

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS**

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA, ANTIOXIDANTE E  
CITOTÓXICA DO EXTRATO ETANÓLICO DE FOLHAS DE  
*Aristida pallens* Cav.**

**STEPHANIE RAMIREZ IAHNN**

**DOURADOS, MS  
2016**

**STEPHANIE RAMIREZ IAHNN**

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA, ANTIOXIDANTE E  
CITOTÓXICA DO EXTRATO ETANÓLICO DE FOLHAS DE  
*Aristida pallens* Cav.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal da Grande Dourados – Faculdade de Ciências da Saúde, para obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientador: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> KELLY MARI PIRES DE OLIVEIRA

**DOURADOS, MS  
2016**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).**

11a	I Iahn, Stephanie Ramirez. Atividade antimicrobiana, antioxidante e citotóxica do extrato etanólico de folhas de <i>Aristida pallens</i> Cav. / Stephanie Ramirez Iahn. – Dourados, MS : UFGD, 2016. 33f.  Orientadora: Prof. Dra. Kelly Mari Pires de Oliveira. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal da Grande Dourados.  1. Poaceae . 2. antibacteriano . 3. DPPH . 4. Compostos fenólicos . 5. Células HeLa. I. Título.
-----	---

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central – UFGD.**

**©Todos os direitos reservados. Permitido a publicação parcial desde que citada a fonte.**

## **Agradecimentos**

Meus agradecimentos a todos aqueles que me auxiliaram a chegar até aqui e concluir esta pesquisa. Primeiramente a Deus e aos meus pais que me apoiaram e nunca permitiram que eu desistisse de alcançar aquilo que eu almejo, me apoiando, dando forças e fé para sempre continuar.

Agradeço imensamente a minha orientadora Prof. Kelly Mari Pires de Oliveira, que me acolheu na sua linha de pesquisa, me ensinou e me fez aprender tudo o que sei sobre pesquisa e microbiologia. Assim como também agradeço imensamente a Fabiana e a Adriana, que sempre tiveram paciência comigo para ajudar, ensinar, explicar, orientar, corrigir, entre outras coisas, sempre fazendo tudo que elas têm alcance para ajudar.

Jhon, Pamella, Nayara, Vagner, Allan, Danny, Thaianne, como não agradecer enormemente vocês? Muitos dias de experimentos, de companheirismo dentro e fora de laboratório, os ensinamentos trocados, as risadas, viagens, apresentações de trabalho, enfim... tantas e tantas coisas aconteceram nesse período do mestrado, que eu só tenho a agradecer por todo apoio, carinho, amizade desses anos e que ele permaneça e continue por toda vida.

Deixo aqui, minha eterna gratidão a todos vocês! Muito obrigada!

## Sumário

Agradecimentos.....	iii
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	2
2.1. Plantas Medicinais .....	2
2.1.1. Atividade Antimicrobiana .....	2
2.1.2. Atividade Antioxidante .....	3
2.1.3. Citotoxicidade.....	4
2.2. <i>Aristida pallens</i> Cav.....	5
2.3.2. Local de coleta.....	7
3. OBJETIVOS.....	8
3.1. Objetivos Gerais .....	8
3.2. Objetivos Específicos.....	8
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	9
5. ANEXOS .....	14

## 1. INTRODUÇÃO

As espécies vegetais possuem compostos químicos capazes de provocar algum tipo de respostas biológicas quando introduzidos no organismo (Boscolo & Valle, 2008). As plantas medicinais têm sido uma fonte de grande variedade de compostos ativos, na qual por muitos séculos foram e ainda são utilizadas para o tratamento de diversas doenças (Tasleem et al., 2011).

A utilização de plantas medicinais mantém sua popularidade devido a questões históricas e culturais, mesmo com a existência de medicamentos modernos acessíveis (Agra et al., 2007). Nos últimos 25 anos, cerca de dois terços de novos medicamentos são obtidos a partir de determinados metabólitos secundários derivados da biodiversidade natural graças à complexidade estrutural de moléculas de espécies vegetais (De Luca et al., 2012). Dentre esses metabólicos secundários, estão os flavonóides, alcalóides, terpenos, fenóis, polifenóis, entre outros (Radulovic et al., 2013; Savoia, 2012) que possuem propriedades antimicrobianas (Agati et al., 2012; Savoia, 2012; Kováčik, 2014), e que atuam como antioxidantes, reduzindo o risco do desenvolvimento de doenças (Upadhyay & Ahmad, 2012).

O crescimento de uso de plantas muitas vezes é utilizado por acreditar que a utilização de plantas seja seguro e não apresenta toxicidade (Abou-Elella et al., 2016; Neergheen-Bhujun, 2013), porém elas podem conter compostos capazes de desencadear reações adversas (Turolla & Nascimento, 2006). Desta forma, é necessário que se tenham a pesquisa de plantas medicinais quanto a sua utilização, pois o seu uso impróprio pode ocasionar em efeitos colaterais podendo levar até a morte (Boscolo & Senna-Valle, 2008).

A *Aristida pallens* Cav. é conhecida popularmente como “capim barda de bode” é utilizada popularmente como planta medicinal para o tratamento de reumatismo (Amorim, 2009) amenorreia, câncer cervical, depressão, diarreia, flatulência e inchaço (Carneiro et al., 2014). Não há estudos quanto a sua atividade biológica e a segurança sobre o seu uso, diante disso, o presente estudo tem como objetivo avaliar atividade antimicrobiana, quantificar flavonoides, compostos fenólicos e taninos, realizar teste antioxidante e citotóxica a partir do extrato etanólico das folhas de *A. pallens*, na cidade de Dourados, Mato Grosso do Sul.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. Plantas Medicinais

Plantas medicinais são plantas que contêm compostos, em qualquer de suas partes, que possam ser empregadas como uso terapêutico ou indicativo para a produção de substâncias úteis (Sofowora et al., 2013). A utilização de plantas com fins terapêuticos é realizada desde antiguidade, para melhorar a saúde quanto o bem-estar (FAO, 2004; Ministério da Saúde, 2012).

As espécies vegetais contribuem no uso fitoterápico como para o desenvolvimento de novos fármacos, sendo este reino o maior contribuinte de matérias-primas para a produção de fitoterápicos e de outros medicamentos (Ministério da Saúde, 2012). Elas são capazes de produzir diversos compostos químicos durante seu metabolismo, sendo alguns capazes de promover respostas biológicas no organismo (Boscolo & Senna-Valle, 2008; Tasleem et al., 2011).

Estima-se que cerca de 25% de todos os medicamentos modernos são derivados diretamente ou indiretamente de plantas medicinais (De Luca et al., 2012; Ministério da Saúde, 2012). Cerca de 65-80% da população de países em desenvolvimento dependem de plantas medicinais para os cuidados de saúde básicos (Agra et al., 2007; De Luca et al., 2012), como por exemplo, os países africanos que utilizam plantas medicinais na Atenção Primária à Saúde (Sofowora et al., 2013).

As plantas possuem em sua composição uma variedade de metabólitos secundários que em muitos casos, atuam como mecanismos de defesa da planta contra predadores, como os microrganismos, insetos e herbívoros (Cowan, 1999), e são estes metabólitos produzidos que são os responsáveis pelas atividades antimicrobianas e antioxidantes (Agati et al., 2012; Savoia, 2012; Kováčik, 2014). A maioria das moléculas de baixa massa molecular produzidas pelas plantas continuam sendo testadas para a sua possível atividade biológica e potencial para desenvolvimento de novos fármacos (De Luca et al., 2012).

#### 2.1.1. Atividade Antimicrobiana

O uso indiscriminado de antimicrobianos leva a adaptação e ao desenvolvimento de resistência dos microrganismos ao fármaco sintéticos e semissintéticos, sendo necessária a

busca por novos antimicrobianos (Abdallah, 2011). Conforme a *World Health Organization* (2014), é necessário o desenvolvimento de novas opções terapêuticas a fim de substituir aqueles que perderam a sua eficiência, na qual os patógenos se tornaram resistentes.

A incidência de patógenos resistentes tem chamado a atenção para pesquisas científicas e farmacêuticas sobre o potencial da atividade antimicrobiana de plantas (Savoia, 2012), uma importante fonte inexplorada de antimicrobianos naturais com diferentes modos de ação utilizados na medicina popular (Savoia, 2012; Abdallah, 2011; Namita et al., 2012). As principais classes de compostos com efeitos antimicrobianos podem ser divididos em categorias que incluem alcalóides, flavonóides (flavonas, flavonóis, quinonas), lectinas, polipéptidos, compostos fenólicos, polifenóis, taninos e terpenóides (Cowan, 1999; Samy & Gopalakrishnakone, 2010; Abdallah, 2011; Savoia, 2012).

