

PHELLIPE NORATO ESTRELA TERRA THEODORO

ATIVIDADE *IN VITRO* DE PLANTAS DA MEDICINA TRADICIONAL DO CERRADO
EM DERMATÓFITOS E LEVEDURAS

BRASÍLIA, 2009

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

PHELLIPE NORATO ESTRELA TERRA THEODORO

ATIVIDADE *IN VITRO* DE PLANTAS DA MEDICINA TRADICIONAL DO CERRADO
EM DERMATÓFITOS E LEVEDURAS

Dissertação apresentada como requisito parcial
para a obtenção do título de Mestre em Ciências da
Saúde pelo programa de Pós-Graduação em
Ciências da Saúde da Universidade de Brasília.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Laila Salmen Espíndola

Brasília
2009

PHELLIPE NORATO ESTRELA TERRA THEODORO

ATIVIDADE *IN VITRO* DE PLANTAS DA MEDICINA TRADICIONAL DO CERRADO EM
DERMATÓFITOS E LEVEDURAS

Dissertação apresentada como requisito parcial para a
obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde
pelo programa de Pós-Graduação em Ciências da
Saúde da Universidade de Brasília.

Aprovado em 13 de Julho de 2009

BANCA EXAMINADORA

Laila Salmen Espíndola
Universidade de Brasília - UnB

José Elias de Paula
Universidade de Brasília - UnB

Maria do Rosário Rodrigues Silva
Universidade Federal do Goiás - UFG

A Deus,

AGRADECIMENTOS

Este espaço é dedicado a todos os que contribuíram e participaram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

À **Prof^a. Dr^a. Laila Salmen Espíndola**, meus profundos agradecimentos pelos ensinamentos, orientação, confiança e contribuição para meu desenvolvimento intelectual e como pessoa.

À **Prof^a. Dr^a. Maria do Rosário Rodrigues Silva**, pela colaboração com o fornecimento dos isolados clínicos, sem os quais seria impossível o desenvolvimento desse trabalho, além do aceite de integrar essa banca em pleno período de férias do meio do ano.

Ao **Prof. Dr. José Elias de Paula**, pela fundamental atuação no funcionamento do Laboratório de Farmacognosia da Universidade de Brasília. Agradeço pela coleta das plantas, agradáveis conversas e ensinamentos.

Ao **Prof. Dr. Gustavo Adolfo Sierra Romero**, pela colaboração para o desenvolvimento das atividades do Laboratório de Farmacognosia, assim como pelo aceite de integrar essa banca.

Aos **professores, funcionários e estudantes** dos Laboratórios de Parasitologia/FM/UnB e da EMBRAPA-CENARGEN, pela paciência e empréstimo de equipamentos e materiais necessários para o bom andamento do trabalho.

À **Fernanda Melo e Silva**, por todos os ensinamentos e treinamentos fornecidos para o desenvolvimento desse trabalho. Obrigado pelas conversas descontraídas e prazerosas durante a realização dos testes.

À **Lorena, Ellen, Everton, Aline, Alice, Ruben, Jéssica, Nathália e Thiago**, amigos que conheci no laboratório e que levarei por toda a minha vida, obrigado pela amizade ofertada, pelos conhecimentos, sugestões, idéias e pelas conversas na cantina regadas com gostosas gargalhadas.

Ao **Renato, Carol e Haline** pela ajuda na realização dos testes. Obrigado por ajudar na caminhada na elaboração desse trabalho tornando-a mais fácil e prazerosa.

Aos meus eternos amigos **Daniel Augusto Teixeira de Miranda e Gabriel Camelo Vilas Boas** que me acompanham desde meus 5 anos, compartilhando as alegrias. Muito obrigado pelo carinho, pelas idéias, pelas noites de farra e pela compreensão da minha ausência em algumas festividades. A vida é mais fácil quando se tem amigos como vocês.

A minha amada **Polyana Araújo de Assis**, sempre me recebendo com sorriso estampado em seu rosto, capaz de fazer sumir qualquer tristeza ou preocupação. Obrigado por me ajudar a fazer os testes, por compreender as minhas ausências, por torcer por mim, por caminhar sempre ao meu lado nas alegrias e nos obstáculos da vida e no desenvolvimento desse trabalho.

Aos **meus pais Abadio Admir Theodoro e Mísia Regina Terra Estrela Theodoro**, por todos os ensinamentos, lições, conversas, idéias e dicas. Tudo o que eu sou hoje, e que serei amanhã devo à vocês, agradeço a Deus por ter me dado pais tão maravilhosos. Tenho muito orgulho de terem vocês como meus pais, amo vocês!

Aos **meus irmãos Phábio Claudino Estrela Terra Theodoro e Fabrício Claudino Estrela Terra Theodoro**, pelo apoio, pelas conversas até a madrugada, pelo carinho, pelas brincadeiras e por suprir as minhas ausências. Tenho muito mais do que irmãos, tenho amigos que vivenciam a minha vida.

Pelas vezes em que não agradei, obrigado...

Este trabalho foi realizado graças ao auxílio da bolsa fornecida pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES.

“O único lugar onde o sucesso vem

antes do trabalho é no dicionário.”

(Albert Einstein)

RESUMO

O panorama mundial das infecções fúngicas é preocupante, uma vez que tem sido observado um aumento do número de infecções, o surgimento de cepas resistentes aos medicamentos disponíveis e a toxicidade intrínseca desses medicamentos. Diante desse quadro faz-se necessário a busca de novos agentes terapêuticos. O estudo de plantas da medicina tradicional do Cerrado representa uma fonte importante de moléculas inovadoras para o tratamento de diversas doenças, incluindo as infecções fúngicas. Desse modo, o presente trabalho, à partir da etnomedicina avaliou o potencial antifúngico de extratos de plantas do Cerrado. Em uma triagem inicial foram testados 81 extratos de 14 espécies de plantas sobre os isolados clínicos de fungos dermatófitos *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporum gypseum*, *Microsporum canis* e sobre as leveduras *Candida albicans* ATCC 10231 e *Candida parapsilosis* ATCC 22019, sendo encontrados 27 extratos ativos. Foram selecionados 8 extratos com halos de inibição ≥ 28 mm de diâmetro para a determinação da concentração inibitória mínima (CIM) sobre 10 fungos filamentosos e 8 leveduras. Sendo encontrada potente atividade antifúngica, com valores de CIM entre 125 e 0,24 $\mu\text{g/mL}$. Os extratos mais ativos foram etanólico e acetato de etila da casca do caule, e etanólico da madeira do caule e folha de *Terminalia fagifolia*; etanólico da madeira do caule e da madeira da raiz de *Zanthoxylum rhoifolium*; acetato de etila da madeira da raiz de *Diospyrus hispida* e acetato de etila da casca do caule de *Vismia decipiens*. O fracionamento cromatográfico biomonitorado desses extratos ativos poderá permitir o isolamento de potentes compostos antifúngicos. Esse estudo mostra a importância da pesquisa de extratos de plantas do Cerrado aliado à de sua preservação.

Palavras-chave: Atividade antifúngica, Cerrado, Medicina Tradicional, *Terminalia fagifolia*, *Zanthoxylum rhoifolium*, *Diospyrus hispida*, *Vismia decipiens*.

ABSTRACT

The worldwide distribution of fungal infections is related to an increasing number of cases, development of drug resistance, and intrinsic drug toxicity. In view of these problems, the search for new therapeutic agents is an urgent need. Cerrado plants used in traditional medicine are important sources of novel molecules for several diseases, including fungal infections. This study evaluated the antifungal potential of Cerrado plant extracts obtained from local ethno-medicine. 81 extracts from 14 plant species were screened for antifungal activity against isolated clinical strains of *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporum gypseum*, *Microsporum canis*, *Candida albicans* ATCC 10231 and *Candida parapsilosis* ATCC 22019. 8 extracts demonstrated inhibition zones ≥ 28 mm and minimal inhibition concentrations between 125 and 0,24 $\mu\text{g/mL}$. The extracts which demonstrated the most antifungal activity were: ethanolic and ethyl acetate extracts from stem bark, ethanolic extract from the wood and leaves of *Terminalia fagifolia*; ethanolic extract from the stem bark and root wood of *Zanthoxylum rhoifolium*; ethyl acetate extract from the root wood of *Diospyrus hispida*; and acetate extract from the stem bark of *Vismia decipiens*. Bioguided chromatographic fractionation of these extracts will enable the isolation of antifungal compounds. This work shows the research importance of Cerrado molecules to treat antifungal diseases and the need to preserve this biome.

Key words: Antifungal activity, Cerrado, Traditional Medicine, *Terminalia fagifolia*, *Zanthoxylum rhoifolium*, *Diospyrus hispida*, *Vismia decipiens*.

Lista de Tabelas

| | | |
|--------------------|---|-------|
| Tabela 1 – | Espécies da família Combretaceae com atividade antifúngica | -46- |
| Tabela 2 – | Espécies da família Euphorbiaceae com atividade antifúngica | -61- |
| Tabela 3 – | Espécies da família Rutaceae com atividade antifúngica | -73- |
| Tabela 4 – | Estudos descritos na literatura com <i>Zanthoxylum rhoifolium</i> | -79- |
| Tabela 5 – | Compostos isolados de <i>Zanthoxylum rhoifolium</i> | -79- |
| Tabela 6 – | Fungos utilizados na avaliação da atividade dos extratos brutos, no teste de perfuração em ágar. | -88- |
| Tabela 7 – | Fungos utilizados na reavaliação da atividade dos extratos brutos, que na triagem preliminar apresentaram halo ≥ 28 mm sobre um dos fungos avaliados. | -89- |
| Tabela 8 – | Espécies e extratos vegetais avaliadas quanto à atividade sobre fungos patógenos humanos | -106- |
| Tabela 9 – | Halos de inibição resultantes da triagem dos extratos no teste de perfuração em ágar expressos em milímetros | -107- |
| Tabela 10 – | Halo de inibição sobre leveduras, expressos em milímetros \pm desvio padrão de 8 extratos selecionados no teste de perfuração em ágar, por apresentarem halo ≥ 28 mm sobre um dos fungos avaliados. Experimento realizado em triplicata. | -111- |
| Tabela 11 – | Halo de inibição sobre fungos filamentosos, expressos em milímetros \pm desvio padrão de 8 extratos selecionados no teste de perfuração em ágar, por apresentarem halo ≥ 28 mm sobre um dos fungos avaliados. Experimento realizado em triplicata. | -112- |
| Tabela 12 – | Valores da Concentração Inibitória Mínima (CIM) sobre leveduras, em $\mu\text{g/mL}$, de 8 extratos selecionados no teste de perfuração em ágar, por apresentarem halo ≥ 28 mm sobre um dos fungos avaliados. Teste realizado em duplicata. | -115- |

Tabela 13 - Valores da Concentração Inibitória Mínima (CIM) sobre fungos -116- filamentosos, em ug/mL, de 8 extratos selecionados no teste de perfuração em ágar, por apresentarem halo ≥ 28 mm sobre um dos fungos avaliados. Teste realizado em duplicata.

Lista de Figuras

| | | |
|--------------------|---|------|
| Figura 1 – | Fungo <i>Aspergillus flavus</i> , um fungo imperfeito. | -25- |
| Figura 2 – | Zigósporo | -25- |
| Figura 3 – | Asco com oito ascósporos. | -26- |
| Figura 4 – | Estrutura de frutificação. | -27- |
| Figura 5 – | Distribuição do Cerrado no Brasil. | -38- |
| Figura 6a – | Gradiente campo aberto do Cerrado | -39- |
| Figura 6b - | Gradiente campo sujo do Cerrado | -39- |
| Figura 7 – | As 25 áreas conhecidas como <i>hotspots</i> . | -40- |
| Figura 8 – | Fotos de <i>Austroplenckia populnea</i> (Reissek) Lundell | -42- |
| Figura 9 – | Foto de <i>Terminalia fagifolia</i> Mart. & Zmuc | -55- |
| Figura 10 - | Foto de <i>Davilla elliptica</i> St. Hil. | -57- |
| Figura 11 - | Foto de <i>Diospyrus hispida</i> A. DC. | -59- |
| Figura 12 - | Fotos de <i>Croton urucurana</i> Baill. | -63- |
| Figura 13 – | Fotos de <i>Maprounea guianensis</i> Aublet | -65- |
| Figura 14 – | Foto de <i>Andira humilis</i> Mart. | -68- |
| Figura 15 - | Foto de <i>Salacia crassifolia</i> (Mart.) G. Don | -70- |
| Figura 16 – | Foto de <i>Byrsonima coccolobifolia</i> Kunth | -72- |
| Figura 17 – | Foto de <i>Zanthoxylum rhoifolium</i> Lam. | -77- |
| Figura 18 – | Foto de <i>Spiranthera odoratissima</i> St. Hil. | -80- |
| Figura 19 – | Foto de <i>Salvertia convallariaeodora</i> St. Hil. | -82- |

| | | |
|---------------------|---|-------|
| Figura 20 – | Prof. José E. de Paula, botânico responsável pela identificação e coleta das espécies vegetais. | -85- |
| Figura 21a – | Dessecação e estabilização dos diferentes órgãos vegetais. | -86- |
| Figura 21b – | Moinho de facas utilizado na pulverização dos órgãos vegetais | -86- |
| Figura 22 – | Processo de extração por maceração, (b) Filtração para a obtenção da solução da solução extrativa, (c) Concentração em rota-evaporador, (d) Dessecação em soprador térmico e (e) Armazenamento do extrato bruto a -20 °C. | -87- |
| Figura 23 – | Preparação do meio ágar batata dextrose. | -90- |
| Figura 24 – | Preparação das placas de Petri com o meio ágar batata dextrose | -91- |
| Figura 25 – | Procedimento de perfuração na placa de Petri contendo meio ágar batata dextrose solidificado | -92- |
| Figura 26 – | Produção do inóculo de leveduras. | -93- |
| Figura 27 – | Produção do inóculo de fungos filamentosos. | -94- |
| Figura 28 – | Inoculação do fungo na placa da Petri. | -95- |
| Figura 29 – | Adição das amostras e dos controles positivos e negativos nas placas de Petri contendo os diferentes fungos | -96- |
| Figura 30 – | Incubação das placas de Petri, contendo as amostras em teste. | -97- |
| Figura 31 – | Leitura dos resultados da atividade dos extratos, através da medição dos halos de inibição, com o auxílio de uma régua milimetrada | -98- |
| Figura 32 – | Filtração do meio RPMI 1640 tamponado com MOPS em um sistema à vácuo, com poro de membrana de 0,22 µm. | -100- |

- Figura 33 –** Diluição seriada com pipeta de oito canais -102-
- Figura 34 –** Incubação das placas do teste de determinação da -102-
concentração inibitória mínima (CIM)

Abreviaturas

| | |
|-------------|---|
| AIDS | <i>Acquired Immunodeficiency Syndrome</i> |
| ATCC | <i>American Type Culture Collection</i> |
| C | Caule |
| CC | Casca do caule |
| CEMM | Centro Especializado em Micologia Médica |
| CIM | Concentração Inibitória Mínima |
| CLSI | <i>Clinical and Laboratory Standard Institute</i> |
| CR | Casca da raiz |
| DMSO | Dimetilsulfóxido |
| E | Etanol |
| EUA | Estados Unidos da América |
| F | Folhas |
| H | Hexano |
| HIV | <i>Human Immunodeficiency Vírus</i> |
| MOPS | Ácido 3-[N-morfolino]-propoanossulfônico |
| MR | Madeira da raiz |
| PVC | Policloreto de vinila |
| R | Raiz |
| RPMI | <i>Roswell Park Memorial Institute Medium</i> |
| SH | Solução hidroalcoólica 90% |
| UnB | Universidade de Brasília |
| UTI | Unidade de Terapia Intensiva |
| UV | Ultra-violeta |

SUMÁRIO

| | |
|---|------|
| 1. INTRODUÇÃO ----- | -22- |
| 1.1- IMPORTÂNCIA DOS FUNGOS----- | -22- |
| 1.2- CARACTERÍSTICAS DOS FUNGOS E CLASSIFICAÇÃO ESTRUTURAL----- | -23- |
| 1.2.1- Fungos filamentosos ----- | -23- |
| 1.2.2- Leveduras ----- | -24- |
| 1.3- CLASSIFICAÇÃO DOS FUNGOS SEGUNDO O FILO----- | -24- |
| 1.3.1- Fungos imperfeitos ----- | -24- |
| 1.3.2- Zigomicota ----- | -25- |
| 1.3.3- Ascomicota ----- | -26- |
| 1.3.4- Basidiomicota ----- | -26- |
| 1.4- INFECÇÕES CAUSADAS POR FUNGOS----- | -27- |
| 1.4.1- Micoses superficiais ----- | -27- |
| 1.4.2- Micoses subcutâneas ----- | -28- |
| 1.4.3- Micoses sistêmicas ----- | -28- |
| 1.4.4- Micoses oportunisticas ----- | -29- |
| 1.4.5- Micotoxinas ----- | -30- |
| 1.5- AGENTES ANTIFÚNGICOS----- | -30- |
| 1.5.1- Fármacos de uso sistêmico ----- | -30- |
| 1.5.1.1-Anfotericina B----- | -30- |
| 1.5.1.2- Flucitosina----- | -31- |
| 1.5.1.3- Compostos azólicos----- | -32- |
| 1.5.1.4- Caspofungina----- | -34- |
| 1.5.1.5- Griseofulvina----- | -34- |
| 1.5.1.6- Terbinafina----- | -35- |
| 1.5.2- Tratamento tópico ----- | -35- |
| 1.6- PANORAMA DAS INFECÇÕES POR <i>CANDIDA</i> , <i>CRYPTOCOCCUS</i> E DERMATÓFITOS----- | -36- |
| 1.7- IMPORTÂNCIA DA PESQUISA COM PLANTAS----- | -37- |
| 1.8- CERRADO----- | -38- |
| 1.9-REVISÃO SOBRE AS FAMÍLIAS E ESPÉCIES ESTUDADAS----- | -40- |
| 1.9.1- Família Celastraceae ----- | -41- |

| | |
|--|-------------|
| 1.9.1.1- Espécies da família Celastraceae com atividade antifúngica----- | -41- |
| 1.9.1.2- Compostos isolados de espécies da família Celastreaceae com atividade antifúngica----- | -41- |
| 1.9.1.3- Espécies da família Celastraceae que é tratada nesse estudo----- | -41- |
| 1.9.2- Família Guttiferae----- | -43- |
| 1.9.2.1- Espécies da família Guttiferae e compostos isolados com atividade antifúngica----- | -44- |
| 1.9.2.2- Espécies da família Guttiferae que são tratadas nesse trabalho----- | -44- |
| 1.9.3- Família Combretaceae----- | -54- |
| 1.9.3.1- Espécies da família Combretaceae com atividade antifúngica----- | -54- |
| 1.9.3.2- Substâncias isoladas de espécies da família Combretaceae com atividade antifúngica----- | -54- |
| 1.9.3.3- Espécie da família Combretaceae que é tratada nesse trabalho----- | -55- |
| 1.9.4- Família Dilleniaceae----- | -56- |
| 1.9.4.1- Espécies da família Dilleniaceae com atividade antifúngica----- | -57- |
| 1.9.4.2- Espécie da família Dilleniaceae que é tratada nesse trabalho----- | -57- |
| 1.9.5- Família Ebenaceae----- | -58- |
| 1.9.5.1- Espécies da família Ebenaceae e substâncias isoladas com atividade antifúngica----- | -58- |
| 1.9.5.2- Espécie da família Ebenaceae que é tratada nesse trabalho----- | -59- |
| 1.9.6- Família Euphorbiaceae----- | -60- |
| 1.9.6.1- Espécies da família Euphorbiaceae com atividade antifúngica----- | -60- |
| 1.9.6.2- Substâncias isoladas da família Euphorbiaceae com atividade antifúngica----- | -62- |

| | |
|--|-------------|
| 1.9.6.3- Espécies da família Euphorbiaceae que são tratadas nesse estudo----- | -63- |
| 1.9.7- Família Fabaceae----- | -66- |
| 1.9.7.1- Espécies da família Fabaceae com atividade antifúngica----- | -67- |
| 1.9.7.2- Substâncias isoladas da família Fabaceae com atividade antifúngica----- | -67- |
| 1.9.7.3- Espécie da família Fabaceae que é tratada nesse trabalho----- | -68- |
| 1.9.8- Família Hippocrateaceae----- | -70- |
| 1.9.8.1- Espécies da família Hippocrateaceae e substâncias isoladas com atividade antifúngica----- | -70- |
| 1.9.8.2- Espécie da família Hippocrateaceae que é tratada nesse trabalho----- | -70- |
| 1.9.9- Família Malpighiaceae----- | -71- |
| 1.9.9.1- Espécies da família Malpighiaceae e substâncias isoladas com atividade antifúngica----- | -71- |
| 1.9.9.2- Espécie da família Malpighiaceae que é tratada nesse estudo----- | -71- |
| 1.9.10- Família Rutaceae----- | -76- |
| 1.9.10.1- Espécies da família com atividade antifúngica Rutaceae----- | -76- |
| 1.9.10.2- Substâncias isoladas de espécies da Família Rutaceae com atividade antifúngica----- | -76- |
| 1.9.10.3- Espécies da família Rutaceae que são tratadas nesse trabalho----- | -77- |
| 1.9.10- Família Vochysiaceae----- | -81- |
| 1.9.10.1- Espécies da família Vochysiaceae e compostos isolados com atividade antifúngica----- | -81- |
| 1.9.10.2- Espécie da família Vochysiaceae que é tratada nesse trabalho----- | -81- |
| 2 - OBJETIVOS----- | -84- |
| 2.1- GERAL----- | -84- |
| 2.2- ESPECÍFICOS----- | -84- |

| | | |
|-----------|---|--------------|
| 3- | MATERIAL E MÉTODOS | -85- |
| | 3.1- COLETA DO MATERIAL VEGETAL E PRODUÇÃO DOS EXTRATOS BRUTOS | -85- |
| | 3.2- AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA | -87- |
| | 3.2.1- Teste de perfuração em ágar | -87- |
| | 3.2.2- Fungos utilizados para realização dos testes | -88- |
| | 3.2.3- Preparação do meio de cultura do fungo | -89- |
| | 3.2.4- Preparação das placas de Petri com o meio ágar batata dextrose | -90- |
| | 3.2.5- Realização das perfurações no ágar | -91- |
| | 3.2.6- Produção do inóculo de leveduras | -92- |
| | 3.2.7- Produção do inóculo de fungos filamentosos | -93- |
| | 3.2.8- Inoculação do fungo | -94- |
| | 3.2.9- Preparo dos extratos brutos para o teste de avaliação da atividade | -95- |
| | 3.2.10- Preparação dos controles positivos e negativos | -95- |
| | 3.2.11- Adição das amostras e dos controles positivos e negativo | -96- |
| | 3.2.12- Incubação das placas de Petri contendo as amostras em teste | -97- |
| | 3.2.13- Leitura dos resultados | -97- |
| | 3.3- TESTE DE MICRODILUIÇÃO – DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM) | -98- |
| | 3.3.1- Preparação das amostras para os testes de microdiluição | -98- |
| | 3.3.2- Preparação dos controles positivos e negativo | -98- |
| | 3.3.3- Preparação do meio de cultura RPMI 1640 para o teste de microdiluição | -99- |
| | 3.3.4- Produção do inóculo de leveduras | -100- |
| | 3.3.5- Produção do inóculo de fungos filamentosos | -100- |
| | 3.3.6- Procedimento do teste de microdiluição | -101- |
| | 3.3.7- Leitura dos resultados da concentração inibitória mínima (CIM) | -103- |
| 4- | RESULTADOS E DISCUSSÃO | -104- |

| | | |
|----|-------------------|-------|
| 5- | CONCLUSÃO----- | -124- |
| 6- | PERSPECTIVAS----- | -125- |
| 7- | REFERÊNCIAS----- | -126- |

1- INTRODUÇÃO

1.1- IMPORTÂNCIA DOS FUNGOS

Os fungos desempenham papel de grande importância no equilíbrio da natureza. São importantes aliados do processo de decomposição, em especial a decomposição de vegetais (GHIZELINI *et al.*,2006). Tal atividade é exercida principalmente por suas enzimas extracelulares, como as celulases e pectinases que degradam estruturas rígidas de plantas, que não são digeridas por outros animais (STAMFORD *et al.*, 1998). Os fungos se associam a outros seres, e auxiliam o desenvolvimento de espécies. Um exemplo é as micorrizas, simbiose entre plantas e fungos, que auxilia a planta a absorver minerais e água do solo (PEREIRA *et al.*,1996).

Para o homem, os fungos também são úteis, em especial no que concerne a alimentação. Os fungos são utilizados na alimentação humana há cerca de 4000 a.C., na produção da cerveja e do pão, por meio do processo de fermentação e *in nature* como o uso de cogumelos (CARVALHO *et al.*, 2006). Outros alimentos como queijo, gorgonzola, roquefort e camembert, e o vinho também são produzidos com a utilização de fungos (SBAMPATO *et al.*, 2000).

Alguns fungos habitam o ser humano de forma pacífica, compondo a microbiota residente da epiderme e de mucosas, mas podem gerar infecções no homem (ASSIS *et al.*, 1984; ROCHA *et al.*, 1987). Ao longo dos últimos anos tem se observado um aumento no número de infecções ocasionadas por fungos. Tais infecções acometem principalmente pessoas que apresentam o seu sistema imunológico deprimido ou debilitado, em especial portadores da Síndrome da Imuno Deficiência Adquirida (SIDA), ou transplantados (VAZQUEZ, 2000; PAYA, 2000). Nestes pacientes, a infecção é categorizada oportunista, e pode levar a morbidade e mortalidade (TORTORA *et al.*, 2002). Além do aumento no número de infecções, tem-se o incremento das cepas resistentes aos recursos farmacoterapêuticos existentes no mercado, o que agrava o quadro existente (CANUTO; RODERO, 2002; MATTA *et al.*, 2007).

1.2- CARACTERÍSTICAS DOS FUNGOS E CLASSIFICAÇÃO ESTRUTURAL

Os fungos são seres eucarióticos, ou seja, o seu material genético é envolto por uma membrana, assim como as células humanas. Outra similaridade é o seu metabolismo, sendo seres, em sua maioria, quimio-heterotróficos. Apresentam parede celular rica em glicanas, mananas e quitina. Os fungos desenvolvem-se formando colônias e em termos estruturais são divididos em filamentosos e leveduras (TORTORA *et al.*, 2002).

1.2.1- Fungos filamentosos

Os fungos filamentosos são formados a partir de estruturas de frutificação que germinam dando origem a tubo germinativo que crescem, formando as hifas ou filamentos. (TORTORA *et al.*, 2002).

As hifas podem ser septadas ou não, sendo essa última denominada hifa cenocítica. O septo serve para promover a individualização das células que compõem as hifas. Desse modo no segmento intermediário de dois septos têm-se uma célula e conseqüentemente um núcleo. Apesar da presença do septo a individualização não ocorre completamente, pois os septos apresentam poros interligando o citoplasma de uma célula com outra. Em se tratando de hifas cenocíticas, essas são visualizadas como uma estrutura contínua composta de vários núcleos. O crescimento da hifa ocorre por alongamento de suas extremidades. Em condições ideais as hifas proliferam formando uma massa fibrosa denominada micélio (TORTORA *et al.*, 2002).

A organização em hifas apresenta funções importantes para o crescimento da colônia. A hifa denominada vegetativa desempenha o papel de obtenção de nutrientes, enquanto que os esporos denominados reprodutivos. O estudo dos esporos assexuais e sexuais produzidos pelos fungos filamentosos é necessário para a sua correta identificação. Devido à complexidade da organização estrutural dos fungos filamentosos eles se desenvolvem mais devagar quando comparado com as leveduras (TORTORA *et al.*, 2002).

1.2.2- Leveduras

As leveduras são seres unicelulares, esféricos ou ovais. A maioria se prolifera por divisão celular binária ou por brotamento. Devido à simples organização estrutural, a velocidade de crescimento das leveduras é maior, quando comparado com os fungos filamentosos. As leveduras também se proliferam através de esporos assexuais do tipo blastósporo. O blastósporo é um broto desenvolvido a partir de uma célula parental. Esses esporos são produzidos por espécies de *Candida* e *Cryptococcus* ssp. *C. albicans* também pode desenvolver esporos do tipo clamidósporo, que é um esporo com paredes espessas. As leveduras também desenvolvem pseudo-hifas, a partir de brotamentos em cadeia que não se desprendem da célula parental, que auxiliam na aderência às superfícies. *C. albicans* utiliza esse recurso para atingir e se fixar a tecidos abaixo da epiderme (CATE *et al.*, 2009).

As leveduras são seres capazes de ser anaeróbio facultativo. Utilizando a via anaeróbica, ocorre o processo de fermentação dos hidratos de carbono, o que resulta na formação do etanol de dióxido de carbono, utilizados na obtenção de bebidas e crescimento de pães (TORTORA *et al.*, 2002).

1.3- CLASSIFICAÇÃO DOS FUNGOS SEGUNDO O FILO

Os fungos são classificados em quatro filós: fungos imperfeitos, Zigomicota, Ascomicota e Basidiomicota. Essa classificação é dada pela presença de reprodução sexual e o tipo de estrutura que gera os esporos sexuais (TORTORA *et al.*, 2002).

1.3.1- Fungos imperfeitos

Os fungos pertencentes ao filo Deuteromicota correspondem aos fungos cuja proliferação ocorre por meio de esporos assexuais. Estes fungos, normalmente apresentam a sua hifa septada (TORTORA *et al.*, 2002).

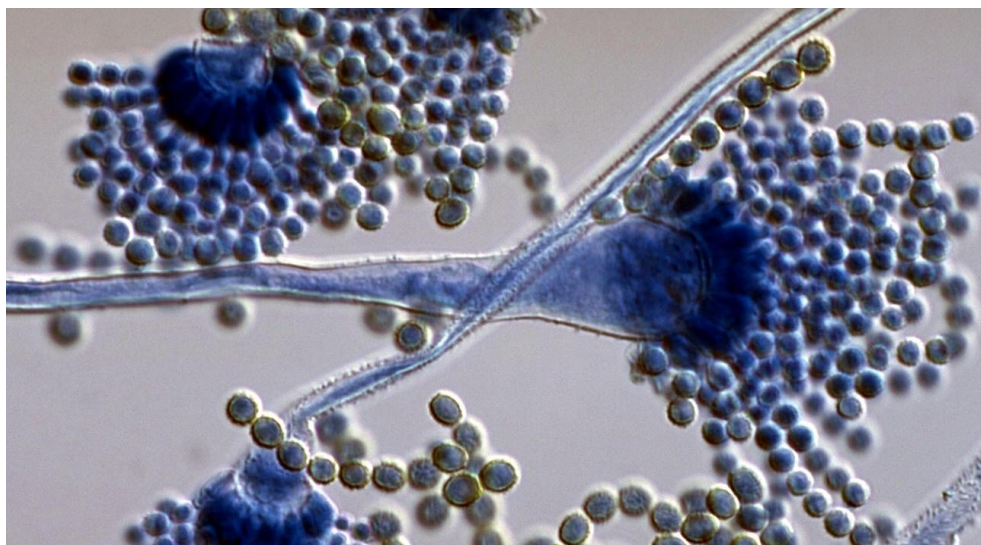


Figura 1 – *Aspergillus flavus*, fungo imperfeito.

Fonte: <http://www.clt.astate.edu/mhuss/Aspergillus%20flavus%20pict.jpg> (em: 19/05/2009)

1.3.2- Zigomicota

O filo Zigomicota abriga os fungos que se reproduzem através da fusão dos núcleos de duas células similares, originando a formação do zigósporo. Outra característica comum é a estrutura de hifas cenocíticas. Neste filo são encontrados principalmente fungos filamentosos saprofíticos (TORTORA *et al.*, 2002).

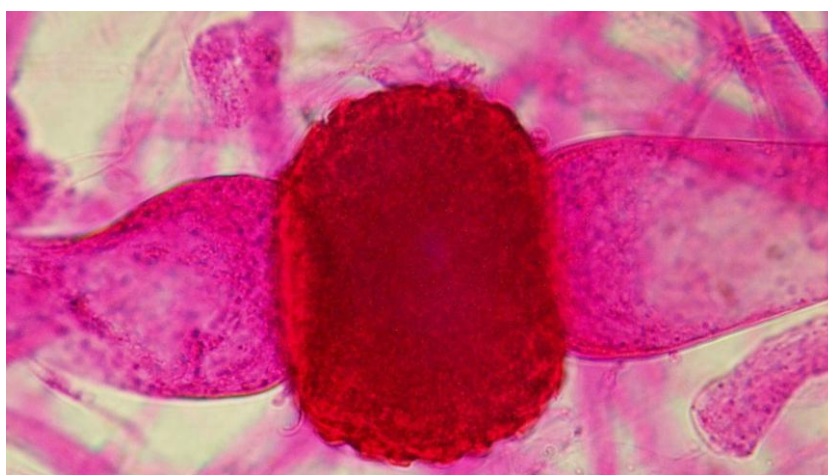


Figura 2 – Zigósporo

Fonte: http://bioimage.csusb.edu/phylum_zygomycota.htm (em: 20/05/2009).

1.3.3- Ascomicota

Os fungos pertencentes ao filo Ascomicota se reproduzem através da formação do ascósporo. O ascósporo é formado através da fusão de núcleos de células similares ou diferentes, originando a formação de um bolsão em forma de saco denominado asco, contendo em seu interior os ascósporos. No filo Ascomicota se encontram fungos filamentosos com hifa septada e algumas leveduras (TORTORA *et al.*, 2002)..



Figura 3 – Asco com oito ascósporos.

Fonte: JÚNIOR; PFENNING, 2006.

1.3.4- Basidiomicota

Os basidiósporos são os esporos sexuais que são produzidos pelos fungos incluídos no filo Basidiomicota. Os basidiósporos são produzidos na extremidade de uma estrutura denominada basídio. Os fungos do filo Basidiomicota apresentam hifas septadas assim como os do filo Ascomicota (TORTORA *et al.*, 2002).



