

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é um país que possui uma vasta riqueza em flora, sendo destaque no cenário mundial por abrigar cerca de 13% de todas as espécies de plantas existentes (Lewinsohn & Prado, 2006). Embora muitas já sejam utilizadas como plantas medicinais, pesquisas realizadas para comprovar suas atividades biológicas, investigar toxicidade e garantir viabilidade de produção ainda são insuficientes (Junior *et al.*, 2005).

As plantas medicinais têm sido utilizadas em várias culturas para o tratamento de inúmeras doenças como diabetes, hipercolesterolemia, úlceras, depurativos sanguíneos, câncer, entre outras (Santos & Nunes, 2012). Estas doenças afetam milhões de pessoas no mundo e necessitam de alternativas terapêuticas para sua prevenção e tratamento. Várias delas têm em comum uma alteração metabólica denominada estresse oxidativo, que é caracterizada pelo excesso de radicais livres não neutralizados no organismo (Barnabe *et al.*, 2008).

Destaca-se também a utilização de plantas medicinais como antibiótico pela população. As infecções por microrganismos são responsáveis por cerca de 25% dos óbitos no mundo, podendo chegar a 45% em países subdesenvolvidos (Wannmacher, 2004). O combate a estes agentes torna-se cada vez mais difícil, especialmente pelo desenvolvimento da resistência bacteriana aos antibióticos existentes. Esta resistência ocorre pela seleção induzida pelos antibióticos, um processo que ocorre quando o microrganismo possui gene de resistência a ação farmacológica da droga acometido por uma modificação na estrutura do DNA ou transferência de plasmídeos resistentes entre diferentes bactérias (Antonio *et al.*, 2009). Calcula-se que 10 a 50 % dos antibióticos são utilizados de forma inadequada, interferindo na seleção de microrganismos resistentes (Wannmacher, 2004).

Neste contexto, a prospecção de bioativos vegetais a partir das plantas medicinais, tem sido descrita como alternativa para o desenvolvimento de novas drogas (fármacos, medicamentos e outros produtos industriais) e, a valoração desta biodiversidade conferida pelo conhecimento de suas potencialidades reforça a necessidade de conservação do meio.

1.1 Bioprospecção aplicada à saúde e biotecnologia

Reid (1993) definiu bioprospecção como um método de avaliar, localizar e explorar a vida dentro de uma diversidade existente, com o objetivo de encontrar recursos genéticos e bioquímicos. Este conhecimento pode ser utilizado para fins farmacêutico e/ou biotecnológico. Considerando a dimensão e os estudos atuais na área, podemos entender que a prospecção da biodiversidade é realizada pela soma de etapas que incluem ações de localizar, identificar, avaliar e desenvolver produtos/ processos relacionados à diversidade biológica e ambiental. Embora esta definição seja recente, desde os primórdios da vida em sociedade a população humana já utilizava recursos naturais para a saúde e alimentação, como plantas medicinais e produtos a base de fermentação por microrganismos (Borém, 2005).

O Brasil é um país rico em recursos naturais e conhecimento tradicional, entretanto sua biodiversidade e as informações de seu povo ainda são pouco conhecidas, exploradas e transformadas em patrimônio seguro da nação. Dentre essa riqueza natural destaca-se o bioma brasileiro Cerrado, que compreende aproximadamente 25 % do território nacional, está localizado em grande parte na região centro-oeste (Coutinho, 1990). Embora sua vegetação e fauna sejam extremamente diversificadas, a alta pressão antrópica tem destruído parte destes recursos mesmos antes de terem sido identificados e investigados (Sato & Miranda, 1996).

A planta *Curatella americana* L. pertence à família Dilleniaceae, popularmente é conhecida como lixa, lixeira, marajoara, caímbe, sambaíba e/ou cajueiro-bravo, está presente no cerrado do centro-oeste e tem sido utilizada na medicina popular para preparar infusões a fim de tratar úlceras e inflamações (Conceição, 2011) sendo utilizada também para o tratamento de resfriado, cicatrização de feridas, úlceras, diabetes, hipertensão e, o decocto das folhas, utilizado como antisséptico e adstringente (Vila Verde et al., 2003; Souza & Felfili, 2006; Ustulin et al., 2009). Os estudos científicos já identificaram os potenciais antiinflamatório, analgésico, anti-hipertensivo, anti-ulcerogênico, antimicrobiano, antipoliiovírus, gastroprotetor, além de baixa atividade genotóxica e citotóxica abrindo perspectivas para a busca de novas atividades biológicas desta planta (Alexandre-Moreira et al., 1999; Hiruma-Lima et al., 2009; de Toledo et al., 2011; Vilar et al., 2009; Costa et al., 2008).

1.2 Oxidação e antioxidantes

1.2.1 Oxidação

O processo de oxi-redução em um sistema vivo ocorre constantemente e pode levar a sérios danos celulares. A oxidação de biomoléculas ocorre principalmente através da perda de hidrogênio (H^+) ou adição de oxigênio (O_2) em uma determinada reação, gerando especialmente os radicais livres no organismo (Ferreira & Matsubara, 1997).

Esses radicais livres podem ser classificados de maneira simplificada como um átomo ou molécula altamente reativa, a qual carrega um átomo livre, sendo considerado instável por possuir número ímpar em sua última camada eletrônica, como por exemplo, o superóxido (Ferreira & Matsubara, 1997; Halliwell & Gutteridge, 1989).

A maioria dos radicais livres é proveniente do metabolismo de oxigênio e nitrogênio, sendo denominadas espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio.

1.2.2 Espécies reativas de oxigênio (EROs) e de nitrogênio (ERNs)

As espécies reativas (ERs) realizam várias atividades biológicas em concentrações fisiológicas e, podem causar danos celulares quando em excesso. Estes danos estão relacionados à interação destas moléculas aos lipídios, proteínas, ácidos nucleicos e carboidratos celulares. São fontes de ERs processos endógenos, ingestão de substâncias químicas e fatores ambientais como a radiação (Simon-Giavarotti et al., 1998).

As funções biológicas reguladas pelas ERs incluem controle da pressão sanguínea, sinalização celular, apoptose e regulação do sistema imunológico. Essas moléculas só se tornam prejudiciais a partir do excesso de sua formação, processo para o qual o organismo humano tem um sistema antioxidante capaz de se opor. Diversas pesquisas mostram os efeitos benéficos dos antioxidantes naturais e sintéticos sobre a saúde humana, diminuindo os danos causados pelos radicais livres (Oliveira e Schoffen., 2010; Vasconcelos et al., 2007).

Entre as principais EROs estão o óxido nítrico (NO), o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), superóxido (O_2^-), considerado o mais abundante no organismo humano e o radical hidroxila (OH^- , o mais prejudicial a saúde). A geração deste último radical pode se dar a partir de H_2O_2 em reação com O_2^- , como também pela reação entre O_2^- e NO_2 formando peroxinitrito ($ONOO^-$) que se decompõe em NO_2 e OH^- (Halliwell & Whiteman, 2004).

As ERNs incluem o óxido nítrico ou monóxido de nitrogênio (NO), cloreto de nitrila (NO₂Cl), peroxinitrito (ONOO⁻), dióxido de nitrogênio (NO₂), os quais são potentes iniciadores da peroxidação lipídica em sistemas biológicos (Vasconcelos et al., 2007).

Na circulação sanguínea, além de espécies reativas, podem ser encontrados biomarcadores de peroxidação lipídica das membranas celulares, induzida por espécies reativas, como o malondialdeído, isoprostano, lipoperóxidos e outros que podem ser quantificados através de análise bioquímica do sangue ou de tecidos (Vasconcelos et al., 2007).

1.2.3. Estresse oxidativo e antioxidantes

O estresse oxidativo é uma alteração metabólica caracterizada pelo desbalanceamento entre oxidantes (EROS/ERNs) e ação de antioxidantes, exógenos e endógenos (Barnabe, et al 2008). As biomoléculas, em todas as células do organismo, estão expostas a oxidação induzida por radicais livres e exibem os efeitos deletérios dos mesmos, os quais estão relacionados ao envelhecimento precoce, diabetes, aterosclerose, hipertensão, obesidade e ter efeitos cancerígenos (Barbosa et al., 2008).

Os antioxidantes podem ser divididos em (a) primários: promovem a inativação ou a remoção dos radicais livres através da doação de átomos de hidrogênio a essas moléculas; (b) sinergistas: aumentam a atividade do antioxidante primário; (c) removedores de oxigênio: capturam moléculas de oxigênio; (d) biológicos: responsáveis por processos enzimáticos endógenos; (e) quelantes: realizam complexação com íons metálicos, como o cobre, que podem catalisar a oxidação lipídica; e (f) mistos: presentes principalmente em plantas medicinais (Ramalho & Jorge, 2006).

Além disso, os endógenos também podem ser classificados como enzimáticos e não enzimáticos (Vasconcelos et al., 2007). Os antioxidantes enzimáticos incluem glutaciona peroxidase (GPx), superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), além da ação indireta da glutaciona redutase (Gr). Essas enzimas atuam no combate primário aos radicais livres (Halliwell & Gutteridge, 1989). Algumas das reações catalisadas por estas enzimas são: a SOD reduz o O₂⁻ em H₂O₂ e O₂. A CAT e a GPx, juntamente com a proteína glutaciona (GSH), reduzem o H₂O₂ em H₂O e O₂. A glutaciona redutase (Gr) reduz a glutaciona oxidada no processo anteriormente citado (Ferreira & Matsubara, 1997).

Dentro das classes de antioxidantes não enzimáticos endógenos estão a GSH, bilirrubina, ácido úrico e coenzima-Q (Schneider & Oliveira, 2004). Ochoa et al., 2011,

também comprovaram efeitos antioxidantes da suplementação de melatonina após exercícios físicos, um neuro-hormônio produzido pela glândula pineal que pode auxiliar na captação de radicais livres pela ativação de enzimas antioxidantes.

Além dos mecanismos endógenos, anteriormente descritos, existem os antioxidantes não enzimáticos exógenos que são substâncias normalmente provenientes da alimentação, presentes em frutas cítricas e plantas medicinais, estes constituintes químicos dos alimentos permitem a consideração de que uma mudança no hábito alimentar da população pode ajudar a prevenir danos celulares causados pela formação de radicais livres ao longo do tempo (Poljsak & Dahmane, 2012). Estes antioxidantes incluem β -caroteno (vitamina A), ácido ascórbico (vitamina C), tocoferóis, carotenóides, além dos flavonóides, substâncias pertencentes à classe dos polifenóis, que são atribuídos como os principais antioxidantes das plantas, entre outros (Schneider & Oliveira, 2004).

Adicionalmente ao seu papel na saúde humana, é crescente a utilização dos antioxidantes na área industrial como na alimentícia para aumentar a viabilidade dos alimentos reduzindo ou retardando a deteriorização oxidativa das moléculas, prolongando sua vida útil no mercado. Os antioxidantes sintéticos mais utilizados nas indústrias são BHA, BHT, PG e TBHQ (Ramalho & Jorge, 2006).

1.2.5 Polifenóis e flavonóides

Os polifenóis constituem uma classe de compostos fenólicos vegetais que tem em sua estrutura química um anel aromático ligado a um grupo hidroxila (OH). Eles estão presentes em frutas, cereais, plantas medicinais, café, chocolate, entre outros produtos naturais, fazendo parte da nossa alimentação (D'Archivio et al., 2007). Destes têm sido identificados e isolados compostos benéficos à saúde, especialmente por suas ações antioxidantes, por meio da doação de elétrons e captação de radicais livres. Dentre os compostos polifenólicos com potencial antioxidante destacam-se os flavonóides (Rice-Evans et al., 1996).