Estes metabólicos secundários atuam nos microrganismos afetando a sua estrutura e estabilidade da bicamada lipídica, acarretando no aumento de permeabilidade de íons na membrana, alterando o seu potencial eletroquímico e suas atividades metabólicas (Radulovic, et al., 2013). O uso do sinergismo, ou seja, a combinação de antimicrobianos convencionais com extratos de plantas também estão sendo pesquisadas, a fim de obter melhores resultados e potencializar o seu modo de ação dos antimicrobianos (Silva & Junior, 2010; Abdallah, 2011).

### **2.1.2. Atividade Antioxidante**

O metabolismo celular tem como resultado espécies reativas de oxigênio, na qual são extremamente tóxicos para o organismo, podendo causar danos oxidativo aos ácidos nucleicos, lipídios e proteínas, fatores que estão correlacionados com o surgimento de doenças crônicas (Akhtar et al., 2015). Espécies reativas de oxigênio, tais como o anión superóxido ( $O_2^-$ ), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e o radical hidroxila (OH), consistem em espécies de radicais e não- radicais de oxigênio formados pela redução parcial do oxigênio (Ray et al., 2012).

As plantas possuem compostos químicos que atuam como antioxidantes, reduzem o risco para doenças crônicas (Upadhyay & Ahmad, 2012) e fornecem uma alternativa para a prevenção, bem como para o tratamento de doenças (Sofowora et al., 2013). A busca por novos antioxidantes naturais a partir de diferentes partes da planta (folha, raiz, caule, frutos, sementes e cascas) vem sendo estudada devido aos compostos presentes (Djeridane, et al., 2006).



As classes de compostos mais relevantes são os alcalóides, taninos, flavonoides, terpenóides, saponinas e compostos fenólicos (Akhtar et al., 2015). Os compostos fenólicos possuem atividade oxidativa, sendo considerados como potenciais agentes para a prevenção e tratamento de doenças relacionadas ao estresse oxidativo (Sofowora et al., 2013) e fontes alternativas para antioxidantes sintéticos (Shah et al., 2014).

### **2.1.3. Citotoxicidade**

Com o aumento do uso de medicamentos à base de plantas, há relatos de suspeita de toxicidade e efeitos adversos, que podem ser justificados por efeitos secundários, como doses excessivas, dependência, tolerância, hipersensibilidade, uso de médio a longo prazo (efeitos tóxicos), entre outros (Shaw et al., 2012). As plantas podem apresentar compostos potencialmente perigosas (Junior et al., 2005; Turolla & Nascimento, 2006) e potencialmente agressivas, portanto, devem ser utilizadas com cuidado, respeitando seus riscos toxicológicos (Junior et al., 2005).

É imprescindível a pesquisa em plantas medicinais quanto a sua utilização, pois o uso impróprio de determinadas plantas pode ocasionar efeitos colaterais podendo levar até a morte (Boscolo & Senna-Valle, 2008). Os testes de viabilidade celular envolvem a aplicação de uma amostra biológica em um determinado meio apropriado e então é realizado um monitoramento das células que simulam a atividade do organismo ao longo do tempo de exposição (O'Riordan, et al., 2000), permitindo identificar se há toxicidade às células diante um determinado composto (Chunyan & Valiyaveettil, 2013).

## **2.2. *Aristida pallens* Cav.**

*Aristida pallens* pertence à família *Poaceae*, sendo conhecida como “capim-barba-de-bode” (AMORIM, 2009). Sua distribuição geográfica ocorre nas regiões do Norte (Acre, Amazonas, Amapá, Pará, Rondonia, Roraima e Tocantis), Nordeste (Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte, Sergipe), Centro-oeste (Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso), Sudeste (Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo) e Sul (Paraná, Rio Grande do Sul, Santa Catarina) (Filgueiras et al., 2015) (Figuras 1a e 1b).



Figura 1a. *Aristida pallens* Cav.

Fonte: Próprio autor



Figura 1b. *Aristida pallens* Cav.

Fonte: Próprio autor

Esta planta possui seu crescimento de forma cespitosa, perfilhada (Imaguire, 1980) em solos pobres e secos do cerrado (Imaguire, 1980; Nascimento et al., 2013). Sua floração é no

período de outubro a novembro (Imaguire, 1980). A espécie é popularmente utilizada para o tratamento de reumatismo (Amorim, 2009) amenorrea, câncer cervical, depressão, diarreia, flatulência e inchaço (Carneiro et al., 2014). Até o presente momento, não há estudos na literatura que comprovem suas atividades biológicas e sobre a segurança do seu uso.

### 2.2.1. Local de coleta

O material vegetal foi coletado em dezembro de 2014, na região do Cerrado, na Fazenda Santa Madalena ( $22^{\circ}08'23.4''\text{S}$  e  $55^{\circ}08'21.4''\text{W}$ ), localizada na cidade de Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil (Figura 3). A exsicata desta planta foi identificada e depositada no herbário DDMS da Universidade Federal da Grande Dourados, sob o número de registro n<sup>o</sup> 5276.

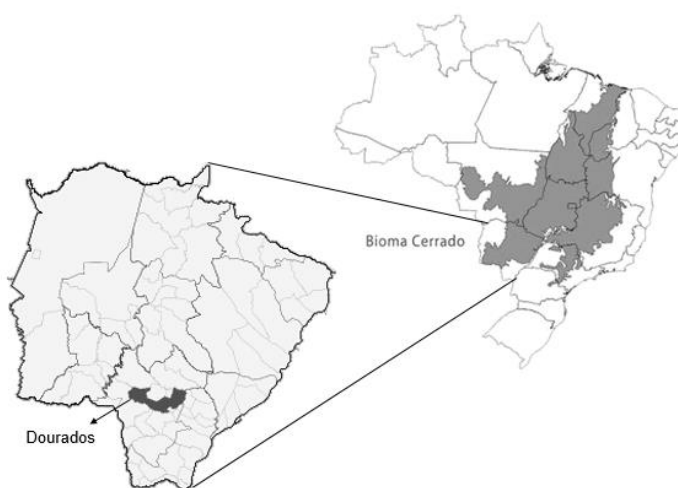


Figura 3. Mapa demonstrativo do bioma Cerrado e localização da cidade de Dourados, MS.

Adaptado de: <http://planetabiologia.com/bioma-cerrado-caracteristicas/>

Adaptado de: [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:MatoGrossodoSul\\_Municip\\_Dourados.svg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:MatoGrossodoSul_Municip_Dourados.svg)

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. Objetivo Geral

Determinar as atividades antimicrobiana, antioxidante e citotóxica a partir do extrato etanólico das folhas de *Aristida pallens* Cav.

#### 3.2. Objetivos Específicos

- Preparar extratos etanólicos a partir das folhas de *Aristida pallens* Cav.;
- Realizar teste antimicrobiano do extrato etanólico das folhas de *A. pallens* frente à bactérias e leveduras;
- Verificar atividade bactericida e fungicida;
- Quantificar flavonoides, compostos fenólicos e taninos condensados;
- Analisar atividade antioxidante por meio da técnica de DPPH;
- Verificar citotoxicidade por meio das células HeLa;

#### 4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abdallah EM (2011). Plants: An alternative source for antimicrobials. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 01 (06): 16-20.

Abou-Ellella F, Hanafy EA, Gavamukulya Y (2016). Determination of antioxidant and anti-inflammatory activities, as well as in vitro cytotoxic activities of extracts of *Anastatica hierochuntica* (Kaff Maryam) against HeLa cell lines. *Journal of Medicinal Plants Research*, 10(7): 77-87. DOI: 10.5897/JMPR2015.6030

Agati G, Azzarello E, Pollastri S, Tattini M (2012). Flavonoids as antioxidants in plants: location and functional significance. *Plant Science*, 196: 67-76. doi:10.1016/j.plantsci.2012.07.014

Agra MDF, Freitas PFD, Barbosa-Filho JM (2007). Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 17(1): 114-140. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2007000100021>

Akhtar N, Mirza B (2015). Phytochemical analysis and comprehensive evaluation of antimicrobial and antioxidant properties of 61 medicinal plant species. *Arabian Journal of Chemistry*. doi:10.1016/j.arabjc.2015.01.013

Amorim CC (2009). Etnobotânica da “medicina campeira” na região da Coxilha Rica, SC. *Cadernos de Agroecologia*, 4(1).