Figura 4 – Estrutura de frutificação.

Fonte: <http://esteticadental.files.wordpress.com/2008/01/cogumelos.jpg> (em: 19/05/2009)

1.4- INFECÇÕES CAUSADAS POR FUNGOS

As infecções causadas por fungos são conhecidas genericamente como micoses. As micoses didaticamente são divididas em superficiais, subcutâneas, sistêmicas e oportunistas. (TORTORA *et al.*, 2002).

1.4.1- Micoses superficiais

As micoses cutâneas são infecções de ocorrência na epiderme, no cabelo e nas unhas. Essas micoses são popularmente conhecidas “tinhas”, que recebem denominações especiais de acordo com o local onde se localiza a lesão. *Tinha capitis* é a tinha que ocorre no couro cabeludo, adquirida através de animais domésticos ou de pessoas infectadas, e em casos mais graves pode gerar placas de alopecia no couro cabeludo. *Tinha cruris* ocorre no tecido cutâneo das regiões inguinais. *Tinha pedis* ocorre nos pés, e é conhecida popularmente como pé de atleta (PROENÇA; ASSUMPÇÃO, 1989; PEREA *et al.*, 2000; HAVLICKOVA, 2008).

Os fungos causadores dessas infecções são denominados dermatófitos. Esses fungos secretam queratinases que degradam a queratina presente na pele, unha e pêlos. Tais infecções são causadas principalmente por fungos filamentosos dos gêneros *Microsporum*, *Trichophyton* e *Epidermophyton*. (WEITZMAN; SUMMERBELL, 1995).

1.4.2- Micoses subcutâneas

As micoses subcutâneas correspondem às infecções fúngicas da camada subcutânea da pele, sendo mais graves que as cutâneas. Normalmente essas infecções são causadas por fungos saprofíticos que habitam o solo e a vegetação, que penetram no organismo animal através de microtraumatismo (ALMEIDA *et al.*, 2009).

1.4.3- Micoses sistêmicas

Quando os fungos atingem tecidos mais profundos do corpo humano são denominadas infecções sistêmicas. Os fungos normalmente habitam o solo; e os esporos penetram o corpo humano principalmente por inalação. Desse modo a micose, normalmente se inicia no pulmão e deste se espalha para outros órgãos. Estas micoses não são transmitidas de indivíduo para indivíduo (TORTORA *et al.*, 2002).

Os esporos dos fungos se disseminam principalmente através do ar, sendo assim capazes de atingir a via respiratória. O fungo dimórfico *Histoplasma capsulatum*, que se desenvolve principalmente nas fezes de aves, causa a histoplasmose (FERREIRA; BORGES, 2009; KAUFFMAN, 2009).

Outro fungo dimórfico, *Coccidioides immitis* é o agente etiológico da coccidioidomicose. Dor torácica, perda ponderal, tosse e febre são sintomas que podem ocorrer na coccidioidomicose, o que pode resultar no confundimento das doenças, como a tuberculose que apresenta sintomas semelhantes (CADENA *et al.*, 2009). O fungo é encontrado em solos secos e alcalinos na sua forma filamentosa, produzindo esporos que são carregados pelo ar e podem adentrar o corpo humano

por inalação. A doença blastomicose norte-americana é causada pelo fungo *Blastomyces dermatitidis*, que é um fungo dimórfico que atinge principalmente os pulmões. A infecção pulmonar pode se disseminar ocasionando ulcerações cutâneas, formação de abscessos e destruição tecidual (MCKINNELL; PAPAS, 2009).

1.4.4- Micoses oportunistas

As candidíases são causadas por leveduras do gênero *Candida*, que atingem principalmente as mucosas (PALACIO *et al.*, 2009). Normalmente a microbiota bacteriana presente nas mucosas é capaz de inibir o crescimento de fungos. O desenvolvimento de leveduras pode ser promovido pelo desequilíbrio dessa microbiota, causado pelo: uso de antibacterianos, alterações no pH de mucosas, distúrbios imunológicos, uso de contraceptivos orais, ou em caso de gestação, uso de quimioterápicos e diabetes descompensado (KRUTMANN, 2009).

As candidíases atingem principalmente recém-nascidos e pessoas portadores de SIDA (EQUUSA *et al.*, 2008; MARÓDI; JOHNSTON, 2007). *Candida albicans* é a principal espécie responsável pelas candidíases. A candidíase bucal, e a vulvovaginal são as infecções mais comuns (TORTORA *et al.*, 2002).

Cryptococcus neoformans var. *neoformans* e *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* são agentes etiológicos da criptococose (FERNANDES *et al.*, 2000). O fungo *C. neoformans* é uma levedura encapsulada que se divide por brotamento. A criptococose, pode causar meningite que acomete principalmente pessoas portadoras de SIDA e pessoas imunossuprimidas. Trata-se de uma infecção tipicamente urbana, onde fezes secas de pombos aspiradas pelo homem, são os grandes responsáveis pelos casos de criptococose. (TORTORA *et al.*, 2002; SLOAN *et al.*, 2008; TANEJA *et al.*, 2008). A incidência de criptococose em pacientes HIV positivos é de 6 a 13% (AZULAY *et al.*, 1989).

O fungo *Pneumocystis carinii*, um dos agentes causadores da pneumonia é encontrado em todos os continentes e se concentra principalmente em ambientes hospitalares. Em pacientes com sistema imunológico deprimido, como pessoas com SIDA, transplantados ou em tratamento de câncer, os cistos normalmente presentes

em pessoas saudáveis podem se reativar gerando pneumonias (COLE *et al.*, 2006; SCHMOLDT *et al.*, 2008). Os fungos filamentos do gênero *Aspergillus* também são causadores de doenças respiratórias conhecidas como aspergiloses, em especial *Aspergillus fumigatus* (SEGAL, 2009). Os gêneros *Rhizopus* e *Mucor* também podem infectar o sistema respiratório. Esses fungos desenvolvem-se principalmente na decomposição de vegetais (TORTORA *et al.*, 2002).

1.4.5- Micotoxinas

Alguns fungos produzem toxinas denominadas micotoxinas, que podem gerar malefícios à saúde humana e levar a óbito (TANIWAKI *et al.*, 2009). A principal fonte de exposição é a sua ingestão. Um exemplo é a ingestão de cereias contaminados por micotoxinas produzidas pelo fungo *Claviceps purpurea* (SCHARDL *et al.*, 2006); ou de amendoim contaminados com aflatoxina produzida pelo fungo *Aspergillus flavus*, que pode promover cirrose hepática e predispor a câncer de fígado (OLIVEIRA; GERMANO, 1997).

1.5- AGENTES ANTIFÚNGICOS

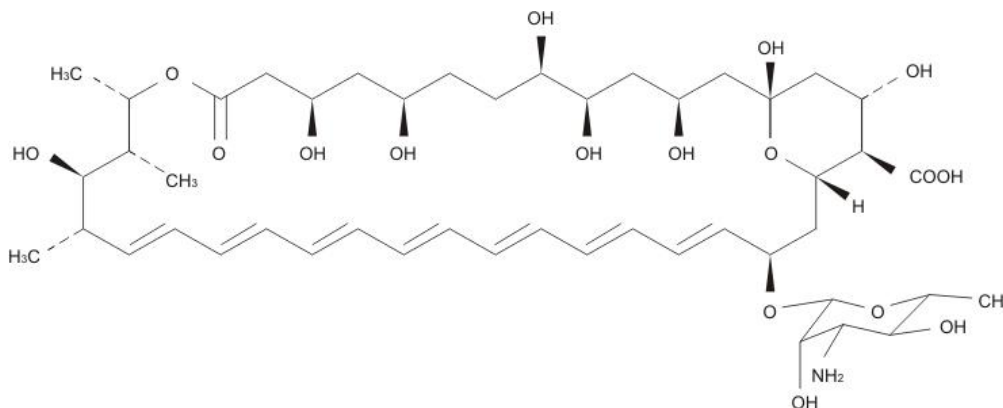
Para o tratamento das diversas infecções fúngicas são utilizados os compostos azólicos, como os derivados imidazólicos e triazólicos. Além dos fármacos como anfotericina B, flucitosina, caspofungina, dentre outros (GILMAN, 2003; ODDS *et al.*, 2003). Alguns fármacos podem ser de uso sistêmico enquanto outros são usados por via tópica.

1.5.1- Fármacos de uso sistêmico

1.5.1.1- Anfotericina B

A anfotericina B é um antifúngico macrolídico poliênico, derivado do ascomiceto *Streptomyces nodosus* (DISMUKES, 2006). O medicamento age se ligando ao ergosterol presente na membrana dos fungos, danificando a integridade da membrana e promovendo o extravasamento de íons, ocorrendo morte celular. A

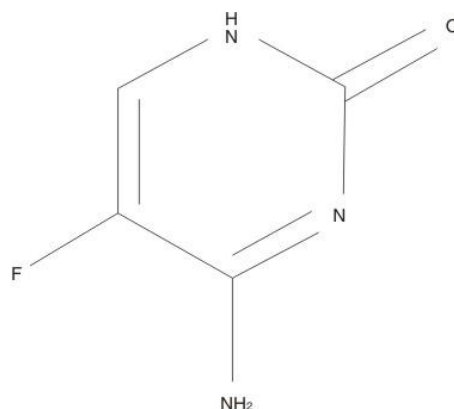
anfotericina B é utilizada por infusões intravenosas. Este fármaco pode causar efeitos colaterais como: febre, calafrios, hiperpnéia, hipotensão e broncoespasmo (HANG *et al.*, 2001; GILMAN, 2003; FILIPPIN; SOUZA, 2006).



Anfotericina B

1.5.1.2- Flucitosina

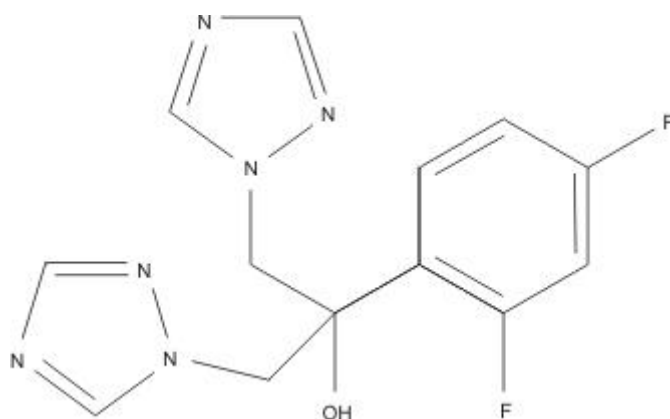
A flucitosina é uma pirimidina fluorada utilizada principalmente para o tratamento de infecções por *Candida spp.* e *Cryptococcus neoformans*. Para agir a flucitosina necessita de enzimas dos fungos. Primeiramente o composto é desaminado formando o composto 5-fluorouracil, a qual é convertido em ácido 5-fluorouridílico, que pode ser incorporado no RNA prejudicando a síntese de proteínas ou pode ser metabolizado a ácido 5-fluorodesoxiuridílico, que inibe a enzima timidilato sintetase prejudicando a síntese de DNA do fungo (HANG *et al.*, 2001). Os seres humanos não são capazes de metabolizar flucitosina em 5-fluorouracil. A flucitosina é bem absorvida por via oral e se distribui por vários tecidos, podendo ocorrer efeitos adversos como leucopenia, trombocitopenia, exantema, náuseas, hepatotoxicidade, vômitos e diarreia (GILMAN, 2003; SONG; DERESINSKI, 2005).



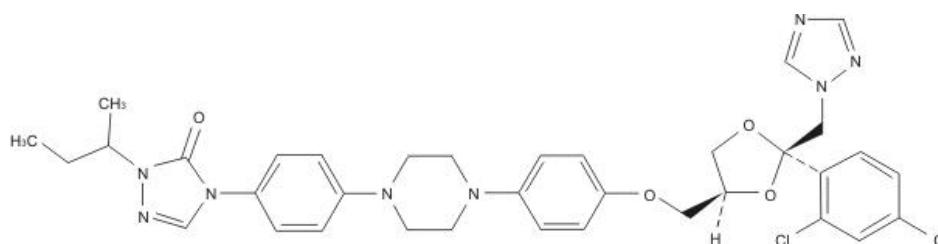
Flucitosina

1.5.1.3- Compostos azólicos

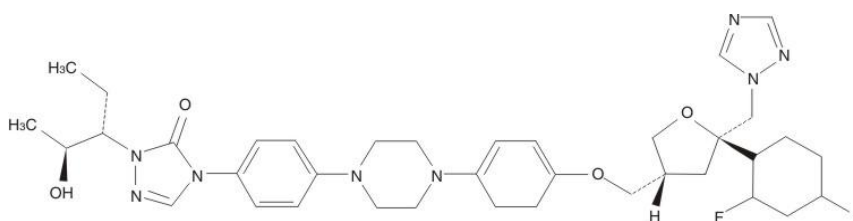
Os compostos azólicos são divididos em duas classes que possuem o mesmo espectro de ação: imidazólicos e triazólicos. Porém os compostos triazólicos são metabolizados mais lentamente e causam menos efeitos na síntese de esteróis humanos do que os imidazólicos. O mecanismo de ação desses compostos é através da inibição da enzima estero 14- α -desmetilase, enzima que age sobre o lanosterol que é precursor do ergosterol, principal constituinte da membrana celular do fungo (ZONIOS; BENNETT, 2008). Por conseguinte desestabiliza a produção do ergosterol da membrana citoplasmática do fungo, e promove o acúmulo de 14- α -metilesteróis que compromete enzimas do sistema de transporte de elétrons, inibindo assim o crescimento de fungos. Os compostos imidazólicos comercializados são: clotrimazol, miconazol, cetoconazol, econazol, butoconazol, oxiconazol e sulconazol, e os triazólicos são: terconazol, itraconazol, voriconazol, posaconazol e fluconazol (GILMAN, 2003; GALLAGHER, 2003; HAMDAN; HAHN, 2006)



Fluconazol



Cetoconazol

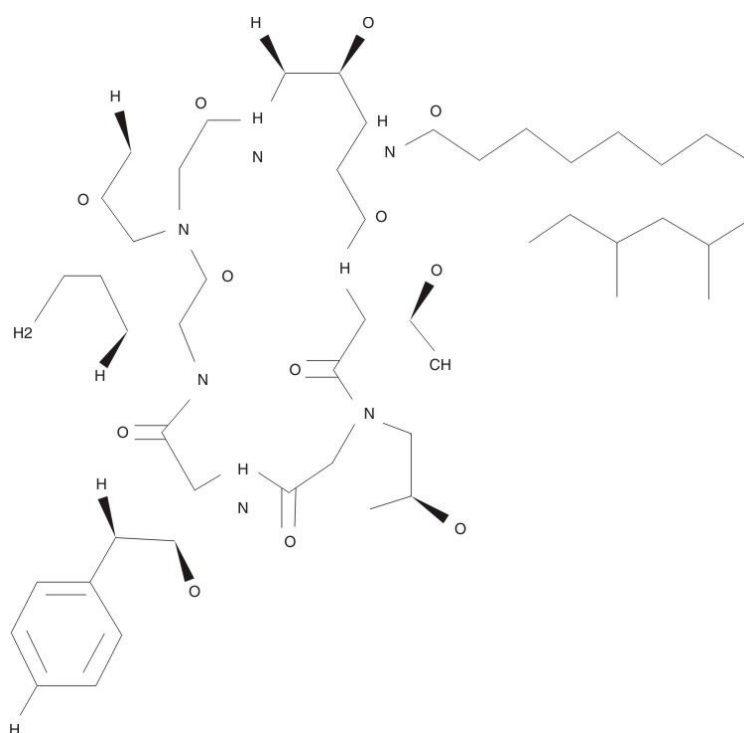


Itraconazol

Devido à similaridade da via de biossíntese de esteróides humanos com a de fungos, o uso de compostos azólicos comprometem a produção de esteróides humano. Desse modo são observadas anormalidades endócrinas, dentre elas irregularidades menstruais, ginecomastia, diminuição da libido e azoospermia transitória. Outros efeitos adversos como hepatotoxicidade, náusea, êmese, hipertrigliceridemia e hipopotassemia também são encontrados. Outro fator que deve ser levado em consideração na administração de compostos azólicos é que alguns, em especial o itraconazol, interagem com vários fármacos das mais diversas classes farmacológicas (GILMAN, 2003; HANG *et al.*, 2001; KOKIL; BHATIA , 2009).

1.5.1.4- Caspofungina

A caspofungina é um lipopeptídeo semi-sintético hidrossolúvel, derivado da pneumocandina B₀. Os fármacos dessa classe são conhecidos como pneumocandinas e equinocandinas. Agem inibindo a formação da parede celular dos fungos, através da inibição da enzima (1,3) β -glucano sintetase, resultando na diminuição da produção dos β (1,3)-glucanos, que são componentes fundamentais da parede celular de fungos (GILMAN, 2003; HANG *et al.*, 2001; LAMARIS *et al.*, 2008).

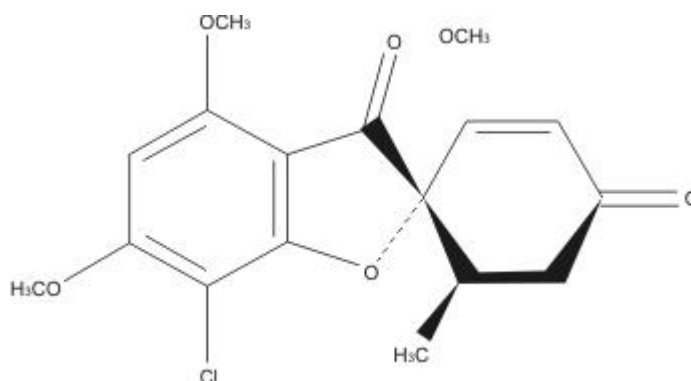


Caspofungina

1.5.1.5- Griseofulvina

A griseofulvina é um fármaco que possui atividade contra os dermatófitos. A griseofulvina age se ligando a proteínas dos microtúbulos do fuso mitótico, desestabilizando-as e promovendo a inibição da mitose do fungo (PANDA *et al.*, 2005). Desse modo tal fármaco é fungistático, pois não gera a morte direta do fungo, apenas o impede de proliferar. Dentre os efeitos colaterais da griseofulvina estão

hepatotoxicidade, cefaléia, vertigem, náuseas, vômitos, confusão mental, leucopenia e albuminúria (GILMAN, 2003; HANG *et al.*, 2001).



Griseofulvina

1.5.1.6- Terbinafina

O fármaco terbinafina é uma alilamina sintética com ação principalmente sobre micoses de unhas causadas por dermatófitos. O mecanismo de ação provável é a inibição da esqualeno epoxidase fúngica, o que acarreta o bloqueio da síntese de ergosterol. O uso de terbinafina pode levar a hepatotoxicidade e neutropenia grave (HANG *et al.*, 2001; GILMAN, 2003; NEWLAND; ABDEL-RAHMAN, 2009).

1.5.2- Tratamento tópico

Para o tratamento tópico, das infecções superficiais ha um grande número de compostos. Dentre esses, os derivados azólicos: clotrimazol, econazol, miconazol, terconazol, butoconazol, tioconazol, oxiconazol e sulconazol e outros compostos como: ciclopirox olamina, haloprogina, tolnaftato, naftifina, terbinafina, butenafina, nistatina, ácido undecilênico, ácido benzóico, ácido salicílico, ácido propiônico, ácido caprílico e iodeto de potássio (GILMAN, 2003; CHEN, SORRELL, 2007).

1.6- PANORAMA DAS INFECÇÕES POR *CANDIDA*, *CRYPTOCOCCUS* E DERMATÓFITOS

As dermatofitoses apresentam uma prevalência conforme a idade e o sexo. Um estudo envolvendo 6068 pessoas suspeitas de infecção fúngica revelou que 1345 apresentavam dermatofitoses. Houve uma preponderância de casos de tinea dos pés (30%). A tinea de couro cabelo teve ocorrência maior em crianças, enquanto as da unhas da mão em adultos (COSTA *et al.*, 1999).

Outro estudo revelou que as onicomicoses são mais freqüentes nas unhas da mão de mulheres, sendo que em cerca de 90% dos casos, o agente etiológico são espécies do gênero *Candida*. O mesmo estudo também revelou que nos homens as onicomicoses ocorrem em maior número nos pés e por dermatófitos (ARAÚJO *et al.*, 2004).

A sepse é a principal causa de morte em unidade de terapia intensiva (UTI) em todo o mundo, caracterizada por manifestações clínicas decorrente da invasão de organismos patogênicos ao homem, disseminado para a corrente sanguínea a partir de um sítio infeccioso. Em um estudo realizado em UTI de 75 hospitais de todas as regiões do Brasil, observou-se que 5,2% das sepse foram fúngica (JUNIOR *et al.*, 2006). No ambiente hospitalar as lesões causadas por *Candida* correspondem a 80% dos casos de infecção por fungo. Na corrente sanguínea essas infecções são denominadas candidemias, alcançando uma taxa de mortalidade de 40 a 60% dos casos o que representa elevada importância clínica (COLOMBO; GUIMARÃES, 2003).

A candidíase oral promovida por espécies de *Candida* está presente em cerca de 90% da população HIV positivo. A candidíase esofágica é diagnóstico de AIDS em pacientes HIV positivos (PORRO; YOSHIOKA, 2000; SOUZA *et al.*, 2000). As infecções por dermatófitos também são freqüentemente encontradas em pessoas HIV positivo. Um estudo com 108 pessoas HIV positivo, revelou que 22% apresentavam micoses, sendo 33% localizadas nas unhas dos pés. Um total de 35,5% correspondia à *Trichophyton mentagrophytes*, seguido de 32,2% *Candida* sp. (não *albicans*) (YAMADA *et al.*, 2000).

Grande parte dos agentes antifúngicos interagem com os antiretrovirais, necessitando um controle mais profundo da farmacoterapia (PORRO; YOSHIOKA, 2000). Dentre as manifestações cutâneas em transplantados renais as infecções fúngicas correspondem a 40 até 85% das manifestações (VETTORATO *et al.*, 2003; MAMERI *et al.*, 1989). Nos transplantados cardíacos a infecção fúngica é a terceira maior causa de morte (COUTO *et al.*, 2001). Os antineoplásicos favorecem o surgimento de infecções principalmente em mucosas, em especial as da boca (MARTINS *et al.*, 2002).

Associada à potencialidade de fungos gerarem danos ao homem, temos o fenômeno de resistência fúngica aos agentes terapêuticos. Desse modo ocorre o comprometimento do tratamento associado à elevação da mortalidade. Tal fenômeno é de ocorrência mundial (CANUTO; RODERO, 2002; MATTA *et al.*, 2007). No gênero *Candida* tem se encontrado espécies resistentes ao fluconazol e ao miconazol, em especial a espécie *Candida krusei* (ZARDO; MEZZARI, 2004; NOGUEIRA *et al.*, 2008). Também existem relatos de resistência de isolados da levedura *Cryptococcus neoformans* sobre os agentes antifúngicos itraconazol e anfotericina B (SILVA *et al.*, 2008). A resistência também ocorre em fungos filamentosos como espécies do gênero *Aspergillus* (CHAMILOS; KONTOYIANNIS, 2005; HOWARD *et al.*, 2006) e outros gêneros como *Pseudallescheria*, *Scopulariopsis* e *Fusarium* (WHITE *et al.*, 1998; CANUTO; RODERO, 2002).

1.7- IMPORTÂNCIA DA PESQUISA COM PLANTAS

Cerca de 50% das entidades químicas utilizadas na terapêutica são compostos naturais, semi-sintetizados ou sintetizados a partir de grupos farmacofóricos naturais (NEWMAN *et al.*, 2003). A literatura relata inúmeros trabalhos que descobriram ou confirmaram propriedades farmacológicas de extratos e compostos de plantas, entre elas a atividade antifúngica. Diante do exposto o estudo de plantas do Cerrado apresenta potencialidade na busca de novos agentes terapêuticos.

1.8- CERRADO

Dentre os cinco biomas ocorrentes no Brasil, o Bioma Cerrado constitui o segundo maior bioma brasileiro ocupando uma área de aproximadamente 2 milhões de km², o que corresponde a cerca de 24% do território nacional (Figura 5) (KLINK; MACHADO, 2005). Sua distribuição ocorre em várias regiões do Brasil, com preponderância de ocupação na região central (BRASIL, 1999; OLIVEIRA; MARQUIS, 2002).

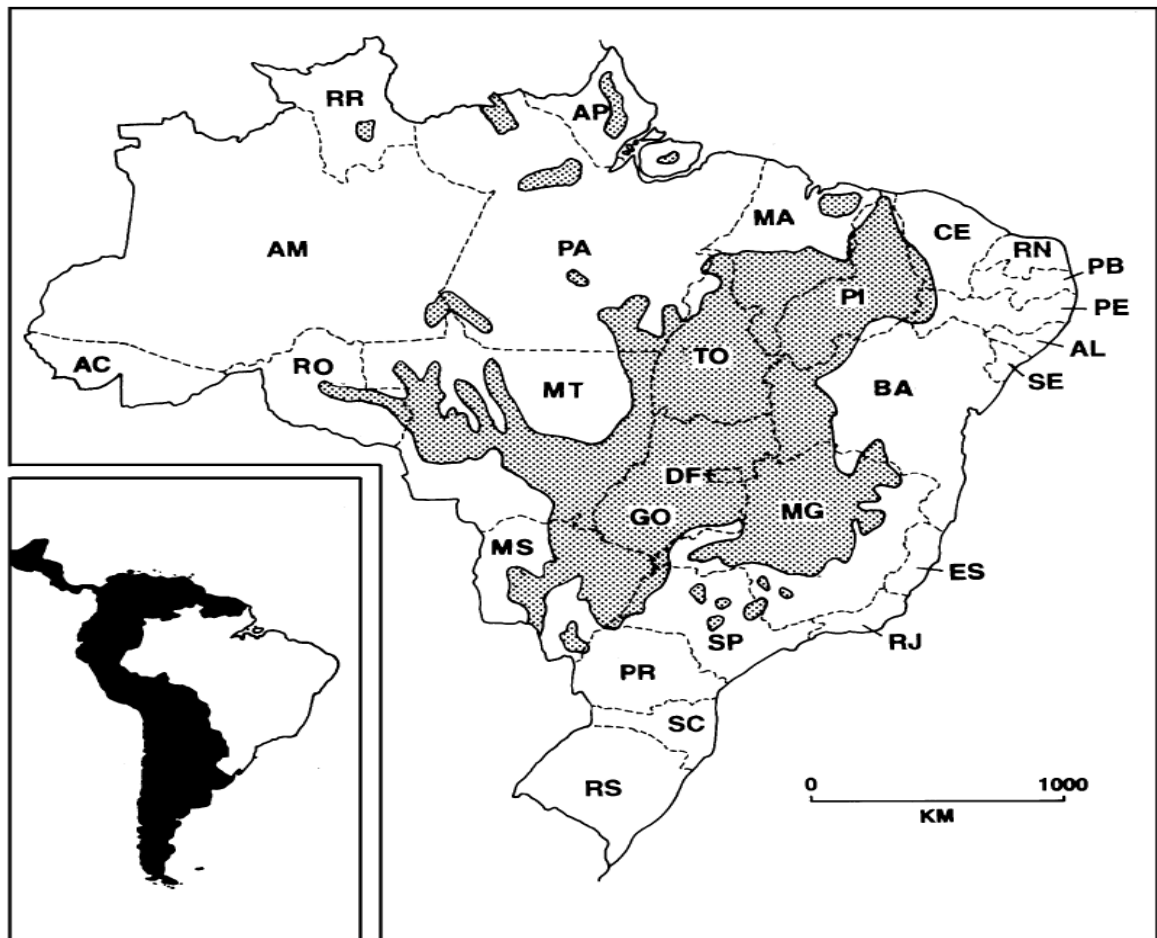


Figura 5 – Distribuição do Cerrado no Brasil.

Fonte: RATTER *et al.*, 1997.

Em sua composição existem cerca de 10.000 espécies de plantas lenhosas, 837 espécies de aves, 161 de mamíferos, 120 de répteis e 150 de anfíbios, sendo algumas das espécies endêmicas. Em termos comparativos com Amazônia e Mata Atlântica, a diversidade biológica do Cerrado é pouco conhecida (BRASIL, 1999; MAURY, 2002).

O Bioma Cerrado é composto por vários ecossistemas (Figura 6), como Mata Ciliar, Cerradão, Cerrado *sensu stricto*, Vereda e Campo Rupestre (RIBEIRO; WALTER, 1998). Os gradientes do ecossistema Cerrado *sensu stricto* são: campo fechado de Cerrado, campo aberto de Cerrado, campo sujo de Cerrado e campo limpo de Cerrado. Os solos são geralmente profundos, bem drenados e com baixa disponibilidade de nutrientes e ricos em minerais como alumínio. O clima é sazonal com dois períodos bem definidos, os invernos secos e verões chuvosos (OLIVEIRA; MARQUIS, 2002).



Figura 6a – Gradiente campo aberto do Cerrado.

6b- Gradiente campo sujo do Cerrado.

O Cerrado é considerado atualmente um dos biomas mais ameaçados de extinção no mundo, devido o crescente avanço do seguimento agropecuário

(EMBRAPA CERRADOS, 1999). Além da rica diversidade biológica, o Cerrado abriga as nascentes de importantes rios de bacias hidrográficas da América do Sul (BRASIL, 1999).

A excepcional concentração de espécies endêmicas está vivenciando grande perda de *habitat*, situação conhecida como *hotspots*, áreas de grande importância para a biodiversidade no mundo (Figura 7) (RATTER *et al.*, 1997; MYERS *et al.*, 2000).

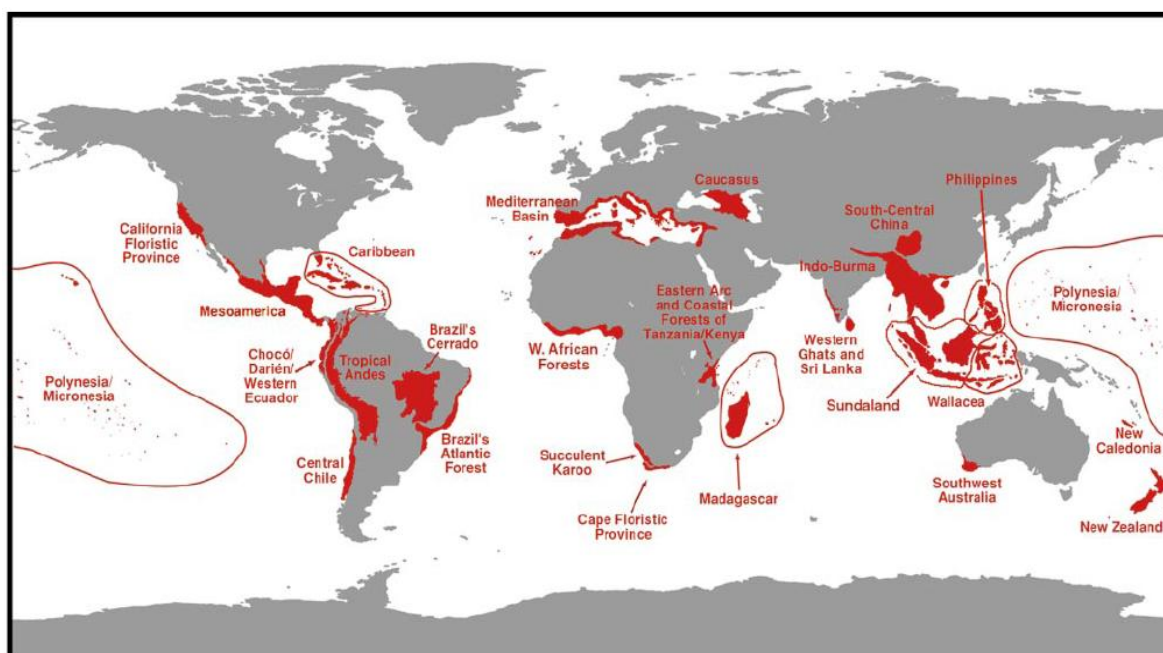


Figura 7 – As 25 áreas conhecidas como *hotspots*.

Fonte: MYERS *et al.*, 2000.

1.9- REVISÃO SOBRE AS FAMÍLIAS E ESPÉCIES ESTUDADAS

Foi conduzida uma revisão sobre as atividades antifúngicas das famílias de plantas que serão abordadas, assim como estudos conduzidos com as próprias plantas avaliadas.

1.9.1- Família Celastraceae

A família Celastraceae apresenta cerca de 1260 espécies principalmente de regiões tropicais, sendo agrupadas em 98 gêneros distintos (SIMMONS *et al.*, 2008).

1.9.1.1- Espécies da família Celastraceae com atividade antifúngica

Inúmeras espécies do gênero *Maytenus* foram investigadas quanto a atividade antifúngica. O extrato etanólico da folha de *Maytenus heterophylla* demonstrou atividade sobre *Candida albicans* e *Cryptococcus neoformans* (ORABI *et al.*, 2001). O extrato hexânico da raiz de *Maytenus blepharodes* apresentou atividade sobre *Candida albicans* (DE LEÓN; MOUJIR, 2007), enquanto o extrato hexânico da casca da raiz não foi ativo (RODRÍGUEZ *et al.*, 2005; GONZÁLEZ *et al.*, 2001). O extrato da casca do caule de *Gyptopetalum sclerocarpum* apresentou ação antifúngica (SOTANAPHUM *et al.*, 1999).

1.9.1.2- Compostos isolados de espécies da família Celastraceae com atividade antifúngica

Do extrato etanólico da folha de *M. heterophylla* foi isolado o ácido *3a-hydroxy-2-oxofriedelane-20a-carboxylic* e ácido *maytenfolic* ativos sobre *Candida albicans* e *Cryptococcus neoformans* (ORABI *et al.*, 2001). Do extrato hexânico da raiz de *M. blepharodes* foi isolado o terpeno *zeylasterone* ativo sobre *Candida albicans* (DE LEÓN; MOUJIR, 2007). Da casca do caule de *Gyptopetalum sclerocarpum* foi isolado o sesquiterpeno ácido *sclerocarpic*, que apresentou ação antifúngica (SOTANAPHUM *et al.*, 1999).

