) verificamos que esses extratos tiveram ação efetiva contra cepas de *C. albicans*, *B. subtilis* e *S. aureus* a partir de 0,5 mg/disco, sendo esta considerada sua carga mínima inibitória (figura 12).

Os maiores diâmetros dos halos de inibição (15 mm) foram produzidos por extrato metanólico P.C. de folhas do indivíduo 1 contra a cepa de *S. aureus* e *C. albicans*, bem como por extrato metanólico P.C. de folhas do indivíduo 2 contra *C. albicans*, *S. aureus* e *B. subtilis* que demonstraram o mesmo resultado. Em contrapartida os menores halos produzidos (11mm) foram contra *B. subtilis* a partir de extratos metanólicos brutos do indivíduo 1.



1= Indivíduo 1 e 2= Indivíduo 2

Figura 12. Ação do extrato metanólico em gradiente de polaridade crescente (hexano, acetato de etila e metanol) das folhas de *Himatanthus articulatus* contra cepas ATCC de *Candida albicans*, *Bacillus subtilis* e *Staphylococcus aureus*.

Assim, na totalidade dos extratos de folhas (P.C.) de *H. articulatus*, produtores de efeito antimicrobiano positivo contra os patógenos testados, o extrato considerado dotado de menor eficiência foi o de folhas do indivíduo 1 quando em contato com o *B. subtilis*; em contrapartida, os maiores halos de inibição foram produzidos pelo extrato metanólico do mesmo espécime contra *C. albicans* e *S. aureus* e pelo extrato metanólico do outro indivíduo contra as cepas ATCC de *B. subtilis*, *C. albicans* e *S. aureus*. Os resultados produzidos pela ação do extrato metanólico do indivíduo 1 contra *S. aureus*, bem como os produzidos pelo extrato do indivíduo 2 contra *S. aureus*, *B. subtilis* e *C. albicans* foram considerados idênticos e positivos, o que justifica a sobreposição de linhas no gráfico.

Observando os resultados produzidos pelo mesmo extrato (metanólico em gradiente de polaridade crescente de folhas de *H. articulatus*), porém contra cepas clínicas de *S. aureus*, *B. subtilis* e *C. albicans*, verificamos que os extratos tiveram ação efetiva contra a totalidade dos microrganismos a partir de 0,5 mg/disco (figura 13), sendo esta considerada a MIC, conforme ocorreu contra as cepas ATCC. Por sua vez, na aplicação de 0,25 mg por disco, não foi possível evidenciar nenhuma ação antimicrobiana.

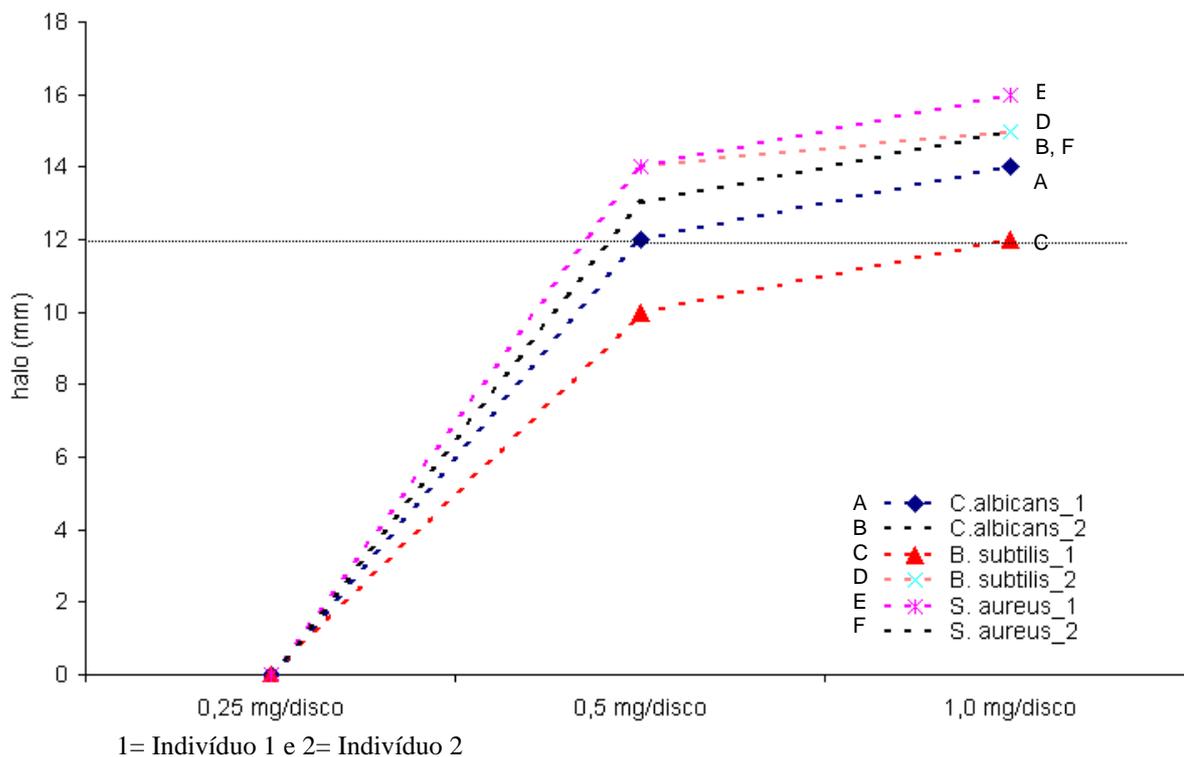


Figura 13. Ação do extrato metanólico em gradiente de polaridade crescente (hexano, acetato de etila e metanol) das folhas de *Himatanthus articulatus* contra cepas clínicas de *Candida albicans*, *Bacillus subtilis* e *Staphylococcus aureus*.

Os maiores halos inibitórios de crescimento (16 mm) foram os produzidos contra *S. aureus* a partir do extrato metanólico P.C. de folhas do indivíduo 1 de *H. articulatus*, enquanto os menores halos (10 mm) foram aqueles produzidos a partir do mesmo extrato, porém atuando agora contra a cepa de *B. subtilis*.

Dos extratos de folhas (P.C.) de *H. articulatus*, que produziram efeito antimicrobiano positivo contra os patógenos testados, o extrato que produziu os menores halos inibitórios foi o de folhas do indivíduo 1 quando em contato com o *B. subtilis*; em compensação, os maiores halos de inibição foram produzidos pelo mesmo extrato contra a cepa de *S. aureus*. Os halos produzidos por ação do extrato metanólico do indivíduo 2 contra *S. aureus* e *C. albicans* apresentaram diâmetros iguais e positivos.

A partir de comparação realizada entre as figuras 12 e 13, concluímos que as cepas ATCC e clínica apresentaram comportamento biológico semelhante em relação aos menores halos produzidos, porém, no que diz respeito aos maiores halos produzidos, apresentaram resultados distintos.

De todos os extratos produzidos a partir dos galhos de *H. articulatus*, somente os extratos metanólicos geraram ação inibitória efetiva. Os únicos microrganismos que

demonstraram sensibilidade à ação desses extratos foram as cepas da levedura *C. albicans*, tanto ATCC quanto clínica quando submetidas as cargas de 0,5 mg/disco e 1,0 mg/disco, conforme demonstrado na Figura 14. Não houve atividade antimicrobiana com massas inferiores a 0,5 mg de extrato por disco, sendo esta considerada sua carga inibitória mínima.