Boscolo OH & Senna-Valle L (2008). Plantas de uso medicinal em Quissamã, Rio de Janeiro, Brasil. *IHERINGIA, Sér. Bot., Porto Alegre*, 63(2): 263-277.

Carneiro FM, Silva MJPD, Borges LL, Albernaz LC, Costa JDP (2014). Tendências Dos Estudos Com Plantas Medicinais No Brasil. *Revista Sapiência: sociedade, saberes e práticas educacionais*. *Revista Sapiência: sociedade, saberes e práticas educacionais*, 3(2): 44-75.

Cowan MM (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, 12(4): 564-582

Chunyan W, & Valiyaveetil S (2013). Correlation of biocapping agents with cytotoxic effects of silver nanoparticles on human tumor cells. *RSC Advances*, 3(34): 14329-14338. doi: 10.1039/c3ra41346b

De Luca V, Salim V, Atsumi SM, Yu, F (2012). Mining the biodiversity of plants: a revolution in the making. *Science*, 336(6089): 1658-1661. doi: 10.1126/science.1217410

Djeridane A, Yousfi M, Nadjemi B, Boutassouna D, Stocker P, Vidal N (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, 97(4): 654-660. doi:10.1016/j.foodchem.2005.04.028

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations (2004). *Trade in Medicinal Plants*. Economic and Social Department, Rome, pp-2-3.

Filgueiras TS, Canto-Dorow TS, Carvalho MLS; Dórea MC, Ferreira FM, Mota AC, Oliveira RC, De Oliveira RP, Reis PA, Rodrigues RS, Santos-Gonçalves AP, Shirasuna RT, Silva AS, Silva C, Valls JFM, Viana PL, Welker CAD, Zanin A, Longhi-Wagner HM (2015). *Poaceae* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB193>>. Acessado em: 15 de janeiro de 2016.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2004). Mapa de Bioma e de Vegetação. Disponível em: < <http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/21052004biomas.shtm>>. Acessado em 26 de outubro de 2015.

Imaguire N (1980). Contribuição ao estudo florístico e ecológico da fazenda experimental do setor de ciências agrárias da Universidade Federal do Paraná 2. O porquê da existência dos campos e matas no primeiro e segundo planaltos paranaenses. *Acta Biológica Paranaense*, 8. doi: <http://dx.doi.org/10.5380/abpr.v8i0.919>

Junior VFV, Pinto AC, Maciel MAM (2005). Plantas medicinais: cura segura. *Química nova*, 28(3): 519-528. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422005000300026>.

Kováčik J, Klejdus B, Babula P, Jarošová M (2014). Variation of antioxidants and secondary metabolites in nitrogen-deficient barley plants. *Journal of plant physiology*, 171(3), 260-268. doi:10.1016/j.jplph.2013.08.004

Ministério da Saúde (2012). Práticas integrativas e complementares: plantas medicinais e fitoterapia na Atenção Básica/Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica 31:156.

MMA - Ministério do Meio Ambiente (2002). Avaliação e identificação de áreas e ações prioritárias para conservação, utilização sustentável e repartição de benefícios da biodiversidade brasileira.

MMA - Ministério do Meio Ambiente (2011a). Plano de ação para prevenção e controle do desmatamento e das queimadas: cerrado. pp.200.

MMA - Ministério do Meio Ambiente (2011b). Guia de campo: vegetação do Cerrado 500 espécies / João de Deus Medeiros. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. pp. 532.

MMA - Ministério do Meio Ambiente (2015). Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Monitoramento do Bioma - Monitoramento do Desmatamento nos Biomas Brasileiros por Satélite - Cerrado 2010-2011. Brasília, 2015.

Nascimento LA, Rocha LC, Rosa DB (2013). Aspectos Geográficos E Geológicos Da Área Do Morro Branco E Circunvizinhanças Nos Municípios De Santo Antonio Do Leverger E Chapada Dos Guimarães–Estado De Mato Grosso–Brasil. Revista Geoaraguaia. pp.209-231.

Neergheen-Bhujun VS (2013). Underestimating the toxicological challenges associated with the use of herbal medicinal products in developing countries. *BioMed Research International*, 2013 (2013). <http://dx.doi.org/10.1155/2013/804086>

Novaes P, Molinillo JM, Varela RM, Macías FA (2013). Ecological phytochemistry of Cerrado (Brazilian savanna) plants. *Phytochemistry Reviews*, 12(4): 839-855. doi:10.1007/s11101-013-9315-3

O'Riordan TC, Buckley D, Ogurtsov V, O'Connor R, Papkovsky DB (2000). A cell viability assay based on monitoring respiration by optical oxygen sensing. *Analytical biochemistry*, 278(2), 221-227. doi:10.1006/abio.1999.4431

Radulovic NS, Blagojevic PD, Stojanovic-Radic ZZ, Stojanovic NM (2013). Antimicrobial plant metabolites: structural diversity and mechanism of action. *Current medicinal chemistry*, 20(7): 932-952. DOI: 10.2174/0929867311320070008

Ray PD, Huang BW, Tsuji Y (2012). Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. *Cellular signalling*, 24(5), 981-990. doi: 10.1016/j.cellsig.2012.01.008

Savoia D (2012). Plant-derived antimicrobial compounds: alternatives to antibiotics. *Future microbiology*, 7(8): 979-990. doi:10.2217/fmb.12.68

Samy RP & Gopalakrishnakone P (2010). Therapeutic potential of plants as anti-microbials for drug discovery. *Evidence-based complementary and alternative medicine*, 7(3): 283-294. doi:10.1093/ecam/nen036

Shah MA, Bosco SJD, Mir SA (2014). Plant extracts as natural antioxidants in meat and meat products. *Meat science*, 98(1): 21-33. doi:10.1016/j.meatsci.2014.03.020

Shaw D, Graeme L, Pierre D, Elizabeth W, Kelvin C (2012). Pharmacovigilance of herbal medicine. *Journal of ethnopharmacology*, 140(3): 513-518. doi: 10.1016 / j.jep.2012.01.051

Silva NCC & Fernandes Júnior A (2010). Biological properties of medicinal plants: a review of their antimicrobial activity. *Journal of venomous Animals and Toxins including tropical diseases*, 16(3): 402-413. <http://dx.doi.org/10.1590/S1678-91992010000300006>

Sofowora A, Ogunbodede E, Onayade A. (2013). The role and place of medicinal plants in the strategies for disease prevention. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 10(5): 210-229. <http://dx.doi.org/10.4314/ajtcam.v10i5.2>

Tasleem A, Mandar TK, Dabur R (2011). Mandal and Rajesh Dabur. Natural products: Anti-fungal agentes derived from plants. *Opportunity, Challenge and Scope of Natural Products in Medicinal Chemistry*, pp.283-311. doi: 10.1080/10286020902942350

Turolla MSR & Nascimento ES (2006). Informações toxicológicas de alguns fitoterápicos utilizados no Brasil. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 42(2): 289-306. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-93322006000200015>



Upadhyay RK, Ahmad S (2012). Ethanomedicinal plants and their pharmaceutical potential. *J Pharm Res*, 5(4): 2162-2173.

World Health Organization. (2014). *Antimicrobial resistance: global report on surveillance*. Geneva: World Health Organization.

## **5. ANEXOS**

**Atividade antimicrobiana, antioxidante e citotóxica do extrato etanólico de folhas de *Aristida pallens* Cav.**

Iahn, S. R.<sup>a</sup>; Leme, D. E. M.<sup>b</sup>; Belarmino, A. R.<sup>b</sup>; Negri M.<sup>c</sup>; Cardoso, C. A. L.<sup>d</sup>; Oliveira, K. M. P.<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Faculdade de Ciências da Saúde – Universidade Federal da Grande Dourados (Rodovia Dourados - Itahum, Km 12 - Cidade Universitária, Cx. Postal 533 - CEP 79804-970, Dourados – MS), Brasil.

<sup>b</sup> Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais – Universidade Federal da Grande Dourados (Rodovia Dourados - Itahum, Km 12 - Cidade Universitária, Cx. Postal 533 - CEP 79804-970, Dourados – MS), Brasil.