1.9.1.3- Espécie da família Celastraceae que é tratada nesse estudo

- *Austroplenckia populnea* (Reissek) Lundell



Figura 8 – Fotos de *Austroplenckia populnea* (Reissek) Lundell

Nome popular de *Austroplenckia populnea* (Reissek) Lundell

A espécie *Austroplenckia populnea* é conhecida popularmente como marmelinho do campo, mangabeira brava, marmelo do campo ou mangabarana.

Usos na medicina tradicional

Na medicina tradicional a planta é utilizada como antitumoral, antidisentérica, antireumática, antiulcerogênica, analgésica e antiinflamatória (CORRÊA, 1984).

Descrição morfológica de *Austroplenckia populnea*

A planta *A. populnea* caracteriza-se por ser árvore de até 10 m de altura com folhas alternas, serreadas, oblongas, longo-pecioladas. Suas flores são esverdeadas ou amarelas, dispostas em cimeiras axilares ou subterminais e seu fruto é sâmara grande pendente (CORRÊA, 1984).

Estudos biológicos com *Austroplenckia populnea*

Foram conduzidos estudos com ratos machos utilizando extratos de *A. populnea* revelando que os extratos hidrometanólico (MAZARO *et al.*, 2002) e hexânico das folhas (MAZARO *et al.*, 2000) promovem a redução na quantidade de espermatozóides no epidídimo. Outro estudo foi realizado com com o extrato

hidroalcóolico da casca do caule de *A. populnea*, que demonstrou atividade antiinflamatória, com redução de formação de edema (ANDRADE *et al.*, 2007).

O extrato hidroalcóolico da madeira do caule de *A. populnea* foi investigado quanto à atividade antifúngica, antibacteriana, antimalárica e antileishmania. Foi encontrada ação sobre *Candida glabrata* e *Candida albicans* (ANDRADE *et al.*, 2008). Extratos metanólicos e hexânicos das folhas de *A. populnea* foram investigados quanto à presença de atividade antiulcerogênica e analgésica em camundongos. Ambos os extratos tiveram a capacidade de reduzir a lesão existente, porém foram incapazes de evitar a formação de úlceras induzidas pela administração de álcool e de promover analgesia (SEITO *et al.*, 2002).

Compostos isolados de *Austroplenckia populnea*

Foi isolado do cerne de *A. populnea* o triterpeno lactônico *3 α -hidroxiolean-12-en-29,22 α -olídeo* (SILVA *et al.*, 1998). Do extrato clorofórmico da madeira da raiz de *A. populnea* variedade *ovata* foi isolado *lapachol* e *dehydro- β -lapachone*. E do extrato metanólico os compostos *euonine*, *wilfordine*, *2-O-deacetyluonine*, *7-O-deacetyluonine* e *austronine* (SOUSA *et al.*, 2006). Do extrato hidroalcóolico da madeira do caule de *A. populnea* foram isolados três compostos: *methyl populnoate*, ácido *populnoic* e *stigmast-5-en-3-O-beta-(D-glucoopyranoside)* (ANDRADE *et al.*, 2008) e do extrato hexânico da folha foi isolado o composto *3 beta-(stearyloxy)olean-12-ene* (VIEIRA *et al.*, 2003).

1.9.2- Família Guttiferae

A família Guttiferae presente, sobretudo em regiões tropicais, possui cerca de 40 gêneros abrigando mais de 1200 espécies, principalmente de porte arbóreo. A característica comum de muitas espécies é a produção de exsudato em vários tipos de tecidos (OLIVEIRA *et al.*, 1996).

1.9.2.1- Espécies da família Guttiferae e compostos isolados com atividade antifúngica

Do extrato diclorometânico das folhas de *Calophyllum caledonicum* foram isoladas caledonixantonas E e F ativas sobre *Aspergillus fumigatus* e *Candida albicans* (NOLDIN *et al.*, 2006), e as xantonas caledol e dicaledol ativas sobre *A. fumigatus* (OGER *et al.*, 2003). A espécie *Garcinia mangostana* é utilizada como suplemento alimentar nos Estados Unidos, sendo rica em xantonas que apresentam atividades antifúngica, antioxidante, antiinflamatória, antibacteriana, citotóxica e antiplasmodial (CHIN; KINGHORN, 2008)

O extrato metanólico das folhas de *Psorospermum androsaemifolium* foi relatado pela atividade sobre *Candida albicans*, porém os compostos isolados, *vismiaquinone*, α e β -*amyrine* apresentaram fraca atividade sobre *Candida albicans* (POUMALE *et al.*, 2008).

O presente trabalho estudou uma espécie pertencente ao gênero *Clusia*. *Clusia minor* e/ou *Clusia rosea* são relatadas como possíveis responsáveis pela atividade antifúngica existente na própolis cubano, por serem as espécies predominantes no país. Do extrato etanólico da própolis isolou-se o composto *propolone A*, ativo sobre *Candida albicans*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis* (RUBIO *et al.*, 1999).

1.9.2.2- Espécies da família Guttiferae que são tratadas nesse trabalho

- *Clusia pernambucensis* G. Mariz
- *Vismia decipiens* Cham. & Schlydl.

Nome popular de *Clusia pernambucensis* G. Mariz

A espécie *Clusia pernambucensis* é conhecida popularmente como cebolinha da mata.

Descrição morfológica de *Clusia pernambucensis* G. Mariz

Trata-se de um arbusto de 4 m de altura, com látex amarelo, folha simples obovada, glabra, 10 a 15 cm de comprimento, 6 a 8 cm de largura, alterna, rígida cartilaginosa; flor branca, aromática; fruto pequeno, globoso. Ocorre em vereda e início de mata ciliar com suprimento d'água.

Estudos biológicos e compostos isolados de *Clusia pernambucensis*

O gênero *Clusia* abriga cerca de 250 espécies oferecendo principalmente resinas que são utilizadas por abelhas na construção das estruturas da colméia (OLIVEIRA *et al.*, 1996). O estudo do látex fresco do caule de *Clusia pernambucensis* demonstrou que o mesmo é rico em lanosterol e em polissacarídeos (OLIVEIRA *et al.*, 1996). Da resina floral de *C. pernambucensis* foram isolados compostos *polyisoprenylated benzophenones* como: *dimethyl weddellianone A e B*, *dimethyl lanceolatone*, *dimethyl lanceolatone*, *methyl spiritone* e *methyl clusianone* (PORTO *et al.*, 2000). Nenhum estudo biológico é relatado para a espécie *C. pernambucensis*.

Descrição morfológica de *Vismia decipiens* Cham. & Schlydl.

Árvore de 4 m de altura, 15 cm de diâmetro com látex amarelo; folha simples, glabra, acuminada, 4 a 14 cm de comprimento, 3 a 6 cm de largura, face abaxial ferrugínea; flor pequena, de cor bege; fruto pequeno globoso com látex amarelado.

Estudos biológicos e compostos isolados de *Vismia decipiens*

A literatura descreve os derivados *prenylated benzophenones*, *vismiaphenone A e B*, *iso-vismiaphenone B* e *physcion* isolados de *V. decipiens* (MONACHE *et al.*, 1980). A literatura não revelou a presença de estudos biológicos conduzidos com *V. decipiens*.

Tabela 1 - Espécies da família Combretaceae com atividade antifúngica

| Espécies | Órgão | Solvente do Extrato | Fungos | Referência |
|--|---------------------------------------|--|--|--|
| <i>Anogeissus latifolia</i> | Casca do caule | Etanol | <i>Candida albicans</i> , <i>Cryptococcus albidus</i> , <i>Aspergillus flavus</i> e <i>Trichophyton rubrum</i> | GOVINDARAJAN <i>et al.</i> , 2006 |
| <i>Anogeissus leiocarpus</i> | Folha, casca da raiz e casca do caule | Água e etanol (50%) | <i>Candida krusei</i> , <i>Candida parapsilosis</i> , <i>Candida tropicalis</i> , <i>Candida zeylanoides</i> , <i>Geotrichum candidum</i> , <i>Rhodotorula rubra</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Candida glabrata</i> , <i>Candida albicans</i> , <i>Candida guilliermondii</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Trichophyton mentagrophytes</i> , <i>Botrytis cinerea</i> , <i>Trichoderma viride</i> , <i>Microsporum gypseum</i> , <i>Trichophyton rubrum</i> , <i>Microsporum nanum</i> , <i>Scopulariopsis brevicaulis</i> , <i>Alternaria alternata</i> e <i>Cladosporium cladosporioides</i> | BATAWILA <i>et al.</i> , 2005 |
| <i>Combretum acutifolium</i> | Folha | Hexano, acetona, diclorometano e metanol | <i>Candida albicans</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Sporothrix schenckii</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> e <i>Microsporum canis</i> | MASOKO <i>et al.</i> , 2007; MASOKO; ELOFF, 2006 |
| <i>Combretum adenogonium</i> | Casca do caule | Hexano, metanol (80%) e água | <i>Candida albicans</i> | MAREGESI <i>et al.</i> , 2008 |
| <i>Combretum albopunctatum</i> | | | | |
| <i>Combretum apiculatum</i> var. <i>apiculatum</i> | Folha | Hexano, acetona, diclorometano e metanol | <i>Candida albicans</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Sporothrix schenckii</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> e <i>Microsporum canis</i> | MASOKO <i>et al.</i> , 2007; MASOKO; ELOFF, 2006 |
| <i>Combretum bracteosum</i> | | | | |
| <i>Combretum cafferum</i> | | | | |

Tabela 1 – Espécies da família Combretaceae com atividade antifúngica (Continuação)

| Espécies | Órgão | Solvente do Extrato | Fungos | Referência |
|---|-------|--|--|--|
| <i>Combretum celastroide</i> var. <i>celastroides</i> | | | | |
| <i>Combretum celastroide</i> var. <i>orientale</i> | | | | |
| <i>Combretum collinum</i> var. <i>suluense</i> | Folha | Hexano, acetona, diclorometano e metanol | <i>Candida albicans</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Sporothrix schenckii</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> e <i>Microsporum canis</i> | MASOKO <i>et al.</i> , 2007; MASOKO; ELOFF, 2006 |
| <i>Combretum collinum</i> var. <i>taborense</i> | | | | |
| <i>Combretum edwardsii</i> | | | | |
| <i>Combretum elaeagnoides</i> | Caule | Metanol e acetato de etila | <i>Candida albicans</i> , <i>Candida krusei</i> e <i>Candida parapsilosis</i> | LIU <i>et al.</i> , 2007 |
| <i>Combretum erythrophyllum</i> | Folha | Hexano, acetona, diclorometano e metanol | <i>Candida albicans</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Sporothrix schenckii</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> e <i>Microsporum canis</i> | MASOKO <i>et al.</i> , 2007; MASOKO; ELOFF, 2006 |
| | | | <i>Candida krusei</i> , <i>Candida parapsilosis</i> , <i>Candida tropicalis</i> , <i>Candida zeylanoides</i> , <i>Geotrichum candidum</i> , <i>Rhodotorula rubra</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Candida glabrata</i> , <i>Candida albicans</i> , <i>Candida guilliermondii</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Trichophyton mentagrophytes</i> , <i>Botrytis cinerea</i> , <i>Trichoderma viride</i> , <i>Microsporum gypseum</i> , <i>Trichophyton rubrum</i> , <i>Microsporum nanum</i> , <i>Scopulariopsis brevicaulis</i> , <i>Alternaria alternata</i> e <i>Cladosporium cladosporioides</i> | |
| <i>Combretum fragrans</i> | Folha | Água e etanol (50%) | | BATAWILA <i>et al.</i> , 2005 |

Tabela 1 – Espécies da família Combretaceae com atividade antifúngica (Continuação)

| Espécies | Órgão | Solvente do Extrato | Fungos | Referência |
|-----------------------------|------------------|--|---|--|
| <i>Combretum fragrans</i> | Madeira do caule | Metanol e acetato de etila | <i>Candida albicans</i> , <i>Candida krusei</i> e <i>Candida parapsilosis</i> | LIU <i>et al.</i> , 2007 |
| <i>Combretum glutinosum</i> | Folha | Etanol (50%) | <i>Candida albicans</i> , <i>Epidermophyton floccosum</i> , <i>Microsporium gypseum</i> , <i>Trichophyton mentagrophytes</i> e <i>Trichophyton rubrum</i> | BABA-MOUSSA <i>et al.</i> , 1999 |
| <i>Combretum hereoense</i> | Folha | Hexano, acetona, diclorometano e metanol | <i>Candida albicans</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Sporothrix schenckii</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> e <i>Microsporium canis</i> | MASOKO <i>et al.</i> , 2007; MASOKO; ELOFF, 2006 |
| <i>Combretum hispidum</i> | Folha | Etanol (50%) | <i>Candida albicans</i> , <i>Epidermophyton floccosum</i> , <i>Microsporium gypseum</i> , <i>Trichophyton mentagrophytes</i> e <i>Trichophyton rubrum</i> | BABA-MOUSSA <i>et al.</i> , 1999 |
| <i>Combretum imberbe</i> | Folha | Hexano, acetona, diclorometano e metanol | <i>Candida albicans</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Sporothrix schenckii</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> e <i>Microsporium canis</i> | MASOKO <i>et al.</i> , 2007; MASOKO; ELOFF, 2006 |
| <i>Combretum kirkii</i> | Folha | Metanol e acetato de etila | <i>Candida albicans</i> , <i>Candida krusei</i> e <i>Candida parapsilosis</i> | LIU <i>et al.</i> , 2007 |
| <i>Combretum kraussii</i> | Folha | Hexano, acetona, diclorometano e metanol | <i>Candida albicans</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Sporothrix schenckii</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> e <i>Microsporium canis</i> | MASOKO <i>et al.</i> , 2007; MASOKO; ELOFF, 2006 |
| <i>Combretum laxum</i> | Caule | Etanol | <i>Candida albicans</i> , <i>Candida krusei</i> e <i>Cryptococcus neoformans</i> | BISOLI <i>et al.</i> , 2008 |

Tabela 1 – Espécies da família Combretaceae com atividade antifúngica (Continuação)

| Espécies | Órgão | Solvente do Extrato | Fungos | Referência |
|---|--------------|--|---|---|
| <i>Combretum microphyllum</i> <i>Combretum moggii</i> | Folha | Hexano, acetona, diclorometano e metanol | <i>Candida albicans</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Sporothrix schenckii</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> e <i>Microsporium canis</i> | MASOKO <i>et al.</i> , 2007; MASOKO; ELOFF, 2006 |
| <i>Combretum molle</i> | Folha | Etanol (50%) | <i>Candida albicans</i> , <i>Epidermophyton floccosum</i> , <i>Microsporium gypseum</i> , <i>Trichophyton mentagrophytes</i> e <i>Trichophyton rubrum</i> | BABA-MOUSSA <i>et al.</i> , 1999 |
| <i>Combretum molle</i> | Folha | Hexano, acetona, diclorometano e metanol | <i>Candida albicans</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Sporothrix schenckii</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> e <i>Microsporium canis</i> | MASOKO <i>et al.</i> , 2007; MASOKO; ELOFF, 2006 |
| <i>Combretum molle</i> | Raiz | Metanol e água | <i>Candida albicans</i> | STEENKAMP <i>et al.</i> , 2007 |
| <i>Combretum mossambicense</i> <i>Combretum nelsonii</i> | Folha | Hexano, acetona, diclorometano e metanol | <i>Candida albicans</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Sporothrix schenckii</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> e <i>Microsporium canis</i> | MASOKO <i>et al.</i> , 2007; MASOKO; ELOFF, 2006 |
| <i>Combretum nelsonii</i> | Folha | Etanol e Metanol | <i>Candida albicans</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Sporothrix schenckii</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> e <i>Microsporium canis</i> | MASOKO <i>et al.</i> , 2008b |
| <i>Combretum nigricans</i> | Folha e raiz | Etanol (50%) | <i>Candida albicans</i> , <i>Epidermophyton floccosum</i> , <i>Microsporium gypseum</i> , <i>Trichophyton mentagrophytes</i> e <i>Trichophyton rubrum</i> | BABA-MOUSSA <i>et al.</i> , 1999 |

Tabela 1 – Espécies da família Combretaceae com atividade antifúngica (Continuação)

| Espécies | Órgão | Solvente do Extrato | Fungos | Referência |
|-------------------------------|-----------------------|--|--|--|
| <i>Combretum padoides</i> | Folha | Hexano, acetona, diclorometano e metanol | <i>Candida albicans</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Sporothrix schenckii</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> e <i>Microsporium canis</i> | MASOKO <i>et al.</i> , 2007; MASOKO; ELOFF, 2006 |
| <i>Combretum paniculatum</i> | | | | |
| <i>Combretum paniculatum</i> | Raiz | Metanol e água | <i>Candida albicans</i> | STEENKAMP <i>et al.</i> , 2007 |
| <i>Combretum pentrophilum</i> | Folha | Hexano, acetona, diclorometano e metanol | <i>Candida albicans</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Sporothrix schenckii</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> e <i>Microsporium canis</i> | MASOKO <i>et al.</i> , 2007; MASOKO; ELOFF, 2006 |
| <i>Combretum woodii</i> | | | | |
| <i>Combretum zeyheri</i> | | | | |
| <i>Guiera senegalensis</i> | Folha | Etanol (80%) | <i>Cladosporium cucumerinum</i> | SILVA; GOMES, 2002 |
| <i>Pteleopis suberosa</i> | Goma e casca do caule | Etanol (50%) | <i>Candida albicans</i> , <i>Epidermophyton floccosum</i> , <i>Microsporium gypseum</i> , <i>Trichophyton mentagrophytes</i> e <i>Trichophyton rubrum</i> | BABA-MOUSSA <i>et al.</i> , 1999 |
| <i>Sclerocarya birrea</i> | Casca do caule | Acetona, etanol e metanol | <i>Candida parapsilosis</i> , <i>Cryptococcus albidus</i> e <i>Rhodoturula mucilaginoso</i> | MASOKO <i>et al.</i> , 2008 |
| <i>Terminalia alata</i> | Raiz | Metanol (80%) | <i>Aspergillus niger</i> e <i>Candida albicans</i> | SRIVASTAVA <i>et al.</i> , 2001 |
| <i>Terminalia arjuna</i> | Casca do caule | Acetato de etila | <i>Alternaria carthami</i> , <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Fusarium verticilloides</i> , <i>Macrophomina phaseolina</i> , <i>Phoma sorghina</i> e <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> . | TEJESVI <i>et al.</i> , 2007 |
| <i>Terminalia australis</i> | Folha | Metanol e água | <i>Candida albicans</i> , <i>Candida kruszei</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> e <i>Aspergillus flavus</i> | CARPANO <i>et al.</i> , 2003 |

Tabela 1 – Espécies da família Combretaceae com atividade antifúngica (Continuação)

| Espécies | Orgão | Solvente do Extrato | Fungos | Referência |
|---------------------------------|-------------------------------|--|--|--|
| <i>Terminalia avicennioides</i> | Folha e casca do caule | Etanol (50%) | <i>Candida albicans</i> , <i>Epidermophyton floccosum</i> , <i>Microsporium gypseum</i> , <i>Trichophyton mentagrophytes</i> e <i>Trichophyton rubrum</i> | BABA-MOUSSA <i>et al.</i> , 1999 |
| <i>Terminalia bellerica</i> | Casca do Fruto | Etanol (80%) | <i>Penicillium expansum</i> e <i>Candida albicans</i> | VALSARAJ <i>et al.</i> , 1997 |
| <i>Terminalia brachystemma</i> | Folha | Metanol e acetato de etila | <i>Candida krusei</i> , <i>Candida albicans</i> e <i>Candida parapsilosis</i> | LIU <i>et al.</i> , 2007 |
| <i>Terminalia brachystemma</i> | Folha | Acetona, hexano, diclorometano e metanol | <i>Candida albicans</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Microsporium canis</i> e <i>Sporothrix schenckii</i> | MASOKO; ELOFF, 2005; MASOKO <i>et al.</i> , 2005 |
| <i>Terminalia catappa</i> | Folha | Diclorometano | <i>Candida albicans</i> , <i>Pythium ultimum</i> , <i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Sclerotium rolfsii</i> e <i>Aspergillus fumigatus</i> | GOUN <i>et al.</i> , 2003 |
| <i>Terminalia catappa</i> | Folha | Metanol e água | <i>Candida tropicalis</i> | NAIR; CHANDA, 2008 |
| <i>Terminalia chebula</i> | Folha, casca do caule e fruto | Água | <i>Trichophyton tonsurans</i> , <i>Trichophyton rubrum</i> , <i>Trichophyton simii</i> , <i>Trichosporon beigellii</i> , <i>Microsporium fulvum</i> , <i>Microsporium gypseum</i> e <i>Candia albicans</i> | DUTTA <i>et al.</i> , 1998 |
| <i>Terminalia chebula</i> | Folha | Água | <i>Trichophyton mentagrophytes</i> , <i>Trichophyton rubrum</i> , <i>Trichophyton soudanense</i> e <i>Candida albicans</i> | VONSHAK <i>et al.</i> , 2003 |
| <i>Terminalia chebula</i> | Semente | Água | <i>Torulopsis glabrata</i> | VONSHAK <i>et al.</i> , 2003 |

Tabela 1 – Espécies da família Combretaceae com atividade antifúngica (Continuação)

| Espécies | Órgão | Solvente do Extrato | Fungos | Referência |
|-------------------------------|---------------------------------------|--|---|---|
| <i>Terminalia gazensis</i> | Folha | Acetona, hexano, diclorometano e metanol | <i>Candida albicans</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Microsporium canis</i> e <i>Sporothrix schenckii</i> | MASOKO; ELOFF, 2006b; MASOKO <i>et al.</i> , 2005 |
| <i>Terminalia glaucescens</i> | Folha e raiz | | <i>Candida krusei</i> , <i>Candida parapsilosis</i> , <i>Candida tropicalis</i> , <i>Candida zeylanoides</i> , <i>Geotrichum candidum</i> , <i>Rhodotorula rubra</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Candida glabrata</i> , <i>Candida albicans</i> , <i>Candida guilliermondii</i> e os fungos | |
| <i>Terminalia laxiflora</i> | Folha | Etanol (50%) | <i>filamentosos Aspergillus fumigatus</i> , <i>Trichophyton mentagrophytes</i> , <i>Botrytis cinerea</i> , <i>Trichoderma viride</i> , <i>Microsporium gypseum</i> , <i>Trichophyton rubrum</i> , <i>Microsporium nanum</i> , <i>Scopulariopsis brevicaulis</i> , <i>Alternaria alternata</i> e <i>Cladosporium cladosporioides</i> . | BATAWILA <i>et al.</i> , 2005 |
| <i>Terminalia macroptera</i> | Folha, casca do caule e casca da raiz | | | |
| <i>Terminalia macroptera</i> | Caule | Acetato de etila e triclorometano | <i>Cladosporium cucumerinum</i> | CONRAD <i>et al.</i> , 1998 |
| <i>Terminalia mollis</i> | Folha e casca da raiz | Etanol (50%) | <i>Candida albicans</i> , <i>Epidermophyton floccosum</i> , <i>Microsporium gypseum</i> , <i>Trichophyton mentagrophytes</i> e <i>Trichophyton rubrum</i> | BABA-MOUSSA <i>et al.</i> , 1999 |
| <i>Terminalia mollis</i> | Folha | Metanol e acetato de etila | <i>Candida krusei</i> , <i>Candida albicans</i> e <i>Candida parapsilosis</i> | LIU <i>et al.</i> , 2007 |
| <i>Terminalia mollis</i> | Casca do caule e casca da raiz | Metanol (80%) e água | <i>Candida albicans</i> | MAREGESI <i>et al.</i> , 2008 |

Tabela 1 – Espécies da família Combretaceae com atividade antifúngica (Continuação)

| Espécies | Órgão | Solvente do Extrato | Fungos | Referência |
|----------------------------------|-------|--|---|---|
| <i>Terminalia mollis</i> | Folha | Acetona, hexano, diclorometano e metanol | <i>Candida albicans</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Microsporium canis</i> e <i>Sporothrix schenckii</i> | MASOKO; ELOFF, 2006b; MASOKO <i>et al.</i> , 2005 |
| <i>Terminalia phanerophlebia</i> | Folha | Hexano, diclorometano e acetona | <i>Candida albicans</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Micrococcus canis</i> e <i>Sporothrix schenckii</i> | SHAI <i>et al.</i> , 2008 |
| <i>Terminalia prunioides</i> | Folha | Acetona, hexano, diclorometano e metanol | <i>Candida albicans</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Microsporium canis</i> e <i>Sporothrix schenckii</i> | MASOKO; ELOFF, 2006b; MASOKO <i>et al.</i> , 2005 |
| <i>Terminalia sambesiaca</i> | | | | |
| <i>Terminalia sambesiaca</i> | Folha | Hexano, diclorometano e acetona | <i>Candida albicans</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Micrococcus canis</i> e <i>Sporothrix schenckii</i> | SHAI <i>et al.</i> , 2008 |
| <i>Terminalia sericea</i> | Folha | Acetona, hexano, diclorometano e metanol | <i>Candida albicans</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Microsporium canis</i> e <i>Sporothrix schenckii</i> | MASOKO; ELOFF, 2006b; MASOKO <i>et al.</i> , 2005 |
| <i>Terminalia sericea</i> | Raiz | Etanol (80%), Acetato de etila, diclorometano, metanol e butanol | <i>Aspergillus niger</i> e <i>Candida albicans</i> | MOSHI; MBWAMBO, 2005 |
| <i>Terminalia sericea</i> | Raiz | Metanol e água | <i>Candida albicans</i> | STEENKAMP <i>et al.</i> , 2007 |
| <i>Terminalia triflora</i> | Folha | Metanol | <i>Microsporium gypseum</i> , <i>Trichophyton rubrum</i> e <i>Trichophyton mentagrophytes</i> | MUSCHIETTI <i>et al.</i> , 2005 |

1.9.3- Família Combretaceae

Na Ásia e na África muitas espécies da família Combretaceae são utilizadas na medicina tradicional para tratamento de enfermidades tais como febre, cefaléia, diarreia, cálculos biliares, disenteria, úlceras gástricas, ancilostomídeos, hemorragias nasais, constipações, tosse, pneumonia, conjuntivite, dismenorréia, infertilidade feminina, doenças venéreas, picada de escorpião, mordida de cobra, hanseníase, dor de dente, cardiopatias, icterícia, problemas gástricos, blenorragia e fraqueza (MASOKO; ELOFF, 2006).

1.9.3.1- Espécies da família Combretaceae com atividade antifúngica

A literatura revela grande número de espécies da família Combretaceae com atividade antifúngica (Tabela 1). Os extratos correspondem a grande variedade de órgãos e solventes utilizados nos processos de extração. De modo geral, a maioria eram extratos de folhas produzidos com solventes de média polaridade e polares. Vários fungos foram utilizados na avaliação da atividade. Quase a totalidade das espécies testadas pertenciam aos gêneros *Terminalia* e *Combretum*.

1.9.3.2- Substâncias isoladas de espécies da família Combretaceae com atividade antifúngica

O extrato etanólico da casca do caule de *Anogeissus latifolia* apresentou atividade sobre *Candida albicans*, *Cryptococcus albidus*, *Aspergillus flavus* e *Trichophyton rubrum*. A atividade foi parcialmente atribuída à presença de ácido elágico e ácido gálico, descritos pela atividade antimicrobiana (GOVINDARAJAN *et al.*, 2006).

Das folhas de *Combretum nelsonii* foram isolados os triterpenos ácido asiatic e ácido arjunolic com propriedades antifúngicas (MASOKO *et al.*, 2008). Do caule de *Combretum laxum* foram isolados compostos β -D-Glucopyranosyl 2 α ,3 β ,24-trihydroxyolean-12-en-28-oate, arjunolic acid, asiatic acid, arjunglucoside II, quadranoside IV, bellericoside, chebuloside II, β -D-glucopyranosyl 2 α ,3 β ,6 β -trihydroxyolean-12-en-28-oate, β -D-glucopyranosyl 2 α ,3 β ,23,24-tetrahydroxyurs-12-

en-28-oate, *betulinic acid* e *quadranside I*, ativos sobre *Candida albicans*, *Candida krusei* e *Cryptococcus neoformans* (BISOLI *et al.*, 2008).

Da raiz de *Terminalia alata* foram isolados os glicosídeos 5,7,2_-tri-O-methylflavanone 4'-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranoside e 2 α ,3 β ,19 β ,23-tetrahydroxyolean-12-en-28-oic acid 3-O- β -D-galactopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-glucopyranoside-28-O- β -D-glucopyranoside ativos sobre *Aspergillus niger* e *Candida albicans* (SRIVASTAVA *et al.*, 2001).

Do caule de *Terminalia macroptera* foram isolados os compostos terminolic acid, arjunic acid, arjungenin, arjunglucoside1, sericic acid, sericoside e os triterpenos 23-galloylarjunic acid e β -D-glucopyranosyl ativos sobre *Cladosporium cucumerinum* (CONRAD *et al.*, 1998).

Da casca do caule de *Terminalia bellerica* foram isolados as lignanas termilignan, thannilignan, anolignan B e o flavonóide 7-hydroxy-3',4'-(methylenedioxy) flavan ativos sobre *Penicillium expansum* e *Candida albicans* (VALSARAJ *et al.*, 1997).

1.9.3.4- Espécie da família Combretaceae que é tratada nesse trabalho

- *Terminalia fagifolia* Mart. & Zmuc



Figura 9 - Foto de *Terminalia fagifolia* Mart. & Zmuc

Nome popular de *Terminalia fagifolia* Mart. & Zmuc

A espécie *Terminalia fagifolia* Mart & Zmuc é conhecida popularmente como cachaporra do gentio, capitão do seco, capitão do mato, mirindiba ou pau de bicho (CORRÊA, 1984).

Usos na medicina tradicional

Na medicina tradicional a casca do caule é utilizada para o tratamento de aftas e tumores. Trata-se de uma árvore melífera e a sua madeira é empregada na carpintaria e na fabricação de móveis (CORRÊA, 1984).

Descrição morfológica de *Terminalia fagifolia* Mart. & Zmuc

Terminalia fagifolia é árvore encontrada no Cerrado, assim como no Pantanal Mato-grossense e na caatinga do nordeste brasileiro. Suas folhas são curto-pecioladas, fasciculadas, ovadas ou elípticas, agudas, mucronadas, membranosas, seríceo-vilosas na face inferior. As flores estão dispostas em espigas axilares compostas, mais curtas do que as folhas. O fruto é sâmara elíptica, estriada, bialada e grande (CORRÊA, 1984).

Estudos biológicos e compostos isolados de *Terminalia fagifolia*

Na literatura descreve apenas dois trabalhos que demonstram a atividade biológica. A ação antioxidante do extrato etanólico das folhas (SOUZA *et al.*, 2007) e a atividade citotóxica sobre células de carcinoma de laringe HEP₂ e células mucoepidermóide de câncer de pulmão H₂₉₂ (GARCEZ *et al.*, 2006).

1.9.4- Família Dilleniaceae

A família Dilleniaceae é composta por cerca de 350 espécies divididas em 12 gêneros. Essas espécies são encontradas principalmente em regiões tropicais e subtropicais (PEREIRA, 2006).

1.9.4.1- Espécies da família Dilleniaceae com atividade antifúngica

A espécie *Tetracera potatoria* foi o único exemplar da família Dilleniaceae relatada na literatura pela atividade antifúngica. Os extratos etanólico e aquoso da raiz de *T. potatoria* foram avaliados sobre *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *Candida albicans*, *Microsporum audonii*, *Trichoderma viride* e *Trichophyton mentagrophytes*. Os extratos etanólicos apresentaram atividade antifúngica superior aos extratos aquosos. O estudo fitoquímico demonstrou a presença de antocianinas, flavonóides, esteróides e taninos (ADEKUNLE *et al.*, 2003). Não é relatado nenhum trabalho onde se isolou compostos com propriedades antifúngicas.

1.9.4.2- Espécie da família Dilleniaceae que é tratada nesse trabalho

- *Davilla elliptica* St. Hil.



Figura 10- Foto de *Davilla elliptica* St. Hil.

Nome popular de *Davilla elliptica* St. Hil.

Davilla elliptica St. Hil. é conhecida popularmente como cipó cabloco, sambaibinha e lixinha (CORRÊA, 1984).

Usos na medicina tradicional

Tradicionalmente é utilizada como antiinflamatório, antiulcerogênico, laxativo e afrodisíaco (AZEVEDO *et al.*, 2007).

Descrição morfológica de *Davilla elliptica* St. Hil.

Trata-se de arbusto ereto, ramosíssimo, ramos hirtos; folhas elípticas, inteiras, crustáceo-coriáceas, ásperas e glabras na parte superior, pubescentes e reticulado-nervadas na parte inferior. Suas flores são em racemos hirsuto-vilosos, bracteoladas, cálice seríceo, de uma a seis pétalas subcordadas (CORRÊA, 1984).

Estudos biológicos e compostos isolados de *Davilla elliptica* St. Hil.

A espécie *Davilla elliptica* foi estudada quanto as propriedades antinoceptivas em camundongos. Foi utilizado no teste o extrato etanólico do caule, que demonstrou propriedades antinoceptivas sobre o estímulo de formalina e fraca ação antiinflamatória (AZEVEDO *et al.*, 2007). Das folhas de *Davilla elliptica* foram isolados os flavonóides *quercetin-3-O- α -L-rhamnopyranoside* e *myricetin-3-O- α -L-rhamnopyranoside* (RINALDO *et al.*, 2006). O extrato clorofórmico das folhas foi testado quanto as propriedades imunológicas e sobre *Mycobacterium tuberculosis*. O estudo revelou que o extrato foi capaz de aumentar os níveis de peróxido de hidrogênio, oxido nítrico e fator- α de necrose tumoral liberado por macrófagos e apresentou atividade sobre *Mycobacterium tuberculosis* (LOPES *et al.*, 2007).