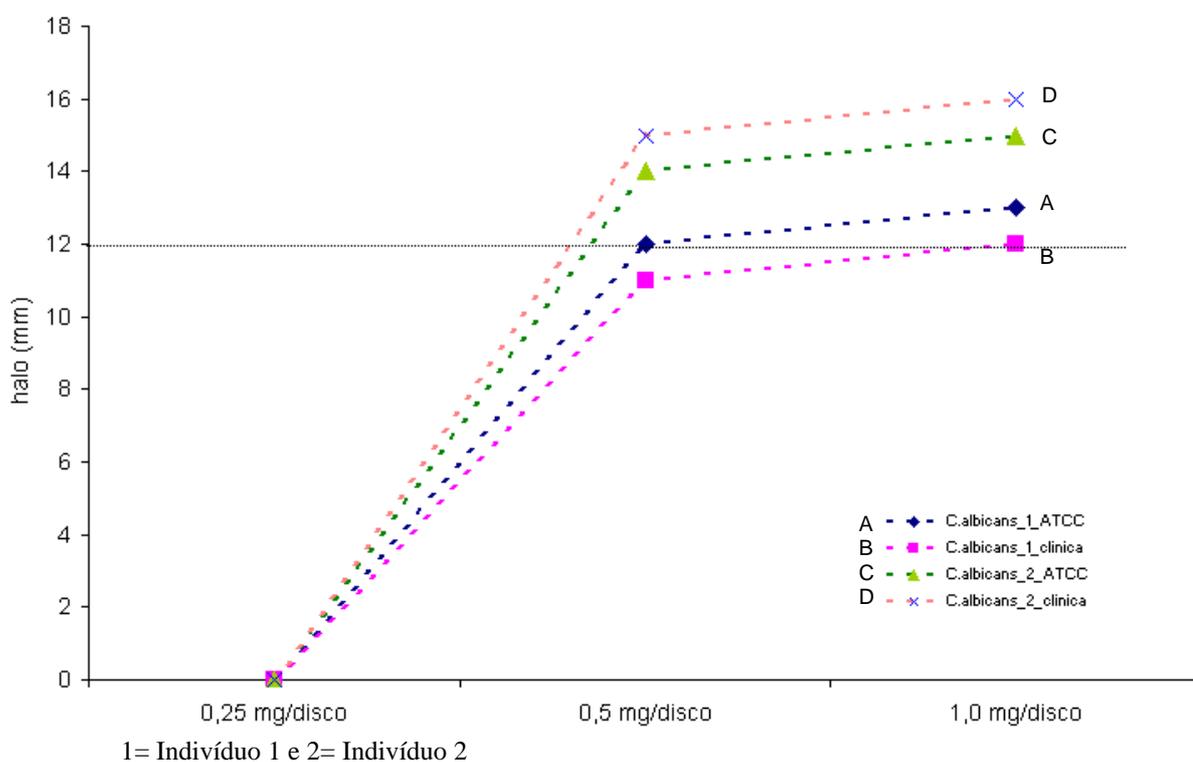


Figura 14. Ação do extrato metanólico bruto dos galhos dos indivíduos de *Himatanthus articulatus* contra cepas ATCC e clínica de *Candida albicans*.

Os maiores halos (16 mm) foram produzidos contra a cepa clínica de *C. albicans* a partir de extrato metanólico bruto produzido com galhos do indivíduo 2 de *H. articulatus*, enquanto os menores halos (11 mm) foram aqueles produzidos também contra a cepa clínica, porém a partir de extrato metanólico bruto de galhos do outro espécime. Essa divergência de resultados pode estar associada às diferenças existentes entre a constituição química dos indivíduos 1 e 2, já que a cepa que apresentou os maiores halos inibitórios é a mesma que apresentou os menores.

Com relação à ação do extrato metanólico de *H. articulatus*, produzido seguindo um gradiente de polaridade crescente (hexano, acetato de etila e metanol), verificamos que esses extratos também tiveram ação efetiva somente contra cepas de *C. albicans* em massas a partir de 0,5 mg/disco (figura 15).

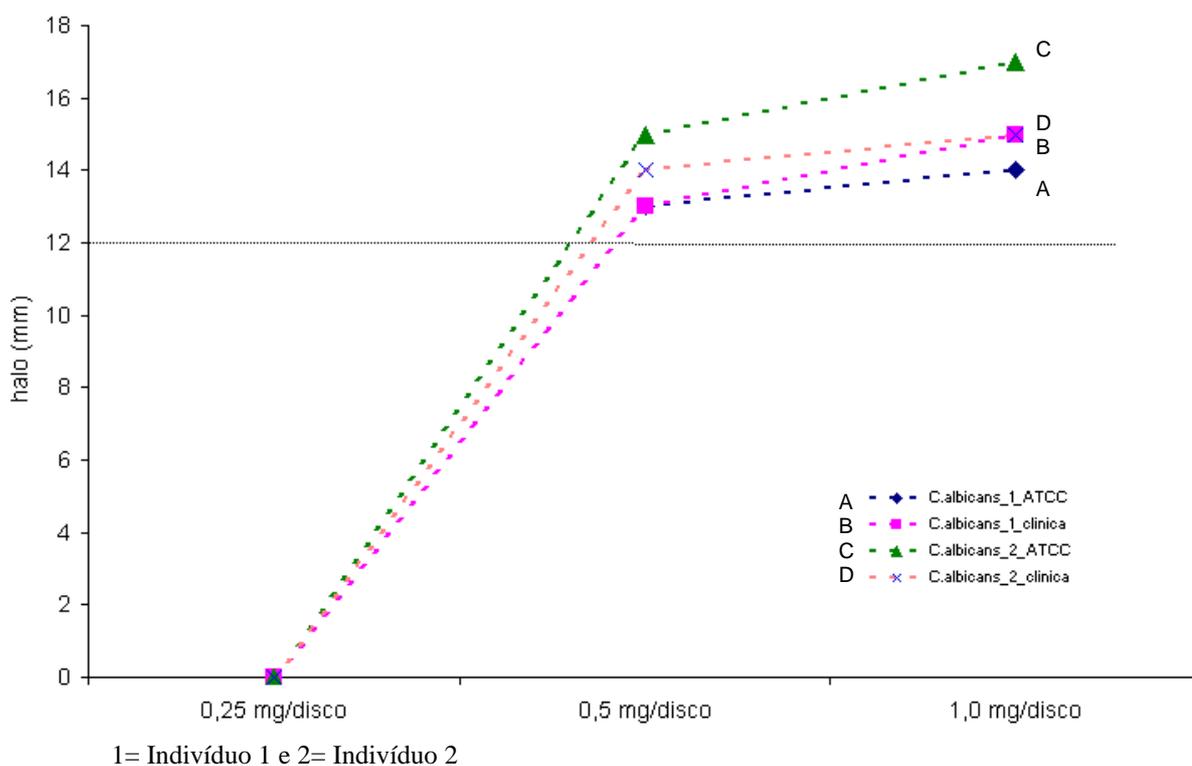


Figura 15. Ação do extrato metanólico em gradiente de polaridade crescente (hexano, acetato de etila e metanol) dos galhos de *Himatanthus articulatus* contra cepas ATCC e clínica de *Candida albicans*.

Os halos de inibição de crescimento dotados de maiores diâmetros (17 mm) foram os produzidos a partir do extrato P.C. de galhos do indivíduo 2 de *H. articulatus* contra cepas ATCC de *C. albicans*, já os halos de menores diâmetros (13 mm) foram produzidos contra as cepas ATCC e clínica de *C. albicans* por ação dos extrato P.C. de galhos do indivíduo 1.

Comparando os resultados representados nas figuras 14 e 15, verificamos que o comportamento biológico das cepas não foi igual frente o mesmo extrato, já que os maiores halos, foram produzidos por extratos do mesmo indivíduo (2), porém contra cepas diferentes de *C. albicans*, clínica e ATCC respectivamente. Convém citarmos que não foram encontrados registros na literatura nem na cultura popular de uso de galhos de *H. articulatus*

contra infecções fúngicas não havendo então subsídios para estabelecermos uma comparação de resultados.

Com relação aos extratos produzidos com a casca de *H. articulatus*, somente os extratos metanólicos produziram ação efetiva. Essa ação foi direcionada contra as cepas ATCC e clínicas de *C. albicans* e *B. subtilis* com cargas de 0,5 e 1,0 mg/disco (figura 16).