<sup>c</sup> Divisão de Micologia Médica, Laboratório de Ensino e Pesquisa em Análises Clínicas do Departamento de Análises Clínicas de Universidade Estadual de Maringá, Paraná, Brasil

<sup>d</sup> Centro de Pesquisa em Biodiversidade, Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Mato Grosso do Sul, Brasil

## RESUMO

O uso de produtos naturais a base de plantas como medicinais está relacionado com fatores econômicos, culturais ou por considerarem como não tóxicos, contudo, a investigação de plantas com potencial medicinal como a *Aristida pallens*, conhecida como “capim-barba-de-bode” ou “barba de bode”, utilizada na medicina popular e não há relatos sobre as propriedades biológicas, segurança e possíveis efeitos adversos. Desta forma, o presente estudo tem como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana, antioxidante e citotoxicidade do extrato etanólico das folhas de *A. pallens*. A susceptibilidade antimicrobiana foi determinada frente as bactérias Gram positivas e negativas, e leveduras por meio da técnica de microdiluição em caldo. A quantificação de flavonoides, fenóis e taninos foram determinadas de acordo com o método colorimétrico de cloreto de alumínio, Folin-Ciocalteu, e reação de vanilina, respectivamente. A atividade antioxidante foi determinada pela capacidade de inibição do radical livre 1,1–difênil–2 picril–hidrazila (DPPH) e a citotoxicidade do extrato foi avaliada utilizando células HeLa. O extrato etanólico das folhas de *A. pallens* apresentou atividade frente a *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* e *S. epidermidis* e não apresentou atividade frente as bactérias Gram negativas e leveduras. A atividade antioxidante apresentou um IC<sub>50</sub> de 14,9±0,1 µg/ml e o percentual de viabilidade celular foi maior que 80,23%. Os resultados demonstram que o extrato de *A. pallens* apresentou atividade antibacteriana para bactérias Gram positivas, atividade antioxidante e não apresentou citotoxicidade.

**Palavras-chave:** *Poaceae*, antibacteriano, DPPH, compostos fenólicos, células HeLa.

## INTRODUÇÃO

As plantas medicinais são estudadas por apresentarem propriedades biológicas que provocam respostas fisiológicas no organismo (Akthar et al., 2015) e devido a sua utilização terapêutica (Newman & Cragg, 2012). O conhecimento sobre a utilização de plantas medicinais é de fato, uma opção para a investigação de novos compostos de interesse biológico e para o desenvolvimento de novos medicamentos (Dutra et al., 2016; Ribeiro et al., 2014), sendo que 25% dos medicamentos atuais são derivados de espécies vegetais utilizadas como medicinais (De Luca et al., 2012).

O uso de medicamentos à base de plantas está relacionado a fatores socioeconômicos (Carneiro et al., 2014), culturais ou por acreditar que a utilização de plantas medicinais não apresenta toxicidade (Abou-Ellella et al., 2016; Neergheen-Bhujun, 2013). A atividade biológica das plantas está relacionada à presença de compostos, como metabólicos secundários, sendo eles os flavonóides, alcalóides, terpenos, fenóis, polifenóis, entre outros (Radulovic et al., 2013; Savoia, 2012), que estão relacionados a ação antioxidante (Araújo et al., 2015; Farias et al., 2013), antimicrobiana (Radulovic et al., 2013; Savoia, 2012) e antitumorais (Araújo et al., 2015). Entretanto, existem relatos de efeitos adversos, que podem ser devido ao uso de doses excessivas, uso prolongado de médio a longo prazo, dependência, tolerância e hipersensibilidade (Shaw et al., 2012) ou podem conter compostos que são tóxicos, como o alcalóides pirrolizidínicos (Garg et al., 2012; Ouedraogo et al., 2012), ácidos aristolóquicos, safrol, eugenol, estragol, metileugenol e  $\beta$ -asarona (Ouedraogo et al., 2012).

*Aristida pallens* pertence à família *Poaceae*, sendo conhecida como “capim-barba-de-bode” ou “barba de bode” (Carneiro et al., 2014; Nascimento et al., 2013; Amorim, 2009; Rachid-Edwards, 1956). É uma planta invasora de até meio metro de altura, ocupa áreas abertas e ensolaradas (Rachid-Edwards, 1956) e está presente em solos secos e pobres (Imaguire, 1980; Nascimento et al., 2013). *A. pallens* é utilizada popularmente para o tratamento de reumatismo (Amorim, 2009) amenorreia, câncer cervical, depressão, diarreia, flatulência e inchaço (Carneiro et al., 2014). Considerando que a planta *A. pallens* é usada popularmente e não há estudos sobre sua atividade biológica e a segurança quanto ao seu uso, o objetivo do presente estudo foi avaliar a atividade antimicrobiana, antioxidante e citotoxicidade das folhas de *A. pallens*.

## MATERIAS E MÉTODOS

### Coleta de amostra e preparação dos extratos

O material vegetal foi coletado em dezembro de 2014, na Fazenda Santa Madalena (22°08'23.4"S e 55°08'21.4"W), na cidade de Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil. A excisata foi identificada e depositada no herbário DDMS da Universidade Federal da Grande Dourados, sob o número de registro n° 5276.

A amostra constituída de folhas, foi seca em estufa de ar circulante à temperatura de  $40 \pm 2^\circ\text{C}$ , pulverizado e armazenado em local seco sem umidade. 200g de material vegetal seco e em pó foi misturado a aproximadamente 1000 ml de etanol à  $25^\circ\text{C}$  por 72h, com agitações ocasionais. O extrato foi filtrado e evaporado à  $35^\circ\text{C}$  em rota-evaporador, sendo posteriormente liofilizado, formando o extrato seco.

### Determinação de atividade antimicrobiana

#### *Micro-organismos*

A atividade antimicrobiana dos extratos foi determinada para bactérias Gram positivas e Gram negativas e leveduras. Os micro-organismos da *American Type Culture Collection* (ATCC, Rockville, MD, USA) utilizados foram como *Bacillus cereus* (ATCC 11778), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228), *Enterobacter aerogenes* (ATCC 13048), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 13883), *Proteus mirabilis* (ATCC 35659), *Salmonella* Enteritidis (ATCC 13076) e *Salmonella* Typhimurium (ATCC 14028); e leveduras, *Candida albicans* (ATCC 90028), *Candida dubliniensis* (ATCC MYA 646), *Candida glabrata* (ATCC 2001), *Candida krusei* (ATCC 6558), *Candida parapsilosis* (ATCC 22019) e *Candida tropicalis* (ATCC 750).

Foram preparadas suspensões bacterianas na concentração final de  $1,5 \times 10^8$  UFC/ml, a absorbância foi mensura em 650 nm (CLSI, 2008). As suspensões de leveduras foram preparadas na concentração final de  $1 \times 10^5$  a  $10^6$  UFC/ml e a transmitância foi determinada a 530 nm (CLSI, 2012).

#### *Microdiluição em caldo*

Os ensaios de susceptibilidade foram realizados por meio da técnica de microdiluição em caldo (CLSI, 2008; CLSI, 2012) com algumas adaptações para utilização de produtos naturais. O extrato foi dissolvido em Dimetilsulfóxido, em seguida, diluições sucessivas (1:2)

do extrato foram feitas em microplaca de 96 poços. A concentração inicial para as bactérias foi de 2000 µg/ml e final de 3,9 µg/ml e para leveduras de 1000 µg/ml e final de 1,95 µg/ml.

Como controle negativo para bactérias, foi utilizado caldo Müeller-Hinton e para leveduras, caldo RPMI-1640. Para o controle positivo, foi utilizado caldo com inóculo bacteriano ou de leveduras. As placas foram incubadas a 37°C por 24h para bactérias e 35°C à 48h para leveduras.

A identificação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) para bactérias foi através da adição de 50 µl de solução Cloridrato Trifenil Tretrazólio (CTT) a 0,1% e após duas horas, a leitura da placa foi realizada por interpretação visual da cor em cada poço, sendo a cor rosa indicativo de crescimento bacteriano. Para leveduras, foi através da observação visual da turbidez provocada pelo crescimento de leveduras. A CIM foi determinada como a menor concentração da amostra testada na qual nenhum crescimento de micro-organismos foi observado.