1.9.5- Família Ebenaceae

1.9.5.1- Espécies da família Ebenaceae e substâncias isoladas com atividade antifúngica

Do extrato diclometânico da casca do caule de *Diospyros crassifolia* foram isoladas as naftoquinonas *crassiflorone 1* e *gerberinol*, ativas sobre *Candida*

albicans e *C. krusei* (TANGMOUO *et al.*, 2006). Do extrato metanólico do caule de *Diospyros maritima*, isolou-se as naftoquinonas *plumbagin*, *maritinone*, *chitranone*, *zeylanone* e *(4S)-shinanolone*, o composto cumarínico *7,8-dimethoxy-6-hydroxycoumarin*, e três derivados de *plumbagin*, *2-methoxy-7-methyljuglone*, *3-methoxy-7-methyljuglone* e *7-methyljuglone*. Tais compostos apresentaram atividade sobre *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Saccharomyces cerevisiae* e *Aspergillus niger* (GU *et al.*, 2004).

1.9.5.2- Espécie da família Ebenaceae que é tratada nesse trabalho

- *Diospyros hispida* A. DC.



Figura 11- Foto de *Diospyros hispida* A. DC.

Fonte: http://www.fossilflowers.org/users/sv22/1_30_07/Diospyros_hispida.jpg e http://frutasraras.sites.uol.com.br/diospyroshispida_arquivos/image001.jpg (em: 23/03/2009)

Nome popular de *Diospyros hispida* A. DC.

Diospyros hispida é espécie nativa do Cerrado, conhecida popularmente como fruta do boi, fruta de jacu, bacupari bravo, olho de boi, marmelo bola, mucuíba, caqui do Cerrado, bacupari bravo e fruta de jacu fêmea (CORRÊA, 1984).

Usos na medicina tradicional

A espécie *Diospyrus hispida* é utilizada na medicina tradicional como antiemética e laxante. Sua madeira é utilizada para a produção de lenha (BOTREL *et al.*, 2005)

Descrição morfológica de *Diospyrus hispida*

É um arbusto revestido de densíssimo tomento ferrugíneo-hispido, folhas pecioladas, elípticas, cuspidadas, obtusas ou agudas na base, possuindo comprimento de até 9 cm por 5 cm de largura, discolores, inteiras, hirsutas nas duas páginas, verde escuras na página inferior e com nervuras laterais oblíquas. Suas flores são dióicas, axilares, ferrugineas, com cálice de 4-6 lobos, 16 estames nas flores masculinas e apenas 8 estéreis nas flores femininas. O fruto é baga séssil, 8 lóculos, deprimidos-globosa, carnosa, com 35 mm de diâmetro e hirsutíssima (CORRÊA, 1984).

Estudos biológicos e compostos isolados de *Diospyrus hispida*

A literatura não relata nenhum trabalho que utilizou a espécie *Diospyrus hispida* em estudos biológicos e/ou isolamento de compostos.

1.9.6- Família Euphorbiaceae

A família Euphorbiaceae possui cerca de 7500 espécies distribuídas em 290 gêneros concentrada em regiões tropicais e subtropicais principalmente na América e na África. O Brasil abriga por volta de 1100 espécies em 72 gêneros diferentes (CONEGERO *et al.*, 2003).

1.9.6.1- Espécies da família Euphorbiaceae com atividade antifúngica

São descritas na literatura várias espécies pertencentes à família Euphorbiaceae (Tabela 2). Os estudos relatados registram extratos não ativos de *Mallotus philippensis*, *Jatropha gossipifolia* (TAYLOR *et al.*, 1996), e *Chrozophora senegalensis* (USMAN *et al.*, 2007).

Tabela 2 - Espécies da família Euphorbiaceae com atividade antifúngica

| Espécies | Orgão | Solvente do Extrato | Fungos | Referência |
|--------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|---|------------------------------------|
| <i>Alchornea davidii</i> | Folha | Etanol | <i>Candida albicans, Aspergillus niger e Trichophyton rubrum</i> | CUI <i>et al.</i> , 2003 |
| <i>Alchornea glandulosa</i> | Folha | Metanol | <i>Candida albicans, Candida krusei, Candida parapsilosis e Candida tropicalis</i> | CONEGERO <i>et al.</i> , 2003 |
| <i>Alchornea laxiflora</i> | Folha | Metanol | <i>Candida albicans e Aspergillus flavus</i> | OGUNDIPE <i>et al.</i> , 2001 |
| <i>Bridelia ferruginea</i> | Casca do caule | Água e etanol | <i>Candida albicans</i> | IROBI <i>et al.</i> , 1994 |
| <i>Croton argyrophylloides</i> | Folha | Água | <i>Microsporum canis</i> | FONTENELLE <i>et al.</i> , 2008 |
| <i>Croton cajucara</i> | Folha | Água | <i>Candida albicans</i> | ALVIANO <i>et al.</i> , 2005 |
| <i>Croton gratissimus</i> | Caule, raiz e folha | Água | <i>Candida albicans e Cryptococcus neoformans</i> | VAN VUUREN; VILJOEN, 2008 |
| <i>Croton hieronymi</i> | Raiz e folha | Água | <i>Candida albicans</i> | HELUANI <i>et al.</i> , 2005 |
| <i>Croton nepetaefolius</i> | Folha | Água | <i>Microsporum canis</i> | FONTENELLE <i>et al.</i> , 2008 |
| <i>Croton zehntneri</i> | Folha | Água | <i>Candida albicans, Candida tropicalis e Microsporum canis</i> | FONTENELLE <i>et al.</i> , 2008 |
| <i>Euphorbia peplis</i> | Folha e caule | Metanol | <i>Candida albicans, Candida parapsilosis, Candida glabrata e Cryptococcus neoformans</i> | CATENI <i>et al.</i> , 2003 |
| <i>Jatropha maheshwarii</i> | Caule | Hexano, clorofórmio e metanol | <i>Aspergillus niger e Candida albicans</i> | VISWANATHAN <i>et al.</i> , 2004 |
| <i>Jatropha podagrica</i> | Caule e casca do caule | Hexano | <i>Candida albicans</i> | BRASKARWAR <i>et al.</i> , 2008 |
| <i>Mallotus peltatus</i> | Folha e casca do caule | Metanol | <i>Microsporum gypseum</i> | CHATTOPADHYAY <i>et al.</i> , 2002 |
| <i>Neoboutonia mannii</i> | Casca do caule | Metanol | <i>Candida albicans, Candida tropicalis e Candida parapsilosis</i> | TENE <i>et al.</i> , 2008 |
| <i>Phyllanthus piscatorum</i> | Galho, folha e inflorescência | Diclorometano, metanol e água | <i>Candida albicans, Aspergillus fumigatus e Aspergillus flavus</i> | GERTSCH <i>et al.</i> , 2004 |

1.9.6.2- Substâncias isoladas da família Euphorbiaceae com atividade antifúngica

Nas folhas e no caule de *Euphorbia pepalis* se isolou quatro cerebrosídeos que apresentaram atividade sobre *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Candida glabrata* e *Cryptococcus neoformans*: 1-O-(β -D-glucopyranosyl)-(2S,3S,4R,8Z)-2N-[(2'R)-2'-hydroxytetracosenoil]-8 (Z)-octadecene-1,3,4-triol, 1-O-(β -D-glucopyranosyl)-(2S,3S,4R,8Z)-2N-[(2'R)-2'-hydroxyhexacosenoil]-8 (Z)-octadecene-1,3,4-triol, 1-O-(β -D-glucopyranosyl)-(2S,3S,4R,8Z)-2N-[(2'R)-2'-hydroxytetracosanoil]-8 (Z)-octadecene-1,3,4-triol e 1-O-(β -D-glucopyranosyl)-(2S,3S,4E,8E)-2N-[(2'R)-2'-hydroxyhexadecanoylamino]-4(E)-8 (E)-octadecadiene-1,3 diol (CATENI *et al.*, 2003).

Das folhas de *Alchornea laxiflora* isolou-se quercetina-7,4'-disulfato, quercetina, quercetina-3',4'-disulfato e quercetina-3,4'-diacetato ativos sobre *Candida albicans* e *Aspergillus flavus* (OGUNDIPE *et al.*, 2001).

Da casca do caule de *Neoboutonia mannii* foram isolados *neoboutomannin*, *3-acetylaleuritolic acid*, *3,6-dihydroxy-9-methoxy-1,7-dimethylphenanthrene* e *sitosterol 3-O-beta-D-glucopyranoside* ativos sobre *Candida albicans*, *Candida tropicalis* e *Candida parapsilosis* (TENE *et al.*, 2008).

1.9.6.3- Espécies da família Euphorbiaceae que são tratadas nesse estudo

- *Croton urucurana* Baill.
- *Maprounea guianensis* Aublet



Figura 12- Fotos de *Croton urucurana* Baill.

Fonte:

http://www.cria.org.br/eventos/tdbi/flora/presentations/PaulBerry/crotonFB/newimages/live/3urucurana_med.jpg e [http://2.bp.blogspot.com/_3PG8T1wJO00/Sa1BFHm2oyI/AAAAAAAAABCI/-3ATXF-XQcc/s400/Sangre+de+Drago+\(Croton+urucurana\)+2.jpg](http://2.bp.blogspot.com/_3PG8T1wJO00/Sa1BFHm2oyI/AAAAAAAAABCI/-3ATXF-XQcc/s400/Sangre+de+Drago+(Croton+urucurana)+2.jpg) (em 23/04/2009)

Nome popular da *Croton urucurana* Baill.

A espécie *Croton urucurana* é conhecida popularmente como “red sap” (seiva vermelha), “dragon’s blood” (sangue de dragão), sangre de grado em espanhol, sangra d’água, urukurã, uruchnum (GURGEL *et al.*, 2005; MILO *et al.*, 2002), e urucurana (CORRÊA, 1984).

Dados sobre a planta

Croton urucurana é fonte de néctar para abelhas em especial no Estado do Piauí no Brasil (SODRÉ *et al.*, 2007; SODRÉ *et al.*, 2008). Produz um grande número de sementes minúsculas (LIMA *et al.*, 2008). Tem-se estudado o seu uso para reflorestamento, sendo demonstrado que apresenta elevada produção de área foliar e massa úmida, porém necessita de grande demanda hídrica (NOGUEIRA *et al.*, 2004). Sua madeira é utilizada na construção de canoas, obras internas, esteios, dormentes, tinturaria, carroçaria, marcenaria e carpintaria (CORRÊA, 1984).

Usos na medicina tradicional

A espécie *Croton urucurana* é utilizada no tratamento de reumatismo, câncer e como cicatrizante (LIMA *et al.*, 2008).

Descrição morfológica de *Croton urucurana* Baill.

É uma árvore grande, até 16 m, com folhas alternas, longo-pecioladas, cordiformes, 3-5 nervadas, pubescentes, argêntas na página inferior. Suas flores são dispostas em racemos compridos sendo encontrada em verdas ou solos hifromórficos (CORRÊA, 1984).

Estudos biológicos *Croton urucurana*

Foi encontrado atividade antidermatofítica no látex de *C. urucurana* sobre os fungos *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton tonsurans*, *Microsporum canis* e *Epidermophyton floccosum* (GURGEL *et al.*, 2005). O óleo essencial da casca do caule de *C. urucurana* apresentou atividade sobre as bactérias *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella setubal* e *Klebsiella pneumoniae*, e sobre os fungos *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans* e *Cryptococcus neoformans* (SIMIONATTO *et al.*, 2007).

O extrato aquoso da casca do caule de *C. urucurana* foi avaliado quanto à propriedade anti-hemorrágica, frente ao veneno da serpente *Bothrops jararaca*, onde demonstrou redução do processo hemorrágico em ratos (ESMERALDINO *et al.*, 2005). Também apresentou atividade sobre *Staphylococcus aureus* e *Salmonella typhimurium* (PERES *et al.*, 1997).

Compostos isolados de *Croton urucurana*

Do óleo essencial da casca do caule foram isolados 83 compostos que são: tricyclene, α -thujene, α -fenchene, sabinene, myrcene, α -terpinene, o-cymene, limonene, 1,8-cineole, γ -terpinene, terpinolele, linalool, trans-thujone, menth-2-en-1-ol, camphor, camphene hydrate, tagetone, isoborneol, cis-chrysanthenol, boneol, terpinen-4-ol, p -cymen-8-ol, α -terpineol, myrtenol, isobornyl formate, thymol methyl ether, *E*-ocimenone, bornyl acetate, thymol, carvacrol, δ -elemene, cyclosativene, α -cedrene, δ -gurjunene, β -cedrene, cis-thujopsene, γ -elemene, geranyl acetone, 9-epi-caryophyllene, γ -gurjunene, γ -himachalene, g-muurolene, curcumene, β -selinene, α -

selinene, β -himalachene, cuparene, sesquicineole, δ -cadinene, trans-calamenene, nerolidol, carophyllene alcohol, spathulenol, sesquisabinene hydrate, caryophyllene oxide, khusimone, elemenone, guaiol, humulane-1,6-dien-3-ol, himachalene oxide, 1,10-di-*epi*-cubenol, 10-*epi*- γ -eudesmol, γ -eudesmol, 1-isopropyl-7-methyl-4-methylene-1,3,4,5,6,8-hexahydro-2H-naphthalen-4-ol, β -acorenol, cubenol, vulgarone-B, α -eudesmol, α -bisabolol oxide B, 7-*epi*- α -eudesmol, β -bisabolol, γ -gurjunene epoxide, khusinol, α -bisabolol, *epi*- α -bisabolol, acorenone, ni, 8-oxo-neoisolonlongifolene e thunbergol (SIMIONATTO *et al.*, 2007).

O estudo do exsudato do caule revelou que o mesmo possui o polissacarídeo fucoarabinogalactano, que é constituído de galactose, fucopiranosil e arabinofuranosil (MILO *et al.*, 2002). Do extrato metanólico da casca do caule foram isolados: ácido acetil-aleurítico, stigmasterol, β -sitosterol-O-glucosídeo, sonderiana, catequina e galocatequina. A catequina e o ácido acetil-aleurítico foram ativos sobre *Staphylococcus aureus* e *Salmonella typhimurium* (PERES *et al.*, 1997).



Figura 13 – Fotos de *Maprounea guianensis* Aublet

Fonte: http://timblindim.files.wordpress.com/2008/10/maprounea_6a.jpg e http://timblindim.files.wordpress.com/2008/10/maprounea_1ax.jpg (em: 23/04/2009)

Usos na medicina tradicional

A espécie *M. guianensis* é utilizada no Suriname como agente secante vaginal. Tal uso tem por objetivo promover aumento do prazer sexual masculino, porém aumentando riscos de sangramentos e transmissões de doenças sexualmente transmissíveis (ANDEL *et al.*, 2008).

Descrição morfológica de *Maprounea guianensis* Aublet

Árvore de até 18 m de altura, copa ampla, 60 cm de diâmetro; folha simples, elíptica-oblonga, 2,5 a 4 cm de largura, 4 a 8 cm de comprimento, acuminada, glabra; flor abundante, minúscula amarelada; fruto tricoca, globoso; madeira dura de múltipla utilização.

Estudos biológicos *Maprounea guianensis*

Em inventário de mata ripária no córrego Capãozinho no Distrito Federal Brasil observou-se que a espécie *M. guianensis* apresenta elevada produção de biomassa (DE PAULA *et al.*, 1993). As frações clorofórmica e acetato de etila do extrato metanólico do caule de *M. guianensis* apresentaram toxicidade de 90 e 100% respectivamente em *Artemia salina* (DAVID *et al.*, 2004).

Compostos isolados de *Maprounea guianensis*

Da fração hexânica do extrato metanólico do caule de *M. guianensis* isolou-se: 3-oxo-21 α -H-hop-22(29)-en (moretenone), β -sitosterol, lupenone, lupeol, dodecosyl, tetracosyl, hexacosyl, octacosyl, triacontyl ferulates, 3- β -acetoxylup-20(29)-en-28-oic acid, 3 β -O-trans-p-coumaroyl-lup-20(29)-en-28-oic acid e 3 β -O-trans-p-coumaroyl-urs-12-en-28-oic acid. Os compostos foram testados sobre *Artemia salina* e não apresentaram atividade (DAVID *et al.*, 2004).

1.9.7- Família Fabaceae

A família Fabaceae apresenta mais de 18000 espécies abrigadas em 650 gêneros, incluindo as leguminosas utilizadas na alimentação humana. A grande particularidade dessa família é a associação que as suas espécies fazem com bactérias do gênero *Rhizobium* resultando na fixação do nitrogênio no solo.

1.9.7.1- Espécies da família Fabaceae com atividade antifúngica

O extrato metanólico da folha de *Retama raetam* e suas partições butanol e acetato de etila apresentaram atividade sobre *Candida albicans* (HAYET *et al.*, 2008). O extrato aquoso das folhas de *Indigofera suffruticosa* foi ativo sobre *Trichophyton rubrum* e *Microsporum canis* (LEITE *et al.*, 2006). O extrato etanólico das partes aéreas de *Adesmia aegiceras* foi ativo sobre *Candida albicans* (AGNESE *et al.*, 2001).

Das sementes de *Clitoria ternatea* foi isolado um peptídeo denominado Ct-AMP1, ativo sobre *Botrytis cinerea*, *Cladosporium sphaerospermum*, *Fusarium culmorum*, *Leptosphaeria maculans*, *Penicillium digitatum*, *Trichoderma viride*, *Septoria tritici* e *Verticillium albo-atrum* (OSBORN *et al.*, 1995)

1.9.7.2- Substâncias isoladas da família Fabaceae com atividade antifúngica

Do extrato triclorometano/metanol (1:1) da madeira do caule de *Erythrina latissima* foi isolado seis isoflavonas, 7,3'-dihydroxy-4'-methoxy-5'-(γ,γ -dimethylallyl)isoflavone (erylatissin A), 7,3'-dihydroxy-6",6"-dimethyl-4",5"-dehydropyrano [2",3": 4',5'] isoflavone (erylatissin B), 7,4'-dihydroxyisoflavone (daidzein), 7,3'-dihydroxy-4'-methoxyisoflavone (calycosin), 7,4'-dihydroxy-3'- γ,γ -dimethylallyl isoflavone (neobavaisoflavone) e 5,7,4'-trihydroxyisoflavone (genistein), duas flavonas (-)-7,3'-dihydroxy-4'-methoxy-5'-(γ,γ -dimethylallyl)flavanone (erylatissin C) e 7,4'-dihydroxy-3'- γ,γ -dimethylallylflavanone (abyssinone II), três pterocarpanos 3,9-dihydroxy-10- γ,γ -dimethylallylpterocarpan (phaseollidin), 3,6a-dihydroxy-9-methoxy-10- γ,γ -dimethylallylpterocarpan (crisacarpin) e 3,9-dihydroxypterocarpan (demethylmedicarpin), e duas chalconas 4,2',4'-trihydroxy-3'- γ,γ -dimethylallylchalcone e 4,2',4'-trihydroxychalcone. Todos os compostos apresentaram atividade sobre *Candida mycoderma* (CHACHA *et al.*, 2005).

Do extrato clorofórmico/acetato de etila da madeira da raiz de *Bolusanthus speciosus* foram isolados os flavonóides: 5,7,4'-trihydroxy-6-[1-hydroxy-2-methylbuten-2-yl]isoflavone, 7,2'-dihydroxy-4'-methoxyisoflav-3-ene, 6,6'-dihydroxy-4'-methoxy-2-arylbenzofuran, 5,7,4'-trihydroxy-8-[1-hydroxy-2-methylbuten-2-yl]isoflavone (gancaonin C), 7-hydroxy-4'-methoxyisoflavone, 7,3'-dihydroxy-4'-

methoxyisoflavone, *5,7,4'-trihydroxyisoflavone* (*genistein*), , *5,7,4'-trihydroxy-6-g,g-dimethylallylisoflavone* (*wighteone*), *5,7,4'-trihydroxy-8-g,g-dimethylallylisoflavone* (*lupiwighteone*), *3-hydroxy-9-methoxy[6aR,11aR]pterocarpan* (*medicarpan*) e *5,4'-dihydroxy-6,6-dimethyl-4,5-dehydropyrano-[2,3:7,8]isoflavone* (*derrone*). Todos os compostos, com exceção da genisteína que não foi avaliada, apresentaram atividade sobre *Candida mycoderma* (ERASTO *et al.*, 2004).

1.9.7.3- Espécie da família Fabaceae que é tratada nesse trabalho

- *Andira humilis* Mart.



Figura 14 – Foto de *Andira humilis* Mart.

Nome popular de *Andira humilis* Mart.

Andira humilis é conhecida popularmente como Angelim rasteiro, Angelim do campo ou mata barata (PERIOTTO *et al.*, 2004).

Uso tradicional

Após o cozimento da amêndoa de *Andira humilis* a mesma pode ser utilizada para alimentação humana.

Uso na medicina tradicional

Na medicina tradicional *Andira humilis* é utilizada no tratamento de resfriados, verminoses e corrimento vaginal (SOUZA, 2007).

Dados de *Andira humilis* Mart.

A espécie *A. humilis* apresenta o órgão pulvino, que tem a capacidade de orientar as folhas de modo a maximizar a exposição solar (RODRIGUES; MACHADO, 2008; RODRIGUES; MACHADO, 2007). *A. humilis* apresenta 22 cromossomos em suas células (FORNIMARTINS *et al.*, 1995). É uma espécie que ocorre no Cerrado distribuindo-se pelo Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Paraíba, Pernambuco e São Paulo. Trata-se de arbusto que atinge até 1 metro de altura, reproduzindo-se por regeneração vegetativa por meio de sóboles (PERIOTTO *et al.*, 2004).

Descrição morfológica de *Andira humilis* Mart.

Arbusto com cerca de 50 cm de altura; folha composta, 18 a 25 cm de comprimento, alterna, imparipinada, 5-7 pares de folíolos glabros, com 5 a 8 cm de comprimento e 2 a 4 cm de largura; flores abundantes, lilás, oblongas; frutos, duas oblongas ou subglobos. Encontrada no Cerrado *sensu stricto*.

Estudos biológicos e compostos isolados de *Andira humilis*

Em um estudo de recolonização do Cerrado que sofreu queimada, observou-se que *A. humilis* colonizou a região que não apresentava tal espécie, certamente devido a facilidade de dispersão. Em efeito, a queimada pode reduzir a diversidade do Cerrado, pois favorece espécies com maior capacidade de dispersão (MARINI-FILHO, 2000). Não foi encontrado na literatura nenhum trabalho com isolamento de compostos oriundo de *A. humilis*.

1.9.8- Família Hippocrateaceae

1.9.8.1- Espécies da família Hippocrateaceae e substâncias isoladas com atividade antifúngica

Até o presente momento não foram relatadas espécies da família Hippocrateaceae, assim como substâncias isoladas com atividade antifúngica.

1.9.8.2- Espécie da família Hippocrateaceae que é tratada nesse estudo

- *Salacia crassifolia* (Mart.) G. Don



Figura 15 – Foto de *Salacia crassifolia* (Mart.) G. Don

Nome popular de *Salacia crassifolia* (Mart.) G. Don

A espécie *Salacia crassifolia* (Mart.) G. Don é conhecida popularmente como bacupary de caapuêra ou sapatá (CORRÊA, 1984).

Uso tradicional

Seus frutos são utilizados na nutrição humana (CORRÊA, 1984).

Usos na medicina tradicional

A espécie *Salacia crassifolia* é utilizada como antimicrobiana e antitumoral (IARA, 2006).

Descrição morfológica de *Salacia crassifolia*

A espécie *Salacia crassifolia* (Mart.) G. Don é uma árvore pequena de até quatro metros, com folhas alternas ou quase opostas, oblongo-elípticas, agudas na base, inteiras, carnosas, suas flores são brancas, curto-pedunculadas, dispostas em fascículos axilares, possui fruto de drupa amarela, do tamanho de maçã, contendo polpa doce e comestível (CORRÊA, 1984).

Estudos biológicos e compostos isolados de *Salacia crassifolia*

Até o presente momento não foi relatado nenhum trabalho de estudos biológicos e isolamento de compostos de *Salacia crassifolia*.

1.9.9- Família Malpighiaceae

A família Malpighiaceae abriga 1200 espécies distribuídas em 64 gêneros distintos. Destes, o Brasil abriga 29 gêneros concentrados na região Centro-Oeste.

1.9.9.1- Espécies da família Malpighiaceae e substâncias isoladas com atividade antifúngica

A literatura não relata à presença de espécies da família Malpighiaceae estudadas quanto as propriedades antifúngicas.

1.9.9.2- Espécie da família Malpighiaceae que é tratada nesse estudo

- *Byrsonima coccolobifolia* Kunth



Figura 16 – Foto de *Byrsonima coccolobifolia* Kunth

Nome popular de *Byrsonima coccolobifolia* Kunth

A espécie *Byrsonima coccolobifolia* é conhecida popularmente como chaparro matega (CORRÊA, 1984).

Uso na medicina tradicional

As cascas do caule de *B. coccolobifolia* são utilizadas tradicionalmente para o tratamento de tuberculose (CORRÊA, 1984).

Dados adicionais da espécie

O gênero e a espécie *Byrsonima coccolobifolia* é preponderante no segmento arbóreo do Cerrado do Estado de Roraima - Brasil (MIRANDA *et al.*, 2002; BARBOSA; FEARNSTIDE, 2004).

Descrição morfológica *Byrsonima coccolobifolia* Kunth

Trata-se de um arbusto ou árvore pequena com até 3 metros de altura, com ramos glabros, folhas sésseis, sub-arredondado-ovadas, obtusas, levemente cordiformes de até 10 centímetros de comprimento por 8 de largura. Suas flores também são glabras com coloração arroxeadas dispostas em racimos simples e cálice glabro (CORRÊA, 1984).

Tabela 3 - Espécies da família Rutaceae com atividade antifúngica

| Espécies | Órgão | Solvente do Extrato | Fungos | Referência |
|---|-------------|---------------------------------------|-------------------------|--|
| <i>Agathosma arida</i> | | | | |
| <i>Agathosma bathii</i> | | | | |
| <i>Agathosma betulina</i> | | | | |
| <i>Agathosma capensis</i> var. <i>besemfontein</i> | | | | |
| <i>Agathosma capensis</i> var. <i>gamka</i> | | | | MOOLLA <i>et al.</i> , 2007; VILJOEN <i>et al.</i> , 2006 |
| <i>Agathosma collina</i> | | | | |
| <i>Agathosma crenulata</i> | Parte aérea | Metanol:diclorometano (1:1) e água | <i>Candida albicans</i> | |
| <i>Agathosma hirsuta</i> | | | | |
| <i>Agathosma lanata</i> | | | | |
| <i>Agathosma namaquensis</i> | | | | |
| <i>Agathosma ovalifolia</i> | | | | |
| <i>Agathosma ovata</i> | | | | MOOLLA <i>et al.</i> , 2007; VILJOEN <i>et al.</i> , 2006; VILJOEN <i>et al.</i> , 2006b |
| <i>Agathosma parva</i> | | | | MOOLLA <i>et al.</i> , 2007; VILJOEN <i>et al.</i> , 2006 |

Tabela 3 - Espécies da família Rutaceae com atividade antifúngica (Continuação)

| Espécies | Órgão | Solvente do Extrato | Fungos | Referência |
|----------------------------------|----------------|------------------------------------|---|---|
| <i>Agathosma pubigera</i> | | | | |
| <i>Agathosma pungens</i> | | | | |
| <i>Agathosma roodebergensis</i> | Parte aérea | Metanol:diclorometano (1:1) e água | <i>Candida albicans</i> | MOOLLA <i>et al.</i> , 2007; VILJOEN <i>et al.</i> , 2006 |
| <i>Agathosma stipitata</i> | | | | |
| <i>Agathosma zwartbergense</i> | | | | |
| <i>Clausena anisata</i> | Casca do caule | Etanol | <i>Candida albicans</i> e <i>Trichophyton rubrum</i> | CHAKRABORTY <i>et al.</i> , 1995a |
| <i>Clausena heptaphylla</i> | Folha | Etanol | <i>Candida albicans</i> e <i>Trichophyton rubrum</i> | CHAKRABORTY <i>et al.</i> , 1995b |
| <i>Coleonema pulchellum</i> | Raiz | Metanol | <i>Cladosporium herbarum</i> | BRADER <i>et al.</i> , 1997 |
| <i>Feronia limonia</i> | Casca do caule | Éter de petróleo e triclorometano | <i>Aspergillus niger</i> e <i>Candida albicans</i> | RAHMAN; GRAY, 2002 |
| <i>Haplophyllum tuberculatum</i> | Flores | Água | <i>Alternaria alternata</i> , <i>Curvularia lunata</i> , <i>Fusarium oxysporium</i> e <i>Stemphylium solani</i> | AL-BURTAMANI <i>et al.</i> , 2005 |
| <i>Murraya koenigii</i> | Casca do caule | Éter de petróleo e clorofórmio | <i>Aspergillus niger</i> e <i>Candida albicans</i> | RAHMAN; GRAY, 2005 |
| <i>Oriciopsis glaberrina</i> | Casca do caule | Metanol:diclorometano (1:1) | <i>Candida albicans</i> e <i>Mucor miehei</i> | WANSI <i>et al.</i> , 2006 |
| <i>Teclea afzelii</i> | Casca do caule | Metanol | <i>Candida albicans</i> , <i>Candida gabrata</i> e <i>Microsporium audorium</i> | KUETE <i>et al.</i> , 2008 |

Tabela 3 - Espécies da família Rutaceae com atividade antifúngica (Continuação)

| Espécies | Órgão | Solvente do Extrato | Fungos | Referência |
|-----------------------------------|---|--|--|---------------------------------|
| <i>Zanthoxylum americanum</i> | Casca do caule, fruta, folha, semente, madeira do caule e Caule | Etanol | <i>Candida albicans</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Wangiella dermatitidis</i> , <i>Alternaria alternata</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Microsporium gypseum</i> , <i>Pseudallescheria boydii</i> e <i>Rhizopus</i> sp. | BAFI-YEBOA <i>et al.</i> , 2005 |
| <i>Zanthoxylum budrunga</i> | Folha e casca do caule | Éter de petróleo, clorofórmio e metanol | <i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Hensinela californica</i> , <i>Rizopus oligosporum</i> e <i>Schizosporum</i> sp. | ISLAM <i>et al.</i> , 2001 |
| <i>Zanthoxylum caudatum</i> | Casca do caule | Éter de petróleo, triclorometano e diclorometano | <i>Cladosporium cladosporioides</i> e <i>Cladosporium gloeosporioides</i> | NISSANKA <i>et al.</i> , 2001 |
| <i>Zanthoxylum davyi</i> | Casca do caule | Metanol e água | <i>Candida albicans</i> | STEENKAMP <i>et al.</i> , 2007 |
| <i>Zanthoxylum leprieurii</i> | Folha, raiz e casca do caule | Etanol | <i>Candida albicans</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Microsporium gypseum</i> , <i>Trichophyton mentagrophytes</i> , <i>Trichophyton rubrum</i> , <i>Botrytis cinerea</i> , <i>Aspergillus flavus</i> e <i>Scopulariopsis brevicaulis</i> | NGANE <i>et al.</i> , 2000 |
| <i>Zanthoxylum tetrapermum</i> | Casca do caule | Éter de petróleo, triclorometano e diclorometano | <i>Cladosporium cladosporioides</i> e <i>Cladosporium gloeosporioides</i> | NISSANKA <i>et al.</i> , 2001 |
| <i>Zanthoxylum xanthoxyloides</i> | Folha, raiz e casca do caule | Etanol | <i>Candida albicans</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Microsporium gypseum</i> , <i>Trichophyton mentagrophytes</i> , <i>Trichophyton rubrum</i> , <i>Botrytis cinerea</i> , <i>Aspergillus flavus</i> e <i>Scopulariopsis brevicaulis</i> | NGANE <i>et al.</i> , 2000 |

Estudos biológicos e compostos isolados de *Byrsonima coccolobifolia*

Nenhum estudo biológico e isolamento químico foi relatado utilizando a espécie *B. coccolobifolia*.

1.9.10- Família Rutaceae

O gênero da família Rutaceae que apresenta maior visibilidade é o gênero *Citrus*. O limoeiro e a laranjeira são exemplos de plantas pertencentes a família Rutaceae.

1.9.10.1-Espécies da família Rutaceae com atividade antifúngica

Na literatura existem vários trabalhos que relatam atividade antifúngica em espécies pertencentes à família Rutaceae (Tabela 3). Os gêneros que mais apresentaram atividade descrita foram *Agathosma* e *Zanthoxylum*.