Os flavonóides se diferenciam através de suas estruturas químicas e atuam com importante função no crescimento, desenvolvimento e defesa das plantas (Dixon & Harrison, 1990). São constituídos, quimicamente, por um esqueleto de difenil-propano ($C_6C_3C_6$) com dois anéis benzênicos ligados a um anel pirâmico (Behling et al., 2004). Estão divididos em 13 classes, sendo as principais as flavanas, flavonas, flavanonas, auronas, leucoantocianidinas, proantocianidinas, neoflavonóides, chalconas, isoflavonas,

flavonóis e antocianinas, possuindo mais de 8000 compostos descritos, podendo ocorrer também como agliconas e/ou glicosídeos (Bravo, 1998).

Esses compostos são encontrados em muitas plantas medicinais e tem potencial para regular diversas atividades biológicas, sendo-lhes atribuídos, dentre outros, efeitos antimicrobiano, anti-inflamatório, antitumoral e antioxidante, tanto pela redução da formação e pelo aumento da captação de radicais livres (Sreeramulu et al, 2013; Aman et al, 2013; Bogнар et al, 2013; Mahbub et al, 2013). Dentre os flavonóides com ação antioxidante mais estudados estão ácido cafeico, ácido gálico e quercetina (Pietta, 2000; Di Carlo, et al. 1999).

1.3 Antimicrobianos

Os antimicrobianos são drogas muito utilizadas nos últimos séculos, melhorando a qualidade de vida da população em relação a infecções por microrganismos, bem como a redução de complicações pós-traumas e cirúrgicas. Segundo a OMS, aproximadamente 25% das mortes em todo o mundo são ocasionadas por complicações de infecções, aumentando consideravelmente nos países subdesenvolvidos, chegando nestes até 45% do total das mortes.

Os antibióticos correspondem, no mercado farmacêutico, a aproximadamente 12% de toda a venda de fármacos (Wannmacher, 2004). Entretanto, o uso indiscriminado pela população aumenta os riscos de desenvolvimento de resistência microbiana dificultando o tratamento além de ocasionar efeitos colaterais (Centers for Disease Control and Prevention, 1999).

O aumento da resistência microbiana a antibióticos é preocupante à saúde humana. A produção de um novo antibiótico requer alto investimento e o aumento da resistência bacteriana, poderia fazer uma droga sair em pouco tempo do mercado. Esse combate impulsiona a busca por mecanismos viáveis para diminuir os efeitos da resistência a drogas (Polanco et al., 2012).

Para que um antimicrobiano seja considerado um agente ideal no combate aos microrganismos pode-se destacar algumas de suas características, como, alta solubilidade nos fluídos corporais e, baixa toxicidade e estimulação alérgica, além da capacidade de se manter em concentrações terapêuticas constantes. Grande parte dos agentes antimicrobianos é derivada de produtos naturais e são adaptáveis a esses critérios, porém poucos ou nenhum possuem todas essas características (Black, 2002).

Muitos estudos apontam a efetividade dos produtos naturais como fontes terapêuticas que auxiliam no combate a infecções por microrganismos. O uso tradicional das plantas medicinais como antimicrobianos trouxe uma nova perspectiva para o tratamento de infecções. Estudos realizados com extrato acetona de *Acacia mearnsii* De Wild. (Fabaceae), conhecida como acácia negra, mostraram resultados bactericida, tanto para microrganismo gram-positivo quanto para gram-negativo, e fungicida satisfatórios (Olajuyigbe & Afolayan, 2012).

O trabalho realizado por Aguiar, et al. (2012) mostra que o extrato metanólico e todas as frações testadas de *Erythroxylum caatingae* tiveram atividade antifúngica e antimicrobiana frente às bactérias gram-positivas. Atribui-se também ao extrato hidroalcolico de *Syzygium cumini* (L.) conhecido popularmente como jabolão, uma planta típica da medicina popular brasileira, utilizada para tratamento de diabetes de melitus, efetividade no combate a fungos leveduriformes como *Candida krusei*, além de microrganismos de cepas multi-resistentes como *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* e *Staphylococcus aureus* (Oliveira et al., 2007). Esses estudos corroboram a eficiência das plantas medicinais no combate a infecções por microrganismos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Plantas medicinais

Durante séculos as plantas medicinais foram as principais fontes de terapia a qual o homem tinha acesso. Com o nascimento da indústria farmacêutica essas plantas passaram a ser a fonte de produção de medicamentos, porém com o desenvolvimento de pesquisas científicas foram perdendo espaço devido à produção de novos materiais decorrentes da síntese orgânica. Entretanto, sua força foi retomada e boa parte dos medicamentos que são prescritos no Brasil é originária de moléculas isoladas de plantas (Hostettmann *et al*, 2003). Cerca de 50% das drogas que estão em desenvolvimento são derivados de produtos naturais e/ou biotecnológico (Ulhoa & Silva, 2007).

Dentre as drogas de origem natural estão os fitoterápicos, que são medicamentos produzidos a base de plantas medicinais com efeitos comprovados clinicamente com grande poder comercial no mundo, girando em torno de 22 bilhões de dólares por ano. Alguns exemplos de sucesso são *Hypericum perforatum*, popularmente conhecido como erva de São João, utilizado para tratamento de distúrbios psíquicos; *Salix alba* utilizado como analgésico; *Ginkgo biloba* como vasodilatador, *Maytenus ilicifolia* como antiulceroso; *Arctostaphylos uva-ursi* como antimicrobiano; e *Uncaria tomentosa* como anti-inflamatório (Yunes *et al.*, 2000; Carvalho *et al.* 2008).

No Brasil o órgão principal para regulamentação dos fitoterápicos é a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que garante a segurança quanto ao uso e, é responsável pelo registro do produto, para o qual são necessários os mesmos procedimentos exigidos para os medicamentos sintéticos (Carvalho *et al.* 2008). Em junho de 2006 foi aprovado o decreto de lei nº 5.813 pelo governo federal brasileiro que implantou a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF). Este visa

garantir o acesso seguro, proteção às plantas medicinais e desenvolvimento de tecnologias, preservando principalmente o conhecimento tradicional. Em março de 2013 a ANVISA trouxe uma nova proposta de registro criando duas categorias: medicamentos fitoterápicos e produtos tradicionais fitoterápicos.

Muitos estudos vêm sendo desenvolvidos com extratos de plantas medicinais com amplas aplicações biotecnológicas no possível auxílio para a melhoria da qualidade de vida da população (Lee *et al.*, 2011; Maitilli *et al.*, 2011; Atiba *et al.*, 2011).

Com o desenvolvimento tecnológico e científico no campo da identificação e isolamento de constituintes químicos bioativos, houve nos últimos anos um avanço significativo na produção de novas drogas com base em moléculas ou compostos isolados. Para isso, sequencialmente, a partir de resultados positivos obtidos com os extratos brutos, busca-se restringir as possibilidades de componentes químicos avaliados a fim de identificar compostos bioativos. Neste sentido, Hou *et al.* (2011), compararam extratos brutos com uma fração rica em flavonoides da planta *Lithocarpus polystachyus* Rehd e observaram que esta fração potencializou os efeitos antidiabéticos observados para o extrato bruto, sendo então a que contém a(s) molécula(s) de interesse.

Assim, a bioprospecção de produtos naturais é campo de trabalho amplo que atende ao uso direto de plantas medicinais pela população, bem como o interesse da indústria farmacêutica na identificação e isolamento de constituintes químicos para produção de novos fármacos (Hostettmann *et al.*, 2003).

2.2 Dilleniaceae

A família Dilleniaceae, constitui de plantas nativas de regiões tropicais e subtropicais, sendo encontrada principalmente em lugares úmidos e florestas. A família *dilleniaceae* inclui 12 gêneros com aproximadamente 350 espécies, essas plantas compreende em árvores, arbustos, subarbustos, lianas lenhosas e raramente ervas (Fraga & Stehmann, 2010).

No Brasil, a família Dilleniaceae está representada em 6 gêneros, o gênero *Doliocarpus*, um dos mais diversificados dessa família apresentando 34 espécies, *Davilla* possui 30 espécies, e a *Tetracera*, possuindo 15 espécies além da *Curatella*, *Pinzona* e *Neodillenia*, possuindo apenas uma espécie cada (Fraga & Stehmann, 2010).

Alguns estudos mostram importantes atividades biológicas das plantas do gênero Dilleniaceae, como atividade hipoglicêmica, hipolipidêmica, antimicrobiana, antioxidante, antileucêmica e antinociceptiva de *Dillenia indica* (Alam et al., 2011; Apu et al., 2010; Kumar et al., 2011). Adicionalmente, o estudo realizado por Kumar et al., (2010) demonstrou a atividade antileucêmica da fruta de *Dillenia indica* e, o realizado por Armania et al., (2013) apresentou a atividade antioxidante, citotoxicidade dos extratos aquoso e metanólico de *Dillenia suffruticosa*.

A investigação do efeito do extrato etanólico das folhas de *Tetracera scandens* Linn também revelou propriedades hipoglicêmicas, enquanto o estudo de *Tetracera potatoria* demonstrou sua capacidade antiulcerogênica e estimulante da enzima SOD (Oluwole et al., 2008 Umar et al., 2010).

As atividades biológicas de *Davilla elliptica*, antimicrobiana, gastroprotetora, anti-inflamatória, imunomodulatória e antinociceptiva, bem como de *Davilla nitida*, gastroprotetora e anti-inflamatória também já foram descritas nos estudos de Azevedo et al. (2007). Mascia et al. (2007) e Kushima et al. (2009).

Dentre as plantas da família Dilleniaceae destacamos a espécie *Curatella americana* L., planta característica do cerrado, cujos efeitos farmacológicos já conhecidos serão descrito a posteriormente.

2.3 *Curatella americana* L.

2.3.1 Botânica

Popularmente conhecida no Brasil como lixa, lixeira, marajoara, caímbe, sambaíba, cajueiro-bravo e/ou farejadora de ouro, a *Curatella americana* L. é uma angiosperma pertencente da família Dilleniaceae podendo atingir de 1 a 12 metros de altura com indumento de pêlos estrelados, ovário viloso, tendo sua floração principalmente no mês de julho (Oliveira & Castro, 2000; Resende & Pinho, 2011).

Suas folhas são simples, alternadas, possuem curto pecíolo elíptico, ovaladas, de 5 a 12 mm de espessura e 10 a 15 cm de comprimento, coriáceas (possuem cutícula espessa, semelhante a couro) sendo utilizadas pela população como lixas devido seu aspecto áspero principalmente na face ventral da folha (Silva et al., 2008; Killeen et al., 1993).

As flores possuem aproximadamente 5 mm de comprimento, estames persistentes no fruto, pediceladas, ovário súpero, filetes filiformes, côncovas com 4 pétalas caducas, anteras rimosas oblongas e 2 estigmas peltados (Oliveira & Castro, 2000).

Os frutos consistem de uma cápsula sincárpica de cerca de 2,5 cm de diâmetro, valvas internas vermelhas e externas cinza com até 4 sementes com arilo alvo carnosos (Oliveira & Castro, 2000).



Figura 1. *Curatella americana* L. (Fonte: Gisele Colombelli Langwinski).

2.3.2 Fitogeografia

Curatella americana L. é uma planta nativa do Brasil, possui característica semidecídua e heliófita sendo comum em climas tropicais com baixa altitude, tendo preferência por temperaturas elevadas (Almeida et al., 1998).

Encontra-se distribuída em um amplo território sendo a partir da parte central do México até o Brasil, onde pode ser encontrada nas regiões norte, sul e centro-oeste do país. Suas características são de solos secos, típico do Cerrado, podendo ser parcialmente

alagada em determinado período do ano e suportar seca durante longos períodos, tornando-se muitas vezes espécie dominante da região (Vilar et al., 2009).

No Brasil ela é amplamente encontrada nos campos do estado do Pará e Roraima, porém com predominância em área de cerrado do Mato Grosso e Mato Grosso do Sul, além de ter sido identificada também na região amazônica (Almeida et al., 1998).

A *Curatella americana* L. não é comumente cultivada, porém produz grande quantidade de sementes sendo disseminadas na natureza (Ferrão, 1999).