#### ***Concentração Bactericida Mínima (CBM) e Concentração Fungicida Mínima (CFM)***

O teste consiste em remover de cada poço da placa de microdiluição do meio inoculado com hastes de madeira esterilizado e perfurar uma placa de Petri contendo ágar Müeller-Hinton, para bactérias e ágar Sabouraud Dextrose para leveduras. As bactérias foram incubadas a 37°C por 24h, e para as leveduras foram incubadas durante 48 horas a 37°C. A concentração fungicida e bactericida mínima foi determinada pela menor concentração que não apresentou crescimento (Bagiu et al., 2012).

#### **Análise quantitativa de flavonoides**

A quantificação de flavonoides foi pelo método descrito por Lin & Tang (2007). 0,1g de extrato foi dissolvida em 100 ml de água deionizada e uma alíquota (500 µL) desta solução foi acrescentada com 1,5 ml de álcool a 95%, 0,1 ml de hexa-hidrato de cloreto de alumínio 10% (AlCl<sub>3</sub>), 0,1 ml de acetato de potássio 1 M (CH<sub>3</sub>COOK), e 2,8 ml de água deionizada, incubados à temperatura ambiente por 40 minutos. A leitura foi realizada no espectrofotômetro, com comprimento de onda de 415 nm. Os resultados foram expressos como miligramas equivalentes de quercetina (mg QE) por grama de extrato etanólico. O teste foi realizado em triplicata.

### **Análise quantitativa de compostos fenólicos**

Fenóis foram ensaiados com as mesmas amostras utilizadas na quantificação dos flavonoides, conforme Djeridane et al., 2006. A cada 100 µl de amostra foi adicionado 500 µl de reagente de Folin-Ciocalteu e 1 ml de água destilada, incubadas à temperatura ambiente durante 1 min. Após 1 min, foi adicionado a esta solução, 1,5 ml de carbonato de sódio a 20% (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) e incubadas por 30 minutos no escuro, à temperatura ambiente. A leitura da absorbância foi realizada com comprimento de 760 nm. Os resultados são expressos como miligramas equivalentes de ácido gálico (mg EAG) por grama de extrato etanólico. O teste foi realizado em triplicata.

### **Análise quantitativa de taninos condensados**

Os taninos foram quantificados utilizando a reação de vanilina, de acordo com Broadhurst e Jones (1978) e adaptada por Agostini-Costa et al. (1999). 5 ml de reagente recém-preparado de vanilina (vanilina-HCl-metanol 4:10:86) (v:v:v) foi adicionado em cada tubo de ensaio e foi acrescentado 1 ml de extrato em cada tubo, agitando em vórtex por 30 segundos. A reação foi mantida em repouso por 15 minutos e fez-se a leitura da absorbância a 490 nm. Os resultados foram expressos em miligramas de catequina equivalente (mg CAE) por grama de extrato. O teste foi realizado em triplicata.

### **Ensaio antioxidante com o radical livre 1,1-difenil-2-picril-hidrazila (DPPH)**

O teste antioxidante com o radical livre DPPH (1,1 – difenil – 2 picril – hidrazila) foi utilizado para determinar a atividade antioxidante realizado nas amostras empregando uma solução de 40 µg/ml de DPPH preparado em metanol. As amostras foram analisadas empregando diferentes concentrações de extrato, sendo 10 a 200 µg/ml (10, 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200 µg/ml).

Para cada 0,5 ml da amostra, foram adicionados 1 ml da solução de DPPH. A mistura foi agitada imediatamente após a adição de DPPH e deixada em repouso por 30 minutos à temperatura ambiente e no escuro. A leitura da absorbância de 517 nm em espectrofotômetro. Através das absorbâncias foi calculada o percentual de inibição (PI) conforme Kumaran & Karunakaran (2006), resultando na concentração de IC<sub>50</sub>, capaz de reduzir em 50% da concentração inicial de DPPH.

### **Ensaio de atividade citotóxica com linhagem de células HeLa**

Os ensaios com células HeLa (Henrietta Lacks, linha celular de adenocarcinoma de colo do útero) foram realizadas como descrito por Malich et al. (1997) e Capoci et al. (2015). As células foram cultivadas em meio de Eagle Modificado por Dulbecco (DMEM) contendo 10% de soro fetal bovino e 1% de penicilina/estreptomicina (P/E), incubados à 37 °C sob 5% de CO<sub>2</sub>. Depois de atingir 80% de confluência, as células foram separadas utilizando-se 25% de solução de ácido etileno-diamino tetra-acético (EDTA). A concentração de células foi ajustada a 2x10<sup>5</sup> células/ml com DMEM fresco sem P/E, e a suspensão foi adicionada às cavidades de uma placa de 96 poços.

Os poços foram lavados duas vezes com solução salina tamponada com fosfato (PBS) pH 7,0, 0,1 M e foram adicionados às células em diferentes concentrações do extrato (250, 500 e 1000 µg/ml) incubadas *overnight* a 37 °C sob 5% de CO<sub>2</sub>. Como controle positivo, as células foram tratadas com etanol. Para o controle negativo, foi realizado medindo a atividade celular de células humanas cultivadas sob as mesmas condições, na ausência do extrato.

A partir disso, a citotoxicidade com o extrato foi avaliada utilizando microplaca de 96 poços, com base na redução de MTS (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-carboximetoxifenil)-2-(4-sulfofenil)-2H-tetrazólio) em DMEM sem vermelho de fenol. Após 3h de incubação a 37°C no escuro, a absorbância de formazano foi medida a 490 nm utilizando leitora de microplaca. A citotoxicidade é apresentada como a média de três experiências independentes com três repetições. A percentagem de viabilidade celular (%VC) foi calculada pela seguinte equação: % VC = (amostra A / Branco A) x 100, onde o branco é a média das células e o MTS.

## **RESULTADOS**

### **Determinação de atividade antimicrobiana**

O extrato etanólico das folhas de *A. pallens* apresentou atividade antibacteriana para cepas Gram positivas na concentração de 1000 µg/ml para *B. cereus* e 2000 µg/ml para *S. aureus* e *S. epidermidis*, e não apresentou atividade bactericida. O extrato testado não apresentou atividade frente as cepas Gram-negativas e também não mostrou ação antifúngica frente as leveduras testadas (Tabela 1).



**Tabela 1.** Concentração Inibitória Mínima (CIM), Concentração Fungicida Mínima (CFM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) ( $\mu\text{g/mL}$ ) do extrato de folhas de *A. pallens*.

Micro-organismos	CIM	CBM / CFM	AMP	CLO	FLU
<b>Gram +</b>					
<i>B. cereus</i>	1000	-	32	4	NA
<i>S. aureus</i>	2000	-	32	4	NA
<i>S. epidermidis</i>	2000	-	64	4	NA
<b>Gram -</b>					
<i>E. aerogenes</i>	-	-	-	2	NA
<i>E. coli</i>	-	-	32	2	NA
<i>K. pneumoniae</i>	-	-	64	2	NA
<i>P. mirabilis</i>	-	-	32	8	NA
<i>S. Enteritidis</i>	-	-	32	2	NA
<i>S. Typhimurium</i>	-	-	32	2	NA
<b>Leveduras</b>					
<i>C. albicans</i>	-	-	NA	NA	2
<i>C. dubliniensis</i>	-	-	NA	NA	0,25
<i>C. glabrata</i>	-	-	NA	NA	8
<i>C. krusei</i>	-	-	NA	NA	32
<i>C. parapsilosis</i>	-	-	NA	NA	2
<i>C. tropicalis</i>	-	-	NA	NA	1

CIM: Concentração Mínima Inibitória; CBM: Concentração Bactericida Mínima; CFM: Concentração Fungicida Mínima; AMP: Ampicilina; CLO: Cloranfenicol; FLU: Fluconazol; -: Não apresentou atividade; NA: Não se aplica;

### Teores de flavonoides, compostos fenólicos e taninos e atividade antioxidante

O extrato etanólico da folha apresentou teor de  $67,5 \pm 2,1$  mg de flavonoides,  $112,8 \pm 2,8$  mg de compostos fenólicos e  $10,4 \pm 0,1$  mg de taninos condensados (Tabela 2).

A atividade antioxidante do extrato pelo ensaio de redução de radicais DPPH e apresentou valor de IC<sub>50</sub> de  $14,9 \mu\text{g/ml}$  (Tabela 2).