1.9.10.2- Substâncias isoladas de espécies da Família Rutaceae com atividade antifúngica

Do extrato metanólico da casca do caule de *Teclea afzelii* foram isolados os alcalóides kokusaginine, maculine e kolbisie ativos sobre *Candida albicans*, *Candida gabrata* e *Microsporum audouinii* (KUETE *et al.*, 2008). Da casca do caule de *Orixiopsis glaberrima* foram isolados os alcalóides lichexanthone e oriciacridone A e B ativos sobre *Candida albicans* e *Mucor miehei* (WANSI *et al.*, 2006). Da casca do caule de *Murraya koenigii* foram isolados mahanimbine, girinimbine, sitoster-4-em-3-one, β -sitosterol, stigmasterol, 3-formyl-carbazole, 3-formyl-1-methoxycarbazole, carbazole-3-carboxylic acid, 3 ξ -(1 ξ -hydroxyethyl)-7-hydroxy-1-isobenzofuranone e 3,3'-[oxybis(methylene)]bis(9-methoxy-9H-carbazole) ativos sobre *Aspergillus niger* e *Candida albicans* (RAHMAN; GRAY, 2005). Da casca do caule de *Feronia limonia* foram isolados os compostos psoralen, bergapten, 5,7,4'-trihydroxy-6,8-di-(3-methylbut-2-enyl)-flavanone, demethylsuberosin, 1-hydroxy-3-methoxy-N-methyl-acridan-9-one, isopimpinellin, xanthotoxin, (E)-5,8-diepoxy-24(ξ)-methylcholesta-

6,22-dien-3-ol e 5-(3-acetoxypentenyl)-2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-7-methoxy-2,3-dihydroxybenzofuran-3ylmethyl-acetate (RAHMAN; GRAY, 2002). Das raízes de *Coleonema pulchellum* se isolou precolpuchol e evofolin-C ativos sobre *Cladosporium herbarum* (BRADER *et al.*, 1997). Da casca do caule de *Clausena anisata* foram isolados os alcalóides clausenol e clausenine ativos sobre *Candida albicans* e *Trichophyton rubrum* (CHAKRABORTY *et al.*, 1995a). Das folhas de *Clausena heptaphylla* foi isolado o alcalóide clausenal ativo sobre *Candida albicans* e *Trichophyton rubrum* (CHAKRABORTY *et al.*, 1995b). Da casca do caule de *Zanthoxylum tetraspermum* foram isolados os compostos sesamin, savinin, liriodenine e de *Zanthoxylum caudatum*, 8-acetonyldihydroneuritenine, 8-acetonyldihydroavicine ativos sobre *Cladosporium cladosporioides* e *Cladosporium gloeosporioides* (NISSANKA *et al.*, 2001).

1.9.10.3- Espécies da família Rutaceae que são tratadas nesse trabalho

- *Zanthoxylum rhoifolium* Lam.

- *Spiranthera odoratissima* St. Hil.



Figura 17 – Foto de *Zanthoxylum rhoifolium* Lam.

Nome popular de *Zanthoxylum rhoifolium* Lam.

A espécie *Zanthoxylum rhoifolium* é conhecida popularmente como mamica de cadela, mamica-de-porca, juvevê, jubebê, tembetarú, betarú amarelo, laranjinha do ceará, mamica de cachorra, mamica de porca, maminha de porca, tambataruga, tamanqueira e tembetarú de espinho (MOREL *et al.*, 2002; CORRÊA, 1984).

Usos na medicina tradicional

Antimalárica (JULLIAN *et al.*, 2006; BERTANI *et al.*, 2005), antiinflamatória, antimicrobiana e para o tratamento de câncer (SILVA *et al.*, 2007). Sua raiz é utilizada como tônico, no tratamento de desconfortos gastrointestinais e antitérmica. A casca do caule é utilizada para indigestão, flatulência e cólicas. Suas folhas são utilizadas para dor de dente e de ouvido (CORRÊA, 1984).

Descrição morfológica de *Zanthoxylum rhoifolium* Lam.

É uma árvore pequena e de caule reto medindo até 8 metros de altura, possuindo copa frondosa e casca grossa, armada de acúleos grandes e espessos, com a forma de “mamas de cadela”. Suas folhas são compostas, imparipinadas ou abruptamente pinadas, 2-14 julgas com pecíolo comum de 10-25 cm, espinescentes, folíolos quase sésseis, opostos, oblongo-elípticos, agudos ou obtusos até 5 cm de comprimento e 2 cm de largura, crenado-serrados, aculeados, glabros, às vezes finamente pilosos, com um espinho duro na nervura da página inferior. Suas flores são polipétalas, pequenas, esverdeadas, dispostas em panículas terminais e axilares ou extra-axilares de 10 a 15 cm. Seu fruto possui baga pequena, globosa de 4-5 mm, escura e com glândulas avermelhadas contendo o óleo essencial de cheiro forte (CORRÊA, 1984).

Usos populares

Sua madeira é utilizada na construção civil, carroças, marcenaria, carpintaria, ripas, remos, cabos de instrumentos agrícolas e de ferramentas, cepas para escovas e tamancos e para tinturaria (CORRÊA, 1984).

Tabela 4 - Estudos descritos na literatura com *Zanthoxylum rhoifolium*

| Órgão | Solvente do Extrato | Objeto de estudo (organismo) | Comentário | Referência |
|----------------|--|--|---|-------------------------------|
| Sementes | - | Nutrição humana | As sementes podem ser utilizadas na alimentação humana. | CARAMORI <i>et al.</i> , 2004 |
| | Metanol | Antibacteriano (<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Salmonella setubal</i> e <i>Escherichia coli</i>) | O extrato etanólico da casca do caule demonstrou atividade antibacteriana sobre Gram positivos e negativos. | MOREL <i>et al.</i> , 2002 |
| Casca do Caule | Água | Antimalárica (<i>Plasmodium falciparum</i>) | O preparo tradicional por decocção apresentou pouca atividade antimalárica. | BERTANI <i>et al.</i> , 2004 |
| | Extração de alcalóides (hidróxido de amônio e diclorometano) | Antimalárica (<i>Plasmodium falciparum</i>) | Foram isolados 7 alcalóides benzofenantridinos sendo 5 ativos sobre <i>Plasmodium falciparum</i> . | JULLIAN <i>et al.</i> , 2006 |
| Folha | Óleo essencial (água) | Antitumoral (tumor de Ehrlich) | O óleo essencial apresenta atividade antitumoral | SILVA <i>et al.</i> , 2007 |

Tabela 5 - Compostos isolados de *Zanthoxylum rhoifolium*

| Nome | Referência | Nome | Referência |
|--------------------------|---|------------------------|---|
| (E)-nerolidol | SILVA <i>et al.</i> , 2007; DE MOURA <i>et al.</i> , 2006 | Oxiavicina | JULLIAN <i>et al.</i> , 2006 |
| 6-Acetonildihidroavicina | MOREL <i>et al.</i> , 2002 | Oxynitidina | DE MOURA <i>et al.</i> , 1997; JULLIAN <i>et al.</i> , 2006 |
| Avicina | JULLIAN <i>et al.</i> , 2006 | Sabineno | SILVA <i>et al.</i> , 2007; DE MOURA <i>et al.</i> , 2006 |
| Biclogermacrena | SILVA <i>et al.</i> , 2007; DE MOURA <i>et al.</i> , 2006 | Skimmianina | DE MOURA <i>et al.</i> , 1997 |
| Cubebol | SILVA <i>et al.</i> , 2007; DE MOURA <i>et al.</i> , 2006 | Spathulenol | SILVA <i>et al.</i> , 2007; MOURA <i>et al.</i> , 2006 |
| Dihidroavicina | JULLIAN <i>et al.</i> , 2006 | Zanthoxylina | DE MOURA <i>et al.</i> , 1997 |
| Dihidronitidina | DE MOURA <i>et al.</i> , 1997 | α -Humuleno | SILVA <i>et al.</i> , 2007; DE MOURA <i>et al.</i> , 2006 |
| Dihidronitidina | JULLIAN <i>et al.</i> , 2006 | α -Muurolol | SILVA <i>et al.</i> , 2007; DE MOURA <i>et al.</i> , 2006 |
| Fagaridina | JULLIAN <i>et al.</i> , 2006 | α -Pineno | SILVA <i>et al.</i> , 2007; DE MOURA <i>et al.</i> , 2006 |
| Germacrena A | SILVA <i>et al.</i> , 2007; DE MOURA <i>et al.</i> , 2006 | β -Caryophylleno | SILVA <i>et al.</i> , 2007; DE MOURA <i>et al.</i> , 2006 |
| Germacrena B | SILVA <i>et al.</i> , 2007; DE MOURA <i>et al.</i> , 2006 | β -Elemeno | SILVA <i>et al.</i> , 2007; DE MOURA <i>et al.</i> , 2006 |
| Germacrena D | SILVA <i>et al.</i> , 2007; DE MOURA <i>et al.</i> , 2006 | β -Ocimeno | SILVA <i>et al.</i> , 2007; DE MOURA <i>et al.</i> , 2006 |
| Linalool | SILVA <i>et al.</i> , 2007; DE MOURA <i>et al.</i> , 2006 | β -Pineno | SILVA <i>et al.</i> , 2007; DE MOURA <i>et al.</i> , 2006 |
| Myrceno | SILVA <i>et al.</i> , 2007; DE MOURA <i>et al.</i> , 2006 | δ -Cadineno | SILVA <i>et al.</i> , 2007; DE MOURA <i>et al.</i> , 2006 |
| Nitidina | JULLIAN <i>et al.</i> , 2006 | δ -Elemeno | SILVA <i>et al.</i> , 2007; DE MOURA <i>et al.</i> , 2006 |

Estudos biológicos de *Zanthoxylum rhoifolium*

Na tabela 4 encontramos os estudos biológicos conduzidos com a espécie *Zanthoxylum rhoifolium*.

Compostos isolados de *Zanthoxylum rhoifolium*

Foram isolados vários compostos oriundos de *Zanthoxylum rhoifolium* sendo em sua maioria alcalóides e óleos essenciais. Na tabela 5 apresenta os compostos descritos na literatura.



Figura 18 – Foto de *Spiranthera odoratissima* St. Hil.

Fonte: http://1.bp.blogspot.com/_axsdk0cPPrQ/RtZZ8uZ6Qcl/AAAAAAAAAvw/B1jX1oDBwfc/s400/flor+cheirosa.jpg (em 23/04/2004)

Nome popular de *Spiranthera odoratissima* St. Hil.

A espécie *Spiranthera odoratissima* é conhecida popularmente como manacá.

Usos na medicina tradicional

Spiranthera odoratissima é usada na medicina popular para o tratamento de diversas doenças como: sífilis, reumatismo, infecções hepáticas, retenção urinária, dores abdominais, gota e acne (RIBEIRO *et al.*, 2005).

Descrição botânica de *Spiranthera odoratissima*

Arbusto pequeno, 5 cm de altura; folha aromática, composta com 3 folíolos, glabros, elípticas, 4 a 7 cm de comprimento, 2,5 a 4 cm de largura ápice acuminado, pecíolo longo 4 a 6 cm de comprimento; flor branca, aromática; fruto cápsula carpidiforme. Tipicamente do Cerrado sensu stricto.

Estudos morfológicos *Spiranthera odoratissima*

Na literatura foi encontrado um trabalho que descreve a atividade antiinflamatória do extrato etanólico da raiz de *Spiranthera odoratissima* (MATOS *et al.*, 2004).

Compostos isolados de *Spiranthera odoratissima*

Foram isolados das raízes de *Spiranthera odoratissima* dois limonóides inéditos e limonina, três alcalóides furoquinolínicos: dictamina, γ -fagarina e esquimianina, três alcalóides β -indoloquinazolínicos: rutaecarpina, evodiamina e 1-hidroxitrutaecarpina, uma cumarina: aurapteno, e o β -sitosterol (RIBEIRO *et al.*, 2005). Do extrato hexânico das folhas foram isolados as cumarinas aurapteno, osthol e braylin, e os alcalóides furoquinolínicos γ -fagarina e skimmianine (FREITAS *et al.*, 2003).

1.9.10- Família Vochysiaceae

1.9.10.1- Espécies da família Vochysiaceae e compostos isolados com atividade antifúngica

A literatura não descreve trabalhos com espécies da família Vochysiaceae, que tenham sido submetidas a testes sobre fungos e que tenham compostos antifúngicos isolados.

1.9.10.2- Espécie da família Vochysiaceae que é tratada nesse trabalho

- *Salvertia convallariaeodora* St. Hil.



Figura 19 – Foto de *Salvertia convallariaeodora* St. Hil.

Nome popular de *Salvertia convallariaeodora* St. Hil.

O nome popular dessa espécie é colher de vaqueiro, folha larga, bananeira do campo, Gonçalo-alves, moliana ou pau de arára (CORRÊA, 1984)

Uso popular

A madeira de *S. convallariaeodora* é utilizada na carpintaria e caixotaria (CORRÊA, 1984).

Descrição morfológica de *Salvertia convallariaeodora* St. Hil.

É uma árvore alta piramidau, erecta, às vezes tortuosa, com ramos espessos divaricados e mais ou menos verticilados; folhas grandes pecioladas, obovadas, obtusas, 30 centímetros de comprimento e 15 centímetros de largura, coriáceas, peninervadas, com coloração verde-amareladas e piloso-ferrugineas. Flores hermafroditas, irregulares, brancas ou róseas, muito aromáticas (odor de convalaria), com 5 sépalas e 5 pétalas, dispostas em grandes panículas terminais revestidas de espessa camada de tomento ferrugineo. O fruto é em cápsula trigonal, três valvares e três loculares (CORRÊA, 1984).

Dados adicionais

Na região de Cerrado, em Carolina no Estado do Maranhão - Brasil, a espécie *S. convallariaeodora* juntamente com outras seis espécies representam quase a metade do volume arbóreo da área que será inundada para a construção de uma hidrelétrica no rio Tocantins (DE MEDEIROS *et al.*, 2008).

Estudos biológicos e compostos isolados de *Salvertia convallariaeodora*

A literatura não relata à presença de trabalhos de estudos biológicos e de isolamento de compostos de *S. convallariaeodora*.

2- OBJETIVOS

2.1- GERAL

Avaliar a atividade de extratos de plantas da medicina tradicional do Bioma Cerrado sobre fungos patogênicos aos seres humanos.

2.2- ESPECÍFICOS

- Realizar uma triagem inicial para determinar os extratos vegetais potencialmente ativos sobre as leveduras *Candida albicans* e *Candida parapsilosis* e os dermatófitos *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporum gypseum* e *Microsporum canis*.

- Avaliar a atividade dos extratos mais promissores sobre 10 isolados de fungos filamentosos e 8 de leveduras pelo teste de perfuração em ágar e determinação da concentração inibitória mínima (CIM).

3- MATERIAL E MÉTODOS

3.1- COLETA DO MATERIAL VEGETAL E PRODUÇÃO DOS EXTRATOS BRUTOS

As plantas foram coletadas no bioma Cerrado, no entorno de Brasília/DF e identificadas pelo botânico Prof. Dr. José Elias de Paula, do Departamento de Botânica/UnB (Figura 20). Uma exsicata de cada exemplar vegetal foi depositada no Herbário da Universidade de Brasília, nominado pela sigla UB.

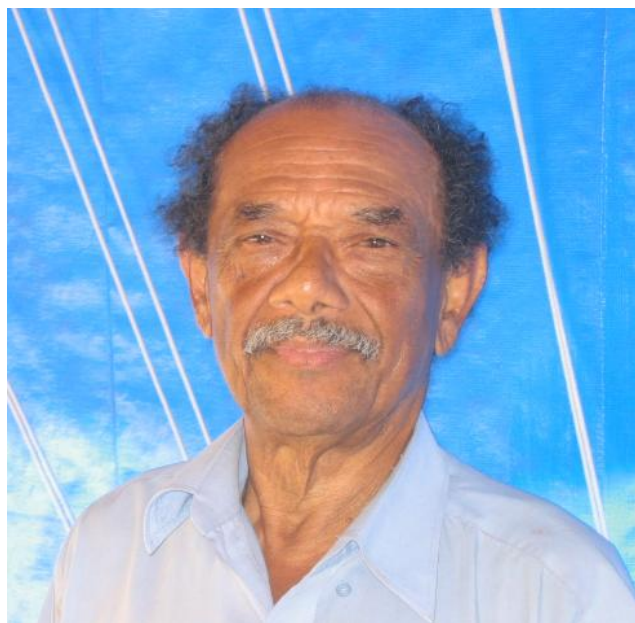


Figura 20 – Prof. José E. de Paula, botânico responsável pela identificação e coleta das espécies vegetais.

As espécies vegetais coletadas são encaminhadas para o Laboratório Prof. José Elias de Paula, que é o anexo do Laboratório de Farmacognosia da Universidade de Brasília, para realização dos procedimentos de separação dos órgãos vegetais (folha, casca e madeira do caule e da raiz). Em seguida, os órgãos são submetidos ao processo de dessecação e estabilização, em condições de temperatura ambiente, ao abrigo do sol e local arejado (Figura 21a).



Figura 21a – Dessecação e estabilização dos diferentes órgãos vegetais.

21b – Moinho de facas utilizado na pulverização dos órgãos vegetais

Após esse procedimento, os órgãos são pulverizados em moinho de facas (Figura 21b), e então encaminhados para o Laboratório de Farmacognosia da Universidade de Brasília. Cada órgão pulverizado é submetido ao processo de extração por maceração (Figura 22a), com os solventes de diferentes polaridades: hexano, acetato de etila e etanol. O material pulverizado é pesado e é utilizada a proporção volumétrica correspondente a duas partes de solvente. A maceração ocorre por contatos múltiplos, onde durante quatro semanas, semanalmente realiza-se a filtração seguida da renovação do solvente (Figura 22b). A solução extrativa obtida pela filtração é concentrada em rota- evaporador sob pressão reduzida à temperatura de 40 °C (Figura 22c). O solvente residual é eliminado utilizando um soprador térmico (Figura 22d). O extrato bruto obtido é depositado no Banco de Extratos de Plantas do Bioma Cerrado, registrado na Comissão de Gestão do Patrimônio Genético do Ministério do Meio Ambiente - CGEN/MMA processo nº 02000.002272/2006-73, mantido a -20 °C (Figura 22e).



Figura 22 – Processo de extração por maceração, (b) Filtração para a obtenção da solução da solução extrativa, (c) Concentração em rota-evaporador, (d) Dessecação em soprador térmico e (e) Armazenamento do extrato bruto a -20 °C.

3.2- AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA

3.2.1- Teste de perfuração em ágar

O método de perfuração em ágar (adaptado de Kirby-Bauer, 1996) foi utilizado para avaliação da atividade dos extratos vegetais. Como o nome indica, são

realizadas perfurações no ágar contido na placa de Petri, criando cavidades, onde são adicionadas as amostras diluídas

3.2.2- Fungos utilizados para realização dos testes

Os fungos utilizados para avaliação da atividade dos extratos brutos foram fornecidos pelo CEMM (Centro Especializado em Micologia Médica) da Universidade Federal do Ceará. Sendo duas cepas de leveduras *American Type Culture Collection* (ATCC) e quatro isolados clínicos de fungos filamentosos (Tabela 6). O teste de triagem foi realizado em duplicata.

Tabela 6 – Fungos utilizados na avaliação da atividade dos extratos brutos, no teste de perfuração em ágar.

| Fungo | Tipo | Nominação para os testes |
|---|-------------|--------------------------------------|
| <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 | Levedura | <i>Candida albicans</i> I |
| <i>Candida parapsilosis</i> ATCC 22019 | Levedura | <i>Candida parapsilosis</i> I |
| <i>Microsporum canis</i> II | Filamentoso | <i>Microsporum canis</i> I |
| <i>Microsporum gypseum</i> 533 | Filamentoso | <i>Microsporum gypseum</i> I |
| <i>Trichophyton rubrum</i> 4218 | Filamentoso | <i>Trichophyton rubrum</i> I |
| <i>Trichophyton mentagrophytes</i> 1931 | Filamentoso | <i>Trichophyton mentagrophytes</i> I |

Os extratos brutos que apresentaram halo de inibição maior ou igual a 28 mm foram submetidos a novos testes de perfuração em ágar sobre os mesmos fungos fornecidos pelo CEMM (Tabela 6) e sobre isolados clínicos fornecidos pela Prof^a. Dr^a. Maria do Rosário Rodrigues Silva, do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás (Tabela 7). Esses mesmos extratos foram também submetidos ao teste de microdiluição em caldo. O teste de perfuração em ágar foi feito em triplicata enquanto o teste de microdiluição em duplicata.

Tabela 7– Fungos utilizados na reavaliação da atividade dos extratos brutos, que na triagem preliminar apresentaram halo ≥ 28 mm sobre um dos fungos avaliados

| Fungo | Tipo | Nominação para os testes |
|---|-------------|---|
| <i>Candida albicans</i> 102 | Levedura | <i>Candida albicans</i> II |
| <i>Candida glabrata</i> 44 | Levedura | <i>Candida glabrata</i> |
| <i>Candida krusei</i> 174 | Levedura | <i>Candida krusei</i> |
| <i>Candida parapsilosis</i> 5 | Levedura | <i>Candida parapsilosis</i> II |
| <i>Cryptococcus neoformans</i> var. <i>gatti</i> BVG 01 | Levedura | <i>Cryptococcus neoformans</i> var. <i>gatti</i> |
| <i>Cryptococcus neoformans</i> var. <i>neoformans</i> L1 | Levedura | <i>Cryptococcus neoformans</i> var. <i>neoformans</i> |
| <i>Microsporium canis</i> 25 | Filamentoso | <i>Microsporium canis</i> II |
| <i>Microsporium canis</i> bre | Filamentoso | <i>Microsporium canis</i> III |
| <i>Microsporium gypseum</i> padrão | Filamentoso | <i>Microsporium gypseum</i> II |
| <i>Trichophyton mentagrophytes</i> 09 | Filamentoso | <i>Trichophyton mentagrophytes</i> II |
| <i>Trichophyton rubrum</i> 8 | Filamentoso | <i>Trichophyton rubrum</i> II |
| <i>Trichophyton rubrum</i> 6 | Filamentoso | <i>Trichophyton rubrum</i> III |

3.2.3- Preparação do meio de cultura do fungo

Para a realização do teste foi utilizado o meio ágar batata dextrose (Acumedia®). O meio desidratado (39 g) é reconstituído com água destilada, para se preparar 1 L de meio. Para tal coloca-se o meio desidratado em um béquer e adiciona-se cerca de 90% do volume de água necessário. Em seguida, leva-se ao aquecimento, com o auxílio de uma manta aquecedora sobre agitação constante até solubilização completa visualizada pela transparência da solução. Ao final dessa etapa o conteúdo do béquer é transferido para uma proveta e completa-se o volume para 1 L com água destilada, para então vertê-lo em um erlenmeyer, tampá-lo com algodão e autoclavá-lo por 15 min entre 121 e 127 °C (Figura 23).



Figura 23 – Preparação do meio ágar batata dextrose.

3.2.4- Preparação das placas de Petri com o meio ágar batata dextrose

As placas de Petri de vidro, com 90 mm diâmetro são empacotadas com papel pardo, formando pilhas de no máximo cinco placas sobrepostas, e em seguida são autoclavadas a 121 - 127 °C, por 15 min e colocadas para secar na estufa a 60 °C. Em uma capela de fluxo laminar as placas secas são desembulhadas e então adiciona-se cerca de 25 mL de meio autoclavado (Figura 24). As placas ficam por 3 min destampadas dentro da capela, para diminuir a formação de água de condensação na tampa, evitando uma possível contaminação. Após, as placas são tampadas e aguarda-se a solidificação do meio para embrulhá-las em papel filme de policloreto de vinila (PVC). As placas produzidas são acondicionadas em geladeira sobre temperatura 4-8 °C, com prazo máximo de utilização de 2 semanas. Em caso de contaminação a mesma é descartada.

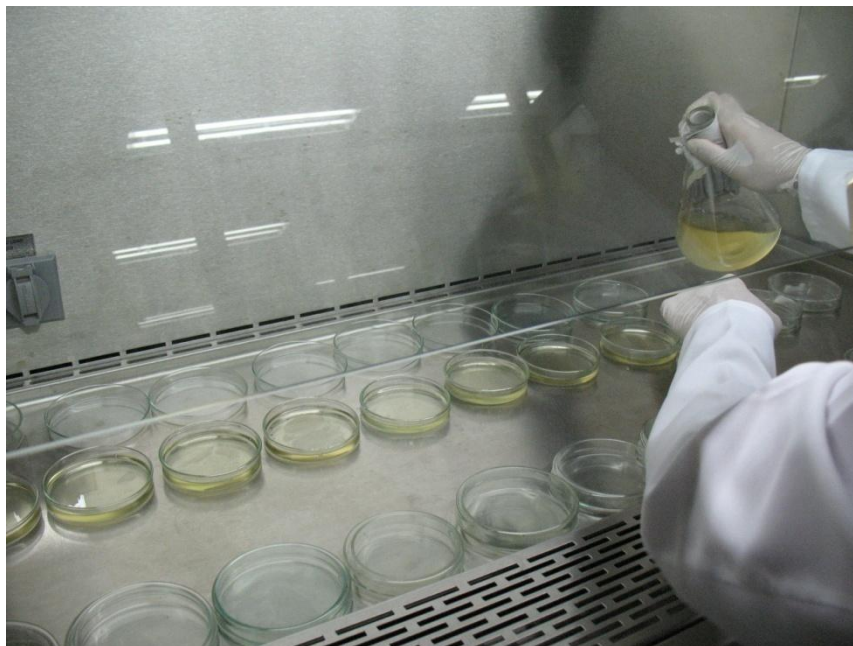


Figura 24 – Preparação das placas de Petri com o meio ágar batata dextrose

3.2.5- Realização das perfurações no ágar

O ágar contido nas placas de Petri é perfurado no dia da realização do teste (Figura 25). Para realizar a perfuração as placas são abertas próximas ao bico de Busen e com a pipeta Pasteur faz-se as escavações de 6 mm de diâmetro, sendo no máximo 5 escavações por placa. As escavações devem ser espaçadas para evitar que ocorra a fusão de halos, o que prejudicaria a leitura dos resultados. Em seguida a placa é tampada, rotulada à caneta em sua base, especificando o poço amostra, poço controle, e o fungo que será inoculado na placa.



Figura 25 – Procedimento de perfuração na placa de Petri contendo meio ágar batata dextrose solidificado

3.2.6- Produção do inóculo de leveduras

Os fungos são colocados para crescer em meio de ágar batata dextrose em estufa à 35 °C, por um período de 48 h. Para obtenção do inóculo com o número necessário de estruturas jovens, ou seja, em fase logarítma de crescimento é feito uma subcultura/repique, 48 h antes da realização do teste de avaliação da atividade das amostras. Para tal, o fungo é retirado do meio, com o auxílio de uma alça de platina e transferido para um tubo de ensaio contendo solução salina estéril 0,85%, até que a suspensão alcance o grau 0,5 na escala de McFarland, ou seja, aproximadamente 10^8 ou 10^6 células por mL. Ao final dessa etapa temos o inóculo pronto para uso (Figura 26).



Figura 26 – Produção do inóculo de leveduras

3.2.7- Produção do inóculo de fungos filamentosos

Os fungos filamentosos são colocados para crescer em meio de ágar batata dextrose em estufa à 35 °C, por um período de 5 a 7 dias. O inóculo é produzido vertendo-se cerca de 5 mL de solução estéril 0,85% no tubo de ensaio contendo o fungo, e raspando-se suavemente a superfície do fungo, com uma alça de platina, até que a suspensão adquira o grau de turbidez de 0,5 na escala de McFarland (Figura 27). Esse procedimento permite recuperar as estruturas de reprodução do fungo. A suspensão é então devolvida ao tubo de ensaio que continha a salina e verificado sobre o grau de turbidez. A subcultura/repique dos fungos filamentosos é feita 7 dias antes da realização do teste de avaliação da atividade das amostras.

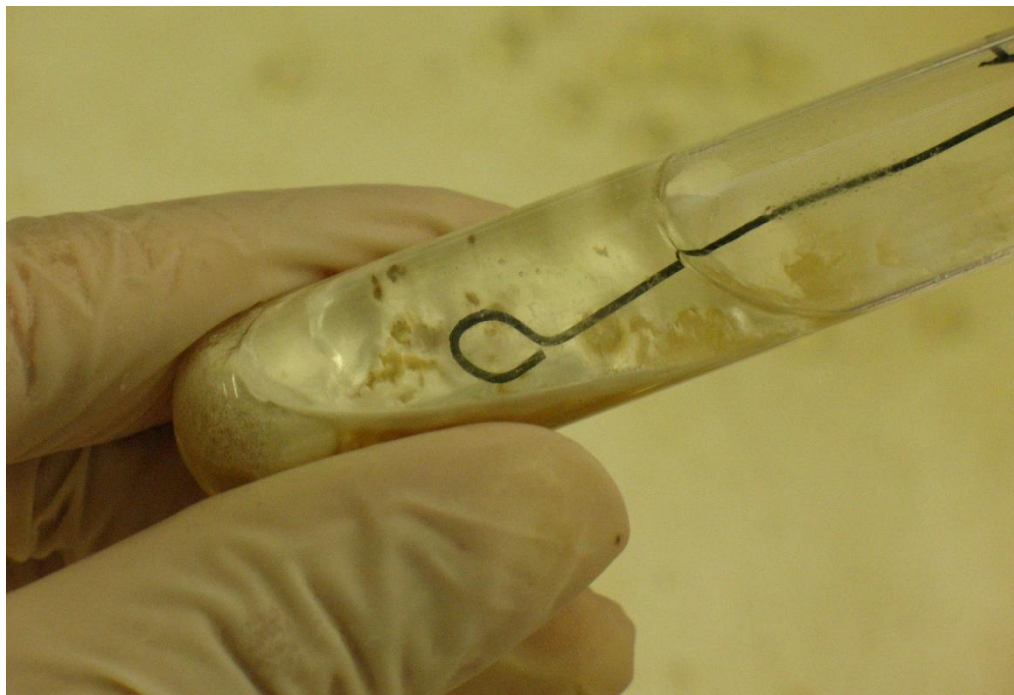


Figura 27 – Produção do inóculo de fungos filamentosos

3.2.8- Inoculação do fungo

A inoculação dos fungos, tanto leveduras quanto filamentosos, ocorre em uma capela de fluxo laminar. Mergulha-se um swab estéril na suspensão produzida, destampa-se a placa de Petri, contendo o meio sólido perfurado, e com movimentos oscilatórios esfrega-se o swab em três direções, virando a placa em cerca de 30° a cada troca de direção. Ao final esfrega-se o swab na borda da placa de Petri e tampa-se (Figura 28).



Figura 28 – Inoculação do fungo na placa da Petri

3.2.9- Preparo dos extratos brutos para o teste de avaliação da atividade

Os extratos de plantas são testados na concentração de 100 mg/mL no teste de perfuração em ágar. O diluente utilizado, dimetilsulfóxido (DMSO) é previamente autoclavado, a fim de reduzir possível contaminação. O DMSO é adicionado ao *eppendorf* contendo o extrato, previamente pesado, em ambiente estéril utilizando uma pipeta automática. Em seguida, os *eppendorfs* são agitados com o auxílio do agitador de tubos Vórtex até a completa dissolução. Caso não ocorra a completa dissolução, os *eppendorfs* são levados ao banho-maria a 40 °C por 10 min, seguido de nova agitação. Os *eppendorfs* são armazenados a -20 °C e descongelados no dia de realização do teste.

3.2.10- Preparação dos controles positivos e negativos

Os controles positivos utilizados para os testes com as leveduras foram o itraconazol e fluconazol. Para os fungos filamentosos (dermatófitos) utiliza-se somente o itraconazol, pois o fluconazol não possui espectro de ação contra estes. O diluente do itraconazol é o DMSO e do fluconazol é água deionizada. Ambos os antifúngicos após a completa dissolução foram filtrados em filtro Millipore 0,22 µm.

Os controles positivos são preparados na concentração de 10 µg/mL, e armazenados a -20 °C por período máximo de três meses. O controle negativo é o DMSO estéril na concentração de 100%.

3.2.11- Adição das amostras e dos controles positivos e negativo

As placas de Petri, após o inóculo dos diferentes fungos são abertas na capela de fluxo laminar, para adição de 50 µL dos extratos brutos na concentração de 100 mg/mL, dos controles positivos na concentração de 10 µg/mL, e do controle negativo na concentração de 100% (Figura 29). Em seguida as placas são agrupadas por fungo e em no máximo cinco placas por pilha. As placas superiores de cada grupo identificam a hora do término do ensaio, a data de realização, e a data e hora da leitura da placa. As pilhas são envolvidas com filme PVC.

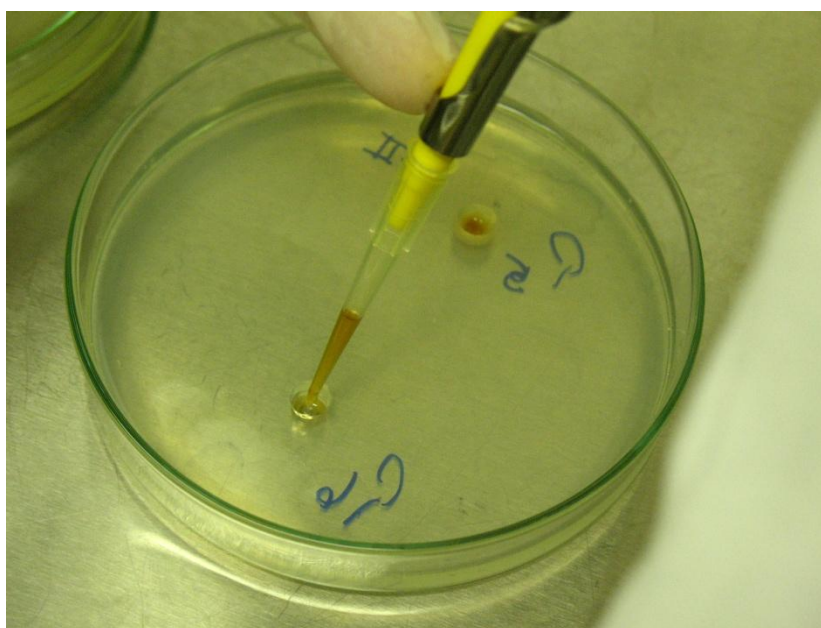


Figura 29 – Adição das amostras e dos controles positivos e negativo nas placas de Petri contendo os diferentes fungos

3.2.12- Incubação das placas de Petri contendo as amostras em teste

As placas empilhadas e embaladas em filme PVC são colocadas em estufa à 35 °C (Figura 30). O período de incubação das leveduras é de 48 h, enquanto o de fungos filamentosos é de 5 dias.



Figura 30 – Incubação das placas de Petri, contendo as amostras em teste

3.2.13- Leitura dos resultados

Após o término do período de incubação, as placas de Petri são retiradas da estufa e desembrulhadas. O diâmetro dos halos formados são medidos com uma régua milimetrada (Figura 31). Para a medição é considerado somente halos limpos, ou seja, que não apresentem em seu interior nenhum crescimento de fungos. Os resultados foram analisados utilizando o programa Excel[®] da Microsoft[®].