2.3.3 Fitoquímica

A análise fitoquímica desta espécie revelou a presença de compostos fenólicos, terpenos, saponinas, esteroides, taninos (Pott & Pott, 1994; Correa, 1978). O trabalho realizado por El-Azizi *et al.*, (1980), isolou do extrato etanólico das folhas de *Curatella americana* L. ácido gálico e o flavonóide glicosídico avicularina, ao qual atribui-se uma possível atividade antimicrobiana.

2.3.4 Farmacologia e toxicologia

Curatella americana L. é popularmente utilizada para preparar infusões a fim de tratar úlceras, inflamações (Conceição, 2011), resfriado, feridas, úlceras, diabetes, hipertensão e, o decocto das folhas, utilizado como antisséptico e adstringente (Vila Verde et al., 2003; Souza & Felfili, 2006; Ustulin et al., 2009).

Estudo prévio realizado por Alexandre-Moreira et al., (1999) revelou o potencial anti-inflamatório e analgésico do extrato hidroalcolico da casca de *Curatella americana* L.. A atividade anti-inflamatória também foi verificada no estudo realizado com frações ricas em terpenos dessa planta (Guevara et al., 2011). Além destas, o estudo do extrato etanólico de *Curatella americana* L. também mostrou atividade anti-hipertensiva, anti-ulcerogênica e gastroprotetora *in vivo*, tanto para o extrato etanólico quanto para o aquoso da casca (Guerrero et al., 2002; Hiruma-Lima et al., 2009).

Quanto à ação antimicrobiana do extrato etanólico da casca de *Curatella americana* L., o qual foi extraído com cachaça brasileira, verificou-se sua eficiência frente a bactérias gram-positivas, poliovírus e leishmania, além de apresentar baixo efeito citotóxico e não apresentar atividade hemolítica (de Toledo et al., 2011). Entretanto, outro estudo realizado com o extrato etanólico da casca de *Curatella americana* L. por Costa *et al.*, (2008) mostrou atividade antimicrobiana apenas frente a *S. aureus*, e resultados

antifúngicos negativos. A ausência de atividade citotóxica, além de baixa atividade genotóxica direta do extrato etanólico da casca de *Curatella americana* L. também foi verificada por Vilar et al., (2009).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar a atividade antioxidante e antimicrobiana do extrato etanólico das folhas de *Curatella americana* L (ExC).

3.2. Objetivos específicos

Quanto ao ExC:

- quantificar o teor de polifenóis e flavonóides;
- verificar a presença de saponinas;
- investigar o potencial antioxidante;
- avaliar o potencial antimicrobiano.

4. REFERÊNCIAS

Aguiar, J. S.; Araújo R. O.; Rodrigues, M. D.; Sena, Késia X. F. R.; Batista, A. M.; Guerra, M. M. P.; Oliveira, Steno L.; Tavares, J. F.; Silva, M. S.; Nascimento, S. C., da Silva, T. G. (2012) Antimicrobial, Antiproliferative and Proapoptotic Activities of Extract, Fractions and Isolated Compounds from the Stem of *Erythroxylum caatingae* Plowman. Int. J. Mol. Sci. 13, 4124-4140.

Alexandre-Moreira, M. S.; Piuvezam, M. R., Araújo, C.C.; Thomas, G.; (1999). Studies on the anti-inflammatory and analgesic activity of *Curatella americana* L. J Ethnopharmacol 67(2): 171-177.

Almeida, S. P.; Proença C. E. B.; et al. (1998). Cerrado: espécies vegetais úteis. Planaltina: EMBRAPA-CPAC 8: 464.

Alam, M. B.; Rahman, M. S.; Hasan M.; Khan, M. M.; Nahar K.; Sultana, S. (2012) Antinociceptive and Antioxidant Activities of the *Dillenia indica* Bark. Intern J of Pharmac 8(4): 243-251.

Aman, S.; Naim, A.; Siddiqi, R.; Naz, S;. (2013) Antimicrobial polyphenols from small tropical fruits, tea and spice oilseeds. Food Sci Technol Int. 2013 May 23

Antonio, N. S.; Oliveira, A. C.; Canesini, R.; Rocha, J. R. (2009) Mecanismos de resistência bacteriana. Revista científica eletrônica de medicina veterinária, 7(12), 2009.

Armania, N.; Yazan, L.S.; Musa, S.N.; Ismail, I.S.; Foo, J.B.; Chan, K.W.; Noreen, H.; Hisyam, A.H.; Zulfahmi, S.; Ismail, M.; (2013) *Dillenia suffruticosa* exhibited antioxidant and cytotoxic activity through induction of apoptosis and G2/M cell cycle arrest. J Ethnopharmacol. 27;146(2):525-35.

Atiba, A.; Ueno, H.; Usuka, Y.; (2011). "The effect of aloe vera oral administration on cutaneous wound healing in type 2 diabetic rats." J Vet Med Sci 73(5): 583-589.

Apu, A.; Muhit, M.; Tareq, S.M.; Pathan, A.H.; Jamaluddin, A.T.M.; Ahmed, M.; (2010). "Antimicrobial Activity and Brine Shrimp Lethality Bioassay of the Leaves Extract of *Dillenia indica* Linn." J Young Pharm 2(1): 50-53.

Azevedo, A. O.; Campos, J. J.; Galdino, G.S.; Braga, F.C.; Duarte, I.D.; Perez, A.C.; (2007). "Antinociceptive effect from *Davilla elliptica* hydroalcoholic extract." J Ethnopharmacol 113(2): 354-356.

Barbosa, K. B. F. C.; Alfenas, R. C. G.; Alfenas, R. C. G.; Paula, S, O.; Minim, V. P. R.; Bressan, J.; (2008). " Estresse oxidativo: avaliação de marcadores." J of the Braz Soc of F and Nutr 33(2): 111-128.

Barnabe, V.H.; Guimarães, M.A.B.V.; (2008). "Dosagens dos níveis de anti-oxidante enzimáticos e resistência celular ao estresse oxidativo do sêmen de perdizes (*Rynchotus*

rufescens) criadas em cativeiros e suplementadas com selênio." Tese (Doutorado em Reprodução Animal) - Universidade de São Paulo.

Behling, E. B.; Sendão, M. C.; Francescato, H. D. C.; Antunes, L. M. G.; Bianchi, M. L. P.. (2004). "Flavonóide quercetina: aspectos gerais e ações biológicas." Alim e nutr **15**: 7.

Black, J. G. Microbiologia: Fundamentos e perspectivas. Guanabara Koogan, edição 4.

Bognar, E.; Sarszegi, Z.; Szabo, A.; Debreceni, B.; Kalman, N.; Tucsek, Z.; Sumegi, B.; Gallyas, F. Jr.; (2013) Antioxidant and Anti-Inflammatory Effects in RAW264.7 Macrophages of Malvidin, a Major Red Wine Polyphenol. P. One. Jun 5;8(6).

Borém, A. (2005). "A historia da biotecnologia." Biotec ciencia e desenvolv. **34**.

Brasil, Ministério da Saúde, (2009). "Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos." Brasilia-DF.

Bravo L. (1998) Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. Nutr Rev **56**:317-33.

Carvalho, A. C. B.; Balbino, E. E.; Maciel, A.; Perfeito, J. P. S.; (2008) Situação do registro de medicamentos fitoterápicos no Brasil. Braz J of Pharmac18(2): 314-319, Abr./Jun. 2008

Centers for Disease Control and Prevention. CDC. MMWR (1999);48:621-9.

Conceição, G.M.R.A.C.; Ruggieri, A. C.; Araujo, M. F. V.; Conceição, T. T. M. M.; Conceição, M. A. M. M.; (2011). "Plantas do cerrado: comercialização, uso e indicação terapêutica fornecida pelos raizeiros e vendedores, Teresina, Piauí." Sci Plena **7**(12).

Correa, M.P.; (1978). Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Imprensa nacional. Min. da agricultura, IBDF, Rio de Janeiro, Brasil.

Costa, E.S.; Hiruma-Lima, C.A.; Lima, E.O.; Sucupira, G.C.; Bertolin A.O.; Lolis S.F.; Andrade F.D.; Vilegas, W.; Souza-Brito, A.R. (2008) Antimicrobial activity of some medicinal plants of the Cerrado, Brazil. Phytother Res. May;22(5):705-7.

Coutinho, L. M. (1990). "O Cerrado e a ecologia do fogo." C. Hoje **12**(68): 22-30.

de Toledo, C. E.; Britta, E. A.; Ceole, L.F.; Silva, E.R.; de Mello J.C.; Dias Filho, B.P.; Nakamura, C.V.; Ueda-Nakamura, T.; (2011). "Antimicrobial and cytotoxic activities of medicinal plants of the Brazilian cerrado, using Brazilian cachaça as extractor liquid." J Ethnopharmacol **133**(2): 420-425.

Di Carlo, G.; Mascolo, N.; Izzo, A.A.; Capasso, F.; (1999). "Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs." Life Sci **65**(4): 337-353.

Dixon, R.A. e Harrison, M.J.; (1990) Activation, structure, and organization of genes involved in microbial defense in plants. Adv Genet 1990; 28:165-234.

D'Archivio, M.; Filesi, C.; Di Benedetto, R.; Gargiulio, R.; Giovannini, C.; Masella, R.; (2007) Polyphenols, dietary sources and bioavailability. S Sanità,43, 348.

El-Azizi, M. M.; Ateya, A. M.; Svoboda, G.H.; Schiff, P.L. Jr.; Slatkin D.J.; Knapp, J.E.; (1980). "Chemical constituents of *Curatella americana* (Dilleniaceae)." J Pharm Sci **69**(3): 360-361.

Ferrão, J. E. M. (1999). "Fruticultura tropical: espécies com frutos comestíveis." Lisboa: Inst de Invest Cien tropica **1**: 621.

Ferreira, A. L. A.; Matsubara., L.S.; (1997). "Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. ." Rev Ass Med Brasileira **43**: 61-68.

Fraga, C. N. e Stehmann J. R. (2010) Novidades taxonômicas para Dilleniaceae brasileiras. Rodriguésia, v.61: 01-06.

Guerrero, M. F.; Puebla P.; Carrón, R.; Martín, M.L.; Arteaga, L.; Román, L.S.; (2002). "Assessment of the antihypertensive and vasodilator effects of ethanolic extracts of some Colombian medicinal plants." J Ethnopharmacol **80**(1): 37-42.

Guevara, M. C. G.; Giraldo L. F. O.; Velandia, J. R.; (2011) Actividad antiinflamatoria de extractos y fracciones de *myrcianthes leucoxila*, *calea prunifolia*, *curatella americana* y *physalis peruviana* en los modelos edema auricular por tpa, edema plantar por carragenina y artritis inducida por colágeno. Biosalud 10 (1). 9 - 18.

Junior, V. F. V. P.; Angelo C.; Maciel, M.A.M.; (2005). " Plantas medicinais: cura segura?" Quím. Nova **28**(3).

Halliwell, B. e Gutteridge, J. M. C. (1989) "Free Radical in Biology and Medicine." Oxf Uni Press: Oxford **4**(3).

Halliwell, B. e Whiteman, M. B. (2004). "Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean?" J Pharmac **142**(2): 231-255.

Hiruma-Lima, C. A.; Rodrigues, C. M.; Kushima, H.; Moraes, T.M.; Lolis Sde, F.; Feitosa, S.B.; Magri, L.P.; Soares, F.R.; Cola, M.M.; Andrade, F.D.; Vilegas, W.; Souza Brito, A.R.; (2009). "The anti-ulcerogenic effects of *Curatella americana* L." J Ethnopharmacol **121**(3): 425-432.

Hou S.Z.; Chen S.X.; Huang, S.; Jiang, D.X.; Zhou, C.J.; Chen, C.Q.; Liang, Y.M.; Lai, X.P.; (2011) The hypoglycemic activity of *Lithocarpus polystachyus* Rehd. leaves in the experimental hyperglycemic rats. J Ethnopharmacol. 2011 Sep 8.

Hostettmann, K.; Queiroz, F.E.; Vieira, P.C. (2003). "Princípios Ativos de Plantas Superiores." Edufscar.