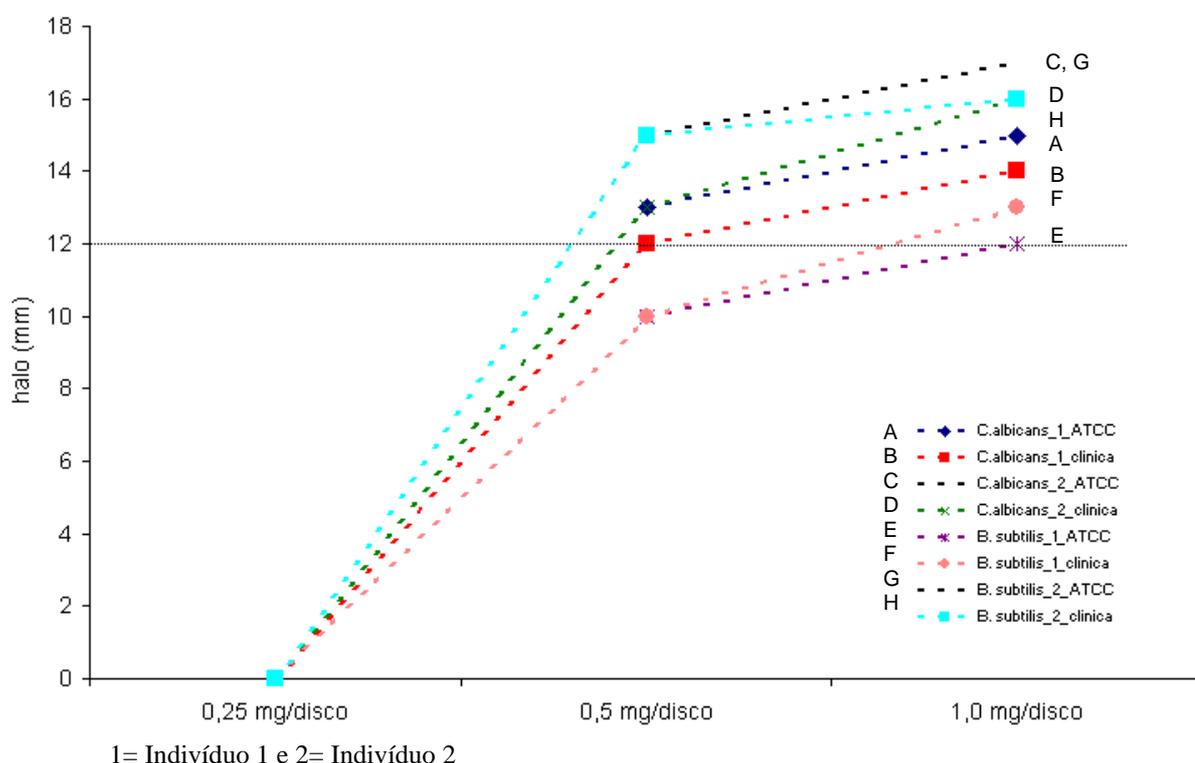


Figura 16. Ação do extrato metanólico bruto da casca de *Himatanthus articulatus* contra cepas ATCC e clínica de *Candida albicans* e *Bacillus subtilis*.

Abrangendo a totalidade dos extratos metanólicos brutos de cascas de *H. articulatus*, que produziram efeito antimicrobiano positivo contra os microrganismos testados, o extrato que produziu os menores halos inibitórios (10 mm) foi o da casca do indivíduo 1 quando em contato com o *B. subtilis* ATCC, em contrapartida, os maiores halos de inibição (17 mm) foram os produzidos pelo extrato do indivíduo 2 de *H. articulatus* contra a cepas de *C. albicans* e *B. subtilis* ATCC.

Os extratos metanólicos das cascas de *H. articulatus*, produzidos seguindo um gradiente de polaridade crescente (hexano, acetato de etila e metanol), tiveram ação efetiva contra cepas de *C. albicans* e *B. subtilis* a partir de 0,5 mg/disco (figura 17). Esta atividade antifúngica comprovada confirma o conhecimento tradicional que estimula a utilização de infusões de cascas de *H. articulatus* contra micoses.

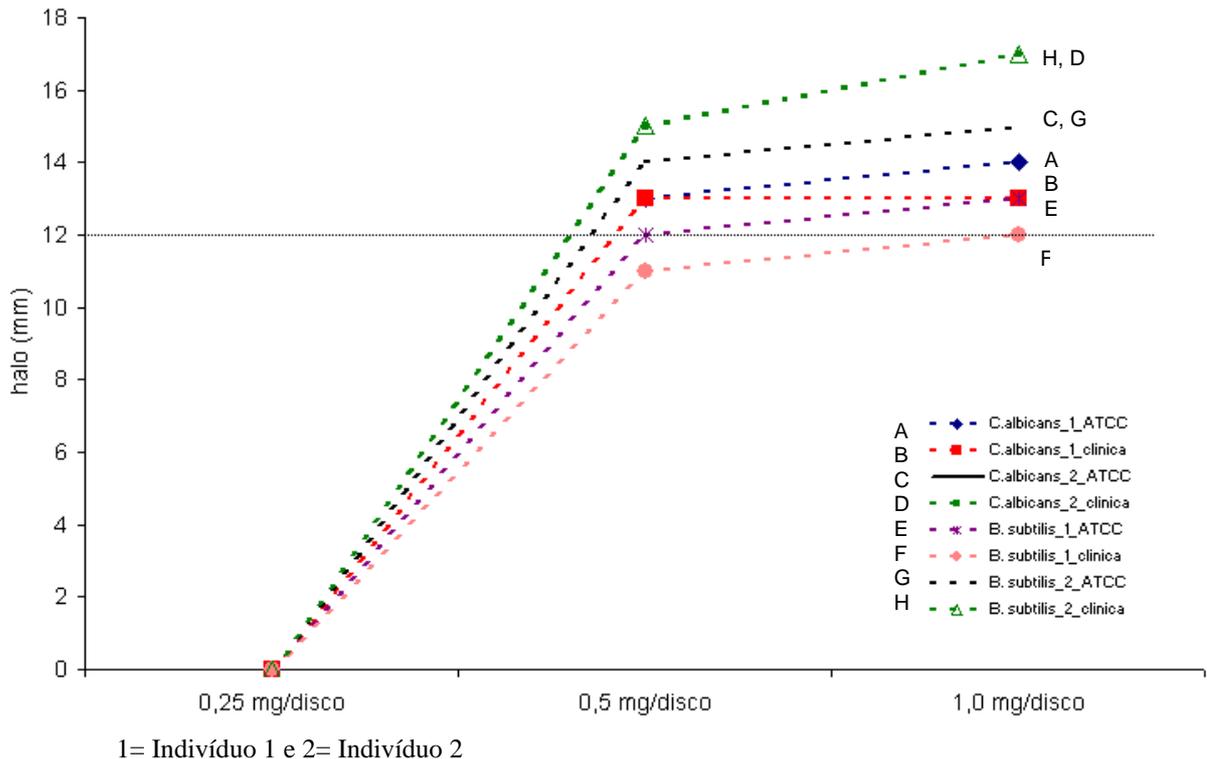


Figura 17. Ação do extrato metanólico em polaridade crescente (hexano, acetato de etila e metanol) da casca de *Himathantus articulatus* contra cepas ATCC e clínica de *Candida albicans* e *Bacillus subtilis*.

Os halos de maiores diâmetros (17 mm) foram os produzidos a partir do extrato P.C. de cascas do indivíduo 2 de *H. articulatus* contra cepas clínicas de *C. albicans* e *B. subtilis*, já os de menores diâmetros (11 mm) foram produzidos contra a cepa clínica de *B. subtilis* por ação do extrato P.C. de galhos do outro indivíduo de *H. articulatus*.

Ao confrontarmos os resultados demonstrados nas figuras 16 e 17, verificamos que o comportamento biológico das cepas não foi igual frente ao mesmo extrato (casca). Na figura 16 os maiores halos inibitórios foram produzidos contra a cepa de *C. albicans* ATCC, porém na figura 17, os maiores halos foram produzidos contra cepas clínicas de *B. subtilis* e *C. albicans*. Outro extrato que produziu efeito antimicrobiano foi o metanólico bruto da entrecasca do indivíduo 2. Este extrato, apresentou atividade somente contra as cepas de *C.*

albicans, tanto a clínica quanto a ATCC, em cargas a partir de 0,5 mg/disco sendo esta considerada sua MIC (figura 18).