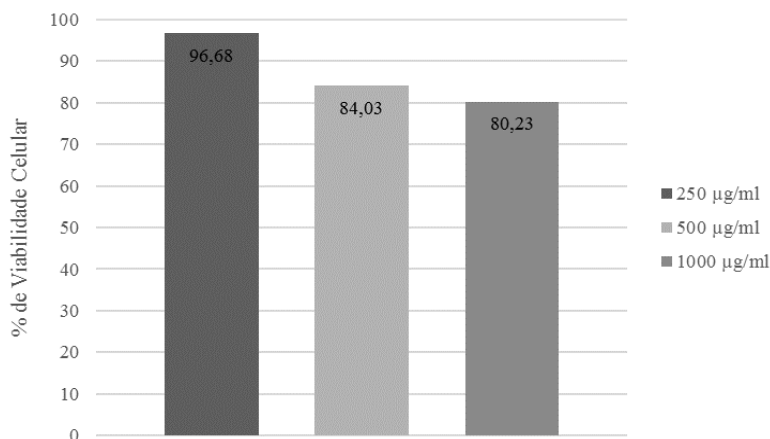
**Tabela 2.** Quantificação de flavonoides, fenóis, taninos e atividade antioxidante do extrato etanólico das folhas de *A. pallens*.

Espécie	Quantificação			Atividade Antioxidante
	Flavonoides (mg/g)	Compostos fenólicos (mg/g)	Taninos condensados (mg/g)	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/mL}$ )
<i>Aristida pallens</i>	$67,5 \pm 2,1$	$112,8 \pm 2,8$	$10,4 \pm 0,1$	$14,9 \pm 0,1$

IC<sub>50</sub>: Concentração inibitória de 50% do DPPH

### Análise de citotoxicidade

A adição do extrato de *A. pallens* não interferiu na viabilidade das células HeLa de 80,23% na maior concentração testada (Figura 1).



**Figura 1.** Viabilidade celular após 24h de exposição das células HeLa em diferentes concentrações do extrato etanólico de folhas de *A. pallens*.

### DISCUSSÃO

O extrato etanólico das folhas de *A. pallens* apresentou ação contra as bactérias Gram positivas testadas, *B. cereus* e *S. aureus* as quais estão relacionadas com intoxicações de origem alimentar (Schuch et al., 2014; Crago et al., 2012), e *S. aureus* também está associado com artrite séptica, uma doença relacionada a inflamações nas articulações (Colavite et al., 2016). *S. epidermidis* está presente na pele e membranas mucosas do corpo humano e associada com infecções hospitalares, principalmente devido sua capacidade de formar biofilmes (Vuong & Otto, 2002). Informações como estas fundamenta a utilização popular de *A. pallens* para o tratamento de reumatismo amenorreia, diarreia, flatulência e inchaço, considerando já que estão relacionadas a infecções bacterianas. As plantas possuem metabólitos secundários que são responsáveis por atividade antimicrobiana, como os flavonoides, compostos fenólicos e taninos (Cowan et al., 1999; Savoia, 2012), compostos presentes no extrato de *A. pallens*. Estes metabólitos atuam na parede celular de micro-organismo, alterando a estrutura e permeabilidade da bicamada fosfolipídica e conseqüentemente a mudança eletroquímica, atividades enzimáticas, interrupção de DNA e RNA, induz a coagulação de constituintes citoplasmáticos e na interrupção de quórum sensing

(Radulovic et al., 2013). As bactérias Gram positivas possuem apenas uma membrana citoplasmática (Nguyen & Götz, 2016).

O extrato de *A. pallens* não apresentou atividade para bactérias Gram negativas e leveduras, pois estes micro-organismos possuem a membrana mais complexas, as Gram negativas apresentam a membrana citoplasmática e uma membrana externa, (Nguyen & Götz, 2016) e bomba de efluxo (Radulovic et al., 2013; Savoia, 2012), e as leveduras possuem na sua parede celular ergosterol, um dos principais determinantes da resistência e uma matriz de  $\beta$ -glucano e quitina (Lopes et al., 2013). Assim, a permeabilidade de compostos do extrato para no interior destas células é dificultado. Além disso, o baixo teor de flavonoides no extrato das folhas pode estar relacionado com a ausência de atividade antifúngica, uma vez que os flavonoides possuem capacidade de interagir com a parede celular de leveduras (Arif et al., 2009).

Dentre os compostos quantificados do extrato etanólico das folhas *A. pallens* estão os fenóis em maior quantidade, na qual, conforme Pinho et al. (2016) e Akhtar et al. (2015), o potencial antioxidante das plantas esta correlacionada com compostos fenólicos, considerados como potenciais agentes para a prevenção e tratamento de doenças relacionadas ao estresse oxidativo (Sofowora et al., 2013). O metabolismo celular tem como resultado as espécies reativas de oxigênio tais como o ânion superóxido ( $O_2^-$ ), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e o radical hidroxila (OH), consistem em espécies de radicais e não-radicais de oxigênio formados pela redução parcial do oxigênio (Ray et al., 2012), que são extremamente tóxicos para o organismo, podendo causar danos oxidativo aos ácidos nucleicos, lipídios e proteínas que estão correlacionados com o surgimento de doenças crônicas (Akhtar et al., 2015). O teor de flavonoides quantificado foi intermediário em relação aos demais, mas a presença deste composto contribui na atividade antioxidante das plantas, uma vez que os flavonoides têm capacidade de doar elétrons, reduzindo os radicais envolvidos nos processos de oxidação (Ferreira et al, 2015). A quantidade determinada de taninos condensados não foi elevada diante dos demais compostos, isso ocorre pois este composto se encontra em maior concentração nas cascas de árvores (Ashok & Upadhyaya, 2012). A presença de taninos condensados nas plantas está correlacionada com a proteção contra infecções, insetos ou animais herbívoros (Khanbabaee & van Ree, 2001) e está associada com atividade antioxidante (Araújo et al., 2015; Pereira et al., 2009). Desta forma, a atividade antioxidante das folhas de *A. pallens* pode ser determinada devido à presença destes compostos em sua composição.

A viabilidade celular do extrato etanólico das folhas de *A. pallens* com células HeLa foi determinada utilizando o ensaio com base na redução do MTS para determinar a viabilidade celular através da mensuração da absorvância de formazano, na qual o extrato do presente estudo não apresentou citotoxicidade nas diferentes concentrações testadas. O uso de produtos naturais a base de plantas tem aumentado e com isso tem levantado questões sobre a segurança sobre a sua utilização, uma vez que há relatos sobre problemas toxicológicos associados com o uso de plantas medicinais (Neergheen-Bhujun, 2013). A espécie *A. pallens* é utilizada como popularmente como medicinal, portanto, é necessário o conhecimento sobre a segurança quanto ao seu uso e suas implicações no organismo humano. A análise de viabilidade celular permite identificar se há toxicidade às células diante de uma determinada substância ou composto (Chunyan & Valiyaveetil, 2013). Desta forma, estudos *in vitro* e *in vivo* são realizados para fornecer informações sobre efeitos adversos em seres humanos (Whitebread et al., 2005). Apesar das folhas de *A. pallens* não ter apresentado citotoxicidade às células HeLa, outros testes complementares devem ser realizados a fim de verificar se o extrato desta planta possui efeitos tóxicos e/ou mutagênicos.

## **CONCLUSÃO**

De acordo com os resultados obtidos no presente estudo, o extrato etanólico das folhas de *A. pallens* apresentou atividade frente a bactérias Gram positivas, possui potencial antioxidante e não apresentou atividade citotóxica dentro do parâmetro avaliado.

## **AGRADECIMENTOS**

Os autores agradecem a CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) e FUNDECT (Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul) pelo apoio financeiro desta pesquisa.

## **Conflito de interesse**

Os autores declaram que não há conflitos de interesses referentes à publicação deste artigo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abou-Elella F, Hanafy EA, Gavamukulya Y (2016). Determination of antioxidant and anti-inflammatory activities, as well as in vitro cytotoxic activities of extracts of *Anastatica hierochuntica* (Kaff Maryam) against HeLa cell lines. *Journal of Medicinal Plants Research*, 10(7): 77-87. DOI: 10.5897/JMPR2015.6030

Agostini-Costa TDS, Garriti DDS, Lima L, Freire S, Abreu FAP, Feitosa T (1999). Avaliação de metodologias para determinação de taninos no suco de caju. *Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*, 17(2): 167-176. <http://dx.doi.org/10.5380/cep.v17i2.13789>

Akhtar N, Mirza B (2015). Phytochemical analysis and comprehensive evaluation of antimicrobial and antioxidant properties of 61 medicinal plant species. *Arabian Journal of Chemistry*. doi:10.1016/j.arabjc.2015.01.013

Amorim CC (2009). Etnobotânica da “medicina campeira” na região da Coxilha Rica, SC. *Cadernos de Agroecologia*, 4(1).