Killeen, T. J. e García, E.; (1993). "Guía de árboles de Bolivia." Gardens and Herbario Nacional de Bolivia-Missouri Botanical 598.

Kumar, S.; Kumar, V.; Prakash, O.; (2011). Free Radicals scavenging effect of *Dillenia indica* leaves. Asian J Phar Biol Res. 2011; 1(2): 169-173.

Kumar, S.; Kumar, V.; Prakash, O.; (2011). Antidiabetic, hypolipidemic and histopathological analysis of *Dillenia indica* (L.) leaves extract on alloxan induced diabetic rats. Asian Pac J Trop Med. 2011 May;4(5):347-52.

Kumar, D.; Mallick, S.; Vedasiromoni, J.R.; Pal, B.C.; (2010). "Anti-leukemic activity of *Dillenia indica* L. fruit extract and quantification of betulinic acid by HPLC." Phytomed 17(6): 431-435.

Kushima, H.; Nishijima, C. M.; Rodrigues, C.M.; Rinaldo, D.; Sassá, M.F.; Bauab, T.M.; Stasi, L.C.; Carlos, I.Z.; Brito, A.R.; Vilegas, W.; Hiruma-Lima, C.A.; (2009). "Davilla elliptica and Davilla nitida: gastroprotective, anti-inflammatory immunomodulatory and anti-*Helicobacter pylori* action." J Ethnopharmacol 123(3): 430-438.

Lee, S. J.; Zhang, G. F.; Sung, N.J.; (2011). "Hypolipidemic and hypoglycemic effects of *Orostachys japonicus* A. Berger extracts in streptozotocin-induced diabetic rats." Nutr Res Pract 5(4): 301-307.

Lewinsohn, T. M. e Prado, P.I. (2006). " Síntese do conhecimento atual da biodiversidade brasileira." Avaliação do estado do conhecimento da biodiversidade brasileira. Ed. MMA.

Mahbub, A.A.; Le Maitre, C.L.; Haywood-Small, S.L.; McDougall, G.J.; Cross, N.A.; Mahy, N.J.; Differential effects of polyphenols on proliferation and apoptosis in human myeloid and lymphoid leukemia cell lines Anticancer Agents. Med Chem. 2013 Jun 17.

Maithili, V.; Dhanabal, S. P.; Mahendran, S.; Vadivelan, R.; (2011). "Antidiabetic activity of ethanolic extract of tubers of *Dioscorea alata* in alloxan induced diabetic rats." Indian J Pharmacol 43(4): 455-459.

Mascia Lopes, F. C., Polesi Placeres, M. C.; Jordão, C.M. Jr.; Higuchi C.T.; Rinaldo, D.; Vilegas, W.; Fujimura Leite, C.Q.; Carlos, I.Z.; (2007). "Immunological and microbiological activity of *Davilla elliptica* St. Hill. (Dilleniaceae) against *Mycobacterium tuberculosis*." Mem Inst Oswaldo Cruz 102(6): 769-772.

Nijveldt, R. J.; van Nood, E.; van Hoorn, D.E.; Boelens, P.G.; van Norren, K.; van Leeuwen, P.A.; (2001). "Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications." Am J Clin Nutr 74(4): 418-425.

Ochoa, J. J., Diaz-Castro, J.; Kajarabille, N.; García, C.; Guisado, I.M.; De Teresa, C.; Guisado, R.; (2011). "Melatonin supplementation ameliorates oxidative stress and

inflammatory signaling induced by strenuous exercise in adult human males." J Pineal Res **51**(4): 373-380.

Olajuyigbe, O. O. e Afolayan, A. J.; (2012). "Pharmacological Assessment of the Medicinal Potential of *Acacia mearnsii* De Wild.: Antimicrobial and Toxicity Activities." Int J Mol Sci **13**(4): 4255-4267.

Oliveira, F.G.; Furtado, N.A.J.C.; Filho, A. A. S.; Martins, C. H. G.; Bastos, J. K.; Cunha, W. R.; Silva, M. L. A.; (2007). "Antimicrobial activity of *Syzygium cumini* (Myrtaceae) leaves extract." Braz J Microbiology **38** (2)

Oliveira, L. A. e Castro, N. M.; (2000). "Anatomia da folha de duas espécies de Dilleniaceae: *Curatella americana* L. e *Davilla elliptica* St. Hil." Soc Bras de Bot **51**: 136.

Oliveira, M. C.; Schoffen J. P. F.; (2010). Oxidative Stress Action in Cellular Aging. Braz. Arch. Biol. Technol v.53, n. 6: pp.1333-1342, 2010.

Oluwole, F.S.; Ayo, J.A.; Omolaso, B.O.; Emikpe, B.O.; Adesanwo, J.K.; (2008) Methanolic extract of *Tetracera potatoria*, an antiulcer agent increases gastric mucus secretion and endogenous antioxidants. Niger J Physiol Sci. 2008 Jun-Dec;23(1-2):79-83.

Pietta, P. G.; (2000). "Flavonoids as antioxidants." J Nat Prod **63**(7): 1035-1042.

Polanco, C., J. L. Samaniego, Buhse, T.; Mosqueira, F. G.; Negron-Mendoza, A.; Ramos-Bernal, S.; Castanon-Gonzalez, J. A.; (2012). "Characterization of selective antibacterial peptides by polarity index." Int J Pept **2012**: 585027.

Poljsak, B. e Dahmane, R. (2012). "Free radicals and extrinsic skin aging." Dermatol Res Pract **2012**: 135206.

Pott, A., Pott, V.; (1994). Plantas do Pantanal. Ministério da agricultura, Embrapa, Brasil.

Ramalho, V. C. & Jorge, N. (2006) Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. Quím. Nova vol.29 no.4 São Paulo.

Resende, O.R. e Pinho, F.E.C.; (2011). "Estudo da espécie *Curatella americana* L – (Lixeira) utilizada como bioindicador em região aurífera do distrito de Cangas-Poconé-MT." Rev Biol e C da Terra **11**(2).

Rice-Evans, C. A.,; Miller, N. J.; Paganga, G.; (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. Free Radical Biol. Med. 20: 933-956.

Reid, W. V.; (1993). "Prospección de la biodiversidade. Instituto Nacional de Biodiversidade." W. Res Inst.

Santos, M.M.; Nunes, M.G.S.; (2012). Uso empírico de plantas medicinais para tratamento de diabetes. Rev Bras de Plant Med. **14**: 327-334.

Sato, M. N. e Miranda, H. S. (1996). "Mortalidade de plantas lenhosas do cerrado *Sensu Stricto* submetidas a diferentes regimes de queima. In: Simpósio Impacto das Queimadas sobre os Escossistemas e Mudanças Globais." Anais Brasília: UnB/ECL: 93-101.

Schneider, C. D.; Oliveira, A.R.; (2004). "Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico." Revista Brasileira de Medicina do Esporte **10**(4).

Silva, S. R.; Añez, R.; (2008). "Comparação morfo-anatômica de *Curatella americana* L. em duas regiões: Cerrado e Savana Amazônica " Unemat.

Simon Giavarotti, K. A.; Rodrigues, L.; Rodrigues, T.; Junqueira, V.B.; Videla, L.A.; (1998). "Liver microsomal parameters related to oxidative stress and antioxidant systems in hyperthyroid rats subjected to acute lindane treatment." Free Radic Res **29**(1): 35-42.

Souza, C. D., Felfili, J. M. (2006). "Uso de plantas medicinais na região de Alto Paraíso de Goiás." Acta bot. bras. **20**(1): 135-142.

Sreeramulu D, Reddy CV, Chauhan A, Balakrishna N, Raghunath M.; (2013) Natural antioxidant activity of commonly consumed plant foods in India: effect of domestic processing. Oxid Med Cell Longev., 2013:369479.

Ulhoa, C. J.; Silva, R.N.; (2007) Biotecnologia farmacêutica e seus desafios. Departamento de Bioq. e Biol. Mol. do Inst. de C. Biol. da UFG. 2007.

Umar, A.; Ahmed, Q.U.; Muhammad, B.Y.; Dogarai, B.B.; Soad, S.Z.; (2010) Anti-hyperglycemic activity of the leaves of *Tetracera scandens* Linn. Merr. (Dilleniaceae) in alloxan induced diabetic rats J Ethnopharmacol. Aug 19;131(1):140-5

Ustulin, M.; Figueiredo, B. B.; (2009). "Plantas medicinais comercializadas no Mercado Municipal de Campo Grande-MS." Braz J Pharmac. **19**(3): 805-813.

Vasconcelos S. M. L., Goulart M. O. F., Moura, J. B. F.; Manfredini, V.; Benfato, M. da S.; Kubota, L. T.; (2007). "Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação." Quim. Nova **30**(5): 1323-1338.

Vila Verde, G. M.; Caneiro, D.M.; (2003). "Levantamento etnobotânico das plantas medicinais do cerrado utilizadas pela população de Mossâmedes (GO)." Rev. Bras. Farmacogn **13**: 64-66.

Vilar, J. B.; Andrade, L.S.; Leite, K. R.; Ferreira, H. D.; Chen, L. C.; (2009). "Assessment of genotoxicity and cytotoxicity of "lixreira" (*Curatella americana* L.) " Braz. J Pharm. **45**(3): 491-496.

Wannmacher, L. (2004). "Uso indiscriminado de antibióticos e resistência microbiana: Uma guerra perdida?" Brasília **Vol. 1**(4).

Yunes, R. A.; Pedrosa, R. C.; Filho, V. C.; (2001). Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. Quim. Nova, Vol. 24, No. 1, 147-152, 2001.

5. ANEXO

5.1 Artigo científico

O artigo científico descrito neste item será submetido à revista *Journal of Ethnopharmacology*, e as normas para submissão neste periódico encontram-se disponíveis em: <http://www.elsevier.com/wps/find/journaldescription.cws_home/506035/authorinstructions>

Estrato Qualis-Capes: Medicina II - B1

Fator de Impacto: 3.014

Atividade antioxidante e antimicrobiana do extrato etanólico de folhas de *Curatella americana* L. (Dileneaceae)

Macorini, L.F.B.^a; Casagrande, J.C.^b; Antunes, K.A.^b; Santos, U.P.^a; Melo, A.M.M.F.^c; Pereira, Z.V.^b; Santos, E.L.^b; de Picoli Souza, K.^{a, b}.

^aPrograma de Pós-graduação em Ciências da Saúde,

^bPrograma de Pós-graduação em Biologia geral/bioprospecção, Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD),

^cCentro Universitário da Grande Dourados, Dourados/MS.

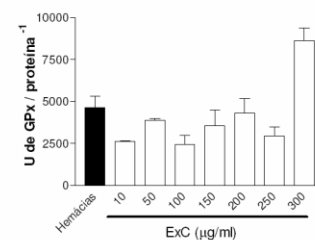
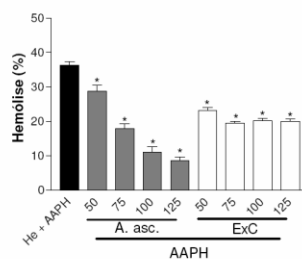
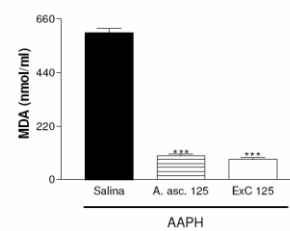
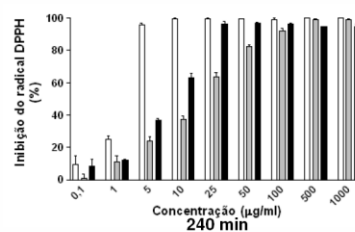
* Autor correspondente. Endereço para correspondência: Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais - FCBA, Universidade Federal da Grande Dourados, Rodovia Dourados - Itaum, km 12, Dourados, Mato Grosso do Sul, CEP 79804-970, Brasil. Telefone: 55 67 3410-2210. Fax: 55 67 3410-2192. E-mail: kelypicoli@ufgd.edu.br (de Picoli Souza, K.).