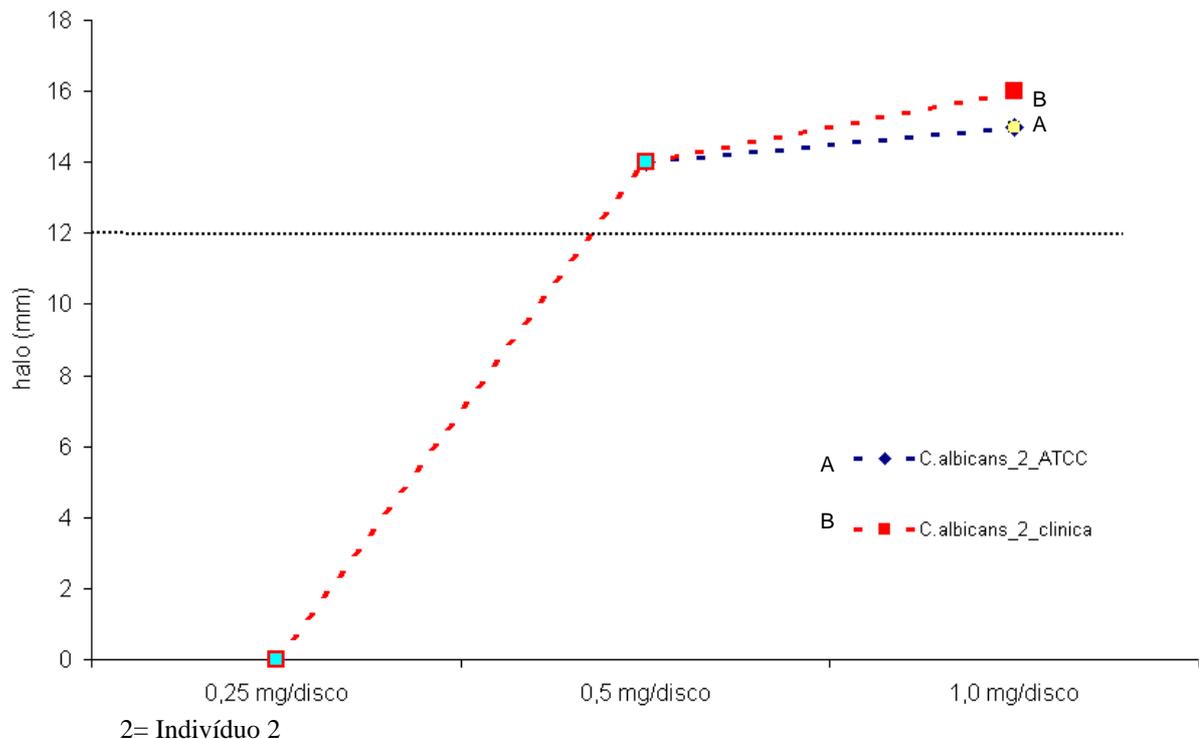
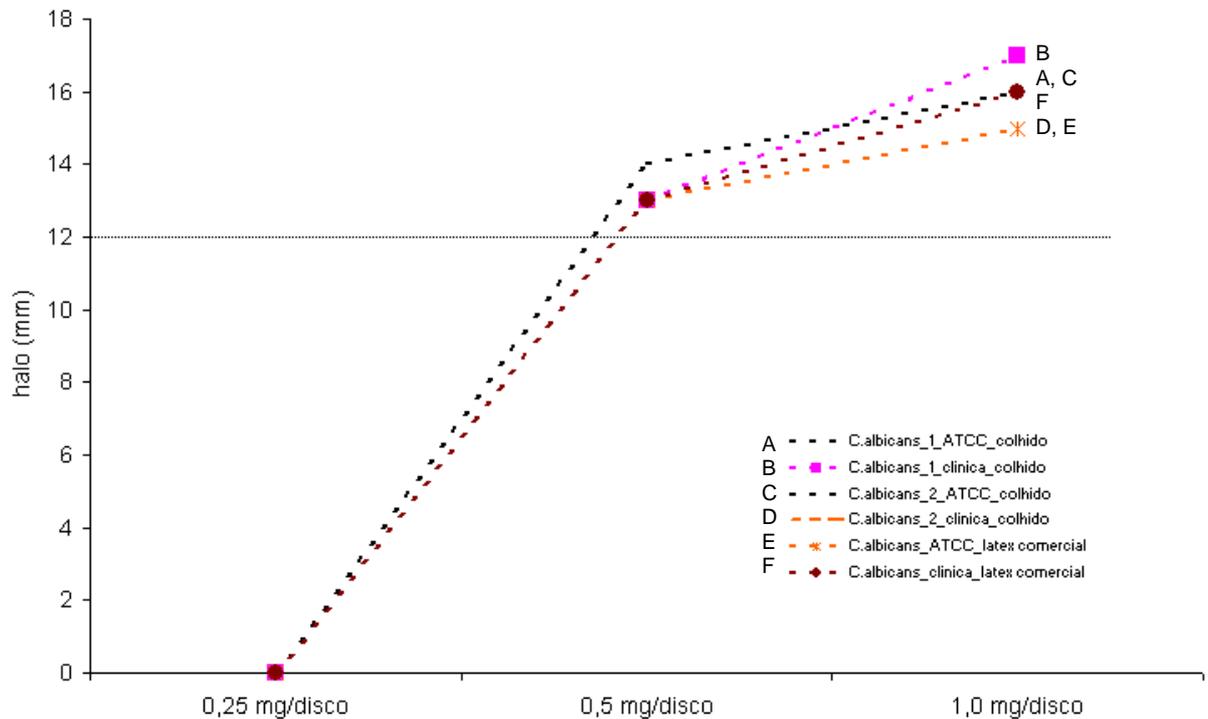


Figura 18. Ação do extrato metanólico bruto da entrecasca de *Himatanthus articulatus* contra cepas ATCC e clínica de *Candida albicans*.

O extrato metanólico bruto da entrecasca do indivíduo 2 de *H. articulatus* foi o produtor dos maiores halos de inibição (16 mm), e isso ocorreu contra a cepa clínica de *C. albicans*, enquanto os menores (15 mm) foram produzidos pelo mesmo extrato contra a cepa ATCC.

De acordo com a cultura popular, o látex é a parte da planta mais vendida nas feiras e mais utilizada contra infecções fúngicas e bacterianas pela comunidade local. O látex colhido dos indivíduos de *H. articulatus*, bem como o látex comercializado na feira livre, tiveram ação efetiva somente contra cepas de *C. albicans* (ATCC e clínica) e a partir de 0,5 mg por disco (figura 19).



1= Indivíduo 1 e 2= Indivíduo 2

Figura 19. Ação do látex colhido dos indivíduos 1 e 2 e do látex comercial de *Himatanthus articulatus* contra cepas ATCC e clínica de *Candida albicans*.

O látex colhido do indivíduo 1, produziu os halos de inibição de crescimento dotados dos maiores diâmetros (17 mm) contra a cepa clínica de *C. albicans*, já os halos de menores diâmetros (15 mm) foram produzidos contra a mesma cepa, porém pelo látex colhido do indivíduo 2 e contra a cepa de *C. albicans* ATCC pelo látex comercial. Podemos evidenciar que visualmente não há diferença de atividade entre o látex colhido dos indivíduos de *H. articulatus* e o comercializado na feira, haja vista todos demonstrarem ação efetiva contra o mesmo microrganismo. Este resultado diverge da crença popular que estimula a utilização do látex dessa espécie de planta contra vários quadros infecciosos causados por *S. aureus* e *E. coli*.

Devido as cepas de *C. albicans*, *B. subtilis* e *S. aureus* demonstrarem sensibilidade aos extratos metanólicos dos indivíduos 1 e 2 e somente as cepas de *C. albicans* demonstrarem sensibilidade aos látex coletados e ao comercial de *H. articulatus*, estabelecemos uma comparação estatística entre as suas eficiências (figura 20).

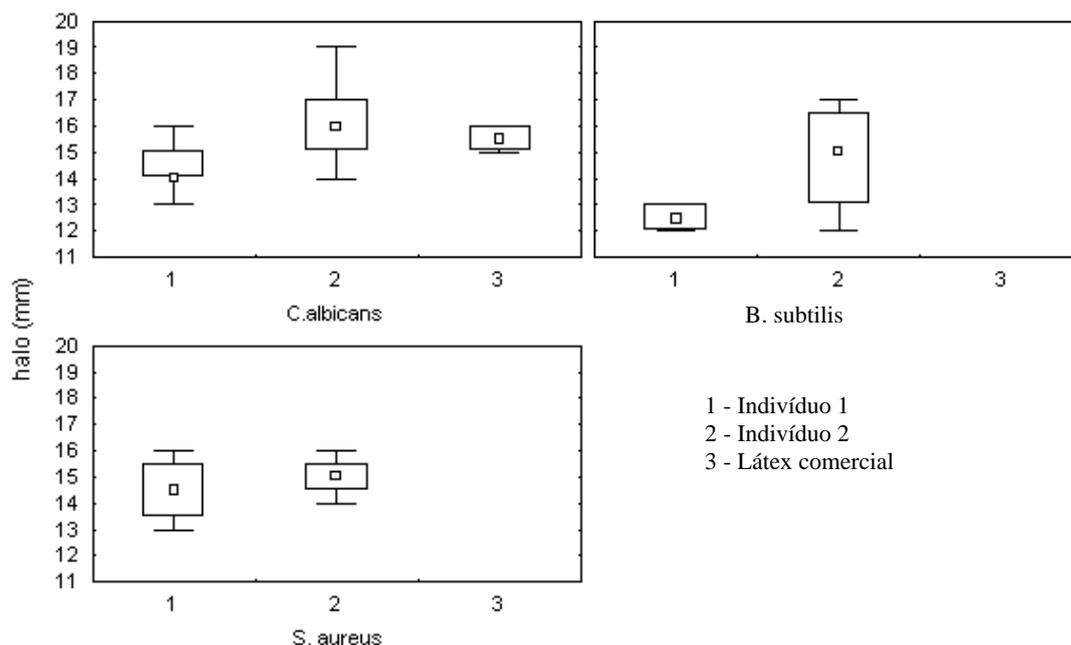


Figura 20. Análise comparativa entre a eficiência (média e desvio padrão) das partes dos indivíduos 1 e 2 e do látex comercializado de *Himatanthus articulatus* contra os microrganismos testes.