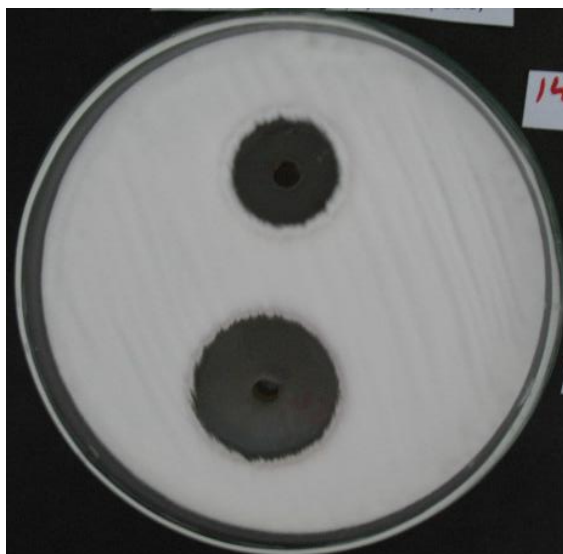


Figura 31 – Leitura dos resultados da atividade das amostras, através da medição dos halos de inibição, com o auxílio de uma régua milimetrada

3.3- TESTE DE MICRODILUIÇÃO – DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM)

O teste de microdiluição quantifica a atividade antifúngica das amostras e controles determinando a menor concentração capaz de inibir o crescimento do fungo. A metodologia adotada para a realização do teste de microdiluição são os protocolos do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Para os testes em leveduras utiliza-se o protocolo M27-A2 e para os fungos filamentosos M38-A.

3.3.1- Preparação das amostras para os testes de microdiluição

No teste de microdiluição a solução dos extratos brutos diluídos em DMSO à 100 mg/mL é diluída em RPMI, até a obtenção da concentração de 4000 µg/mL, e concentração final de DMSO inferior a 5% (v/v).

3.3.2- Preparação dos controles positivos e negativos

Os controles positivos utilizados para os testes com as leveduras são o itraconazol e fluconazol. Para os fungos filamentosos utiliza-se somente o

itraconazol. O itraconazol solúvel em DMSO é preparado a 1600 µg/mL, segundo as normas do CLSI, ou seja, em uma concentração no mínimo 100 vezes maior do que a concentração a ser testada, no caso 16 µg/mL. O fluconazol solúvel em água é preparado a 640 µg/mL, segundo as normas, ou seja, no mínimo 10 vezes a maior concentração a ser testada, no caso 64 µg/mL. A concentração dos controles a serem testadas é produzida por diluição em RPMI. O controle negativo é o meio RPMI a uma concentração de 100%.

3.3.3- Preparação do meio de cultura RPMI 1640 para o teste de microdiluição

O meio utilizado é o RPMI 1640 com vermelho de fenol e sem bicarbonato de sódio. O meio desidratado (10,4 g) é reconstituído em água destilada até a obtenção de um litro de meio. Para tal adiciona-se cerca de 900 mL de água destilada em um béquer de 1000 mL, verte-se o conteúdo do envelope e agita-se com um bastão de vidro até a completa dissolução. O meio é então tamponado com ácido 3-[N-morfolino]-propoanossulfônico (MOPS) 0,165 M (6,9 g em 200 mL de água deionizada) até pH 7,0, medido com o auxílio de um potenciômetro previamente calibrado. Em seguida, adiciona água destilada, até completar um litro de meio.

Esse meio é filtrado na capela de fluxo laminar utilizando-se um sistema de filtração à vácuo com poro de membrana de 0,22 µm (Figura 32). Três alíquotas de 3 mL desse meio são colocadas na estufa à 37 °C para controle de esterilidade, permanecendo por 5 dias. Caso o meio fique turvo, este é desprezado, pois a turbidez indica crescimento de microrganismos, senão o meio é liberado para uso. Esse meio pode ser armazenado à 4 °C e tem validade de duas semanas.



Figura 32 – Filtração do meio RPMI 1640 tamponado com MOPS em um sistema à vácuo, com poro de membrana de 0,22 μm

3.3.4- Produção do inóculo de leveduras

Afim de obter o maior número de células viáveis, uma subcultura/repique das leveduras é realizada 48 h antes do teste de determinação da concentração inibitória mínima. No dia do teste, uma pequena alíquota da levedura é transferido para um tubo de ensaio contendo salina estéril 0,85%, até atingir o grau de turbidez de 0,5 na escala de McFarland. Em seguida, essa suspensão é diluída em RPMI em duas etapas. A primeira corresponde a uma solução 1:100, ou seja, uma parte da suspensão salina para 99 partes de meio RPMI, obtendo-se assim a solução intermediária. Outra diluição é realizada na proporção de 1:20, obtendo-se o inóculo, que será utilizado no teste, com uma concentração de células variando de $5,0 \times 10^2$ a $2,5 \times 10^3$ células/mL.

3.3.5- Produção do inóculo de fungos filamentosos

Uma subcultura/repique dos fungos filamentosos é realizada cinco dias antes da realização do teste de determinação da concentração inibitória mínima. No dia do teste, verte-se solução salina estéril 0,85% no tubo de ensaio contendo o fungo e utiliza-se uma alça de platina, para raspar a superfície do fungo até que adquira a turbidez de 0,5 na escala de McFarland. Recupera-se a suspensão, faz-se uma diluição em meio de RPMI, na proporção de 1:5, ou seja, uma parte da suspensão

salina para 4 partes de meio RPMI. Tal diluição resulta no inóculo que será utilizado no teste com uma concentração de células variando de $1,0 \times 10^6$ a $5,0 \times 10^6$ células/mL.

3.3.6- Procedimento do teste de microdiluição

O teste de microdiluição é realizado em placa estéril de 96 poços de fundo redondo. Inicialmente é colocado 100 μ L de meio RPMI em todos os poços da placa. Em seguida nos poços da primeira coluna, adiciona-se 100 μ L do extrato e dos controles positivos, previamente diluídos na concentração de teste. Desse modo todos os poços da primeira coluna estão com um volume de 200 μ L. Com o auxílio de uma pipeta automática com oito canais, regulada para 100 μ L é feita a diluição seriada até a coluna de número dez, desprezando-se ao final os 100 μ L restantes (Figura 33). Em seguida, adiciona-se 100 μ L do inóculo em todas as colunas com exceção da coluna doze. Desse modo a concentração do extrato no primeiro poço é de 1000 μ g/mL. A coluna onze corresponde ao controle negativo, pois contém o meio RPMI e o microrganismo. A coluna doze corresponde ao controle de esterilidade do meio, pois contém apenas o meio RPMI. As placas são tampadas e embaladas com filme PVC individualmente. As placas podem ser empilhadas em um máximo de cinco por pilha e são então incubadas em estufa à 35 °C, por 48 h no caso das leveduras e por 5 dias no caso dos fungos filamentosos (Figura 34).

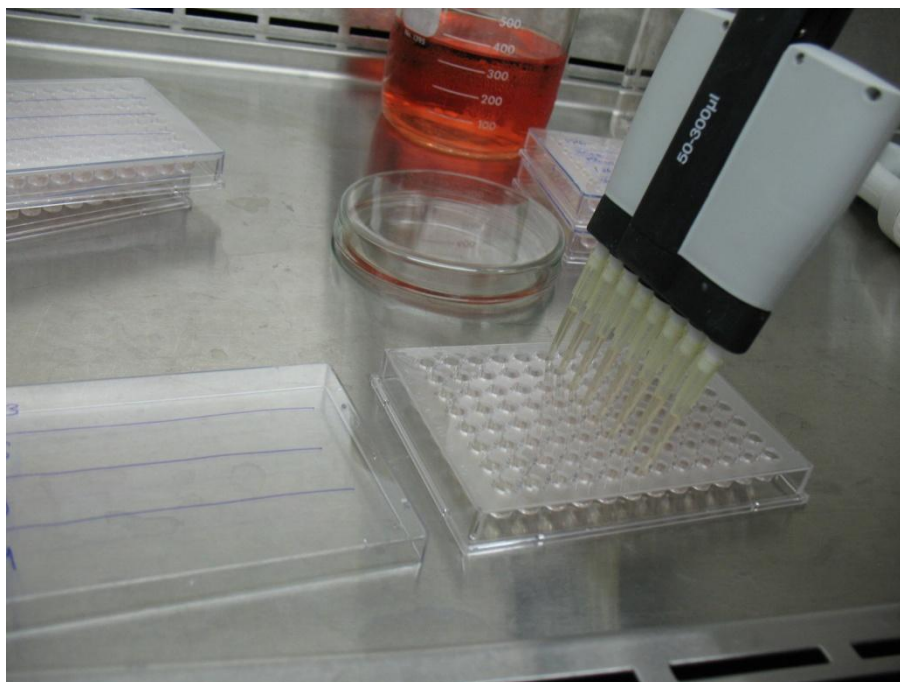


Figura 33 – Diluição seriada com pipeta de oito canais



Figura 34 – Incubação das placas do teste de determinação da concentração inibitória mínima (CIM)

3.3.7- Leitura dos resultados da concentração inibitória mínima (CIM)

A leitura do resultado é facilmente feita visualmente da direita para a esquerda, observando o crescimento do fungo no poço. O primeiro poço onde não é observado o crescimento do fungo é considerado o valor do CIM. Em caso de inibição do crescimento do fungo em todos os poços é realizado um novo teste começando de uma concentração menor.

4- RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na literatura são relatados estudos conduzidos com extratos de plantas avaliando-se atividade antifúngica (SHAI *et al.*, 2008; BATAWILA *et al.*, 2005). Para auxiliar a busca de novos agentes terapêuticos, uma das técnicas utilizadas é o método etnofarmacológico, que consiste em se pesquisar plantas utilizadas na medicina tradicional. MASOKO & EKOFF (2006) estudaram espécies do gênero *Combretum* da família Combretaceae utilizados tradicionalmente na Ásia e na África, para o tratamento das mais diversas enfermidades, dentre elas as micoses. O estudo evidenciou 26 espécies da medicina tradicional com atividade antifúngica.

Neste trabalho utilizaram-se os testes antifúngicos de perfuração em ágar e de microdiluição. A metodologia de perfuração em ágar, quando comparada com outras metodologias de difusão em ágar (cilindros de aço e disco de papel), mostrou-se mais adequada para avaliação de extratos brutos, por ser mais reprodutível. Porém a melhor técnica para se avaliar a atividade antifúngica é a técnica de microdiluição, que determina a concentração inibitória mínima (CIM) (STEENKAMP *et al.*, 2007; ALVES *et al.*, 2008; OSTROSKY *et al.*, 2008). A técnica de perfuração em ágar apresenta menores custos e maior praticidade, quando comparada à técnica de microdiluição, justificando desse modo a triagem inicial pela técnica de perfuração em ágar.

Foi realizada a investigação da atividade antifúngica de 81 extratos brutos, oriundos de 14 espécies, pertencentes a 11 famílias de plantas do bioma Cerrado. As famílias são: Celastraceae, Clusiaceae, Combretaceae, Dilleniaceae, Ebenaceae, Euphorbiaceae, Hippocrateaceae, Fabaceae, Malpighiaceae, Rutaceae e Vochysiaceae (Tabela 8). Os 81 extratos brutos submetidos à triagem de atividade antifúngica estão descritos na Tabela 8. A análise da atividade revelou a presença de 27 extratos ativos (Tabela 9).

Os extratos das espécies *Davilla elliptica*, *Salvertia convalhariaeadora* e *Spiranthera odoratissima* não apresentaram atividade antifúngica. Enquanto 27 extratos apresentaram atividade sobre fungos filamentosos, apenas 10 foram ativos

sobre leveduras. Os extratos acetato de etila da casca da raiz de *Byrsonima coccolobifolia*; etanólico da casca do caule de *Maprounea guianensis*; etanólico e acetato de etila da casca do caule e etanólico da madeira do caule de *Terminalia fagifolia*; etanólico da madeira do caule e etanólico da madeira da raiz de *Zanthoxylum rhoifolium* demonstraram atividade sobre todos os fungos testados (Tabela 9).

Dos 27 extratos considerados ativos pela triagem inicial, mais de 60% são oriundos do caule e quase 45% da casca do caule e casca da raiz. Em efeito, o caule e a raiz, sobretudo suas cascas estão sobre ação direta do estresse provocado por fatores externos, como ataques de fungos, bactérias, insetos, ação da água e do fogo; e em resposta produzem metabólitos secundários de defesa. Muitos estudos demonstram atividade antifúngica de extratos oriundos de casca, tais como a atividade dos extratos da casca do caule de *Combretum adenogonium* (MAREGESI *et al.*, 2008) e *Anogeissus latifolia* (GOVINDARAJAN *et al.*, 2006); e o extrato da casca do fruto de *Terminalia bellerica* (VALSARAJ *et al.*, 1997).

Dos 27 extratos ativos, mais de 70% eram de polaridade intermediária e polares. Onde 12 extratos ativos são etanólicos, 8 acetato de etila, 5 hexânicos, 1 solução hidroalcoólica e 1 diclorometânico. Estes resultados corroboram com o preparo de plantas na medicina tradicional, que utiliza principalmente água e/ou álcool. A literatura relata atividade antifúngica de extratos produzidos com solventes polares, para as espécies *Combretum molle* (BABA-MOUSSA *et al.*, 1999), *Combretum laxum* (BISOLI *et al.*, 2008) e *Guiera senegalensis* (SILVA; GOMES, 2002).

Para dar continuidade ao estudo, foi estabelecido como critério de escolha os extratos que formaram halo maior ou igual a 28 mm sobre qualquer um dos fungos testados. Baseado nesse critério, oito extratos foram selecionados: etanólico e acetato de etila da casca do caule, e etanólico da madeira do caule e da folha de *Terminalia fagifolia*; etanólico da madeira do caule e da madeira da raiz de *Zanthoxylum rhoifolium*; acetato de etila da madeira da raiz de *Diospyrus hispida* e acetato de etila da casca do caule de *Vismia decipiens*.

Tabela 8 – Espécies e extratos vegetais avaliadas quanto à atividade sobre fungos patógenos humanos

| Família | Orgão Vegetal ^a (Solvente) ^b | Habito | Ecosistema | Mês/ Ano da Coleta | Número no Herbário |
|--|--|-------------|------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Celastraceae | | | | | |
| <i>Austroplenckia populnea</i> (Reissek) Lundell | F (E, H, A); CC (E, H, A) | Árvore | Campo aberto | jun/07 | (UB) 3747 |
| Clusiaceae | | | | | |
| <i>Clusia pernambucensis</i> G. Mariz | F (H); MC (E, H, A); CC (E, H, A) | Árvore | Mata ciliar em galeria | ago/07 | (UB) 3771 |
| <i>Vismia decipiens</i> Cham. & Schltld. | MC (E, H, A); CC (H, A) | Árvore | Mata ciliar | ago/07 | (UB) 3769 |
| Combretaceae | | | | | |
| <i>Terminalia fagifolia</i> Mart. & Zmuc | F (E, H, A) MC (E); CC (E, H, A) | Árvore | Campo aberto | ago/07 | (UB) 3812 |
| Dilleniaceae | | | | | |
| <i>Davilla elliptica</i> St. Hil. | F (E, H, A) | Arbusto | Campo aberto | jun/07 | (UB) 3773 |
| Ebenaceae | | | | | |
| <i>Diospyrus hispida</i> A. DC. | MC (H, D, SH); CC (H, D, SH); MR (A); R (E, H, A) | Árvore | Campo aberto | nov/07 | (UB) 3760 |
| Euphorbiaceae | | | | | |
| <i>Croton urucurana</i> Baill. | F (SH, H); MC (SH, H); CC (E) | Árvore | Mata ciliar | mar/06 | (UB) 3813 |
| <i>Maprounea guianensis</i> Aublet | MC (E); CC (E, H, A); CR (H, A) | Árvore | Mata ciliar em galeria | ago/07 | (UB) 3772 |
| Hippocrateaceae | | | | | |
| <i>Salacia crassifolia</i> (Mart.) G. Don | CC (E, H, A); MC (E) | Árvore | Campo sujo | ago/07 | (UB) 3776 |
| Fabaceae | | | | | |
| <i>Andira humilis</i> Mart. | F (E, A) | Arbusto | Campo aberto | jun/07 | (UB) 3764 |
| Malpighiaceae | | | | | |
| <i>Byrsonima coccolobifolia</i> Kunth | MC (E); CR (E, H, A); MR (H, A) | Árvore | Campo sujo | ago/07 | (UB) 3774 |
| Rutaceae | | | | | |
| <i>Spiranthera odoratissima</i> St. Hil. | F (E, H, A); R (E, H, A) | Sub-arbusto | Campo aberto | out/06 | (UB) 3768 |
| <i>Zanthoxylum rhoifolium</i> Lam. | MC (E, H, A); CR (H, A); MR (E, H, A) | Árvore | Mata ciliar | ago/07 | (UB) 3770 |
| Vochysiaceae | | | | | |
| <i>Salvertia convalhariaeadora</i> St. Hil. | F (E, H, A); MC (E, H, A) | Árvore | Campo aberto | ago/07 | (UB) 3777 |

Orgão vegetal^a - F: Folha; CC: Casca do caule; MC: Madeira do caule; MR: Madeira da raiz; R: Raiz (casca e madeira da raiz); CR: Casca da raiz

Solvente^b - H: Hexano; D: Diclorometano; A: Acetato de etila; E: Etanol; SH: Solução hidroalcoólica 90%

Tabela 9 – Halos de inibição resultantes da triagem dos extratos no teste de perfuração em ágar, expressos em milímetros

| Espécie | <i>Microsporium gypseum</i> | <i>Trichophyton rubrum</i> | <i>Microsporium canis</i> | <i>Trichophyton mentagrophytes</i> | <i>Candida albicans</i> | <i>Candida parapsilosis</i> |
|--|-----------------------------|----------------------------|---------------------------|------------------------------------|-------------------------|-----------------------------|
| Órgão ^a (Solvente) ^b | I | I | I | I | I | I |
| <i>A. humilis</i> | | | | | | |
| F (A) | - | - | 15 | - | - | - |
| F (E) | - | - | - | - | - | - |
| <i>B. coccolobifolia</i> | | | | | | |
| MC (E) | - | 12 | - | - | - | - |
| MR (A) | - | - | - | - | - | - |
| MR (H) | - | 9 | - | 10 | - | - |
| CR (A) | 23 | 27 | 25 | 27 | 15 | 15 |
| CR (H) | - | - | - | - | - | - |
| CR (E) | - | - | - | - | - | - |
| <i>C. pernambucensis</i> | | | | | | |
| MC (E) | 15 | 15 | 15 | 15 | - | - |
| MC (H) | - | - | - | - | - | - |
| MC (A) | - | - | - | - | - | - |
| F (E) | - | - | - | - | - | - |
| CC (H) | - | - | - | - | - | - |
| CC (A) | - | - | - | - | - | - |
| CC (E) | 15 | 21 | 21 | 17 | - | - |
| <i>M. guianensis</i> | | | | | | |
| MC (E) | - | - | - | - | - | - |
| CC (A) | - | - | - | - | - | - |
| CC (H) | - | - | - | - | - | - |
| CC (E) | 11 | 20 | 11 | 22 | 11 | 12 |
| CR (H) | - | - | - | - | - | - |
| CR (A) | - | - | - | - | - | - |
| <i>A. populnea</i> | | | | | | |
| CC (E) | 21 | 21 | 25 | 17 | - | - |
| CC (A) | 11 | 15 | - | 12 | - | - |
| CC (H) | - | - | - | - | - | - |
| F (E) | - | - | - | - | - | - |
| F (A) | - | - | - | - | - | - |
| F (H) | - | - | - | - | - | - |
| <i>S. crassifolia</i> | | | | | | |
| CC (E) | - | 12 | - | 18 | - | - |
| CC (H) | - | - | - | - | - | - |
| CC (A) | - | - | - | - | - | - |
| MC (E) | - | - | - | - | - | - |
| <i>T. fagifolia</i> | | | | | | |
| F (E) | - | 24 | 12 | 28 | - | - |
| F (H) | - | - | - | - | - | - |
| F (A) | - | - | - | - | - | - |

Tabela 9 – Halos de inibição resultantes da triagem dos extratos no teste de perfuração em ágar, expressos em milímetros (continuação)

| Espécie | <i>Microsporium gypseum</i> | <i>Trichophyton rubrum</i> | <i>Microsporium canis</i> | <i>Trichophyton mentagrophytes</i> | <i>Candida albicans</i> | <i>Candida parapsilosis</i> |
|--|-----------------------------|----------------------------|---------------------------|------------------------------------|-------------------------|-----------------------------|
| Órgão ^a (Solvente) ^b | | | | | | |
| <i>T. fagifolia</i> (continuação) | | | | | | |
| CC (E) | 27 | 32 | 27 | 34 | 15 | 17 |
| CC (A) | 28 | 34 | 32 | 30 | 15 | 20 |
| CC (H) | - | - | - | - | - | - |
| MC (E) | 20 | 30 | 30 | 30 | 15 | 15 |
| <i>V. decipiens</i> | | | | | | |
| MC (E) | 12 | 18 | - | - | - | - |
| MC (H) | - | - | - | - | - | - |
| MC (A) | - | - | - | - | - | - |
| CC (A) | 18 | 29 | 26 | 22 | - | - |
| CC (H) | - | - | - | - | - | - |
| <i>D. hispidia</i> | | | | | | |
| R (H) | 12 | 22 | - | - | - | - |
| R (E) | - | - | - | - | - | - |
| R (A) | - | - | - | - | - | - |
| MR (A) | 20 | 30 | 32 | 28 | - | - |
| MC (D) | 12 | 12 | - | 12 | - | - |
| MC (H) | - | - | - | - | - | - |
| MC (SH) | - | - | - | - | - | - |
| CC (SH) | 12 | 11 | - | - | - | - |
| CC (D) | - | - | - | - | - | - |
| CC (H) | - | - | - | - | - | - |
| <i>Z. rhoifolium</i> | | | | | | |
| MC (E) | 28 | 33 | 40 | 37 | 22 | 20 |
| MC (H) | - | - | 20 | 12 | - | - |
| MC (A) | - | - | - | - | - | - |
| CR (H) | 21 | 22 | 20 | 20 | 8 | - |
| CR (A) | 10 | 10 | 23 | 10 | 10 | - |
| MR (E) | 43 | 44 | 48 | 44 | 21 | 21 |
| MR (H) | - | - | - | - | - | - |
| MR (A) | 12 | 12 | - | 9 | 12 | 12 |
| <i>C. urucurana</i> | | | | | | |
| F (SH) | - | - | - | - | - | - |
| F (H) | - | - | - | - | - | - |
| CC (E) | - | - | - | - | - | - |
| MC (SH) | - | - | - | - | - | - |
| MC (H) | 12 | 9 | - | 9 | - | - |
| <i>D. elliptica</i> | | | | | | |
| F (E) | - | - | - | - | - | - |
| F (H) | - | - | - | - | - | - |
| F (A) | - | - | - | - | - | - |

Tabela 9 – Halos de inibição resultantes da triagem dos extratos no teste de perfuração em ágar, expressos em milímetros (continuação)

| Espécie | <i>Microsporium gypseum</i> | <i>Trichophyton rubrum</i> | <i>Microsporium canis</i> | <i>Trichophyton mentagrophytes</i> | <i>Candida albicans</i> | <i>Candida parapsilosis</i> |
|--|-----------------------------|----------------------------|---------------------------|------------------------------------|-------------------------|-----------------------------|
| Órgão ^a (Solvente) ^b | I | I | I | I | I | I |
| <i>S. convalhariaeadora</i> | | | | | | |
| F (E) | - | - | - | - | - | - |
| F (H) | - | - | - | - | - | - |
| F (A) | - | - | - | - | - | - |
| MC (E) | - | - | - | - | - | - |
| MC (H) | - | - | - | - | - | - |
| MC (A) | - | - | - | - | - | - |
| <i>S. odoratissima</i> | | | | | | |
| F (E) | - | - | - | - | - | - |
| F (H) | - | - | - | - | - | - |
| F (A) | - | - | - | - | - | - |
| R (E) | - | - | - | - | - | - |
| R (H) | - | - | - | - | - | - |
| R (A) | - | - | - | - | - | - |

Órgão vegetal^a - F: Folha; MC: Madeira do caule; MR: Madeira da raiz; CR: Casca da raiz; CC: Casca do caule; R: Raiz (casca e madeira).

Solvente^b - H: Hexano; D: Diclorometano; A: Acetato de etila; E: Etanol; SH: Solução hidroalcoólica 90%.

-: Não ativo

Na tabela 10 tem-se os diâmetros dos halos de inibição formados sobre leveduras, pelos 8 extratos selecionados para dar continuidade ao estudo, por apresentarem halo de inibição ≥ 28 mm sobre um dos fungos testados. O extrato acetato de etila da madeira da raiz de *D. hispida* não apresentou a formação de halos sobre as leveduras testadas, assim como o controle positivo fluconazol e o controle negativo DMSO. Das 8 leveduras testadas o extrato acetato de etila da casca do caule de *V. decipiens* apresentou atividade somente sobre *Candida krusei*. Todos os extratos de *T. fagifolia* tiveram atividade sobre todas as leveduras testadas. O maior halo formado sobre leveduras foi pelo extrato etanólico da madeira da raiz de *Z. rhoifolium* com 31 mm de diâmetro sobre *Candida krusei*.

Os extratos que formaram halo de até 20 mm de diâmetro foram considerados ativos, e acima desse valor foram considerados muito ativos, e a não formação de halo como inativo. Sobre *C. albicans* I somente o extrato etanólico da madeira do caule de *Z. rhoifolium* foi considerado muito ativo, enquanto outros 5 extratos foram ativos (Tabela 10). Sobre *C. albicans* II dos 8 extratos testados, 5 extratos foram ativos. Na levedura *C. parapsilosis* I os extratos etanólicos da casca do caule e da

madeira do caule, acetato de etila da casca do caule de *T. fagifolia*, e etanólico da madeira da raiz de *Z. rhoifolium* foram muito ativos; enquanto os extratos etanólicos da folha de *T. fagifolia* e da madeira do caule de *Z. rhoifolium* ativos. Sobre *C. parapsilosis* II e *C. glabrata*, 2 extratos se mostraram muito ativos e outros 4 extratos foram ativos. *C. krusei* foi a levedura onde os extratos foram capazes de formar os maiores halos, sendo encontrado 6 extratos muito ativos, onde 5 apresentaram halos superiores a 25 mm de diâmetro. Sobre *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* somente o extrato acetato de etila da casca do caule de *T. fagifolia* foi muito ativo, enquanto sobre *Cryptococcus neoformans* var. *gatti* os extratos etanólicos da casca do caule, da folha e da madeira do caule de *T. fagifolia* foram muito ativos.

O extrato acetato de etila da casca do caule de *T. fagifolia*, quando comparado com os outros extratos testados, foi o extrato que formou a maior quantidade de halos muito ativos sobre as leveduras, seguido dos extratos etanólicos da casca do caule e da madeira do caule de *T. fagifolia*, ambos com 4 halos muito ativos, extrato etanólico da madeira da raiz de *Z. rhoifolium* com 3 halos muito ativos, extrato etanólico da folha de *T. fagifolia* com 2 halos muito ativos e extrato etanólico da madeira do caule de *Z. rhoifolium* com 1 halo muito ativo sobre as oito leveduras testadas (Tabela 10).

Tabela 10 - Halo de inibição sobre leveduras, expressos em milímetros \pm desvio padrão de 8 extratos selecionados no teste de perfuração em ágar, por apresentarem halo ≥ 28 mm sobre um dos fungos avaliados. Experimento realizado em triplicata.

| Espécie | <i>Candida albicans</i> I | <i>Candida albicans</i> II | <i>Candida parapsilosis</i> I | <i>Candida parapsilosis</i> II | <i>Candida glabrata</i> | <i>Candida krusei</i> | <i>Criptococcus neoformans</i> var. <i>neoformans</i> | <i>Criptococcus neoformans</i> var. <i>gatti</i> |
|--|------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-------------------------|-----------------------|---|--|
| Órgão ^a (Solvente) ^b | | | | | | | | |
| <i>Terminalia fagifolia</i> | | | | | | | | |
| CC (E) | 16,33 \pm 1,15 | 16,66 \pm 1,52 | 21,33 \pm 4,04 | 23,33 \pm 2,88 | 15,66 \pm 0,57 | 26,3 \pm 1,53 | 19,66 \pm 0,57 | 30 \pm 2 |
| CC (A) | 14,33 \pm 3,21 | 16,66 \pm 1,52 | 21 \pm 1 | 26 \pm 3,60 | 22,33 \pm 2,08 | 31,7 \pm 1,53 | 24,66 \pm 0,57 | 16,33 \pm 2,88 |
| F (E) | 13,66 \pm 2,51 | 12,66 \pm 3,05 | 15,66 \pm 4,04 | 19,33 \pm 3,78 | 16,66 \pm 1,52 | 26,7 \pm 2,08 | 14,33 \pm 1,15 | 27,66 \pm 2,08 |
| MC (E) | 15 \pm 1 | 14,66 \pm 1,52 | 21 \pm 1 | 18,33 \pm 2,88 | 23,33 \pm 1,15 | 28,7 \pm 2,08 | 15,33 \pm 2,08 | 29 \pm 1 |
| <i>Diospyrus hispida</i> | | | | | | | | |
| MR (A) | - | - | - | - | - | - | - | - |
| <i>Vismia decipiens</i> | | | | | | | | |
| CC (A) | - | - | - | - | - | 16 \pm 3,61 | - | - |
| <i>Zanthoxylum rhoifolium</i> | | | | | | | | |
| MC (E) | 18 \pm 3,60 | - | 17 \pm 2,64 | 14,66 \pm 0,57 | 9,66 \pm 0,57 | 20 \pm 3 | - | - |
| MR (E) | 20,44 \pm 2,08 | 15 \pm 1 | 21,66 \pm 0,57 | 18,66 \pm 3,21 | 15,66 \pm 0,57 | 31,7 \pm 1,53 | - | 11,66 \pm 0,57 |
| Controle positivo | | | | | | | | |
| Itraconazol | - | 17 \pm 1 | 25,33 \pm 1,15 | 28,33 \pm 1,52 | - | - | 21,66 \pm 1,52 | 25,33 \pm 2,51 |
| Fluconazol | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Controle negativo | | | | | | | | |
| DMSO 100% | - | - | - | - | - | - | - | - |

Órgão vegetal^a - CC: Casca do caule; F: Folha; MC: Madeira do caule; MR: Madeira da raiz.

Solvente^b - A: Acetato de etila; E: Etanol.

DMSO: dimetilsulfóxido

- : Não ativo

Tabela 11 - Halo de inibição sobre fungos filamentosos, expressos em milímetros \pm desvio padrão de 8 extratos selecionados no teste de perfuração em ágar, por apresentarem halo ≥ 28 mm sobre um dos fungos avaliados. Experimento realizado em triplicata.

| Espécie | <i>Microsporium gypseum</i> | <i>Microsporium gypseum</i> | <i>Trichophyton rubrum</i> | <i>Trichophyton rubrum</i> | <i>Trichophyton rubrum</i> | <i>Microsporium canis</i> | <i>Microsporium canis</i> | <i>Microsporium canis</i> | <i>Trichophyton mentagrophytes</i> | <i>Trichophyton mentagrophytes</i> |
|--|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| Órgão ^a (Solvente) ^b | I | II | I | II | III | I | II | III | I | II |
| <i>Terminalia fagifolia</i> | | | | | | | | | | |
| CC (E) | 24 \pm 2,64 | 24 \pm 2,64 | 31 \pm 2,64 | 26,67 \pm 2,88 | 27,33 \pm 3,05 | 30,33 \pm 3,51 | 23,33 \pm 1,15 | 21 \pm 1,73 | 31 \pm 3,60 | 32,33 \pm 2,51 |
| CC (A) | 25 \pm 3 | 24,66 \pm 4,16 | 33,33 \pm 2,08 | 30,67 \pm 3,05 | 37,66 \pm 4,04 | 29,3 \pm 2,52 | 25,33 \pm 0,57 | 26 \pm 3,46 | 28,33 \pm 2,88 | 27 \pm 3,60 |
| F (E) | 25,33 \pm 0,57 | 27 \pm 1,73 | 33,33 \pm 1,15 | 29 \pm 2,64 | 31,66 \pm 1,52 | 23 \pm 1 | 20,33 \pm 1,52 | 13,67 \pm 0,57 | 24,33 \pm 4,04 | 23 \pm 2,64 |
| MC (E) | 23,33 \pm 2,88 | 18,33 \pm 1,52 | 30 \pm 2 | 25,66 \pm 1,15 | 25,66 \pm 1,15 | 28 \pm 1 | 24,33 \pm 1,52 | 25,33 \pm 1,52 | 30 \pm 2 | 27,33 \pm 1,52 |
| <i>Diospyrus hispida</i> | | | | | | | | | | |
| MR (A) | 20 \pm 2 | - | 28,33 \pm 2,88 | 23,33 \pm 1,52 | - | 30,3 \pm 1,53 | 20,67 \pm 2,08 | - | 25,33 \pm 2,51 | - |
| <i>Vismia decipiens</i> | | | | | | | | | | |
| CC (A) | 14,66 \pm 3,51 | 16,33 \pm 3,51 | 28,33 \pm 2,08 | 12,66 \pm 0,57 | 17 \pm 1,73 | 23,67 \pm 2,08 | - | - | 18 \pm 3,46 | - |
| <i>Zanthoxylum rhoifolium</i> | | | | | | | | | | |
| MC (E) | 24,66 \pm 3,05 | 36,66 \pm 2,30 | 23 \pm 3 | 25,33 \pm 3,05 | 14,33 \pm 2,08 | 31 \pm 3 | 30,33 \pm 2,08 | - | 30 \pm 2 | 29 \pm 2,08 |
| MR (E) | 36 \pm 3,46 | 46 \pm 1 | 41,33 \pm 3,05 | 50,67 \pm 4,04 | 38 \pm 1 | 46,7 \pm 1,53 | - | 22,67 \pm 2,51 | 34,7 \pm 3,21 | 35 \pm 3 |
| Controle positivo | | | | | | | | | | |
| Itraconazol | 28,33 \pm 1,52 | 31,66 \pm 0,57 | 19 \pm 3,60 | 26,33 \pm 1,52 | 21 \pm 3,60 | 18,33 \pm 1,52 | - | - | 28,33 \pm 2,88 | 19,33 \pm 1,15 |
| Controle negativo | | | | | | | | | | |
| DMSO 100% | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

Órgão vegetal^a - CC: Casca do caule; F: Folha; MC: Madeira do caule; MR: Madeira da raiz.