Título breve: Atividade antioxidante e antimicrobiana de *Curatella americana* L.

Resumo gráfico

*Curatella americana* L.

Polifenóis
Flavonóides



Microrganismo	Halo de inibição (mm)		CIM (ug/ml)	CBM (ug/ml)
	Tetraciclina (4 mg/ml)	ExC (200 mg/ml)		
<i>S. aureus</i>	39,3 ± 0,6	22,0 ± 1,2	1,55	6,25

Resumo

Introdução: *Curatella americana* L. (Dilleniaceae), conhecida popularmente no Brasil como "lixreira", é uma planta comumente encontrada na região do Cerrado do Mato Grosso do Sul. A análise fitoquímica da planta revela a presença de um conjunto de compostos químicos que incluem, terpenos, compostos fenólicos, saponinas e esteróides, os quais podem ser responsáveis pelas ações biológicas descritas pela medicina popular. Neste contexto, buscamos avaliar a atividade antioxidante e antimicrobiana do extrato etanólico das folhas de *Curatella americana* L.

Material e métodos: Foi determinada a quantidade de polifenóis e flavonóides totais do ExC, bem como presença de saponinas. O potencial antioxidante do ExC foi avaliado pelas técnicas de captação de radicais livres DPPH e proteção hemolítica induzida por AAPH, seguido da quantificação de malonaldeído (MDA). Adicionalmente, foi avaliada atividade da enzima glutatona peroxidase (GPx) em eritrócitos humanos tratados com o ExC. Para avaliação da atividade antimicrobiana foram realizados testes qualitativo pela técnica de poço em agar Mueller Hinton frente aos microrganismo *Staphylococcus aureus*, *Echerichia coli*, *Candida albicans* e de concentração inibitória mínima (CIM), através da técnica de microdiluição em microplacas por 24 horas a 37°C em estufa bacteriológica, além de caracterização da ação bactericida (CBM).

Resultados: O ExC apresentou atividade máxima na concentração de 25 µg/mL e IC₅₀ de 6,0±0,5 µg/mL, mostrando-se intermediário entre os controles ácido ascórbico e BHT, respectivamente, quanto a captação do radical livre DPPH. Houve moderada hemólise basal nas amostras tratadas com ExC, contudo, em todas as concentrações avaliadas (50 a 125 µg/mL) durante 4 horas os eritrócitos induzidos a hemólise por AAPH foram protegidos pela presença do ExC, o que foi confirmado pela redução da peroxidação lipídica indicada pelos menores níveis de MDA nas amostras incubadas com o ExC. Na concentração de 300 µg/mL o ExC foi capaz de aumentar a atividade da GPx. Adicionalmente, o ExC apresentou atividade antimicrobiana frente à bactéria *Staphylococcus aureus* na concentração de 200 mg/mL, com CIM e CBM nas concentrações de 1,75 e 6,25 µg/mL, respectivamente.

Conclusão: Em suma, o extrato etanólico de folhas de *Curatella americana* L. apresenta atividade antioxidante e antimicrobiana.

Palavras-chave: Bioprospecção, estresse oxidativo, radicais livres, CIM, CBM.

1. Introdução

Curatella americana L. é popularmente conhecida no Brasil como lixa, lixeira, marajoara, caímbe, sambaíba e/ou cajueiro-bravo, pertencente à família Dilleniaceae (Oliveira & Castro, 2000; Resende & Pinho, 2011). Estudos científicos indicam efeitos anti-inflamatórios, analgésicos, anti-hipertensivo e vasodilatador do extrato hidroalcoólico da casca desta planta (Alexandre-Moreira et al., 1999; Guerrero et al., 2002). Na medicina popular, infusões da casca de *Curatella americana* L. são utilizadas também para o tratamento de resfriado, cicatrização de feridas, úlceras, diabetes, hipertensão e, o decocto

das folhas é utilizado como antisséptico e adstringente (Vila Verde et al., 2003; Souza & Felfili, 2006; Ustulin et al., 2009). Assim, é necessária a ampliação dos estudos científicos para a verificação das potencialidades descritas popularmente.

O desbalanço entre agentes oxidantes e antioxidantes no organismo, favorece o acúmulo de espécies reativas de oxigênio (EROs), um estado conhecido como estresse oxidativo. Esta condição tem despertado grande interesse uma vez que se encontra na base de diversas patologias como diabetes, obesidade, doenças cardiovasculares, doenças neurodegenerativas e câncer, bem como no envelhecimento precoce (Galili et al., 2007; Barbosa et al., 2008). O uso de substâncias antioxidantes pode contribuir tanto para o tratamento, como prevenção destas patologias ou ainda, como coadjuvantes para os tratamentos convencionais (Gillett et al., 2012; Stephen Irudayaraj et al., 2012).

Contaminações e infecções, bacterianas e fúngicas, representam um desafio constante para o desenvolvimento de novos produtos tanto pela redução de efeitos colaterais em humanos quanto pelos processos de resistência microbiana (Seligman, 2004; Polanco et al., 2012).

Adicionalmente ao que representa a biodiversidade como fonte de novas moléculas bioativas, a prospecção de bioativos vegetais favorece a valoração e conservação. Neste contexto, as indicações populares e análises da constituição química da *Curatella americana* L., que inclui a presença de compostos fenólicos, terpenos, esteroides e taninos (Ferrão, 1999), direcionam o objetivo deste trabalho na investigação da atividade antioxidante e antimicrobiana desta planta, potencialmente aplicáveis no desenvolvimento de novas drogas.

2. Materiais e métodos

2.1 Material botânico

Folhas de *Curatella americana* L. foram coletadas e uma exsicata foi depositada no Herbário DDMS da FCBA/UFGD. O material coletado foi seco e triturado. Após o procedimento acrescentou-se solução etanólica, na proporção 1:6 g/mL. O material ficou em repouso por sete dias, em seguida, filtrado, rotaevaporado e liofilizado.

2.2 Dosagem de polifenóis totais

A concentração dos polifenóis totais nas amostras foi determinada pelo método espectrofotométrico descrito por Meda, et al. (2005), utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu. Foram realizadas três dosagens do ExC, sendo apresentada a média, expressa em mg de equivalentes de ácido gálico (EAG)/100 g de amostra.

2.3 Dosagem de flavonóides totais

O teor de flavonóides totais foi determinado segundo metodologia descrita na literatura (Liberio, et al. 2011) com algumas adaptações, utilizando como reagente uma solução de cloreto de alumínio 2% em metanol. Soluções do extrato etanólico de folhas de *Curatella americana* L. (ExC) em metanol:água (1:1) na concentração de 10 mg/mL foram preparadas. A 4,5 mL de solução metanólica a 2% de cloreto de alumínio hidratado foi adicionado 0,5 mL do ExC. Após 30 minutos em repouso, foram lidas as absorvâncias das soluções a 415 nm.

2.4 Dosagem de Saponinas

Em 2 mL de etanol foi dissolvido 10 mg do ExC. Em seguida adicionou-se 5 mL de água fervente, sendo amostra agitada vigorosamente e deixada em repouso por 20 minutos. A formação de espuma indica a presença de saponinas (Barbosa *et al.* 2004).

2.5 Ensaio de captação do radical 2,2-Difenil-1-picril-hidrazil (DPPH)

A atividade antioxidante do extrato hidroalcoólico de *Curatella americana* L. foi avaliada utilizando-se a técnica descrita por Gupta & Gupta (2011), de captura do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) Foram preparadas soluções de DPPH (0,11 mM), controles positivos utilizando ácido ascórbico (ácido ascórbico) e hidroxibutiltolueno (BHT) e ExC na concentração de 20 mg/mL em etanol 80 %. A partir destas foram realizadas diluições seriadas (1000, 500, 100, 50, 25, 10, 5, 1, 0,1 ug/mL). As leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 517 nm. A absorvância de cada amostra foi dividida pela absorvância do DPPH e multiplicada por cem para representar a atividade antioxidante em porcentagem.

2.6 Indução de hemólise por AAPH 2,2-azobis (2-amidinopropano) (AAPH)

A proteção contra peroxidação lipídica do extrato foi avaliada pela técnica de hemólise induzida por 2,2-azobis 2-amidinopropano dihidroclorido, descrita por Valente,

et al. (2011), Foram coletados 5 mL de sangue total venoso com anticoagulante citrato de sódio de um único indivíduo adulto e saudável (Protocolo 123/12 do Comitê de Ética em Pesquisa do Centro Universitário da Grande Dourados). O sangue foi centrifugado a velocidade de 2000 rpm para separação dos eritrócitos. As células foram então submetidas a três lavagens com salina (NaCl, 09%) a 3000 rpm para eliminação de possíveis interferentes, o sobrenadante foi descartado a cada centrifugação. Em seguida, foi preparada uma solução de hemácias 10% em salina.

Esta solução eritrocitária foi incubada com água destilada (indução de hemólise total) e indutor de hemólise AAPH (50 mM), isolado ou em conjunto com o antioxidante padrão ácido ascórbico e ExC nas concentrações de 50, 75, 100 e 125 ug/mL, chegando a uma concentração final de hemácias a 2,5%. Foram retiradas alíquotas a cada 1 hora após o início das incubações, durante 4 horas. As quais foram lidas em espectrofotômetro a 540 nm. Foram realizados 3 experimentos independentes em duplicata. Os dados são apresentados como média \pm erro padrão da média, e foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e *post test* Dunnett's, sendo considerados significantes quando $P < 0.05$.

2.7 Peroxidação lipídica de eritrócitos induzida por 2,2'-azobis (2-amidinopropano) (AAPH)

Após o período de 240 minutos, manteve-se a incubação dos grupos a 37°C com e sem adição de 500 μ L de radicais peroxila gerados pela decomposição térmica do AAPH 50 mM diluídos em SF 0,9% durante 4 horas. Após o período de incubação, retirou-se uma alíquota de 0,5 mL da mistura da reação e foi adicionado 0,5 mL de ácido tricloroacético 20% com posterior homogeneização. Dessa mistura, foi retirada uma alíquota de 0,5 mL e adicionada em tubos previamente já pipetados com 1 mL do reagente do ácido tiobarbitúrico (TBA) 10 nM e incubados em banho-maria a 94°C por 45 minutos. Após esse período, as amostras foram mantidas à temperatura ambiente por 15 minutos, seguida da adição de 3 mL de butanol, com posterior agitação e centrifugação como descrito por Percario, *et al.* (1994). A leitura da absorbância do sobrenadante foi realizada em espectrofotômetro a 532 nm.

2.8 Atividade da glutathiona peroxidase (GPx) em eritrócitos humanos

A atividade da enzima glutathiona peroxidase foi determinada segundo Hafeman et al., (1974), com algumas modificações em solução de eritrócitos a 25%. Adicionou-se a 30 μL de amostra, 441 μL de água destilada, 300 μL de GSH 2 mM, 300 μL de tampão fosfato de sódio 0,4 mM e 150 μL de azida sódica 0,01 M. A mistura foi mantida em tubo de ensaio com capacidade para 5 mL previamente aquecido (37 °C) e deixada em repouso por 5 min em banho-maria a 37 °C. Imediatamente após, foi adicionado 300 μL de H_2O_2 1,25 mM. Após 3 minutos no banho transferiu-se uma alíquota de 400 μL desta mistura a 1600 μL do reagente de precipitação (ácido metafosfórico glacial, EDTA, NaCl). Centrifugou-se a 3000 rpm por 10 min e adicionou-se 800 μL do sobrenadante a 800 μL de Na_2HPO_4 0,4 M e 400 μL de ácido 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoic (DTNB) 40 mg/mL, preparado em citrato trissódico 1%, a concentração final de hemácias foi de 2,5%. Foram lidos em espectrofotometro a 412 nm antes de 5 min após a adição do DTNB. Cálculo estabelecido em $1\text{U} = (\text{Maior Absorbância} - \text{Menor Absorbância}) \times 1000$. ($\text{U} = \text{nmol.mg prote\u00edna}^{-1}$).