Comparando a eficiência dos tratamentos entre os indivíduos 1 e 2 utilizando o método de tabelas de contingência associado ao qui-quadrado, verificamos que para um p igual a 0,05 o valor tabelado é de 3,841. Quando comparamos a eficiência dos resultados produzidos contra *C. albicans* pelos extratos de partes dos indivíduos 1 e 2, obtivemos $X^2 = 0,1232$, menor que o valor do p tabelado, o que demonstra que a eficiência dos tratamentos para os dois indivíduos não apresenta diferença significativa. Quanto aos resultados produzidos contra *S. aureus* obtivemos um $X^2 = 0,0121$, valor novamente inferior ao p tabelado, o que demonstrou também que a eficiência entre os tratamentos dos extratos dos indivíduos 1 e 2 é estatisticamente a mesma. Para concluir a comparação entre indivíduos, testamos a eficiência dos indivíduos 1 e 2 que tiveram ação contra *B. subtilis* e verificamos um $X^2 = 0,135$ que confirma que a resposta entre os indivíduos não demonstrou diferenças significativas. Através deste teste concluímos que não há diferenças significativas de eficiência entre os extratos de indivíduos 1 e 2 de *H. articulatus* quanto ao seu potencial antimicrobiano contra os patógenos testados.

Não foi comparada a eficiência pelo método qui-quadrado do látex comercial, porque o mesmo produziu efeito somente contra o patógeno *C. albicans*.

Depois de compararmos a eficiência dos extratos dos indivíduos 1 e 2, comparamos estatisticamente o comportamento das cepas ATCC e clínica de *C. albicans*, *B. subtilis* e *S. aureus* frente aos extratos metanólicos de *H. articulatus*, conforme figura 21.

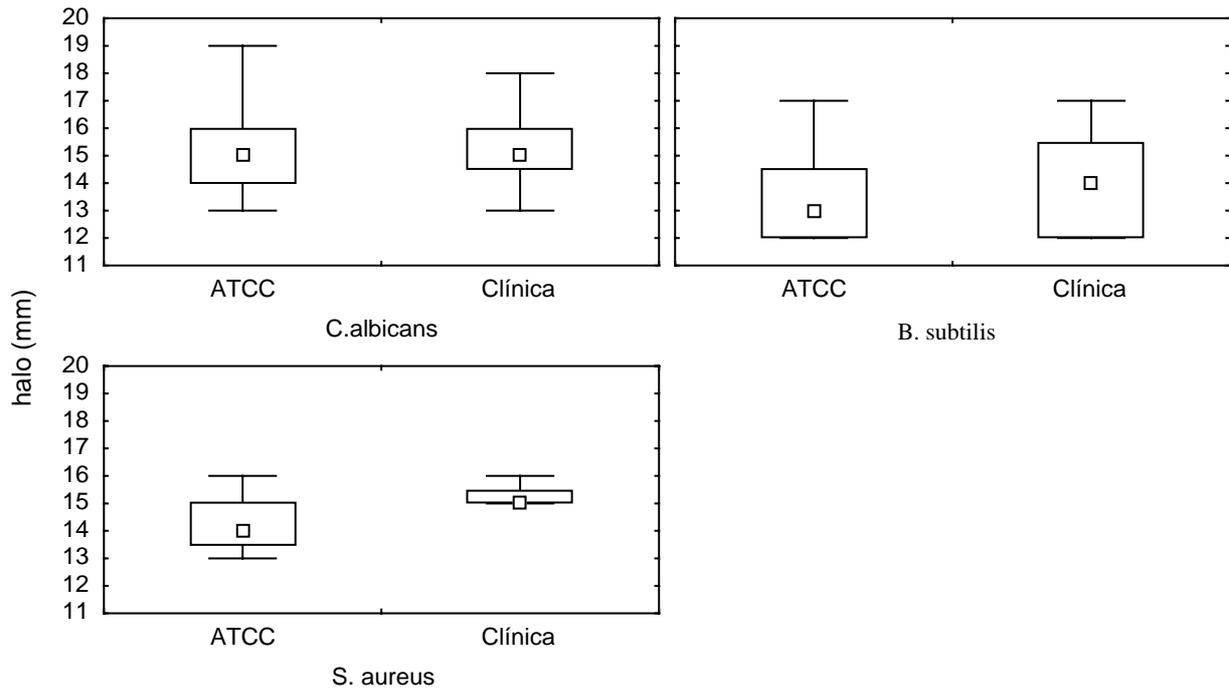


Figura 21. Análise comparativa (média e desvio padrão) entre o comportamento das cepas ATCC e clínica de *Candida albicans*, *Bacillus subtilis* e *Staphylococcus aureus* frente aos látex e aos extratos metanólicos de partes de *Himatanthus articulatus* na concentração de 10 mg/ml.

Visualmente, dentre as cepas de *C. albicans*, a cepa ATCC foi a que apresentou maior média de sensibilidade ao ter contato com extratos metanólicos de *H. articulatus*. Com relação as espécie bacterianas *B. subtilis* e *S. aureus*, a cepa clínica demonstrou maior sensibilidade a ação de extratos de *H. articulatus*. Porém, comparando a eficiência dos tratamentos entre as cepas clínicas e ATCC, utilizando o método de tabelas de contingência associado ao qui-quadrado, onde para um $p = 0,05$ o valor tabelado é de 3,841, obtivemos em nosso teste um $X^2 = 0,0139$, logo menor que 3,841, o que nos leva a concluir que não há diferença estatística significativa entre a sensibilidade das cepas clínicas e ATCC aos extratos de *H. articulatus*.

Com a verificação de que não existe diferença estatística significativa nem entre indivíduos e nem entre cepas ATCC e clínica, comparamos então a eficiência das concentrações de 5 mg/ml e 10 mg/ml (figura 22).

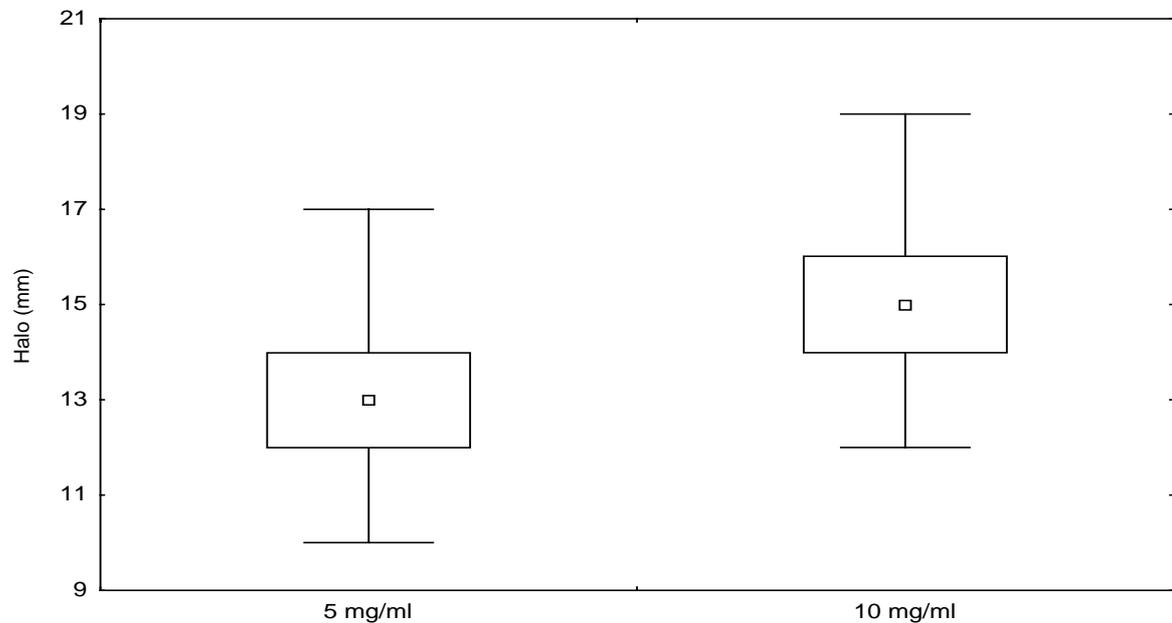


Figura 22. Análise comparativa da eficiência (média e desvio padrão) entre as concentrações de 5 mg/ml e 10 mg/ml dos extratos metanólicos de *Himatanthus articulatus* contra os microrganismos testes.

Com a utilização de tabela de contingência associada ao qui-quadrado obtivemos um $X^2 = 0,6823$, menor que o valor de p tabelado (3,841; $p=0,05$), o que comprova que não há diferença estatística significativa também entre os resultados produzidos por extratos metanólicos nas concentrações de 5 mg/ml e 10 mg/ml. Comparando o diâmetro dos halos inibitórios de crescimento produzidos pela ação do extrato metanólico de várias partes da planta, constatamos os resultados apresentados na figura 23.