Araújo TA De S, Sobrinho TJ. Da S, Aguiar J. dos S, Da Silva ACO, Brito FU, Da Silva TG, De Amorim ELC, Pranchevicius MC Da S (2015). Phytochemical, antioxidant and cytotoxic analysis of Brazilian cerrado plants: Preliminary evidence of their antitumor activity. *Journal of Medicinal Plants Research*, 9(9): 310-319. doi: 10.5897/JMPR2015.5741

Arif T, Bhosale JD, Kumar N, Mandal TK, Bendre RS, Lavekar GS, Dabur R (2009). Natural products–antifungal agents derived from plants. *Journal of Asian Natural Products Research*, 11(7): 621-638. doi: 10.1080/10286020902942350.

Ashok PK & Upadhyaya K (2012). Tannins are astringent. *Journal of pharmacognosy and phytochemistry*, 1(3): 45-50.

Bagiu RV, Vlaicu B, Butnariu M (2012). Chemical Composition and in Vitro Antifungal Activity screening of the *Allium ursinum* L. (Liliaceae). *International Journal of Molecular Sciences*, 13: 1426-1436. doi:10.3390/ijms13021426

Broadhurst RB, Jones WT (1978). Analysis of condensed tannins using acidified vanillin. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 29(9): 788-794. doi: 10.1002/jsfa.2740290908

Capoci IRG, Bonfim-Mendonça PDS, Arita GS, Pereira RRDA, Consolaro MEL, Bruschi ML, Negri M, Svidzinski TIE (2015). Propolis is an efficient fungicide and inhibitor of biofilm production by vaginal *Candida albicans*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015. <http://dx.doi.org/10.1155/2015/287693>

Carneiro FM, Silva MJPD, Borges LL, Albernaz LC, Costa JDP (2014). Tendências Dos Estudos Com Plantas Medicinais No Brasil. *Revista Sapiência: sociedade, saberes e práticas educacionais*. *Revista Sapiência: sociedade, saberes e práticas educacionais*, 3(2): 44-75.

CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute (2008). M27-A3 Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; approved standard, 3. Ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute.

CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute (2012). M7-A9 Method for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standard, 9. Ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute.

Chunyan W, & Valiyaveetil S (2013). Correlation of biocapping agents with cytotoxic effects of silver nanoparticles on human tumor cells. *RSC Advances*, 3(34): 14329-14338. doi: 10.1039/c3ra41346b

Colavite PM, Ishikawa LLW, Zorzella-Pezavento SFG, Oliveira LRCD, França TGD, Rosa LC, Rosa LC, Chiuso-Minicucci F, Vieira AE, Francisconi CF, Cunha MLRS, Garlet GP, Sartori A (2016). Cloxacillin control of experimental arthritis induced by SEC+ *Staphylococcus aureus* is associated with down modulation of local and systemic cytokines. *Cellular microbiology*. 18(7): 998–1008 doi:10.1111/cmi.12563

Cowan MM (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, 12(4): 564-582.

Crago B, Ferrato C, Drews SJ, Svenson LW, Tyrrell G, Louie M (2012). Prevalence of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) in food samples associated with foodborne illness in Alberta, Canada from 2007 to 2010. *Food microbiology*, 32(1): 202-205. doi:10.1016/j.fm.2012.04.012

De Luca V, Salim V, Atsumi SM, Yu F (2012). Mining the biodiversity of plants: a revolution in the making. *Science*, 336(6089): 1658-1661. doi: 10.1126/science.1217410

Djeridane A, Yousfi M, Nadjemi B, Boutassouna D, Stocker P, Vidal N (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry* 97: 654-660. doi:10.1016/j.foodchem.2005.04.028

Dutra RC, Campos MM, Santos AR, Calixto JB (2016). Medicinal plants in Brazil: Pharmacological studies, drug discovery, challenges and perspectives. *Pharmacological Research*. doi:10.1016/j.phrs.2016.01.021

Farias KS, Santos TSN, Paiva MRAB, Almeida SML, Guedes PT, Vianna ACA, Castilho RO (2013). Antioxidant properties of species from the Brazilian cerrado by different assays. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 15(4): 520-528. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-05722013000400008>

Ferreira R de Q, Greco SJ, Delarmelina M, Weber KC (2015). Electrochemical quantification of the structure/antioxidant activity relationship of flavonoids. *Electrochimica Acta*, 163: 161-166. <http://dx.doi.org/10.1016/j.electacta.2015.02.164>

Garg V, Dhar VJ, Sharma A, Dutt R (2012). Facts about standardization of herbal medicine: a review. *Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao*, 10(10): 1077-1083. doi: 10.3736/jcim20121002

Imaguire N (1980). Contribuição ao estudo florístico e ecológico da fazenda experimental do setor de ciências agrárias da Universidade Federal do Paraná 2. O porquê da existência dos campos e matas no primeiro e segundo planaltos paranaenses. *Acta Biológica Paranaense*, 8. doi: <http://dx.doi.org/10.5380/abpr.v8i0.919>

Khanbabaee K & van Ree T (2001). Tannins: classification and definition. *Natural product reports*, 18(6): 641-649. doi: 10.1039/b1010611

Kumaran A & Karunakaran RJ (2006). Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of *Coleus aromaticus*. *Food chemistry*, 97(1): 109-114. doi:10.1016/j.foodchem.2005.03.032

Lin J-Y, Tang C-Y (2007). Determination of total phenolic and flavonoid contents in selected fruits and vegetables, as well as their stimulatory effects on mouse splenocyte proliferation. *Food Chemistry* 101: 140-147. doi:10.1016/j.foodchem.2006.01.014



Lopes G, Pinto E, Andrade PB, Valentão P (2013). Antifungal activity of phlorotannins against dermatophytes and yeasts: approaches to the mechanism of action and influence on *Candida albicans* virulence factor. PLoS One, 8(8): e72203.

Malich G, Markovic B, Winder C (1997). The sensitivity and specificity of the MTS tetrazolium assay for detecting the in vitro cytotoxicity of 20 chemicals using human cell lines. Toxicology, 124(3): 179-192. doi:10.1016/S0300-483X(97)00151-0

Nascimento LA, Rocha LC, Rosa DB (2013). Aspectos Geográficos E Geológicos Da Área Do Morro Branco E Circunvizinhanças Nos Municípios De Santo Antonio Do Leverger E Chapada Dos Guimarães–Estado De Mato Grosso-Brasil. Revista Geoaraguaia. pp.209-231

Neergheen-Bhujun VS (2013). Underestimating the toxicological challenges associated with the use of herbal medicinal products in developing countries. BioMed Research International, 2013 (2013). <http://dx.doi.org/10.1155/2013/804086>

Newman DJ & Cragg GM (2012). Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. Journal of natural products, 75(3): 311-335. doi: 10.1021/np200906s

Nguyen MT & Götz F (2016). Lipoproteins of Gram-Positive Bacteria: Key Players in the Immune Response and Virulence. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 80(3): 891-903. doi: 10.1128/MMBR.00028-16

Ouedraogo M, Baudoux T, Stevigny C, Nortier J, Colet JM, Efferth T, Qu F, Zhou J, Chan K, Shaw D, Pelkonen O, Duez P (2012). Review of current and “omics” methods for assessing the toxicity (genotoxicity, teratogenicity and nephrotoxicity) of herbal medicines and mushrooms. Journal of ethnopharmacology, 140(3): 492-512. doi: 10.1016/j.jep.2012.01.059

Pinho FVSDA, da Cruz LC, Rodrigues NR, Waczuk EP, Souza CES, Coutinho HDM, Posser T (2016). Phytochemical Composition, Antifungal and Antioxidant Activity of *Duguetia furfuracea* A. St.-Hill. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*.

Pereira,DM, Valentão P, Pereira JA, Andrade PB (2009). Phenolics: From chemistry to biology. *Molecules*, 14(6): 2202-2211. doi: 10.3390 / molecules14062202

Rachid-Edwards, M. (1956). Alguns dispositivos para proteção de plantas contra a seca e o fogo. *Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Universidade de São Paulo. Botânica*, (13): 35-68.