2.9 Atividade antimicrobiana

Os microrganismos testados foram inoculados em caldo Brain Heart Infusion (BHI) e incubados a 37 °C por 24 h para reativação da cepa de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25231), *Echerichia coli* (ATCC 8731) e *Candida albicans* (ATCC 10231). Após o período os microrganismos foram semeados em placa contendo ágar *Mueller Hinton* e incubados novamente a 37 °C por 24 h em estufa bacteriológica (Antunes, et al. 2006).

Após o crescimento, o inóculo microbiano foi padronizado em salina em uma turvação equivalente ao tubo 0,5 da escala de MacFarland equivalente a 1×10^8 UFC/mL, e semeado, na superfície das placas de agar *Mueller Hinton*, com auxílio de *swabs* estéreis de forma homogenia. Em seguida foram realizadas perfurações de 6 mm de diâmetro com tubos de alumínio estéreis e adicionados em cada cavidade o equivalente a 100 μL do ExC na concentração de 200 mg/mL e controles tetraciclina (4 mg/mL) e cetoconazol (2 mg/mL).

A avaliação da atividade antimicrobiana foi realizada observando-se a formação de halos de inibição ao redor das cavidades padronizadas (NCCLS, 2002; Antunes et al., 2006).

2.10 Concentração inibitória mínima (CIM)

Foram adicionados 100 µL de caldo Mueller Hinton (CMH) em microplaca de 96 poços e adicionou-se 100 µL do extrato realizando a microdiluição.

A determinação da CIM foi realizada com os mesmos microrganismos utilizados para a avaliação atividade antimicrobiana descritas no item 2.9. Os cultivos bacterianos foram ativados através de subcultivos em ágar Mueller Hinton durante 24 h a 37 °C.

Após o crescimento, o microrganismo foi padronizado em salina em uma turvação equivalente ao tubo 0,5 da escala de MacFarland e diluído 1:10 também em salina. Após a diluição volumes de 10 µL foram transferidos para as cavidades de microplaca esterilizada, contendo volume final de 100 µL de caldo Mueller Hinton acrescido das diferentes concentrações finais do ExC, resultando em um inóculo final de aproximadamente 10×10^5 UFC/mL e posteriormente levados a estufa a 37°C por 24 horas. As CIMs (concentrações inibitórias mínimas) em microdiluição foram determinadas através de leitura em espectrofotmetro a 610 nm em microplaca observando a menor concentração na qual o ExC inibiu completamente o crescimento microbiano (Hammer et al., 1998).

2.11 Concentração bactericida mínima (CBM)

Seguindo as normas do NCCLS (2002), para determinar a CBM retirou-se uma alíquota de amostras dos poços onde não ocorre crescimento microbiano e semeou-se em ágar Muller Hinton, as placas foram incubadas à temperatura de 37°C por 24h. A CBM foi considerada como a menor concentração na qual não houve crescimento dos microrganismo nas placas de Petri.

3. Resultados

Determinação de polifenóis totais, flavonóides totais e saponinas

As concentrações de polifenóis e flavonóides totais do extrato etanólico de folhas de *Curatella americana* L. (ExC) foram determinadas e estão apresentadas na Tabela 1. Adicionalmente verificou-se a presença de saponinas no extrato.

Tabela 1. Determinação de polifenóis (mg equivalente de ácido gálico/ 100 g do ExC), flavóides (mg equivalente de quercetina/ 100 g do ExC) e saponinas do extrato etanólico de *Curatella americana* L (ExC).

	Polifenóis	Flavonóides	Saponina
<i>ExC</i>	391 ± 5,0	59 ± 3,6	Positivo

Atividade de sequestro de radical DPPH

Considerando a presença das substâncias potencialmente antioxidantes no *ExC*, foi realizada a avaliação *in vitro* da atividade de captura do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH). Os resultados (Figura 1 e tabela 2) indicam um potencial de captação de radicais livres com atividade máxima de cerca de 90 % na concentração de 25 $\mu\text{g/mL}$ e IC_{50} de $6,0 \pm 0,5 \mu\text{g/mL}$. A mesma atividade antioxidante foi observada nas concentrações de 10 $\mu\text{g/mL}$ e 500 $\mu\text{g/mL}$ com IC_{50} de $1,8 \pm 0,4$ e $18,3 \pm 4,5$ para os controles ácido ascórbico e BHT, respectivamente.

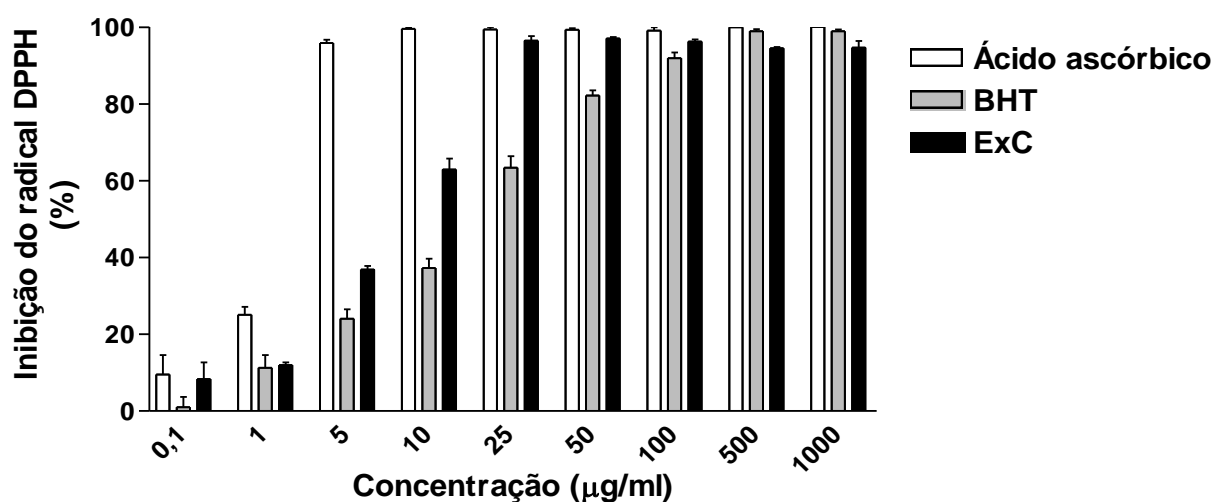


Figura 1: Atividade antioxidante: capacidade do extrato etanólico de folhas de *Curatella americana* L. (*ExC*) e dos padrões ácido ascórbico e BHT em % de sequestrar o radical livre DPPH. Foram realizados 3 experimentos independentes realizados em triplicata.

Tabela 2. IC_{50} e atividade máxima (%) de captação do radical livre DPPH do extrato etanólico de *Curatella americana* L. e antioxidantes padrões (ácido ascórbico e BHT).

Tratamentos	IC_{50} ($\mu\text{g} / \text{mL}$)	F relat*	n**	Atividade máxima	
				%	$\mu\text{g} / \text{mL}$

Ácido ascórbico	1,8±0,4	0,3	2	92,3 ± 0,8	10
BHT	18,3±4,5	3,0	2	93,7 ± 1,3	500
ExC	6,0 ± 0,5		3	96.5 ± 1,2	25

*F relat = fator relativo (razão entre o valor do IC₅₀ do ExC e IC₅₀ da ácido ascórbico e BHT)

**n = número de experimentos independentes realizados em triplicata

Atividade hemolítica

Foi observado hemólise basal do ExC nos 240 minutos de experimento, visto que o controle ácido ascórbico não apresentou diferença em hemólise em nenhum momento (Figura 2)

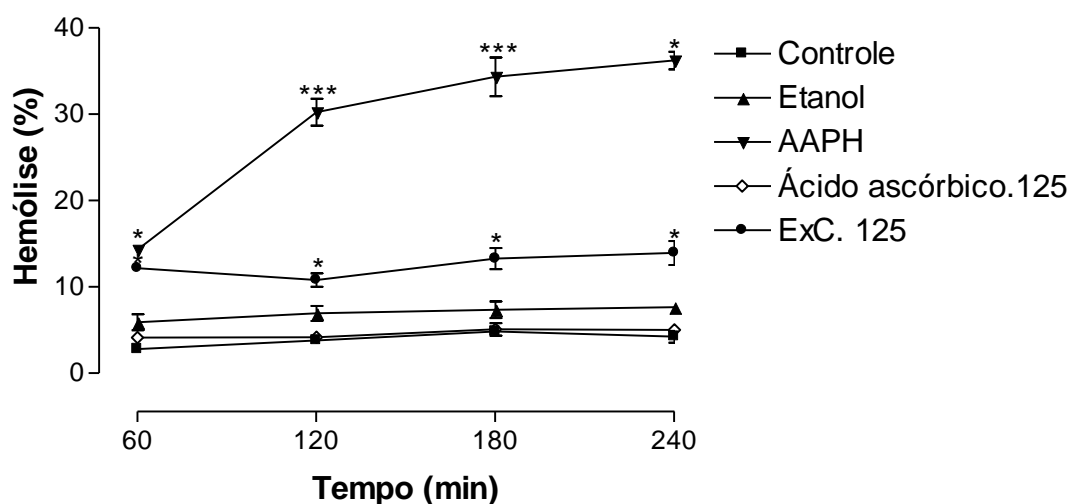


Figura 2: Atividade hemolítica do ExC na concentração de 125 ug/mL em eritrócitos submetidos à AAPH. A suspensão de eritrócitos a 2,5% foi submetida à AAPH 50 mM por 4 horas e com diferentes concentrações de ExC. Os resultados foram expressos como média ± erro padrão. ** P<0,01 vs Controle (He-2,5%). Foram realizados 3 experimentos independentes realizados em triplicata.

Atividade anti-hemolítica

O potencial anti-hemolítico do ExC foi avaliado em eritrócidos submetidos a peroxidação lipídica e conseqüente hemólise induzida por 2,2-azobis 2-amidinopropano dihidroclorido (AAPH) durante 4 horas. Verificou-se que o ExC protegeu os eritrócitos da

hemólise de forma tempo e não dose dependentes, atingindo maior atividade aos na dose de 125 $\mu\text{g}/\text{mL}$ aos 120 e 180 minutos , comparado o ácido ascórbico que ocorre na dose de 125 $\mu\text{g}/\text{mL}$ aos 120 min (Figura 3).