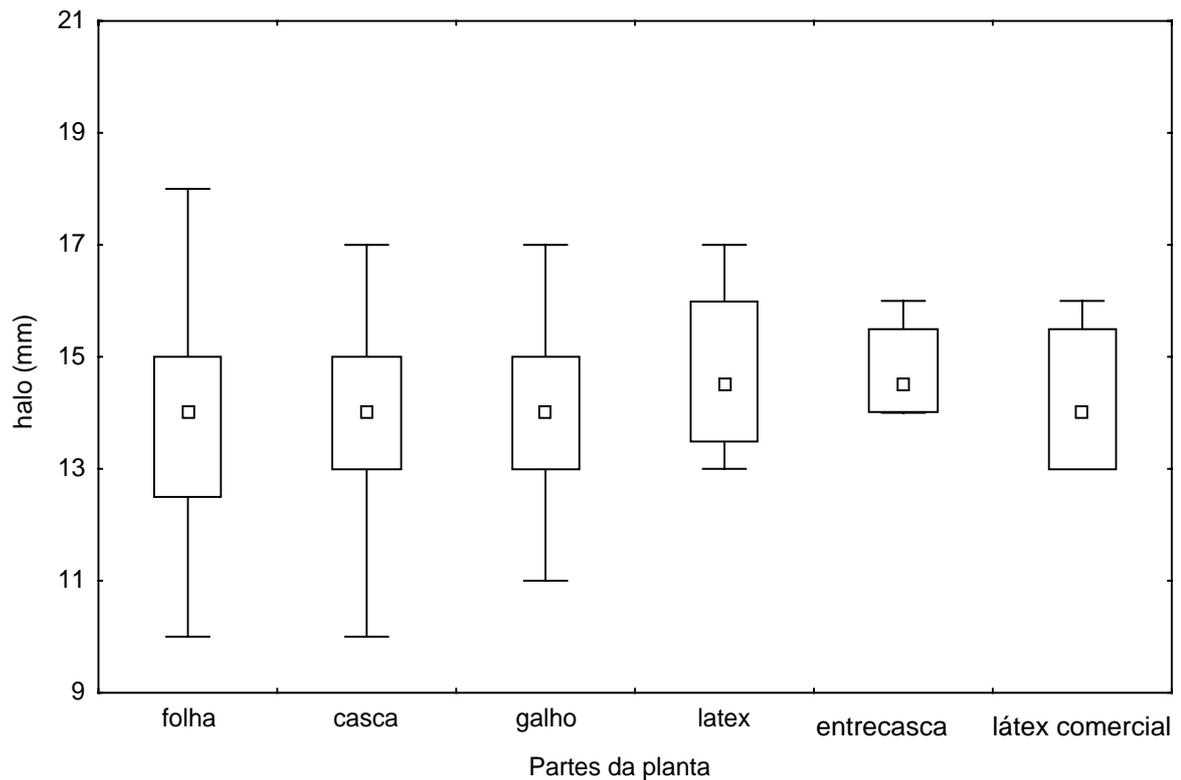


Figura 23. Análise comparativa (média e desvio padrão) entre os diâmetros dos halos produzidos por extratos de partes de *Himatanthus articulatus* contra o crescimento dos microrganismos testes.

Através da análise da média aritmética, verificamos que o látex dos indivíduos 1 e 2 de *H. articulatus* produziram halos inibitórios de 14,8 mm, seguidos do extrato da entrecasca com halos 14,7 mm; látex comercial com halos de 14,5 mm; extrato do galho com halos de 14,0 mm; extrato da casca com halos de 13,9 mm e do extrato das folhas que produziram halos de 13,7 mm.

Convém lembrar, porém, que o valor dos diâmetros dos halos não representa o grau de eficiência dos diferentes extratos frente aos microrganismos testados. Para verificar a diferença de eficiência das várias partes de *H. articulatus* utilizadas para a produção dos extratos, agrupamos os dados, já que não houveram diferenças estatísticas significativas entre os indivíduos nem tampouco entre as cepas e as concentrações, e utilizamos o método qui-quadrado, conforme figura 24.

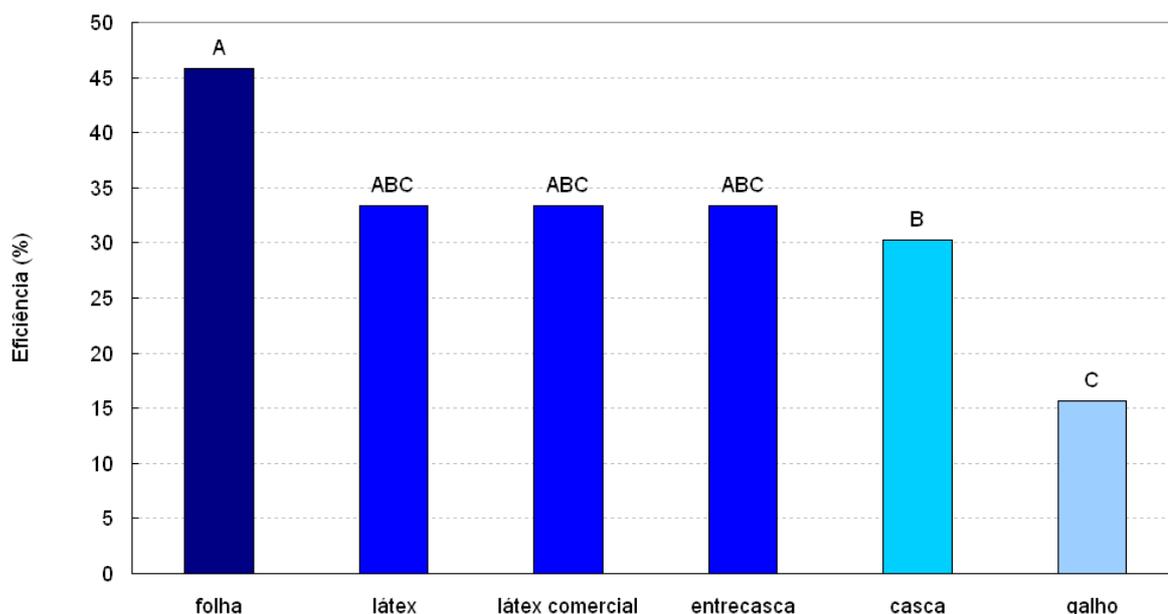


Figura 24. Análise comparativa da eficiência dos extratos das diversas partes de *Himatanthus articulatus*.

Conforme a figura acima, de todas as porções da planta utilizadas, o grupamento ABC (látex, látex comercial e entrecasca), não apresentou diferenças estatísticas significativas, entre si e nem em relação ao grupo A (folhas), levando em consideração um valor de X^2 igual a 3,841 para p igual a 0,05. Houve diferença estatística significativa entre a eficiência dos extratos das folhas (A) e dos galhos (C), sendo o extrato de folhas considerado estatisticamente mais eficiente ($x^2 = 20,3129$; $p < 0,001$). Da mesma maneira houve diferenças entre a eficiência dos extratos das folhas e da casca, demonstrando o extrato das folhas uma maior eficiência ($x^2 = 4,3319$; $p < 0,05$) e entre os extratos do grupamento ABC (látex, látex comercial e entrecasca) e do galho, atribuindo maior eficiência aos extratos do grupamento ABC ($x^2 = 4,9828$; $p < 0,05$).

De maneira geral, o gradiente de eficiência seguiu a seguinte ordem: extratos de folhas (45,83%), da entrecasca, látex dos indivíduos 1 e 2 e látex comercial (33,3%), extratos das cascas (30,21%) e finalizando os dos galhos (15,62%).