Solvente^b - A: Acetato de etila; E: Etanol.

DMSO: Dimetilsulfóxido

- : Não ativo

Em geral os halos de inibição formados pelos 8 extratos selecionados foram maiores sobre os fungos filamentosos (Tabela 11) do que sobre leveduras (Tabela 10). Todos os 8 extratos foram capazes de formar halo de inibição sobre os fungos filamentosos testados. Similarmente a atividade sobre leveduras, todos os extratos de *T. fagifolia* formaram halo sobre todos os fungos filamentosos testados. O extrato etanólico da madeira da raiz de *Z. rhoifolium* apresentou os maiores halos de inibição sobre fungos filamentosos, alguns superiores a 45 mm de diâmetro, além de apresentar o maior halo de inibição entre os extratos selecionados, superior a 50 mm de diâmetro sobre *Trichophyton rubrum* II. O controle negativo, DMSO, não inibiu o crescimento dos fungos filamentosos, não influenciando portanto a leitura da atividade dos extratos. O itraconazol não apresentou atividade sobre os fungos *Microporum canis* II e III na concentração testada.

Todos os 8 extratos selecionados para dar continuidade ao estudos foram muito ativos sobre os dermatófitos *T. rubrum* I e *M. canis* I. Enquanto os 7 dos 8 extratos foram muito ativos sobre *M. gypseum* I e *T. rubrum* II. Nos fungos *M. gypseum* II e *T. rubrum* III, 5 extratos foram muito ativos, 2 extratos foram ativos e o extrato acetato de etila da madeira da raiz de *D. hispida* foi inativo. Dos 8 extratos, 6 foram muito ativos e 2 inativos sobre *M. canis* II e *T. mentagrophytes* II. Os extratos etanólicos da casca do caule e da madeira do caule, e acetato de etila da casca do caule de *T. fagifolia* e da madeira da raiz de *Z. rhoifolium* foram muito ativos sobre *M. canis* III. Todos os extratos foram ativos sobre *T. mentagrophytes* I, sendo 7 muito ativos e 1 ativo (Tabela 11). Os extratos etanólicos e acetato de etila da casca do caule de *T. fagifolia* foram muito ativos sobre todos os dermatófitos testados. Enquanto, os extratos acetato de etila da madeira da raiz de *D. hispida* e da casca do caule de *V. decipiens* não mostraram atividade sobre três isolados de dermatófitos.

Apesar das técnicas de microdiluição e perfuração serem úteis para a avaliação da atividade antifúngica, elas utilizam princípios diferentes e possuem aplicabilidades diferentes. A técnica de perfuração em ágar permite avaliar qualitativamente a presença de atividade antifúngica, para isso os extratos devem possuir a capacidade de se difundir do poço para o ágar, pois caso contrário não ocorrerá à formação de halo de inibição. Os extratos acetato de etila da madeira da raiz de *Diospyrus hispida* e casca do caule de *Vismia decipiens*, foram selecionados

para dar continuidade à investigação, por apresentarem halos de inibição ≥ 28 mm sobre fungos filamentosos. Esses mesmos extratos se mostraram inativos no teste de perfuração em ágar em leveduras, porém ambos apresentaram valores de CIM de $15,62 \mu\text{g/mL}$ sobre as duas leveduras (Tabela 10 e 12). Desse modo, existem extratos que foram considerados inativos na triagem realizada com a técnica de perfuração em ágar e que apresentaram atividade antifúngica importante. Na técnica de microdiluição em caldo não é necessária a capacidade de difusão do extrato para um meio sólido, uma vez que a interface é líquido-líquido, o que pode explicar os resultados obtidos.

Tabela 12 - Valores da Concentração Inibitória Mínima (CIM) sobre leveduras, em µg/mL, de 8 extratos selecionados no teste de perfuração em ágar, por apresentarem halo ≥ 28 mm sobre um dos fungos avaliados. Teste realizado em duplicata.

| Espécie | <i>Candida albicans</i> | <i>Candida albicans</i> | <i>Candida parapsilosis</i> | <i>Candida parapsilosis</i> | <i>Candida glabrata</i> | <i>Candida krusei</i> | <i>Cryptococcus neoformans</i> var. <i>neoformans</i> | <i>Cryptococcus neoformans</i> var. <i>gatti</i> |
|--|-------------------------|-------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-------------------------|-----------------------|---|--|
| Órgão ^a (Solvente) ^b | I | II | I | II | | | | |
| <i>Terminalia fagifolia</i> | | | | | | | | |
| CC (E) | 0,97 | 0,97 | 0,97 | 0,97 | 7,81 | 3,9 | 0,48 | 0,24 |
| CC (A) | 0,97 | 0,97 | 0,97 | 0,97 | 7,81 | 0,97 | 0,48 | 0,24 |
| F (E) | 1,95 | 1,95 | 1,95 | 1,95 | 7,81 | 3,9 | 1,95 | 1,95 |
| MC (E) | 0,97 | 0,97 | 0,97 | 0,97 | 3,9 | 1,95 | 0,97 | 0,97 |
| <i>Diospyrus hispida</i> | | | | | | | | |
| MR (A) | 15,62 | 62,5 | 15,62 | 15,62 | 62,5 | 7,81 | 15,62 | 7,81 |
| <i>Vismia decipiens</i> | | | | | | | | |
| CC (A) | 15,62 | 15,62 | 15,62 | 31,25 | 62,5 | 31,25 | 15,62 | 31,25 |
| <i>Zanthoxylum rhoifolium</i> | | | | | | | | |
| MC (E) | 62,5 | 125 | 125 | 125 | 500 | 31,25 | 250 | 62,5 |
| MR (E) | 62,5 | 62,5 | 31,25 | 31,25 | 125 | 7,81 | 62,5 | 15,62 |
| Controles positivos | | | | | | | | |
| Itraconazol | 0,5 | > 16 | 0,25 | 0,25 | 1 | 1 | 0,25 | 0,25 |
| Fluconazol | 1 | > 64 | 1 | 1 | 8 | 16 | 2 | 0,5 |
| Controle negativo | | | | | | | | |
| RPMI 100% | - | - | - | - | - | - | - | - |

Órgão vegetal^a - CC: Casca do caule; F: Folha; MC: Madeira do caule; MR: Madeira da raiz.

Solvente^b - A: Acetato de etila; E: Etanol.

RPMI: meio RPMI-1640 tamponado com ácido 3-[N-morfolino]propanosulfônico

- : Não ativo

Tabela 13 - Valores da Concentração Inibitória Mínima (CIM) sobre fungos filamentosos, em µg/mL, de 8 extratos selecionados no teste de perfuração em ágar, por apresentarem halo ≥ 28 mm sobre um dos fungos avaliados. Teste realizado em duplicata.

| Espécie | <i>Microsporum gypseum</i> | <i>Microsporum gypseum</i> | <i>Trichophyton rubrum</i> | <i>Trichophyton rubrum</i> | <i>Trichophyton rubrum</i> | <i>Microsporum canis</i> | <i>Microsporum canis</i> | <i>Microsporum canis</i> | <i>Trichophyton mentagrophytes</i> | <i>Trichophyton mentagrophytes</i> |
|--|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| Órgão ^a (Solvente) ^b | I | II | I | II | III | I | II | III | I | II |
| <i>Terminalia</i> | | | | | | | | | | |
| <i>faqifolia</i> | | | | | | | | | | |
| CC (E) | 31,25 | 125 | 15,62 | 31,25 | 31,25 | 3,9 | 31,25 | 500 | 31,25 | 15,62 |
| CC (A) | 125 | 125 | 125 | 31,25 | 125 | 62,5 | 7,81 | 250 | 62,5 | 31,25 |
| F (E) | 62,5 | 125 | 31,25 | 31,25 | 31,25 | 31,25 | 62,5 | 250 | 125 | 62,5 |
| MC (E) | 62,5 | 125 | 62,5 | 15,62 | 31,25 | 31,25 | 62,5 | 500 | 62,5 | 62,5 |
| <i>Diospyrus hispida</i> | | | | | | | | | | |
| MR (A) | 125 | >1000 | 125 | 15,62 | >1000 | 62,5 | 250 | >1000 | >1000 | >1000 |
| <i>Vismia decipiens</i> | | | | | | | | | | |
| CC (A) | 125 | 125 | 125 | 31,25 | 125 | 62,5 | >1000 | >1000 | >1000 | >1000 |
| <i>Zanthoxylum</i> | | | | | | | | | | |
| <i>rhoifolium</i> | | | | | | | | | | |
| MC (E) | 500 | 500 | 500 | 250 | 500 | 500 | 125 | 500 | >1000 | >1000 |
| MR (E) | 250 | 250 | 500 | 125 | 250 | 62,5 | 31,25 | 250 | >1000 | >1000 |
| Controle positivo | | | | | | | | | | |
| Itraconazol | 0,5 | 0,25 | 0,5 | 0,125 | 0,125 | 0,25 | >16 | 8 | 1 | 0,25 |
| Controle negativo | | | | | | | | | | |
| RPMI 100% | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

Órgão vegetal^a - CC: Casca do caule; F: Folha; MC: Madeira do caule; MR: Madeira da raiz.

Solvente^b - A: Acetato de etila; E: Etanol.

RPMI: meio RPMI-1640 tamponado com ácido 3-[N-morfolino]propanosulfônico

- : Não ativo

O teste de microdiluição permite avaliar a atividade antifúngica do extrato de plantas em termos quantitativos. Nesse aspecto, não existe consenso na literatura de qual valor de CIM deve ser considerado para qualificar um extrato de planta como promissor para o fracionamento. Alguns autores consideram um extrato potente quando o valor de CIM é inferior a 1000 µg/mL (WEBSTER *et al.*, 2008) enquanto outros consideram CIM < 500 µg/mL (ALGIANNIS *et al.*, 2001). Em nosso trabalho foi estabelecido como critério valor de CIM ≤ 125 µg/mL para um extrato de planta ser considerado como promissor. Extratos que apresentaram valores de CIM maiores que 125 µg/mL e menores que 1000 µg/mL foram considerados ativos, e valores acima de 1000 µg/mL foram considerados inativos.

O cálculo de CIM revelou que todos os 8 extratos selecionados por apresentarem halo de inibição ≥ 28 mm sobre algum fungo na triagem inicial, possuem potente atividade antifúngica sobre leveduras (Tabela 12), com exceção do extrato etanólico da madeira do caule de *Z. rhoifolium* sobre *C. glabrata* e *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans*. Os valores de CIM sobre as leveduras foram menores para os extratos de *T. fagifolia*, variando de 0,24 a 7,81 µg/mL. As atividades desses extratos apresentaram valores próximos e alguns valores inferiores aos controles positivos. Como por exemplo, os extratos etanólicos e acetato de etila da casca do caule de *T. fagifolia* teve valores de CIM sobre *Cryptococcus neoformans* var. *gatti* (0,24 µg/mL) similares que os controle positivos (0,25 µg/mL para itraconazol e 0,5 µg/mL para fluconazol). O extrato acetato de etila da madeira da raiz de *D. hispida* apresentou valores de CIM ≤ 62,5 µg/mL sobre *C. glabrata*, e sobre *Candida krusei* (CIM = 7,81 µg/mL) sendo mais ativo que o controle positivo fluconazol (CIM = 16 µg/mL). A levedura *C. albicans* II apresentou resistência aos controles positivos apresentando valores de CIM > 16 µg/mL para itraconazol e > 64 µg/mL para fluconazol, ou seja, valores superiores a maior concentração determinada no protocolo, que é de 16 µg/mL para itraconazol e 64 µg/mL para fluconazol. O controle negativo RPMI 100% não teve ação sobre as leveduras, não influenciando portanto a leitura dos resultados.

Sobre *C. albicans* I e *C. parapsilosis* I e II, os extratos etanólicos da casca do caule, madeira do caule e acetato de etila de *T. fagifolia* foram mais ativos que o controle fluconazol. Sobre as leveduras *C. glabrata* e *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans*, todos os 4 extratos de *T. fagifolia* apresentaram CIM inferior ao controle

fluconazol. Os controles fluconazol ($> 64 \mu\text{g/mL}$) e itraconazol ($> 16 \mu\text{g/mL}$) apresentaram valor de CIM superiores aos valores de todos os extratos de *T. fagifolia* (0,97 a $1,95 \mu\text{g/mL}$) e o extrato acetato de etila da casca do caule de *V. decipiens* ($15,62 \mu\text{g/mL}$) sobre *C. albicans* II. Sobre *C. krusei*, 6 dos 8 extratos testados apresentaram valores de CIM inferior ao controle fluconazol, sendo o extrato acetato de etila da casca do caule de *T. fagifolia* também mais ativo que o controle itraconazol. Sobre a levedura *Cryptococcus neoformans* var. *gattii*, os extratos etanólico e acetato de etila da casca do caule de *T. fagifolia* foram mais ativos que os controles positivos. Tais achados reforçam a importância desses extratos na busca de novos agentes antifúngicos. Os extratos correspondem a um conjunto de moléculas, e mesmo assim vários foram mais ou igualmente ativos aos controles positivos, que correspondem a uma única molécula isolada. Certamente, o fracionamento cromatográfico bioguiado desses extratos, permitirá o isolamento de compostos antifúngicos ainda mais ativos e em menor concentração.

A tabela 13 apresenta os valores de CIM dos 8 extratos sobre 10 isolados clínicos de fungos filamentosos. Todos os 8 extratos apresentaram potente atividade em ao menos um dos fungos filamentosos. Os extratos de *T. fagifolia* apresentaram valores de CIM menor ou igual aos outros extratos testados. Sobre os fungos *T. mentagrophytes* I e II somente os extratos de *T. fagifolia* tiveram atividade, sendo potente com valores de CIM $\leq 31,25 \mu\text{g/mL}$. O extrato acetato de etila da madeira da raiz de *D. hispida* apresentou potente atividade sobre *M. gypseum* I, *M. canis* I e *T. rubrum* I e II com valores de CIM entre 125 e $15,62 \mu\text{g/mL}$. Enquanto o extrato de *V. decipiens* teve potente atividade sobre *M. gypseum* I e II, *M. canis* I, *T. rubrum* I, II e III com valores de CIM entre 125 e $31,25 \mu\text{g/mL}$. Os extratos de *D. hispida* e *V. decipiens* não apresentaram atividade sobre *M. canis* III e *T. mentagrophytes* I e II. Apesar dos extratos de *Z. rhoifolium* apresentarem a formação de grandes halos sobre fungos filamentosos (Tabela 11), essa pronunciada atividade não se manteve no teste de determinação da concentração inibitória mínima (Tabela 13). O extrato etanólico da madeira do caule de *Z. rhoifolium* apresentou potente atividade somente sobre *M. canis* II; enquanto o extrato etanólico da madeira da raiz de *Z. rhoifolium* apresentou valores de CIM de $125 \mu\text{g/mL}$ para *T. rubrum* II, $62,5$ para *M. canis* I e $31,25$ para *M. canis* II. O fungo *M. canis* II se mostrou resistente ao controle

itraconazol com valor de CIM > 16 µg/mL. O controle negativo RPMI 100% não inibiu o crescimento dos fungos filamentosos.

Nos fungos *M. gypseum* I e *T. rubrum* I, dos 8 extratos selecionados para a continuidade dos estudos, 6 tiveram potente atividade, enquanto 2 foram ativos. A atividade antifúngica dos extratos sobre *M. gypseum* II e *T. rubrum* III de todos os extratos de *T. fagifolia* e o extrato acetato de etila da casca do caule de *V. decipiens* foram potentes, enquanto que os extratos de *Z. rhoifolium* foram ativos e o extrato acetato de etila da madeira da raiz de *D. hispida* foi inativo. Sobre os dermatófitos *T. mentagrophytes* I e II, somente os extratos de *T. fagifolia* apresentaram atividade, sendo esta potente. Nos fungos *T. rubrum* II e *M. canis* I, 7 extratos tiveram potente atividade antifúngica. Sobre o *M. canis* II, todos os extratos de *T. fagifolia* e de *Z. rhoifolium* apresentaram potente atividade. Nenhum extrato apresentou potente atividade antifúngica sobre o dermatófito *M. canis* III, sendo 6 ativos e 2 inativos.

A literatura relata atividade antifúngica de espécies da família Celastraceae do gênero *Maytenus* (ORABI *et al.*, 2001; RODRIGUEZ *et al.*, 2005; DE LÉON; MOUJIR, 2007). Nesse estudo se avaliou as atividades antifúngicas de *Austroplenckia populnea* e *Salacia crassifolia*, espécies da família Celastraceae. Os extratos etanólico e acetato de etila da casca do caule de *A. populnea* apresentaram atividade sobre os fungos filamentosos. As atividades antifúngicas desses extratos e do extrato etanólico da casca do caule de *S. crassifolia* são inéditas (Tabela 9). Na literatura, o extrato hidroalcolólico da madeira do caule de *A. populnea* é relatado por apresentar atividade sobre *C. albicans* e *C. glabrata* (ANDRADE *et al.*, 2008).

A atividade antifúngica das espécies *Clusia pernambucensis* e *Vismia decipiens* da família Clusiaceae foram avaliadas nesse trabalho. Os extratos etanólicos da madeira do caule e casca do caule de *C. pernambucensis* apresentaram atividade sobre os fungos filamentosos na triagem inicial, com halos de inibição variando de 15 a 21 mm de diâmetro (Tabela 9). Esse é o primeiro relato comprovado de atividade antifúngica no gênero *Clusia*, pois ainda não foi comprovada que a atividade antifúngica do própolis cubano deva-se a *Clusia minor* e/ou *Clusia rosea* (RUBIO *et al.*, 1999).

Dos 5 extratos de *V. decipiens* testados na triagem inicial, apenas os extratos etanólico da madeira do caule e acetato de etila da casca do caule apresentaram

atividade, sendo este último selecionado para continuidade dos estudos. A determinação de CIM demonstra potente atividade antifúngica do extrato acetato de etila da casca do caule de *V. decipiens* sobre os fungos filamentosos *M. gypseum* I e II, *T. rubrum* I, II, III e *M. canis* I (Tabela 13) e sobre todas as leveduras testadas (Tabela 12). Interessante observar que os valores de CIM são menores para leveduras, entre 62,5 e 15,62 µg/mL, do que para filamentosos, entre 125 e 31,25 µg/mL. Os achados dos extratos de *V. decipiens* são inéditos e não existe nenhum relato de atividade antifúngica de outras espécies do gênero *Vismia*.

Na triagem inicial dos 7 extratos testados de *Terminalia fagifolia*, os extratos etanólicos das folhas; casca do caule; madeira do caule e acetato de etila da casca do caule se mostraram ativos, formando em ao menos um dos fungos testados, halo de inibição ≥ 28 mm (Tabela 9). No teste de perfuração em ágar para os fungos filamentosos, a maioria dos halos de *T. fagifolia* foi menor quando comparados com os halos de *Z. rhoifolium* (Tabela 11), porém se mostraram bem mais ativos no teste de CIM (Tabela 13). Os valores de CIM sobre leveduras dos extratos de *T. fagifolia* foram bem mais potentes do que todos os outros extratos testados (Tabela 12). A atividade antifúngica de *T. fagifolia* é inédita. A família Combretaceae é descrita por apresentar vários estudos de atividade antifúngica, principalmente no gênero *Combretum* e *Terminalia* (Tabela 1), tais como *Terminalia bellerica* (VALSARAJ *et al.*, 1997), *T. catappa* (GOUN *et al.*, 2003) e *T. chebula* (VONSHAK *et al.*, 2003).

Os extratos hexânico e etanólico da folha de *Davilla elliptica* não se mostraram ativos na triagem inicial (Tabela 9). A espécie *D. elliptica* apresenta atividade sobre *Mycobacterium tuberculosis* e propriedades imunológicas (LOPES *et al.*, 2007). Na literatura, o único exemplar da família Dilleniaceae descrito por possuir atividade antifúngica é *Tetracera potatoria* (ADEKUNLE *et al.*, 2003).

Diospyrus hispida foi a espécie que apresentou o maior número de extratos testados (Tabela 9). Sendo encontrada atividade nos extratos hexânico da raiz, acetato de etila da madeira da raiz, diclorometânico da madeira do caule e solução hidroalcoólica da casca do caule. O extrato acetato de etila da madeira da raiz de *D. hispida* apresentou halos de inibição variando entre 20 e 32 mm sobre *M. gypseum* I, *T. rubrum* I, *M. canis* I e *T. mentagrophytes* I, sendo selecionado para continuidade dos estudos (Tabela 9). Na etapa seguinte apresentou halos superiores a 20 mm de

diâmetro sobre *M. gypseum* I, *T. rubrum* I e II, *M. canis* I e II e *T. mentagrophytes* I (Tabela 11), resultado que se repetiu no cálculo de CIM com exceção de *T. mentagrophytes* (Tabela 13). *D. hispida* apresentou ainda potente atividade sobre todas as leveduras testadas, com valores de CIM entre 62,5 e 7,81 µg/mL (Tabela 12). Na família Ebenaceae, as espécies *Diospyrus crassifolia* (TANGMOUO *et al.*, 2006) e *Diospyrus maritima* (GU *et al.*, 2004) são descritas por apresentarem atividade sobre fungos filamentosos e leveduras. A atividade de *D. hispida* é inédita.

Na família Euphorbiaceae, os extratos de *Croton urucurana* e *Maprounea guianensis* foram avaliados sobre a atividade antifúngica. Os extratos etanólico da casca do caule de *M. guianensis* e hexânico da madeira do caule de *C. urucurana* apresentaram atividade antifúngica (Tabela 9). O exsudato de *C. urucurana* é relatado por apresentar atividade sobre dermatófitos (GURGEL *et al.*, 2005) e o óleo essencial da casca do caule pela atividade sobre fungos e bactérias (SIMIONATTO *et al.*, 2007). A atividade antifúngica do extrato hexânico da madeira do caule de *C. urucurana* é inédita. Outras espécies do gênero *Croton* apresentam atividade antifúngica descrita na literatura (Tabela 2) como *C. cajucara* (ALVIANO *et al.*, 2005), *C. hieronymi* (HELUANI *et al.*, 2005) e *C. zehntneri* (FONTENELLE *et al.*, 2008). A atividade de *M. guianensis* é inédita, assim como a atividade antifúngica no gênero *Maprounea*.

Foram testados os extratos etanólico e acetato de etila da folha de *Andira humilis*, sendo encontrada atividade antifúngica nesse último, com a formação de halo de inibição de 15 mm de diâmetro sobre *T. rubrum* I (Tabela 9). É o primeiro relato de atividade antifúngica de espécie do gênero *Andira*. Na família Fabaceae é relatado atividade antifúngica de outras espécies como *Retama raetam* (HAYET *et al.*, 2008), *Indigofera suffruticosa* (LEITE *et al.*, 2006), *Adesmia aegiceras* (AGNESE *et al.*, 2001) e *Clitoria ternatea* (OSBORN *et al.*, 1995).

O extrato acetato de etila da casca da raiz de *B. coccolobifolia*, apresentou atividade antifúngica formando halos de inibição entre 15 e 17 mm de diâmetro em todos os seis fungos da triagem inicial (Tabela 9). Também apresentaram atividade os extratos etanólico da madeira do caule e hexânico da madeira da raiz de *B. coccolobifolia*. As atividades encontradas em *B. coccolobifolia* são inéditas, e esse é o primeiro relato de atividade antifúngica em planta da família Malpighiaceae.

A triagem inicial revelou atividade antifúngica de 6, entre os 8 extratos testados de *Z. rhoifolium* (Tabela 9), sendo os extratos etanólicos da madeira do caule e da raiz selecionados para a continuidade dos estudos. De modo geral, esses 2 extratos apresentaram halos maiores sobre fungos filamentosos, do que os outros extratos no teste de perfuração em ágar (Tabela 11), porém a potencialidade dessa atividade não foi confirmada pelos valores de CIM (Tabela 13), que classificam a atividade dos extratos. A exceção foi para o extrato etanólico da madeira da raiz de *Z. rhoifolium* sobre *T. rubrum* II, *M. canis* I e II que foi potente (Tabela 13). A atividade antifúngica sobre as leveduras foi potente, com exceção do extrato etanólico da madeira do caule sobre *C. glabrata* e *C. neoformans* var. *neoformans*, que apresentou atividade intermediária (Tabela 12). A atividade antifúngica de espécies do gênero *Zanthoxylum* é bastante documentada (Tabela 3) como, por exemplo, *Z. americanum* (BAFI-YEBOA *et al.*, 2005), *Z. budrunga* (ISLAM *et al.*, 2001), *Z. caudatum* (NISSANKA *et al.*, 2001), mas a atividade antifúngica de *Z. rhoifolium* é inédita. Outra espécie da família Rutaceae estudada foi *Spiranthera adoratissima*, onde os extratos hexânicos, acetato de etila e etanólicos da folha e da raiz foram inativos na triagem inicial (Tabela 9). Nenhum trabalho foi encontrado relatando atividade antifúngica do gênero *Spiranthera*.

As plantas tratadas nesse estudo são utilizadas na medicina tradicional como: analgésica, antiinflamatória, antitumoral, tratamento de aftas, laxativa, afrodisíaco, antiulcerogênico, antireumática, secante vaginal, cicatrizante, antimalária, tratamento de sífilis e retenção urinária. Sendo as espécies *Salacia crassifolia* (IARA, 2006) e *Zanthoxylum rhoifolium* (DA SILVA *et al.*, 2007) utilizadas tradicionalmente como antimicrobianas. Essa atividade foi evidenciada neste trabalho. Em especial *Z. rhoifolium* que entre os 8 extratos submetidos a triagem inicial, 5 se mostraram ativos (Tabela 9), sendo 2 desses extratos selecionados para a continuidade dos estudos, por apresentarem halos maiores que 28 mm de diâmetro. A espécie *S. crassifolia* teve 4 extratos avaliados quanto a atividade antifúngica, sendo encontrado atividade somente no extrato etanólico da casca do caule sobre os fungos *T. rubrum* I e *T. mentagrophytes* I (Tabela 9).

Os 8 extratos selecionados para continuidade dos estudos apresentam elevada potencialidade na descoberta de novos agentes antifúngicos, em especial sobre leveduras (Tabela 12), onde todos os extratos possuíram potente e inédita

atividade. Aliada a essa potencialidade, deve ser mencionado que para alguns fungos os extratos se mostraram mais ativos que os controles positivos. Essa potente atividade certamente será acentuada com a purificação dos compostos, pois serão avaliadas moléculas isoladas.

5- CONCLUSÃO

O estudo conduzido com os extratos do Banco de Extratos de Plantas do Bioma Cerrado (Laboratório de Farmacognosia/UnB) avaliou a atividade antifúngica de 81 extratos de 14 espécies do Cerrado. Após a triagem com quatro fungos filamentosos e duas leveduras utilizando a técnica de perfuração em ágar, encontrou-se 27 extratos ativos.

Extratos das plantas *A. humilis*, *B. coccolobifolia*, *C. pernambucensis*, *M. guianensis*, *A. populnea*, *S. crassifolia*, *T. fagifolia*, *V. decipiens*, *D. hispida*, *Z. rhoifolium* e *C. urucurana* apresentaram halos de inibição ≥ 28 mm na triagem inicial. Os extratos etanólico da madeira e casca do caule, folha, e acetato de etila da casca do caule de *T. fagifolia*; acetato de etila da madeira da raiz de *D. hispida*; acetato de etila da casca do caule de *V. decipiens*; etanólicos da madeira do caule e madeira da raiz de *Z. rhoifolium* apresentaram halos ≥ 28 mm na triagem inicial sendo selecionados para detalhamento da investigação, por meio dos testes de perfuração em ágar sobre 10 fungos filamentosos e 8 leveduras, e para o cálculo da CIM.

Todos os oito extratos selecionados foram potentes (CIM ≤ 125 $\mu\text{g/mL}$) em ao menos um dos fungos testados. A atividade antifúngica sobre leveduras dos extratos de *T. fagifolia* são potentes com valores de CIM $\leq 7,81$ $\mu\text{g/mL}$. Os extratos se mostraram promissores na pesquisa da atividade antifúngica, reforçando a importância da busca de metabólitos secundários ativos em plantas. Os achados reforçam a importância de se estudar e preservar o Cerrado brasileiro, bioma sobre grande ação antrópica e reforça a importância do Banco de Extratos de Plantas do Bioma Cerrado (Laboratório de Farmacognosia/UnB).

6- PERSPECTIVAS

1. Realizar o fracionamento cromatográfico biomonitorado dos 8 extratos ativos, seguido da elucidação da estrutura química dos compostos presentes nos extratos.
2. Produzir extratos aquosos segundo a preparação da medicina tradicional, à partir dos mesmos órgãos e espécies vegetais, que forneceram os 8 extratos ativos.
3. Realizar teste de citotoxicidade dos extratos considerados ativos.

7- REFERÊNCIAS

- ADEKUNLE, A. A., DURU, C., ODUFUWA, O. M. Antifungal activity and phytochemical screening of the crude extracts of *Khaya ivorensis* Juss (Meliaceae) and *Tetracera potatoria* L. (Dilleniaceae). **South African Journal of Botany**, 69(4): 568-571, 2003.
- AGNESE, A. M., PÉREZ, C., CABRERA, J. L. *Adesmia aegiceras*: antimicrobial activity and chemical study. **Phytomedicine**, 8(5): 389-394, 2001.
- AL-BURTAMANI, S. K. S., FATOPE, M. O., MARWAH, R. G., ONIFADE, A. K., AL-SAIDI, S. H. Chemical composition, antibacterial and antifungal activities of the essential oil of *Haplophyllum tuberculatum* from Oman. **Journal of Ethnopharmacology**, 96: 107-112, 2005.
- ALGIANNIS, N., KALPOTZAKIS, K., MITAKU, S., CHINOU, L. B., Composition and antimicrobial activity of essential oils of two *Origanum* species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 40: 4168-4170, 2001.
- ALMEIDA, P. R., FIALHO, M. P. C., GUTIERREZ, G. M. C., ZANCOPE, O. R. M., NOSANCHUK, J. D. Growth conditions influence melanization of Brazilian clinical *Sporothrix schenckii* isolates. **Microbes and Infection**, 11(5): 554-562, 2009.
- ALVES, E. G., VINHOLIS, A. H. C., CASEMIRO, L. A., FURTADO, N. A. J. C., SILVA, M. L. A., CUNHA, W. R., MARTINS, C. H. G. Estudo comparativo de técnicas de screening para avaliação da atividade anti-bacteriana de extratos brutos de espécies vegetais e de substâncias puras. **Química Nova**, 31(5): 1224-1229, 2008.
- ALVIANO, W. S., MENDONÇA-FILHO, R. R., ALVIANO, D. S., BIZZO, H. R., SOUTO-PADRÓN, T., RODRIGUES, M. L., BOLOGNESE, A. M., ALVIANO, C. S., SOUZA, M. M. G. Antimicrobial activity of *Croton cajucara* Benth linalool-rich essential oil on artificial biofilms and planktonic microorganisms. **Oral Microbiology and Immunology**, 20: 101-105, 2005.
- ANDEL, T., KORTE, S., KOOPMANS, D., BEHARI-RAMDAS, J., RUYSSCHAERT, S. Dry sex in Suriname. **Journal of Ethnopharmacology**, 116: 84-88, 2008.
- ANDRADE, S. F. da SILVA, A. A., RESENDE, D. D., SILVA, M. L. A. E., CUNHA, W. R., NANAYAHARA, N. P. D. Antileishmanial, antimalarial and antimicrobial activities

of the extract and isolated compounds from *Austroplenckia populnea* (Celastraceae). **Zeitschrift fur Naturforschung section c-a Journal of Biosciences**, 63(7-8): 497-502, 2008.

ANDRADE, S. F., CARDOSO, L. G. V., CARVALHO, J. C. T., BASTOS, J. K. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of extract, fractions and populnoic acid from bark Wood of *Austroplenckia populnea*. **Journal of Ethnopharmacology**, 109: 464-472, 2007.

ARAÚJO, A. J. G., BASTOS, O. M. P., SOUZA, M. A. J., DE OLIVEIRA, J. C. Onicomicoses por fungos emergentes: análise clínica, diagnóstico laboratorial e revisão. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, 78(4): 445-455, 2004.

ASSIS, T. L., FORMIGA, L. C. D., FILGUEIRA, A. L., MATTOS, G. A. Aspectos microbiológicos dos espaços interdigitais dos pés I. microbiota aeróbia dos espaços interdigitais dos pés. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, 59(1): 3-8, 1984.

AZEVEDO, A. O., CAMPOS, J. J., GALDINO, G. S., BRAGA, F. C., DUARTE, I. D. G., PEREZ, A. C. Antinociceptive effect from *Davilla elliptica* hydroalcoholic extract. **Ethnopharmacological Communication**, 113: 354-356, 2007.

AZULAY, M. M., OLIVEIRA, M. A. L. S., DE ASSIS, T. L., JUNIOR, A. C. P. Micoses oportunistas na síndrome de imunodeficiência adquirida. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, 64(5): 253-255, 1989.