Radulovic NS, Blagojevic PD, Stojanovic-Radic ZZ, Stojanovic NM (2013). Antimicrobial plant metabolites: structural diversity and mechanism of action. *Current medicinal chemistry*, 20(7): 932-952. doi: 10.2174/0929867311320070008

Ray PD, Huang BW, Tsuji Y (2012). Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. *Cellular signalling*, 24(5): 981-990. doi: 10.1016/j.cellsig.2012.01.008

Ribeiro DA, de Oliveira LGS, de Macêdo DG, de Menezes IRA, da Costa JGM, da Silva MA, Costa JG, de Almeida Souza MM (2014). Promising medicinal plants for bioprospection in a Cerrado area of Chapada do Araripe, Northeastern Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*, 155(3): 1522-1533. doi:10.1016/j.jep.2014.07.042

Savoia D (2012). Plant-derived antimicrobial compounds: alternatives to antibiotics. *Future microbiology*, 7(8): 979-990. doi: 10.2217/fmb.12.68

Shaw D, Graeme L, Pierre D, Elizabeth W, Kelvin C (2012). Pharmacovigilance of herbal medicine. *Journal of ethnopharmacology*, 140(3): 513-518. doi: 10.1016 / j.jep.2012.01.051

Schuch R, Pelzek AJ, Fazzini MM, Nelson DC, Fischetti VA (2014). Complete genome sequence of *Bacillus cereus sensu lato* bacteriophage Bcp1. *Genome announcements*, 2(3): e00334-14. doi: 10.1128/genomeA.00334-14

Sofowora A, Ogunbodede E, Onayade A (2013). The role and place of medicinal plants in the strategies for disease prevention. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 10(5): 210-229. <http://dx.doi.org/10.4314/ajtcam.v10i5.2>

Vuong C, & Otto M (2002). *Staphylococcus epidermidis* infections. *Microbes and infection*, 4(4): 481-489. [http://dx.doi.org/10.1016/S1286-4579\(02\)01563-0](http://dx.doi.org/10.1016/S1286-4579(02)01563-0)

Whitebread S, Hamon J, Bojanic D, Urban L (2005). Keynote review: in vitro safety pharmacology profiling: an essential tool for successful drug development. *Drug discovery today*, 10(21): 1421-1433. DOI:10.1016/S1359-6446(05)03632-9

[Journals](#)
[Authors](#)
[Reviewers](#)
[Editors](#)
[Submit Manuscript](#)
[Join Editorial Board](#)
[F.A.Q](#)
[Search](#)

 Selezione o idioma 

 OPEN ACCESS

 Journal of  
**Medicinal Plants Research**
[JMPR Home](#)
[About JMPR](#)
[Abstracting & Indexing](#)
[Editors](#)
[Instructions for Authors](#)
[JMPR Articles](#)
[Archive](#)

#### QuickLinks

-  [Submit Manuscript](#)
-  [Track your Manuscript](#)
-  [Subscribe to RSS](#)
-  [Subscribe to TOC Alert](#)

Google Scholar h5-index: 35

Abbreviation: J. Med. Plants Res.

Language: English

ISSN: 1996-0875

DOI: 10.5897/JMPR

Start Year: 2007

Published Articles: 3464

#### JMPR - Instructions for Authors

- [Introduction](#)
- [Research ethics](#)
- [Reporting guidelines](#)
- [Preparing your manuscript](#)
- [Title](#)
- [Abstract](#)
- [Abbreviations](#)
- [The Introduction](#)
- [Materials and methods](#)
- [Results and discussion](#)
- [Declaration of conflict of interest](#)
- [Acknowledgments](#)
- [References](#)
- [Tables and figures](#)
- [Acceptance Certificate](#)
- [Payment of manuscript handling fee](#)
- [Proofs](#)
- [Publication](#)
- [Publication Notification](#)

#### Introduction

Authors should read the editorial policy and publication ethics before submitting their manuscripts. Authors should also use the appropriate reporting guidelines in preparing their manuscripts.

#### Research Ethics

Studies involving human subjects should be conducted according to the World Medical Association (WMA) Declaration of Helsinki - Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects.

Studies involving non human animals should follow appropriate ethical guidelines such as the Animal Welfare Act, The Animals (Scientific Procedures) Act (Amendment) Order 1993, The EU parliament directive on the protection of animals used for scientific purposes, ARRPs policies and guidelines, etc.

### Reporting guideline

Responsible reporting of research studies, which includes a complete, transparent, accurate and timely account of what was done and what was found during a research study, is an integral part of good research and publication practice and not an optional extra.

See additional [guidelines for reporting of health research](#).

### Preparing your manuscript

The type of article should determine the manuscript structure. However, the general structure for articles should follow the [IMRAD structure](#).

### Title

The title phrase should be brief.

List authors' full names (first-name, middle-name, and last-name).

Affiliations of authors (department and institution).

Emails and phone numbers

### Abstract

The abstract should be less than 300 words. Abstract may be presented either in [unstructured or structured format](#). The keywords should be less than 10.

### Abbreviations

Abbreviation should be used only for non standard and very long terms.

### The Introduction

The statement of the problem should be stated in the introduction in a clear and concise manner.

### Materials and methods

Materials and methods should be clearly presented to allow the reproduction of the experiments.

### Results and discussion

Results and discussion may be combined into a single section. Results and discussion may also be presented separately if necessary.

### Disclosure of conflict of interest

Authors should disclose all financial/relevant interest that may have influenced the study.

### Acknowledgments

Acknowledgement of people, funds etc should be brief.

### Tables and figures

Tables should be kept to a minimum.

Tables should have a short descriptive title.

The unit of measurement used in a table should be stated.

Tables should be numbered consecutively.

Tables should be organized in Microsoft Word or Excel spreadsheet.

Figures/Graphics should be prepared in GIF, TIFF, JPEG or PowerPoint.

Tables and Figures should be appropriately cited in the manuscript.

### References

References should be listed in an alphabetical order at the end of the paper. DOIs, PubMed IDs and links to referenced articles should be stated wherever available.

Examples:

Baumert J, Kunter M, Blum W, Brunner M, Voss T, Jordan A, Klusmann U, Krauss S, Neubrand M, Tsai YM (2010). Teachers' mathematical knowledge, cognitive activation in the classroom, and student progress. *Am. Educ. Res. J.* 47(1):133-180.  
<http://dx.doi.org/10.3102/0002831209345157>

Christopoulos DK, Tsionas EG (2004). "Financial Development and Economic Growth: Evidence from Panel Unit Root and Cointegration Tests" *J. Dev. Econ.* pp.55-74  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jdeveco.2003.03.002>

Goren A, Laufer J, Yativ N, Kuint J, Ben Ackon M, Rubinshtein M, Paret G, Augarten A (2001). Transillumination of the palm for venipuncture in infants. *Pediatric Emerg. Care* 17:130-131.  
<http://dx.doi.org/10.1097/00006565-200104000-00013> PMID:11334094

Mishra A, Mishra SC (2001). Cost-effective diagnostic nasal endoscopy with modified otoscope. *J. Laryngol. Otol.* 115:648-649.  
<http://dx.doi.org/10.1258/0022215011908739> PMID:11535147

#### Acceptance Certificate

Authors are issued an Acceptance Certificate for manuscripts that have been reviewed and accepted for publication by an editor.

#### Payment of manuscript handling fee

Once a manuscript has been accepted, the corresponding author will be contacted to make the necessary payment of the manuscript handling fee. Kindly note that on the [manuscript management system](#), the payment option is only enabled for manuscripts that have been accepted for publication.

#### Proofs

Prior to publication, a proof is sent to the corresponding author. Authors are advised to read the proof and correct minor typographical or grammatical errors. Authors should promptly return proofs to the editorial office.

#### Publication

Once proofs are received at the editorial office, the manuscripts are usually included in the next issue of the journal. The article will thereafter be published on the journal's website

#### Publication Notification

After the article is made available on the journal's website, a publication notice is sent to the corresponding author with links to the issue and article.

---

We welcome manuscripts edited by the following organizations:

JOURNALS CONSORTIUM ([www.journalsconsortium.org](http://www.journalsconsortium.org))

EDITAGE ([www.editage.com](http://www.editage.com))

BIOEDIT ([www.bioedit.co.uk](http://www.bioedit.co.uk))

NARVAN ([www.banarvan.com](http://www.banarvan.com))