5 CONCLUSÃO

Da totalidade de extratos testados, as cepas de *C. albicans*, *S. aureus* e *B. subtilis* demonstraram sensibilidade aos extratos metanólicos (brutos e em P.C.) dos indivíduos 1 e 2 de *H. articulatus* nas cargas de 0,5 mg/disco e 1,0 mg/disco;

Os diferentes extratos de partes da planta tiveram diferenciadas ações sobre os microrganismos testes. O extrato das folhas produziu ação antimicrobiana contra *S. aureus*, *C. albicans* e *B. subtilis*; o extrato dos galhos contra *C. albicans*; o extrato das cascas contra *C. albicans* e *B. subtilis*; o extrato da entrecasca contra *C. albicans* e os látex dos indivíduos 1 e 2 e o comercial contra *C. albicans*. O resultado produzido contra *C. albicans* corrobora o conhecimento tradicional, que estimula a utilização das porções da planta para esses fins, porém a ausência de atividade antibacteriana do látex, diverge da terapêutica popular. Porém, este resultado negativo não invalida o conhecimento tradicional, pois nem sempre resultados obtidos a partir de testes *in vitro* são os mesmos produzidos em testes *in vivo*, além disso talvez utilizando outras metodologias pudéssemos obter resultados diferentes;

As cepas de *E. coli* demonstraram resistência aos extratos produzidos a partir de partes dos indivíduos 1 e 2 de *H. articulatus*, ao látex coletado e ao comercializado na feira, fato provavelmente relacionado ao fato de serem bactérias Gram (-), haja vista apresentarem em sua constituição um maior número de membranas que podem impedir o extrato de encontrar seu sítio de ação;

A carga inibitória mínima (MIC) dos extratos foi de 0,5 mg/disco;

Não houve diferença significativa entre a sensibilidade das cepas ATCC e clínicas dos microrganismos sensíveis;

Não houve diferença significativa entre a eficiência dos extratos dos indivíduos 1 e 2 de *H. articulatus* como agentes antimicrobianos nem entre as concentrações dos extratos utilizados;

Os maiores halos de inibição do crescimento foram obtidos pela ação do látex dos indivíduos 1 e 2 de *H. articulatus*;

O gradiente decrescente de eficiência dos extratos frente aos microrganismos testados é representado por extrato de folhas, seguido de extrato de entrecascas, látex dos indivíduos 1 e 2 e látex comercial, de extrato das cascas e extrato dos galhos.

C. albicans apresentou maior sensibilidade aos extratos de partes de *H. articulatus* (57,14%) seguida de *B. subtilis* (28,57%) e de *S. aureus* (14,29%).

REFERÊNCIAS

- ABDER-KADEL, M.S.; WISSE, J.; EVANS, R.; WERFF, H.V.; KINGSTON. Bioactive Iridoids and a New Lignan from *Allamanda cathartica* and *Himatanthus falax* from the Suriname Rainforest . **Journal of Natural Products**, U.S.A, v.60, p.1294-1297, mai.1997.
- ALVES, T.M.A.; SILVA, A.F.; BRANDÃO, M.; GRANDI, T.S.M.; SMÂNIA, E.F.A.; SMÂNIA JÚNIOR, A.; ZANI, C.L. Biological Screening of Brazilian Medicinal Plants. **Mem Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.95, p.367-373, jun.2000.
- AMBTEC. **Roraima. O Brasil do Hemisfério Norte: Diagnóstico Científico e Tecnológico para o Desenvolvimento**. Boa Vista: AMBTEC, 1994.
- BARBOSA, R.I. Distribuição das Chuvas em Roraima. In: BARBOSA; FERREIRA; CASTELLOS (Org.). **Homem Ambiente e Ecologia no Estado de Roraima**. 19. ed. Manaus: INPA, 1997.
- BARBOSA, R.I.; MIRANDA, I.S. Fitofisionomias e Diversidade Vegetal das Savanas de Roraima. In: BARBOSA; XAUD; COSTA E SILVA (Org.). **Savanas de Roraima – Etnoecologia, Biodiversidade e Potencialidades Agrossilvipastoris**. Boa Vista: FEMACT, 2005.
- BARBOSA, R.I.; COSTA E SOUZA, J.M.; XAUD, H.A.M. Savanas de Roraima: Referencial geográfico e Histórico. In: BARBOSA; XAUD; COSTA E SILVA (Org.). **Savanas de Roraima – Etnoecologia, Biodiversidade e Potencialidades Agrossilvipastoris**. Boa Vista: FEMACT, 2005.
- BERGER, I.; BARRIENTOS, A.C.; CÁCERES, A.; HERNÁNDEZ, M.; RASTRELLI, L.; PASSREITER, C.M.; KUBELKA, W. Plants Used in Guatemala for the treatment of protozoal infections. II. Activity of Extracts and Fractions of Five Guatemala Plants Against *Trypanosoma cruzi*. **Journal of Ethnopharmacology**, Guatemala, v. 62, p.107-115, jan. 1998.
- BURROWS, W.; MOULDER, J.W.; LEWERT, R.M. **Tratado de Microbiologia**. 18.ed. México: Interamericana, 1965.
- CÁCERES, A.; CANO, O.; SAMAYOA, B.; AGUILLAR, L.; Plants Used in Guatemala for the Treatment of Gastrointestinal Disorders.1. Screening of 84 Plants Against Enterobacteria. **Journal of Ethnopharmacology**, Guatemala, v. 30, p. 55-73, ago. 1990.

CÁCERES, A.; LOPEZ, B.R.; GIRON, M.A.; LOGEMANN, H. Plants used in Guatemala for the treatment of dermatophytic infections. I. Screening for antimycotic activity of 44 plant extracts. **Journal of Ethnopharmacology**, Guatemala, v. 31, p. 263-276, mar. 1991.

CÁCERES, A.; LÓPEZ, B.; GONZÁLEZ, S.; BERGER, I.; TADA, I.; MAKI, J. Plants used in Guatemala for the Treatment of Protozoal Infections. I. Screening of Activity to Bacteria, Fungi and American Trypanosomas of 13 Native Plants. **Journal of Ethnopharmacology**, Guatemala, v. 62, p.195-202, jan. 1998.

CANÇADO, J.R.; LIMA, A.O.; SOARES, J.B.; GRECO, J.B.; GALIZI, J. **Métodos de Laboratório Aplicados a Clínica**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

CIFUENTES, C.M.; GÓMEZ-SERRANILLOS, M.P.; IGLESIAS, I.; VILLAR DEL FRESNO, A.M. Neurofarmacological Profile of Ethnomedicinal Plants of Guatemala. **Journal of Ethnopharmacology**, Espanha, v. 76, p.223-228, abr. 2001.

CUNHA, M.C.; ALMEIDA, M.B. **Enciclopédia da Floresta o Alto Juruá** : Práticas e Conhecimentos das Populações. 4. ed. São Paulo: Companhia das Letras, 2002.

DAVIS, B.D.; DULBECCO, R.; EISEN, H.N.; GINSBERG, H.S.; WOOD JÚNIOR, W.B. **Microbiologia de Davis**. 2. ed. São Paulo: Habra, 1985.

DEHARO, E.; BOURDY, G.; QUENEVO, C.; MUNOZ, V.; RUIZ, G.; SAUVAIN, M. A Search for Natural Bioactive Compounds in Bolivia Through a Multidisciplinary Approach. V. Evaluation of the Antimalarial Activity of Plants Used by the Tacana Indians. **Journal of Ethnopharmacology**, Bolivia, v. 77, p. 91-98, mai. 2001.

DI STASI, L.C.; HIRUMA-LIMA, C.A. **Plantas Medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica**. 2. ed. São Paulo: UNESP, 2002.

ELIZABETSKY, E.; CASTILHOS, C. Plants Used as Analgesics by Amazonian Caboclos as a Basis for Selecting Plants for Investigation. **International Journal of Crude Drug Research**, Peru, v. 28, p. 309-320, jun.1990.

ESQUENAZI, D.; WIGG, M.D.; MIRANDA, M.M.F.S.; RODRIGUES, H.M.; TOSTES, J.B.F.; ROZENTAL, S.; SILVA, A.J.R.; ALVIANO, C.S. Antimicrobial and Antiviral Activities of Polyphenolics from *cocos nucifera* Linn. (Palmae) Husk Fiber Extract. **Research in Microbiology**, Rio de Janeiro, v. 153, p. 647-52, out. 2002.

FAGUNDES, E.M.S.; QUEIROZ, A.B.R.; MARTINS FILHO, O.A.; GAZZINELLI, G.; CORRÊA-OLIVEIRA, R.; ALVES, T.M.A; ZANI, C.L. Screening and Fravtionation of Plant Extracts with Antiproliferative Activity on Human Peripheral Blood Mononuclear Cells. **Mem Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 97, p.1207-1212, dez. 2002.

GELY, A. Uso de Plantas Medicinais por Caboclos do Baixo Amazonas, Barcarena, PA, Brasil. **Bol. Museo Emilio Goeldi**, Belém, v.101, p. 47-131, 1988.

GUERRERO, M.F.; PUEBLA, P.; CARRÓN, R.; MARTÍN, M.L.; ARTEAGA, L.; SAN ROMÁN, L. Assessment of Antihypertensive and Vasodilator Effects of Ethanolic Extracts of some Colombian Medicinal Plants. **Journal of Ethnopharmacology**, Colombia, v. 86, p.37-42, dez. 2002

HENRY, J.B. **Diagnósticos Clínicos por Métodos Laboratoriais**. 18. ed. São Paulo: Manole, 1995.