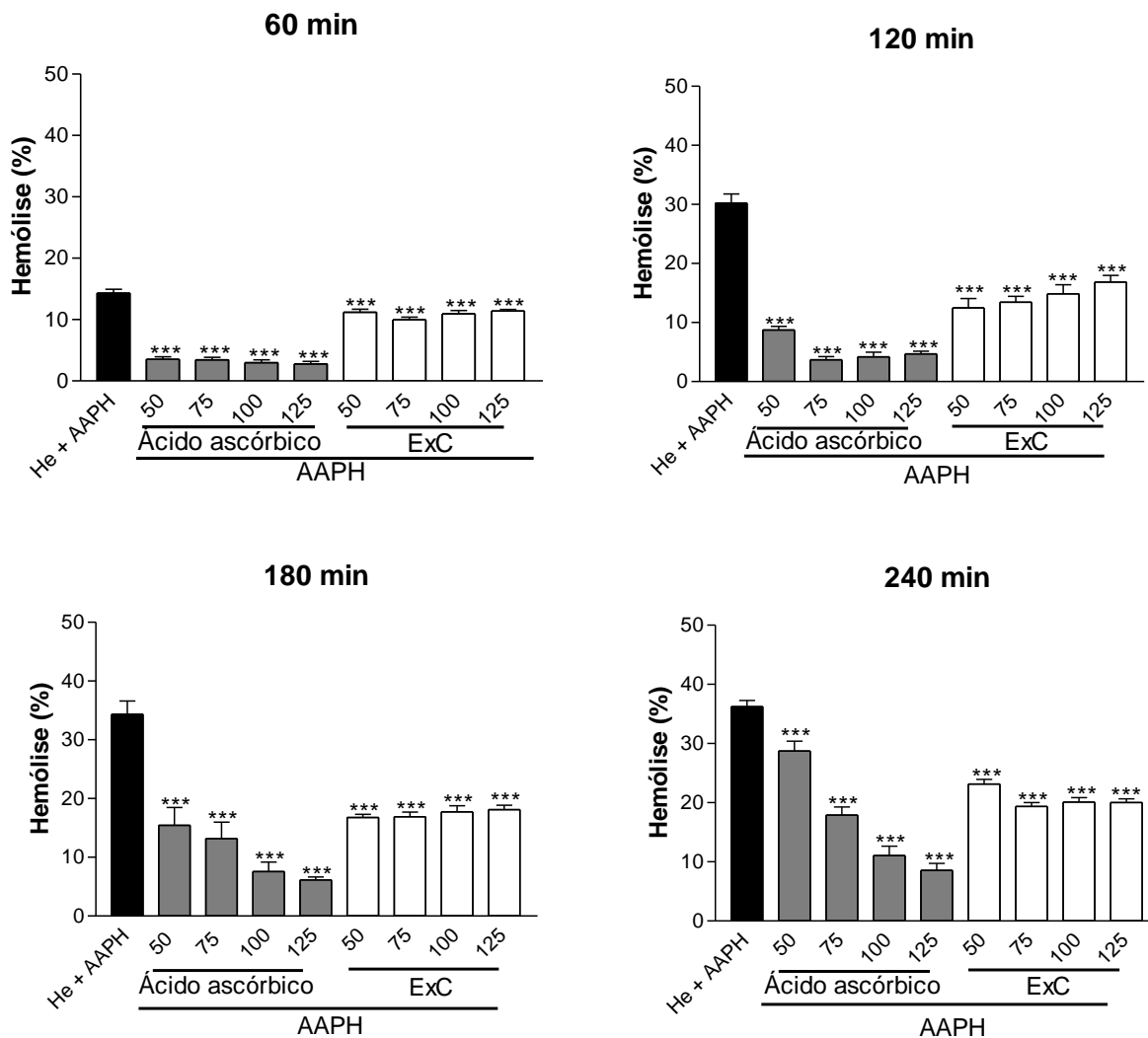


Figura 3: Hemácias + AAPH 50 mM (He + AAPH) com diferentes concentrações do padrão antioxidante ácido ascórbico e ExC nas concentrações de 50, 75, 100, 125 µg/mL, comparado com o indutor de hemólise AAPH. Os resultados são expressos como média ± erro padrão. *** P<0,001 vs He + AAPH. Foram realizados 3 experimentos independentes realizados em triplicata.

Determinação da concentração de malonaldeído (MDA)

Considerando a proteção anti-hemólise observada e a liberação de malonaldeído (MDA) durante o processo de peroxidação lipídica, avaliou-se a concentração deste produto após 240 min de incubação dos eritrócitos com AAPH na maior concentração testada (125 µg/mL). Os eritrócitos incubados com o ExC, similarmente aos incubados

com o ácido ascórbico, apresentaram concentrações reduzidas de MDA comparados ao controle ($P < 0.001$) (Figura 4).

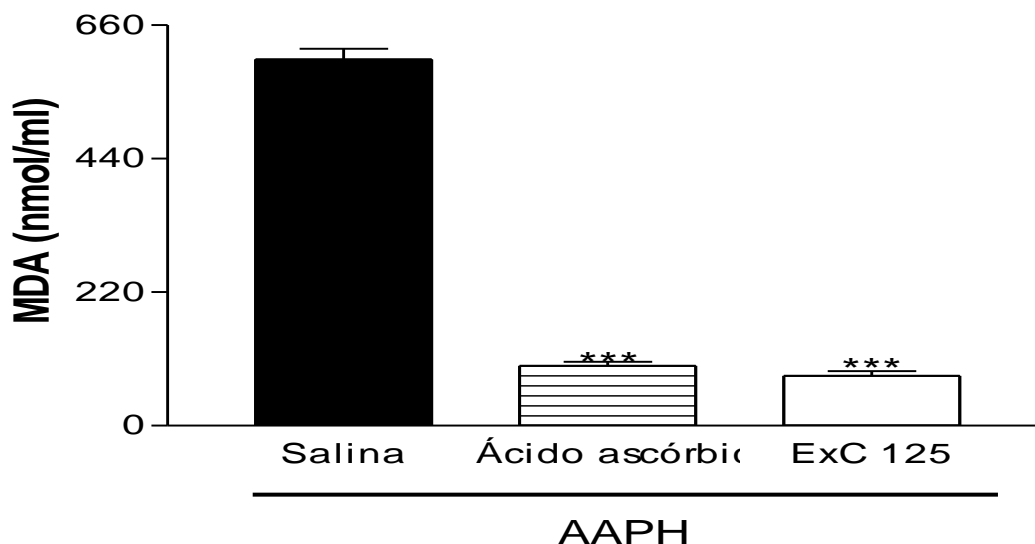


Figura 4: Concentração de malondialdeído (MDA) em eritrócitos na concentração de 2,5 %, após 240 min da adição de AAPH 50 mM e Salina (Controle, NaCl 0,9%), ácido ascórbico (125 $\mu\text{g}/\text{mL}$) e ExC (125 $\mu\text{g}/\text{mL}$). *** $P < 0,001$ vs controle. Foram realizados 3 experimentos independentes realizados em triplicata.

Avaliação da atividade da glutatona peroxidase (GPx) em eritrócitos humanos

Adicionalmente a atividade antioxidante *per se* do extrato, foi avaliado seu potencial de induzir o sistema antioxidante enzimático, sendo avaliada a atividade da enzima glutatona peroxidase (GPx) em eritrócitos incubados com diferentes concentrações do ExC. Os resultados obtidos mostram que o ExC na concentração de 300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ foi capaz de induzir um aumento de 85 % na atividade da GPx.

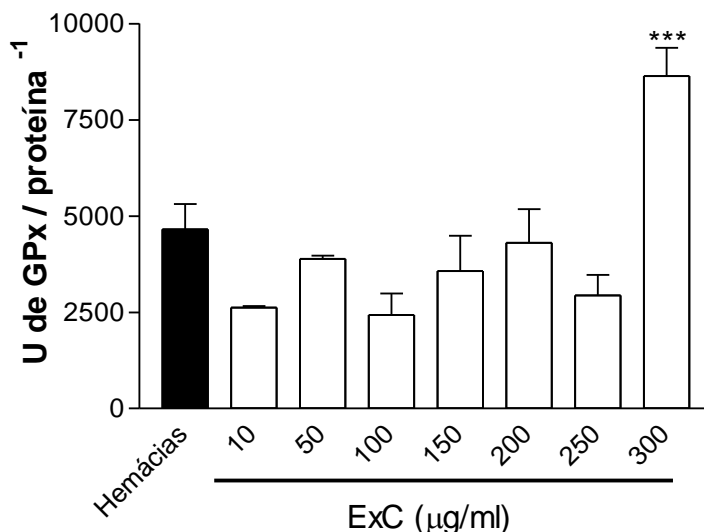


Figura 5: Atividade da enzima antioxidante glutaciona peroxidase (GPx) em eritrócitos humanos submetidos a incubação com diferentes concentrações de ExC (10 a 300 ug/mL) por 180 minutos. ***P<0,001 vs He 2.5%. Foram realizados 3 experimentos independentes realizados em triplicata.

Atividade antimicrobiana

O ExC mostrou atividade antimicrobiana frente à bactéria gram positiva *S. aureus* apresentando halo de inibição de 56 % do valor apresentado para a tetraciclina. Contudo, frente aos demais microrganismos testados não foi observada atividade do extrato (Tabela 3).

Tabela 3. Atividade antimicrobiana do extrato etanólico de folhas de *Curatella americana* L. (ExC).

Microorganismo	Halo de inibição (mm)		CIM (ug/mL)	CBM (ug/mL)
	Antimicrobianos [#] (4 mg/mL)	ExC (200 mg/mL)		
<i>S. aureus</i>	39,3 ± 0,6	22,0 ± 1,2	1,55	6,25
<i>E. coli</i>	30,0 ± 1,2	N/i	N/i	N/i
<i>C. albicans</i>	24,0 ± 1,2	N/i	N/i	N/i

[#] = cetoconazol e tetraciclina. *N/i : Não apresentou inibição para o microrganismo testado.

4. Discussão

Pela primeira vez, foi demonstrado o potencial antioxidante do extrato etanólico das folhas de *Curatella americana* L, e confirmada sua ação antimicrobiana contra *S. aureus*, ambos relacionados a condições de saúde humana de grande interesse para o desenvolvimento de novas drogas.

O balanço oxidativo no organismo é regulado endógena e exogenamente, estando o excesso de radicais livres ligado a diversas patologias (Barnabe et al, 2008; Barbosa et al, 2008; Galili et al, 2007). O controle exógeno inclui especialmente a ingestão de moléculas antioxidantes, as quais em grande parte são encontradas nos vegetais. A constituição química destas plantas tem revelado que além dos tocoferóis, os flavonóides podem exercer tal função (Middleton 1998; Dryden et al, 2006). O efeito captador de radicais livres DPPH do ExC apresentou-se intermediário entre os controles BHT e ácido

ascórbico, sendo aproximadamente 3 vezes maior ao do padrão BHT. Vale ressaltar que ambos os controles utilizados são moléculas isoladas, o que estimula os estudos para o isolamento de compostos a partir do extrato, no qual já identificamos a presença de polifenóis e flavonóides. Armania e cols. (2013), investigando uma planta da família Dilleniaceae, a *Dillenia suffruticosa*, identificaram a presença de polifenóis, embora em menor quantidade que observamos na *Curatella americana*, e correlacionaram estes compostos com a atividade antioxidante revelada pelo estudo. Além destes, outro composto semelhante entre estas duas plantas são as saponinas (glicosídeos de esteróides ou terpenos policíclicos) que têm se mostrado um agente anti-inflamatório e hipocolesteremiante, hipoglicemiante, mas que entretanto, é capaz de causar desestabilização da membrana celular e induzir hemólise decorrente de sua ação emulsificadora (Francis et al, 2002; Glauer et al, 1962; Narsi & Bem Salen, 2012; Monterrosas-Brisson et al, 2013; Gilabert-Oriol et al, 2013; Voutquenne, 2002).

Embora o ExC tenha induzido aproximadamente 10% de hemólise em condição basal, houve redução da peroxidação lipídica induzida pelo AAPH, protegendo as células da morte celular de maneira tempo mas não dose dependente, diferentemente ácido ascórbico, o qual é um composto facilmente oxidável em pH neutro ou alcalino e que perde facilmente suas propriedades antioxidantes (Vasconcelos et al, 2007). Durante a peroxidação lipídica é gerado o malonaldeído (MDA), que se apresentou reduzido nos eritrócitos incubados com o ExC. Experimento realizado por Hseu et al (2008) com extrato aquoso das folhas de *Toona sinensis*, também observaram também a redução dos níveis de MD, protegendo da peroxidação lipídica. Vale ressaltar que danos à membrana celular por processo de peroxidação lipídica induzida por espécies reativas estão presentes em patologias como envelhecimento precoce, diabetes, aterosclerose, hipertensão, obesidade e câncer (Galili et al., 2007; Barbosa, 2008). Adicionalmente, elevados níveis de estresse oxidativo observados em pacientes diabéticos com problemas coronarianos têm sido correlacionados atividade reduzida da GPx (Dandana et al., 2011).

A GPx, catalisa reações de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) à água protegendo a célula da peroxidação lipídica (Day, 2009), assim como observado para os eritrócitos humanos incubados com diferentes concentrações do ExC. Avaliando-se a atividade da GPx, verificamos que o ExC foi capaz de elevar sua atividade enzimática na maior dose testada.