IBGE. **Leitura de cartas topográficas e cálculos geodésicos de áreas**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>> acesso em: 10 mai. 2006.

IBGE. **Censos demográficos e contagem populacional**. Para os anos intercensitários, estimativas preliminares dos totais populacionais, estratificados por idade e sexo pelo MS/DE/Datasus, 2006.

KONEMAN, E. W.; ALLEN, S.D.; JANDA, W.M.; SCHRECKENBERG, P.C.; WINN, W.C. **Diagnóstico Microbiológico**. 5. ed. Buenos Aires: Panamericana, 1999.

KOROKOLVAS, A. **Química Farmacêutica**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988.

LIMA, E.F. **Contribuição ao Estudo Químico e Farmacológico de *Cariniana rubra* Gardner Ex Miers: Triterpenóides Potencialmente Ativos**. Cuiabá, 1999. Dissertação (Mestrado em produtos naturais)- Universidade Federal do Mato Grosso.

LOPEZ, A.; HUDSON, J.B.; TOWERS, G.H.N. Antiviral and Antimicrobial Activities of Colombian Medicinal Plants. **Journal of Ethnopharmacology**, Canada, v. 77. p.189-196, jun.2001.

LUZ, F.J.F.; **Plantas Medicinais de Ocorrência Natural em Roraima**. EMBRAPA- CPAF, Boa Vista, p.8, 1998.

MARTÍN, G.J.; **Ethnobotany- A method manual**. New York: Chapman e Hall, 1995.

MATOS, F.J.A. Plantas Medicinais; **Guia de Seleção e emprego de Plantas Usadas em Fitoterapia no Nordeste do Brasil**. Fortaleza: EMBRAPA, 1989.

MESQUITA, M.L.; DESRIVOT, J.; BORIES, C.; FOURNET, A.; PAULA, J.E.; GRELLIER, P.; ESPINDOLA, L.S. Antileishmanial and Trypanocidal Activity of Brazilian Cerrado Plants. **Mem Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.100, p.783-787, nov. 2005.

MILLIKEN, W. **Algumas Plantas Usadas no Tratamento de Malária no Estado de Roraima** – Relatório Preliminar, v.1, Reino Unido, dez 1995.

MILLIKEN, W.; Tradicional anti-malarial medicine in Roraima, Brazil. **Economic Botany**, U.S.A, p. 212-237, fev. 1997.

MILLIKEN, W; ALBERT, B. Plantas medicinais dos Yanomami. Uma visão dentro da etnobotânica de Roraima. In: BARBOSA; FERREIRA; CASTELLOS (Org.). **Homem Ambiente e Ecologia no Estado de Roraima**. 19. ed. Manaus: INPA, 1997.

MIRANDA, A.L.P.; SILVA, J.R.A.; REZENDE, C.M.; NEVES, J.S.; PARRINI, S.C.; PINHEIRO, M.L.B.; CORDEIRO, M.C.; TAMBORINI, E.; PINTO, A.C. Anti-inflammatory and Analgesic Activities of the Latex Containing Triterpenes from *Himatanthus sucuuba*. **Planta Médica**, Brasil, v. 66.p. 284-286, jun. 2000.

MMA. **Plantas Mediciniais**. Produtos Potenciais da Amazônia. Ministério do Meio Ambiente, Manaus, 1998

MOREIRA-ALEXANDRE, M.S.; PIUVEZAM, M.R.; ARAÚJO, C.C.; THOMAS, G.; Studies on the anti-inflammatory and analgesic activity of *Curatella americana* L. **Journal of Ethnopharmacology**, Brasil, v. 67, p.171-177, jan. 1999.

PARENTE, C.E.T.; ROSA, M.M.T. Plantas comercializadas como medicinais no município de Barra do Piraí, RJ. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 52, p. 47-59, 2001.

PERSINOS-PERDUE, G.; BLOMSTER, R.N. South American Plants. III. Isolation of Fulvoplumierim from *Himatanthus sucuuba* (M. Arg.) Woodson (Apocynaceae). **Journal of Pharmaceutical Sciences**, Colombia, v. 67, p.1322-1323, set. 1978.

PINTO, A.A.C.; MADURO, C.B. Produtos e subprodutos da medicina popular comercializados na cidade de Boa Vista, Roraima. **Acta Amazônica**, p.281-289, abril. 2003.

RATTMANN, Y.D.; TERLUK, M.R.; SOUZA, W.M.; SANTOS, C.A M.; BIAVATTI, M.W.; TORRES, L.B.; VELA, S.M.; RIECK, L.; SILVA-SANTOS, J.E.; MARQUES, M.C.A. Effects of Alkaloids of *Himatanthus lancifolius* (Muell. Arg.) Woodson, Apocynaceae, on smooth muscle responsiveness. **Journal of Ethnopharmacology**, Brazil, v. 100, p.268-275, mai. 2005.

REIS, M.S. Manejo sustentado de plantas medicinais em ecossistemas tropicais. *In: DI STASI, L.C. Plantas Mediciniais: arte e ciência*. Um guia de estudo multidisciplinar. São Paulo: Unesp, 1996.

RIBEIRO, J.E.L.; HOPKINS, M.J.G.; VICENTINI, A.; SOTHERS, C.A.; COSTA, M.A.S.; BRITO, J.M.; SOUZA, M.A.D.; MARTINS, L.H.P.; LOHMANN, L.G.; ASSUNÇÃO, P.A.C.L.; PEREIRA, E.C.; SILVA, C.F.; MESQUITA, M.R.; PROCÓPIO, L.C. **Floresta da Reserva Ducke- Guia de Identificação das Plantas vasculares de uma Floresta de Terra-Firme na Amazônia Central**. Manaus: INPA, 1999.

ROJAS, R.; BUSTAMANTE, B.; BAUER, J.; FERNANDÉZ, I.; ALBÁN, J.; LOCK, O. Antimicrobial Activity of Selected Peruvian Medicinal Plants. **Journal of Ethnopharmacology**, Perú, v. 88, p.199-04, jun. 2003.

SETTE SILVA, E.L. A vegetação de Roraima. *In: BARBOSA; FERREIRA; CASTELLOS (Org.)*. **Homem Ambiente e Ecologia no Estado de Roraima**. 19.ed. Manaus, INPA, 1997.

SILVA, K.L.; CECHINEL-FILHO, V. Plantas do Gênero Bauhinia: Composição Química e Potencial Farmacológico. **Química Nova**, São Paulo, v. 25.p.140-142, mai, 2001.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia da Planta ao Medicamento**. 5.ed. Rio Grande do Sul-Santa Catarina: UFSC, UFRGS, 1999.

SOUZA, W.M.; STINGHEN, A.E.M.; SANTOS, C.A.M. antimicrobial activity of Alkaloidal fraction from Barks of *Himatanthus lancifolius*. **Fitoterapia**, Brasil, v.75.p.750-753, nov. 2004.

UCKO, D.A. **Química Para as Ciências da Saúde**. 2.ed. São Paulo: Manole, 1992.

VALE JÚNIOR, J.F.; SOUSA, M.J.L. Caracterização e Distribuição dos Solos das Savanas de Roraima. *In: BARBOSA; XAUD ; COSTA E SILVA (Org.)*. **Savanas de Roraima – Etnoecologia, Biodiversidade e Potencialidades Agrossilvipastoris**. Boa Vista, FEMACT, 2005.

VAN DEN BERG, M.A. Ver-o-Peso: The Ethnobotany of an Amazonian Market. *In: Advances in Economic Botany*, New York, p.140-149, 1984.

VAZQUEZ, M.N.; ESQUINCA, A.R.G.; LUNA, L.C.; GUTIÉRREZ, M.N.M.; ARGÁEZ, A.N.G. Antimicrobial Activity of *Byrsonima crassifolia* (L.) H.B.K. **Journal of Ethnopharmacology**, Mexico, v. 66.p.79-82, aug. 1998.

VELOSO, M.P.; NAGEM, T.A.; OLIVEIRA, T.T. β Dehidroplumericinic acid from *Himatanthus phagedaenicus*. **Biochemical Systematics and Ecology**, Brasil, v.27.p. 669-671, nov. 1998.

WOOD, C.A.; LEE, K.; VAISBERG, E.J.; KINGSTON, D.G.I.; NETO, C.C.; HAMMOD, G.B. A Bioactive Spirolactone Iridoid and Triterpenoids from *Himatanthus sucuuba*. **Pharmaceutical Society of Japan**. U.S.A, v.49.p. 1477-1478, nov. 2001.

ZAR, J.H.; **Bioestatistical Analysis**. 4.ed. New Jersey: Prentice Hall, 1999.