Além de atividade antioxidante, os flavonóides também exercem atividade antimicrobiana, como observado por El-Azizi, et al. (1980), que isolaram do extrato etanólico de folhas de *Curatella americana* L o flavonóide glicosídeo avicularina com este potencial. A ação de desestruturação da membrana celular bacteriana e fúngica causada por compostos vegetais levam os microrganismos a morte (Fernandes et al., 2005). Além desta possível ação, as saponinas também aumentam a proteína inibidora do ribossomo levando o microrganismo à morte (Park et al., 2002 ;Vivanvo et al, 1999). Foi observado, que o ExC foi eficiente apenas para a bactéria gram-positiva *S. aureus* na presença do ExC de forma semelhante a observada por Costa et al., (2008). Contudo, Toledo et al., (2011) evidenciaram a atividade antimicrobiana do extrato bruto de cachaça brasileira da casca de *Curatella americana* L. sobre uma diversidade maior de microrganismos, *S. aureus*, *C. albicans* e *C. parapsilosis*; A diferença entre estes resultados pode decorrer da amplitude de compostos extraídos pelos diferentes métodos empregados, da utilização de diferentes partes da planta, bem como do local e época de coleta, uma vez que todos estes parâmetros influenciam na composição química do extrato avaliado.

5. Conclusão

Em conjunto, este estudo mostrou que o extrato etanólico de folhas de *Curatella americana* L. possui potencial antioxidante e antimicrobiano, abrindo perspectiva para novos estudos direcionados ao isolamento e identificação de novas moléculas.

Referências

Alexandre-Moreira, M. S., Piuvezam, M. R., Araújo CC, Thomas G, 1999. Studies on the anti-inflammatory and analgesic activity of *Curatella americana* L. *J Ethnopharmacol* **67**(2): 171-177.

Antunes R.M.P., Lima E.O., Pereira, M. S.V., Camara C. A., Arruda, T. A., Catão R. M. R., Barbosa, T. P., Nunes, X. P.; Dias, C. S., Silva, T. M. S., 2006. Atividade antimicrobiana " in vitro" e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de fitoconstituintes e produtos sintéticos sobre bactérias e fungos leveduriformes. *Rev Bras Farmacogn* **16**: 517-524.

Abdollahzadeh, S.H., Mashuof, R.Y., Mortazavi H., Moghaddam, M. H., Roozbahani, N., Vahedi, M., 2011. Antibacterial and antifungal activities of Punica Granatum Peel extracts against oral pathogens. *Journal of Dentistry, Tehran University of Medical Sciences.* **8**(1).

Armania N, Yazan LS, Musa SN, Ismail IS, Foo JB, Chan KW, Noreen H, Hisyam AH, Zulfahmi S, Ismail M. *Dillenia suffruticosa* exhibited antioxidant and cytotoxic activity through induction of apoptosis and G2/M cell cycle arrest. J Ethnopharmacol. 2013 Mar 27;146(2):525-35.

Barbosa, Wagner L. R. Quignard, Etienne. Tavares, Esabel C. C. Pinto, Lucianna do N. Oliveira, Franciella Q. Oliveira, Rodson M. de. Manual para Análise Fitoquímica e Cromatográfica de Extratos Vegetais. Revista Científica da UFPA. Belém-PA. Vol.4 .2004.

Barbosa, K. B. F. C., Alfenas, N. M. B., 2008. Estresse oxidativo: avaliação de marcadores. *Journal of the Brazilian Society of Food and Nutrition* **33**(2): 111-128.

Barnabe, V.H.; Guimarães, M.A.B.V.; et al. (2008). "Dosagens dos níveis de anti-oxidante enzimáticos e resistência celular ao estresse oxidativo do sêmen de perdizes (*Rynchotus rufescens*) criadas em cativeiros e suplementadas com selênio." Tese (Doutorado em Reprodução Animal) - Universidade de São Paulo.

Costa, E.S., Hiruma-Lima, C.A., Lima, E.O., Sucupira, G.C., Bertolin A.O., Lolis S.F., Andrade F.D., Vilegas, W., Souza-Brito, A.R., (2008) Antimicrobial activity of some medicinal plants of the Cerrado, Brazil. Phytother Res. May;22(5):705-7.

Dandana, A.; Ferchichi, S.; Addad F, Jaidane Z, Chahed H, Gammoudi I, Chalghoum A, Bricca G., Miled A., 2011. "Evaluation of oxidative stress among coronary diabetics patients" *Acta Biomed* **82**(3): 187-196.

Day, B. J. (2009). "Catalase and glutathione peroxidase mimics." *Biochem Pharmacol* **77**(3): 285-296.

de Toledo, C. E.; Britta, E. A., 2011. Antimicrobial and cytotoxic activities of medicinal plants of the Brazilian cerrado, using Brazilian cachaca as extractor liquid. *Journal Ethnopharmacology* **133**(2): 420-425.

Dryden, G. W., Song, M., McClain, C., (2006). Polyphenols and gastrointestinal diseases. *Curr Opin Gastroenterol* **22**(2): 165-170.

El-Azizi, M. M., Ateya, A. M., Svoboda G.H., Schiff P.L. Jr., Slatkin D.J., Knapp J.E., (1980). Chemical constituents of *Curatella americana* (Dilleniaceae). *J Pharm Sci* **69**(3): 360-361.

Fernandes, T. T.; dos Santos, Fernandes, A. T.; Pimenta, F. C. Atividade antimicrobiana das plantas *Plathymenia reticulata*, *Hymenaea courbaril* E *Guazuma ulmifolia*. **34**(2): 113-122. 2005.

Ferrão, J.E.M. (1999) *Fruticultura tropical: espécies com frutos comestíveis*. Lisboa: Instituto de Investigação Científica Tropical 1: 621.

Francis G.; Kerem, Z.; Makkar, H. P. S.; Becker, K. 2002 The biological action of saponins in animal systems: a review. *British Journal of Nutrition*, 88, 587–605

Galili, O., Versari, D. 2007. Early experimental obesity is associated with coronary endothelial dysfunction and oxidative stress. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **292**(2): H904-911.

Gilabert-Oriol R, Mergel K, Thakur M, von Mallinckrodt B, Melzig MF, Fuchs H, Weng A.

Real-time analysis of membrane permeabilizing effects of oleanane saponins. *Bioorg Med Chem*. 2013 Apr 15;21(8):2387-95.

Gillett, J., Ientile, C., Hiscock, J., Plank, A., Martin, J.M., 2012. Complementary and alternative medicine use in radiotherapy: what are patients using? *J Altern Complement Med* **18**(11): 1014-1020.

Glauert AM, Dingle JT & Lucy JA (1962) Action of saponin on biological membranes. *Nature* 196, 953–955.

Guerrero, M. F., Puebla, P., Carrón R., Martín, M. L, Arteaga, L., Román, L.S., (2002). Assessment of the antihypertensive and vasodilator effects of ethanolic extracts of some Colombian medicinal plants. *J Ethnopharmacol* **80**(1): 37-42.

Gupta, D., & Gupta, R. K. (2011). Bioprotective properties of Dragon's blood resin: In vitro evaluation of antioxidant activity and antimicrobial activity. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 11, 1–9.

Hseu, Y. C., Chang, W. H., Chen, C. S., Liao, J. W., Huang, C. J., Lu, F. J., Chia, Y. C., Hsu, H. K., Wu, J. J., Yang, H. L., 2008. Antioxidant activities of *Toona Sinensis* leaves extracts using different antioxidant models. *Food Chem Toxicol.*, 46, 105-14.

Liberio, S.A., Pereira, A.L.A., Dutra, R. P., Reis A. S., Araújo, M. J. A. M., Mattar N. S., Silva, L. A., Ribeiro, M. N. S., Nascimento, F. R. F, Guerra, R. N. M., , Monteiro-Neto, V., 2011. Antimicrobial activity against oral pathogens and immunomodulatory effects and toxicity of geopropolis produced by the stingless bee *Melipona fasciculata* Smith. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 11: 108.

Meda, A., Lamien, C.E., Romito, M., Millogo, J., Nacoulma, O.G. (2005). Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkin Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry*, 91, 571-577.

Middleton, E. J. (1998). Effect of plant flavonoids on immune and inflammatory cell function. *Adv Exp Med Biol* (439): 175–182.

Monterrosas-Brisson N, Ocampo ML, Jiménez-Ferrer E, Jiménez-Aparicio AR, Zamilpa A, Gonzalez-Cortazar M, Tortoriello J, Herrera-Ruiz M. Anti-Inflammatory Activity of Different Agave Plants and the Compound Cantalasonin-1. *Molecules*. 2013 Jul 10;18(7):8136-8146.

Nasri,S., Ben Salem, H., 2012 Effect of oral administration of Agave americana or Quillaja saponaria extracts on digestion and growth of Barbarine female lamb.” **Livestock Science** Volume 147, Issues 1–3, Pages 59–65

NCCLS. National Committee for Clinical Laboratory Standards. (2002) Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Informational Supplement, M100-S12. Wayne.

NCCLS. National Committee for Clinical Laboratory Standards. (2002) Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved standard M27-A2. Wayne.

Oliveira, L. A., Castro, N. M., 2000. Anatomia da folha de duas espécies de Dilleniaceae: *Curatella americana* L. e *Davilla elliptica* St. Hil. Sociedade Brasileira de Botânica **51**: 136.

Park S.W., Stevens N.M., Vivanco J.M., 2002. Enzymatic specificity of three ribosome-inactivating proteins against fungal ribosomes, and correlation with antifungal activity. *Planta*. 216(2):227-34.

Percario, S., Vital, A. C. C., Jablonka, F. 1994. Dosagem de malondialdeído (MDA). *NewsLab*, 2, 46-50.

Polanco, C., Samaniego, J. L., Buhse T., Mosqueira F. G., Negron-Mendoza., A., Ramos-Bernal S., Castanon-Gonzalez J. A. 2012. Characterization of Selective Antibacterial Peptides. *Int J Pept*. 613053.

Resende, O.R., Pinho, F.E.C., 2011. Estudo da espécie *Curatella americana* L – (Lixeira) utilizada como bioindicador em região aurífera do distrito de Cangas-Poconé-MT. *Revista de Biologia e Ciências da Terra* **11**(2).

Seligman. (2004). "Uso de antimicrobianos em clínica médica." AMRIGS-Porto Alegre **48**: 121-125.

Souza, C. D., Felfili, J. M. (2006). Uso de plantas medicinais na região de Alto Paraíso de Goiás. *Acta bot. bras* **20**(1): 135-142.

Stephen Irudayaraj, S.; Sunil, C., Duraipandiyar, V., Ignacimuthu, S., 2012. Antidiabetic and antioxidant activities of *Toddalia asiatica* (L.) Lam. leaves in streptozotocin induced diabetic rats. *J Ethnopharmacol* **143**(2): 515-523.

Hafeman, D. G.; Sunde, R. A., Hoekstra, W.G., 1974. Effect of dietary selenium on erythrocyte and liver glutathione peroxidase in the rat. *J. Nutr.* 104:580.

Ustulin, M., Figueiredo, B. B., Tremea C., Pott A.; Pott V. J., Bueno N. R., Castilho R. O., 2009. Plantas medicinais comercializadas no Mercado Municipal de Campo Grande-MS. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*. **19**(3): 805-813.

Valente, M.J.; Baltazar, A.F., Henrique R, Estevinho L, Carvalho M., 2011. Biological activities of Portuguese propolis: Protection against free radical-induced erythrocyte damage and inhibition of human renal cancer cell growth in vitro. *Food and Chemical Toxicology*. 49, 86–92.

Vasconcelos S. M. L., Goulart M. O. F., 2007. "Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação." *Quimica Nova* **30**(5): 1323-1338.

Vila Verde, G. M.; Caneiro, D.M., 2003. "Levantamento etnobotânico das plantas medicinais do cerrado utilizadas pela população de Mossâmedes (GO)." *Rev. Bras. Farmacogn* **13**: 64-66.

Vivanco JM, Savary BJ, Flores HE. Characterization of two novel type I ribosome-inactivating proteins from the storage roots of the andean crop *Mirabilis expansa*. *Plant Physiol*. 1999 Apr;119(4):1447-56.

Voutquenne, L. L. C.; Massiot G., 2002. Structure-activity relationship of hemolytic saponins. *Pharm Biol* **40**: 253-262.