BABA-MOUSSA, F., AKPAGANA, K., BOUCHET, P. Antifungal activities of seven West African Combretaceae used in traditional medicine. **Journal of Ethnopharmacology**, 66: 335-338, 1999.

BAFI-YEBOA, N. F. A., ARNASON, J. T., BAKER, J., SMITH, M. L. Antifungal constituents of Northern prickly ash, *Zanthoxylum americanum* Mill. **Phytomedicine**, 12: 370-377, 2005.

BARBOSA, R. I., FEARNside, P. M. Woody density of trees in open savannas of the Brazilian Amazon. **Forest Ecology and Management**, 199: 115-123, 2004.

BATAWILA, K., KOKOU, K., KOUMAGLO, K., GBÉASSOR, M., DE FOUCAULT, B., BOUCHET, P., AKPAGANA, K. Antifungal activities of Five Combretaceae used in Togolese traditional medicine. **Fitoterapia**, 76: 264-268, 2005.

- BERTANI, S., BOURDY, G., LANDAU, I., ROBINSON, J. C., ESTERRE, P., DEHARO, E. Evaluation of French Guiana traditional antimalarial remedies. **Journal of Ethnopharmacology**, 98: 45-54, 2005.
- BISOLI, E. GARCEZ, W. S., HAMERSKI, L., TIEPPO, C., GARCEZ, F. R. Bioactive pentacyclic triterpenes from the stems of *Combretum laxum*. **Molecules**, 13: 2717-2728, 2008.
- BOTREL, R. T., RODRIGUES, L. A., GOMES, L. J., CARVALHO, D. A., FONTES, M. A. L. Uso da vegetação nativa pela população local do município de Ingaí, MG, Brasil. **Acta Botânica Brasileira**, 20(1): 143-156, 2006.
- BRADER, G., BACHER, M. HOFER, O., GREGER, H. Prenylated phenylpropenes from *Coleonema pulchellum* with antimicrobial activity. **Phytochemistry**, 45(6): 1207-1212, 1997.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente dos Recursos Hídricos e da Amazônia Legal. Ações prioritárias para a conservação da biodiversidade do Cerrado e Pantanal. Brasília: 1999. 26p.
- BRASKARWAR, B., ITANKAR, P., FULKE, A. Evaluation of antimicrobial activity of medicinal plant *Jatropha podagrica* (Hook). **Romanian Biotechnological Letters**, 13(5): 3873-3877, 2008.
- CADENA, J., HARTZLER, A., HSUE, G., LONGFIELD, R. N. Coccidioidomycosis and tuberculosis coinfection at a tuberculosis hospital: clinical features and literature review. **Medicine**, 88(1): 66-76, 2009.
- CANUTO, M. M., RODERO, F. G. Antifungal drug resistance to azoles and polyenes. **Lancet Infect. Dis.**, 2: 550-63, 2002.
- CARAMORI, S. S., LIMA, C. S., FERNANDES, K. F. Biochemical characterization of selected plant species from Brazilian Savanas. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, 47(2): 253-259, 2004.
- CARPANO, S. M., SPEGAZZINI, E. D., ROSSI, J. S., CASTRO, M. T., DEBENEDETTI, S. L. Antifungal activity of *Terminalia australis*, **Fitoterapia**, 74: 294-297, 2003.
- CARVALHO, G. B. M., BENTO, C. V., SILVA, J. B. A. Elementos biotecnológicos fundamentais no processo cervejeiro 1º parte – as leveduras. **Revista Analytica**, 25: 36-42, 2006.

- CATE, J. M. T., KLIS, F. M., PEREIRA, T. C., CRIELAARD, W., GROOT, P. W. Molecular and cellular mechanisms that lead to *Candida* biofilm formation. **Journal of Dental Research**, 88(2): 105-115, 2009.
- CATENI, F., ZILIC, J., FALSONE, G., SCIALINO, G., BANFI, E. New Cerebrosides from *Euphorbia peplis* L.: antimicrobial activity evaluation. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, 13: 4345-4350, 2003.
- CHACHA, M., BOJASE-MOLETA, G., MAJINDA, R. R. T. Antimicrobial and radical scavenging flavonoids from the stem wood of *Erythrina latissima*. **Phytochemistry**, 66: 99-104, 2005.
- CHAKRABORTY, A., CHOWDHURY, B. K., BHATTACHARYYA, P. Clausenol and clausenine- two carbazole alkaloids from *Clausena anisata*. **Phytochemistry**, 40(1): 295-298, 1995a.
- CHAKRABORTY, A., SAHA, C., PODDER, G., CHOWDHURY, B. K., BHATTACHARYYA, P. Carbazole alkaloid with antimicrobial activity from *Clausena heptaphylla*. **Phytochemistry**, 38(3): 787-789, 1995b.
- CHAMILOS, G., KONTOYIANNIS, D. P. Update on antifungal drug resistance mechanisms of *Aspergillus fumigatus*. **Drug Resist. Updat.**, 8: 344-358, 2005.
- CHATTOPADHYAY, D., ARUNACHALAM, G., MANDAL, A. B., SUR, T. K., MANDAL, S. C., BHATTACHARYA, S. K. Antimicrobial and anti-inflammatory activity of folklore: *Mallotus peltatus* leaf extract. **Journal of Ethnopharmacology**, 82: 229-237, 2002.
- CHEN, S. C., SORRELL, T. C. Antifungal agents. **The Medical Journal of Australia**, 187(7): 404-409, 2007.
- CHIN, Y. W., KINGHORN, A. D. Structural Characterization, Biological Effects, and Synthetic Studies on Xanthones from Mangosteen (*Garcinia mangostana*), a Popular Botanical Dietary Supplement. **Mini-Reviews in Organic Chemistry**, 5(4): 355-364, 2008.
- COLE, S. R., CHU, H., ALLISON, P. D., GANGE, S. J. Combined analysis of retrospective and prospective occurrences in cohort studies: HIV-1 serostatus and incident pneumonia. **International Journal of Epidemiology**, 35(6): 1442-1446, 2006.
- COLOMBO, A. L., GUIMARÃES, T. Epidemiologia das infecções hematogênicas por *Candida* spp. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 36(5): 599-607, 2003.

- CONEGERO, L., S., IDE, R. M., NAZARI, A. S., SARRAGIOTTO, M. H. Constituintes químicos de *Alchornea glandulosa* (Euphorbiaceae). **Química Nova**, 26(6): 825-827, 2003.
- CONRAD, J., VOGLER, B., KLAIBER, I., ROOS, G., WALTER, U., KRAUS, W. Two triterpene esters from *Terminalia macroptera* bark. **Phytochemistry**, 48(4): 647-650, 1998.
- CORRÊA, M. P. Dicionário das plantas úteis do Brasil. 1ª Ed. Imprensa Nacional. Rio de Janeiro 1978.
- COSTA, T. R., COSTA, M. R., DA SILVA, M. V., RODRIGUES, A. B., FERNANDES, O. F. L., SOARES, A. J., SILVA, M. R. R. Etiologia e epidemiologia das dermatofitoses em Goiânia, GO, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 32(4): 367-371, 1999.
- COUTO, W. J., BRANCO, J. N. R., ALMEIDA, D., CARVALHO, A. C., VICK, R., TELES, C. A., AGUIAR, L. F., BUFFOLO, E. Transplante cardíaco e infecção. **Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular**, 16(2): 141-151, 2001.
- CUI, G. Y., LIU, J. Y., TAN, R. X. A new antimicrobial flavonol glycoside from *Alchornea davidii*. **Chinese Chemical Letters**, 14(2): 179-180, 2003.
- DAVID, J. P., MEIRA, M., DAVID, J. M., GUEDES, M. L. S. Triterpenos e ferulatos de alquila de *Maprounea guianensis*. **Química Nova**, 27(1): 62-65, 2004.
- DE LEÓN, L., MOUJIR, L. Activity and mechanism of the action of zeylasterone against *Bacillus subtilis*. **Journal of Applied Microbiology**, 104: 1266-1274, 2008.
- DE MEDEIROS, M. B., WALTER, B. M. T., SILVA, G. P. Fitossociologia do Cerrado *stricto sensu* no município de Carolina, MA, Brasil. **Cerne**, 14(4): 285-294, 2008.
- DE MOURA, N. F., RIBEIRO, H. B., MACHADO, E. C. S., ETHUR, E. M., ZANATTA, N., MOREL, A. F. Benzophenanthridine alkaloids from *Zanthoxylum rhoifolium*. **Phytochemistry**, 46(8): 1443-1446, 1997.
- DE MOURA, N. F., STRAPAZZON, J. O., LORO, F., MOREL, A. F., FLACH, A. Composition of the leaf oil of Rutaceae: *Zanthoxylum hyemale* A. St. Hill, *Z. rhoifolium* Lam. and *Z. rugosum* A. St. Hill et. Tul. **J. Essent. Oil Res.**, 18: 627-628, 2006.
- DE PAULA, J. E., ENCINAS, J. I., PEREIRA, B. A. S. Inventário de um hectare de mata ripária. **Pesq. Agropec. Bras.**, 28(2): 143-152, 1993.

- DISMUKES, W. E. Antifungal therapy: lessons learned over the past 27 years. **Clinical Infectious Diseases**, 42(9): 1289-1296, 2006.
- DUTTA, B. K., RAHMAN, I., DAS, T. K. Antifungal activity of Indian plant extracts. **Mycoses**, 41: 535-536, 1998.
- EMBRAPA CERRADOS. Embrapa cerrados: conhecimento, tecnologia e compromisso ambiental. Planaltina, 1999, 34p.
- EQUSA, H., SOYSA, N. S., ELLEPOLA, A. N., YATANI, H., SAMARANAYAKE, L. P. Oral candidosis in HIV-infected patients. **Current HIV Research**, 6(6): 485- 499, 2008.
- ERASTO, P., BOJASE-MOLETA, G., MAJINDA, R. R. T. Antimicrobial and antioxidant flavonoids from the root wood of *Bolusanthus speciosus*. **Phytochemistry**, 65: 875-880, 2004.
- ESMERALDINO, L. E., SOUZA, A. M., SAMPAIO, S. V. Evaluation of the effect of aqueous extract of *Croton urucurana* Baillon (Euphorbiaceae) on the hemorrhagic activity induced by the venom of *Bothrops jararaca*, using new techniques to quantify hemorrhagic activity in rat skin. **Phytomedicine**, 12: 570-576, 2005.
- FERNANDES, O. F. L., COSTA, T. R., COSTA, M. R., SOARES, A. J., PEREIRA, A. J. S. C., SILVA, M. R. R. Cryptococcus neoformans isolados de pacientes com AIDS. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 33(1): 75-78, 2000.
- FERREIRA, M. S., BORGES, A. S. Histoplasmosis. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 42(2): 192-198, 2009.
- FILIPPIN, F. B., SOUZA, L. C. Eficiência terapêutica das formulações lipídicas de anfotericina B. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, 42(2): 167-194, 2006.
- FONTENELLE, R. O. S., MORAIS, S. M., BRITO, E. H. S., BRILHANTE, R. S. N., CORDEIRO, R. A., NASCIMENTO, N. R. F., KERNTOPF, M. R., SIDRIM, J. J. C., ROCHA, M. F. G. Antifungal activity of essential oils of *Croton* species from the Brazilian *Caatinga* biome. **Journal of Applied Microbiology**, 104: 1383-1390, 2008.
- FORNIMARTINS, E. R., PINTOMAGLIO, C. A. F., DACRUZ, N. D. Chromosome-numbers in Brazilian Cerrado plants. *Revista Brasileira de Genética*, 18(2): 281-288, 1995).

- FREITAS, C. M. J., LUCCHESI, A. M., SILVA, F. S., VELOSO, E. S. Coumarins, furoquinoline alkaloids and terpenes from *Spiranthera odoratissima* (Rutaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, 31: 805-807, 2003.
- GALLAGHER, J. C. DODDS, E. S. A., DREW, R. H., PERFECT, J. R. Antifungal pharmacotherapy for invasive mould infections. **Expert Opinion Pharmacotherapy**, 4: 147-152, 2003.
- GARCEZ, F. R., GARCEZ, W. S., SANTANA, A. L. B. D., ALVEZ, M. M., MATOS, M. F. C., SCALIANTE, A. M. Bioactive flavonoids and triterpenes from *Terminalia fagifolia* (Combretaceae). **J. Braz. Chem. Soc.**, 17(7): 1223-1228, 2006.
- GERTSCH, J., NIOMAWÉ, GERTSCH-ROOST, K., STICHER, O. *Phyllanthus piscatorum*, ethnopharmacological studies on a women's medicinal plant of the Yanomami Amerindians. **Journal of Ethnopharmacology**, 91: 181-188, 2004.
- GHIZELINI, A. M., AUER, C. G., PIMENTEL, I. C. Fungos presentes em acículas de *Pinus taeda* em estágios iniciais de decomposição no campo. **Bol. Pesq. Fl.**, 53: 155-178, 2006.
- GILMAN, A. F. As bases farmacológicas da terapêutica. 10^a Ed. Editora McGraw-Hill, Rio de Janeiro 2003. 971p.
- GONZÁLEZ, A. G., KENNEDY, M. L., RODRÍGUEZ, F. M., BAZZOCCHI, I. L., JIMÉNEZ, I. A., RAVELO, A. G., MOUJIR, L. Absolute configuration of triterpene dimers from *Maytenus* species (Celastraceae). **Tetrahedron**, 57: 1283-1287, 2001.
- GOUN, E., CUNNINGHAM, D., CHU, D., NGUYEN, C., MILES, D. Antibacterial and antifungal activity of Indonesian ethnomedical plants. **Fitoterapia**, 76: 592-596, 2003.
- GOVINDARAJAN, R., VIJAYAKUMAR, M., SINGH, M., RAO, C. V., SHIRWAIKAR, A., RAWAT, A. K. S., PUSHPANGADAN, P. Antiulcer and antimicrobial activity of *Anogeissus latifolia*. **Journal of Ethnopharmacology**, 106: 57-61, 2006.
- GU, J., GRAF, T. N., LEE, D., CHAI, H., MI, Q., KARDONO, L. B. S., SETYOWATI, F. M., ISMAIL, R., RISWAN, S., FARNSWORTH, N. R., CORDELL, G. A., PEZZUTO, J. M., SWANSON, S. M., KROLL, D. J., FALKINHAM, J. O., WALL, M. E., WANI, M. C., KINGHORN, A. D., OBERLIES, N. H. Cytotoxic and antimicrobial constituents of the bark of *Diospyros maritima* collected in two geographical locations in Indonesia. **Journal of Natural Products**, 67(7): 1156-1161, 2004.

- GUPTA, D. BLEAKLEY, B., GUPTA, R. K. Dragon's blood: botany, chemistry and therapeutic uses. **Journal of Ethnopharmacology**, 115: 361-380, 2008.
- GURGEL, L. A., SIDRIM, J. J. C., MARTINS, D. T., FILHO, V. C., RAO, V. S. In vitro antifungal activity of dragon's blood from *Croton urucurana* against dermatophytes. **Journal of Ethnopharmacology**, 97: 409-412, 2005.
- HAMDAN, J. S., HAHN, R. C. Antifungal drugs for systemic mycosis: an overview of mechanism of action and resistance. **Anti-infective Agents in Medicinal Chemistry**, 5(4): 403-412, 2006.
- HANG, H. P., DALE, M. M., RITTER, J. M. Farmacologia. 4ª Ed. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro 2001. 605p.
- HAVLICKOVA, B., CZAICA, V. A., FRIEDRICH, M. Epidemiological trends in skin mycoses worldwide. **Mycoses**, 4: 2-15, 2008.
- HAYET, E., MAHA, M., SAMIA, A., MATA, M., GROS, P., RAIDIA, H., ALI, M. M., MOHAMED, A. S., GUTMANN, L., MIGHRI, Z., MAHJOUR, A. Antimicrobial, antioxidant, and antiviral activities of *Retama raetam* (Forssk.) webb flowers growing in Tunisia. **World J. Microbiol. Biotechnol.**, 28: 2933-2940, 2008.
- HELUANI, C. S., LAMPASONA, M. P., VEJA, M. I., CATALAN, V. C. Antimicrobial activity and chemical composition of the leaf and root oils from *Croton hieronymi* Griseb. **Journal of Essential Oil Research**, 17: 351-353, 2005.
- HOWARD, S. J., WEBSTER, I., MOORE, C. B., GARDINER, R. E., PARK, S., PERLIN, D. S., DENNING, D. W. Multi-azole resistance in *Aspergillus fumigatus*. **Int. J. Antimicrob. Agents**, 28: 450-453, 2006.
- IARA, M. A. Conhecimentos tradicionais do Cerrado: sobre a memória de Dona Flor, raizeira e parteira. Dissertação de mestrado, Universidade de Brasília, Brasil, 2006.
- IROBI, O. N., MOOYOUNG, M., ANDERSON, W. A., DARAMOLA, S. O. Antimicrobial activity of bark extracts of *Bridelia ferruginea* (Euphorbiaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, 43(3): 185-190, 1994.
- ISLAM, A., SAYEED, A., BHUIYAN, M. S. A., MOSADDIK, M. A., ISLAM, M. A. U., KHAN, G. R. M. A. M. Antimicrobial activity and cytotoxicity of *Zanthoxylum budrunga*. **Fitoterapia**, 72: 428-430, 2002.

- JONES, K. Review of Sangre de Drago (*Croton lechleri*) – A south American tree sap in the treatment of diarrhea, inflammation, insect bites, viral infections, and wounds: Traditional uses to clinical research. **The Journal of Alternative and Complementary Medicine**, 9(6): 877-896, 2003.
- JULLIAN, V., BOURDY, G., GEORGES, S., MAUREL, S., SAUVAIN, M. Validation of use of a traditional antimalarial remedy from French Guiana, *Zanthoxylum rhoifolium* Lam. **Journal of Ethnopharmacology**, 106: 348-352, 2006.
- JUNIOR, J. A. L. S., DAVID, C. M., HATUM, R., SOUZA, P. C. S. P., JAPIASSU, A., PINHEIRO, C. T. S., FRIEDMAN, G., DA SILVA, O. B., DIAS, M. D., KOTERBA, E., DIAS, F. S., PIRAS, C., Sepse Brasil: estudo epidemiológico da sepse em unidades de terapia intensiva brasileiras. **Revista Brasileira Terapia Intensiva**, 18(1): 9-17, 2006.
- JÚNIOR, J. E. A. B., PFENNING, L. H. Associação de *Pseudothrix cocodes* e seu anamorfo com *Machaerium villosum*. **Fitopatologia Brasileira**, 31(1): 102-105, 2006.
- KAUFFUMAN, C. A. Histoplasmosis, **Clinics in Chest Medicine**, 30(2): 217-225, 2009.
- KLINK, C.A., MACHADO, R.B. A conservação do Cerrado brasileiro. **Megadiversidade**, 1: 147-155, 2005.
- KOKIL, S., BHATIA, M. Antifungal azole metabolites: significance in pharmaceutical and biomedical analysis. **Journal of Medical Biochemistry**, 28(1): 1-10, 2009.
- KRUTMANN, J. Pre- and probiotics for human skin. **Journal Dermatological Science**, 54(1): 1-5, 2009.
- KUETE, V., WANSI, J. D., MBAVENG, A. T., SOP, M. M. K., TADJONG, A. T., BENG, V. P., ETOA, F. X., WANDJI, J., MEYER, J. J. M., LALL, N. Antimicrobial activity of the methanolic extract and compounds from *Teclea afzelii* (Rutaceae). **South African Journal of Botany**, 74: 572-576, 2008.
- LAMARIS, G. A., LEWIS, R. E., CHAMILOS, G., MAY, G. S., SAFDAR, A., WALSH, A. S., RAAD, I. I., KONTOYIANNIS, D. P. Caspofungin-mediated β -glucan unmasking and enhancement of human polymorphonuclear neutrophil activity against *Aspergillus* and non-*Aspergillus* hyphae. **The Journal of Infectious Diseases**, 198: 186-192, 2008.

- LEITE, S. P., VIEIRA, J. R. C., MEDEIROS, P. L., LEITE, R. M. P., LIMA, V. L. M., XAVIER, H. S., LIMA, E. O. Antimicrobial activity of *Indigofera suffruticosa*. **Journal and Oxford University Press**, 3(2): 261-265, 2006.
- LIMA, E. C., PAIVA, R., NOGUEIRA, R. C., SOARES, F. P., EMRICH, E. B., SILVA, A. A. N. Indução de calos em segmentos foliares de sangra d'água (*Croton urucurana* Baill.). **Ciênc. Agrotec.**, 32(1): 17-22, 2008.
- LIU, M., SEIDEL, V., KATERERE, D. R., GRAY, A. I. Colorimetric broth microdilution method for the antifungal screening of plant extracts against yeasts. **Methods**, 42: 325-329, 2007.
- LOPES, F. C. M., PLACERES, M. C. P., JUNIOR, C. M. J., HIGUCHI, C. T., RINALDO, D., VILEGAS, W., LEITE, C. Q. F., CARLOS, I. Z. Immunological and microbiological activity of *Davilla elliptica* St. Hill. (Dilleniaceae) against *Mycobacterium tuberculosis*. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, 102(6): 769-772, 2007.
- MAMERI, A. C. A., DELMAESTRO, D., BOUHABIB, J. C. Manifestações cutâneas em transplantados renais. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, 64(3): 165-170, 1989.
- MAREGESI, S. M., PIETERS, L., NGASSAPA, O. D., APERS, S., VINGERHOETS, R., COS, P., BERGHE, D. A. V., VLIETINCK, A. J. Screening of some Tanzanian medicinal plants from Bunda district for antibacterial, antifungal and antiviral activities. **Journal of Ethnopharmacology**, 119: 58-66, 2008.
- MARINI-FILHO, O. J. Distance-limited recolonization of burned Cerrado by leaf-miners and galls in central Brazil. **Environmental Entomology**, 29(5): 901-906, 2000.
- MARÓDI, L., JOHNSTON, R. B. J. Invasive *Candida* species disease in infants and children: occurrence, risk factors, management, and innate host defense mechanisms. **Current Opinion in Pediatrics**, 19(6): 693-697, 2007.
- MARTINS, A. C. M., CAÇADOR, N. P., GAETI, W. P. Complicações bucais da quimioterapia antineoplásica. **Acta Scientiarum**, 24(3): 663-670, 2002.
- MASOKO, P., ELOFF, J. N. Bioautography indicates the multiplicity of antifungal compounds from twenty-four southern African *Combretum* species (Combretaceae). **African Journal of Biotechnology**, 5(18): 1625-1647, 2006.

- MASOKO, P., ELOFF, J. N. The diversity of antifungal compounds of six South African *Terminalia* species (Combretaceae) determined by bioautography. **African Journal of Biotechnology**, 4(12): 1425-1431, 2006b.
- MASOKO, P., MDEE, L. K., MAMPURU, L. J., ELOFF, J. N. Biological activity of two related triterpenes isolated from *Combretum nelsonii* (Combretaceae) leaves. **Natural Product Research**, 22(12): 1074-1084, 2008b.
- MASOKO, P., MMUSHI, T. J., MOGASHOA, M. M., MOKGOTHO, M. P., MAMPURU, L. J., HOWARD, R. L. In vitro evaluation of the antifungal activity of *Sclerocarya birrea* extracts against pathogenic yeasts. **African Journal of Biotechnology**, 7(20): 3521-3526, 2008.
- MASOKO, P., PICARD, J., ELOFF, J. N. Antifungal activities of six South African *Terminalia* species (Combretaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, 99: 301-308, 2005.
- MASOKO, P., PICARD, J., ELOFF, J. N. The antifungal activity of twenty-four southern African *Combretum* species (Combretaceae). **South African Journal of Botany**, 73: 173-183, 2007.
- MATOS, L. G., PONTES, I. S., TRESVENZOL, L. M. F., PAULA, J. R., COSTA, E. A. Analgesic and anti-inflammatory activity of the ethanolic extract from *Spiranthera odoratissima* A. St. Hillaire (Manaca) roots. **Phytotherapy Research**, 18(12): 963-966, 2004.
- MATTA, D. A., ALMEIDA, L. P., MACHADO, A. M., AZEVEDO, A. C., KUSANO, E. J. U., TRAVASSOS, N. F., SALOMÃO, R., COLOMBO, A. L. Antifungal susceptibility of 1000 *Candida* bloodstream isolates to 5 antifungal drugs: results of a multicenter study conducted in São Paulo, Brazil, 1995–2003. **Diagn. Microbiol. Infect. Dis.**, 57: 399–404, 2007.
- MAURY, C. M. (Org). Biodiversidade brasileira: avaliação e identificação de áreas ações prioritárias para a conservação, utilização sustentável e repartição dos benefícios da biodiversidade nos biomas brasileiros. MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE - MMA, DF. 2002. 404 p.
- MAZARO, R., DI STASI, L. C., FILHO, S. A. V., KEMPINAS, W. G. Decrease in sperm number after treatment of rats with *Austroplenckia populnea*. **Contraception**, 62: 45-50, 2000.

- MAZARO, R., DI STASI, L. C., KEMPINAS, W. G. Effects of the hydromethanolic extract of *Austroplenckia populnea* (Celastraceae) on reproductive parameter of male rats. **Contraception**, 66: 205-209, 2002.
- MCKINNELL, J. A., PAPPAS, P. G. Blastomycosis: new insights into diagnosis, prevention, and treatment. **Clinics in Chest Medicine**, 30(2): 227-239, 2009.
- MILO, B., RISCO, E., VILA, R., IGLESIAS, J., CAÑIGUERAL, S. Characterization of a fucoarabinogalactan, the main polysaccharide from the gum exudate of *Croton urucurana*. **Journal of Natural Products**, 65: 1143-1146, 2002.
- MIRANDA, I. S., ABSY, M. L., REBÊLO, G. H. Community structure of woody plants of Roraima Savannas, Brazil. **Plant Ecology**, 164: 109-123, 2002.
- MISTRY, J. Fire in the cerrado (savannas) of Brazil: an ecological review. **Progr. Phys. Geogr.**, 22(4): 425-448, 1998.
- MONACHE, G. D., GONZALEZ, J. G., MONACHE, F. D., BETTOLO, G. B. M. Chemistry of the *Vismia* genus 6-prenylated benzophenones from *Vismia decipiens*. **Phytochemistry**, 19(9): 2025-2028, 1980.
- MOOLLA, A., VAN VUUREN, S. F., VAN ZYL, R. L., VILJOEN, A. M. Biological activity and toxicity profile of 17 *Agathosma* (Rutaceae) species. **South African Journal of Botany**, 73: 588-592, 2007.
- MOREL, A. F., GONZAGA, W. A., BURROW, R. A., MAICHLE-MÖSSMER, C., STRÄHLE, J. 6-Acetyldihydroavicine. **Acta Crystallographica Section C**, 58: 606-607, 2002.
- MOSHI, M. J., MBWAMBO, Z. H. Some pharmacological properties of extracts of *Terminalia sericea* roots. **Journal of Ethnopharmacology**, 97: 43-47, 2005.
- MUSCHIETTI, L., DERITA, M., SULSEN, V., MUÑOZ, J. D., FERRARO, G., ZACCHINO, S., MARTINO, V. In vitro antifungal assay of traditional Argentine medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, 102: 233-238, 2005.
- MYERS, N., MITTERMEIER, R. A., MITTERMEIER, C. G., FONSECA, G. A. B., KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, 403: 853-858, 2000.
- NAIR, R., CHANDA, S. Antimicrobial activity of *Terminalia catappa*, *Manilkara zapota* and *Piper betel* leaf extract. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, 70(3): 390-398, 2008.

- NEWLAND, J. G., ABDEL-RAHMAN, S. M. Update on terbinafine with a focus on dermatophytoses. **Clinical Cosmetic and Investigational Dermatology**, 2: 49-63, 2009.
- NEWMAN, D. J., CRGG, G. M., SNADER, K. M., Natural Products as Sources of New Drugs over the Period 1981-2002. **J. Nat. Prod.**, 66: 1022-1037, 2003.
- NGANE, A. N., BIYITI, L., ZOLLO, P. H. A., BOUCHET, P. Evaluation of antifungal activity of extracts of two Cameroonian rutaceae: *Zanthoxylum leprieurii* Guill. et Perr. and *Zanthoxylum xanthoxyloides* Waterm. **Journal of Ethnopharmacology**, 70: 335-342, 2000.
- NISSANKA, A. P. K., KARUNARATNE, V., BANDARA, B. M. R., KUMAR, V., NAKANISHI, T., NISHI, M., INADA, A., TILLEKENARTNE, L. M. V., WIJESUNDARA, D. S. A., GUNATILAKA, A. A. L. Antimicrobial alkaloids from *Zanthoxylum tetraspermum* and *caudatum*. **Phytochemistry**, 56: 857-861, 2001.
- NOGUEIRA, A., MARTINEZ, C. A., FERREIRA, L. L., PRADO, C. H. B. A. Photosynthesis and water use efficiency in twenty tropical tree species of differing succession status in a Brazilian reforestation. **Photosynthetica**, 42(3): 351-356, 2004.
- NOGUEIRA, J. C. R., DINIZ, M. F. F. M., LIMA, E. O., LIMA, Z. N. Identificação e susceptibilidade antimicrobiana de microrganismos obtidos de otite externa aguda. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, 74(4): 526-530, 2008.
- NOLDIN, V. F., ISAIAS, D. B., FILHO, V. C. Gênero *Calophyllum*: Importância química e farmacológica. **Química Nova**, 29(3): 549-554, 2006.
- NÚÑEZ, M. J., REYES, C. P., JIMÉNEZ, I. A., MOUJIR, L., BAZZOCCHI, I. L. Lupane triterpenoids from *Maytenus* species. **Journal of Natural Products**, 68: 1018-1021, 2005.
- ODDS, F. C., BROWN, A. J. P., GOW, N. A. R. Antifungal agents: mechanisms of action. **Trends in Microbiology**, 11(6): 272-279, 2003.
- OGER, J. M., MOREL, C., HELESBEUX, J. J., LITAUDON, M., SERAPHIN, D., DARTIGUELONGUE, C., LARCHER, R., RICHOMME, P., DUVAL, O. First 2-hydroxy-3-methylbut-3-enyl substituted xanthenes isolated from plants: Structure elucidation, synthesis and antifungal activity. **Natural Product Research**, 17(3): 195-199, 2003.

- OGUNDIPE, O. O., MOODY, J. O., HOUGHTON, P. J., ODELOLA, H. A. Bioactive chemical constituents from *Alchornea laxiflora* (benth) pax and Hoffman. **Journal of Ethnopharmacology**, 74: 275-280, 2001.
- OLIVEIRA, C. A. F., GERMANO, P. M. L. Aflotoxins in foodstuffs: current concepts on mechanisms of toxicity and its involvement in the etiology of hepatocellular carcinoma. **Revista de Saúde Pública**, 31(4): 417-424, 1997.
- OLIVEIRA, C. M. A., PORTO, A. M., BITTRICH, V., VENCATO, I., MARSAIOLI, A. J. Floral resins of *Clusia* spp.: chemical composition and biological function. **Tetrahedron Letters**, 37(36): 6427-6430, 1996.
- OLIVEIRA, P. S., MARQUIS, R. J. The Cerrados of Brazil: ecology and natural history of a neotropical savanna. Nova York: Columbia University Press, 2002. 398 p.
- ORABI, K. Y., AL-QASOUMI, S. I., EL-OLEMY, M. M., MOSSA, J. S., MUHAMMAD, I. Dihydroagarofuran alkaloid and triterpenes from *Maytenus heterophylla* and *Maytenus arbutifolia*. **Phytochemistry**, 58: 475-480, 2001.
- OSBORN, R. W., DE SAMBLANX, G. W., THEVISSSEN, K., GODERIS, I., TORREKENS, S., LEUVEN, F. V., ATTENBOROUGH, S., REES, S. B., BROEKAERT, W. F. Isolation and characterization of plant defensins from seeds of Asteraceae, Fabaceae, Hippocastanaceae and Saxifragaceae. **Federation of European Biochemical Societies**, 368: 257-262, 1995.
- OSTROSKY, E. A., MIZUMOTO, M. K., LIMA, M. E. L., KANEKO, T. M., NISHIKAWA, S. O., FREITAS, B. R. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CIM) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 18(2): 301-307, 2008.
- PALACIO, A. D., VILLAR, J., ALHAMBRA, A., Epidemiology of invasive candidiasis in pediatric and adult populations. **Revista Iberoamericana de Micologia**, 26(1): 2-7, 2009.
- PANDA, D., RATHINASAMY, K., SANTRA, M. K., WILSON, L. Kinetic suppression of microtubule dynamic instability by griseofulvin: implications for its possible use in the treatment of cancer. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 102(28): 9878-9883, 2005.
- PAYA, C. V. Fungal infections in solid organ transplantation. **Clinical Infection Disease**, 16: 677-681, 2000.

- PEREA, S., RAMOS, M. J., GARAU, M., GONZALEZ, A., NORIEGA, A. R., PALACIO, A. D. Prevalence and risk factors of tinea unguium and tinea pedis in the general population in Spain. **Journal of Clinical Microbiology**, 38(9): 3226-3230, 2000.
- PEREIRA, E. G., SIQUEIRA, J. O., CURI, N., MOREIRA, F. M. S., PURCINO, A. A. C. Efeitos da micorriza e do suprimento de fósforo na atividade enzimática e na resposta de espécies arbóreas ao nitrogênio. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, 8(1): 59-65, 1996.
- PEREIRA, I. M. Taxonomy and ecology of Dilleniaceae salisb. family in Goiás and Tocantins states. **Rev. Biol. Neotrop.**, 3(2): 183-184, 2006.
- PERES, M. T. L. P., MONACHE, F. D., CRUZ, A. B., PIZZOLATTI, M. G., YUNES, R. A. Chemical composition and antimicrobial activity of *Croton urucurana* Baillon (Euphorbiaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, 56: 223-226, 1997.
- PERIOTTO, F., PEREZ, S. C. J. G. A., LIMA, M. I. S. Efeito alelopático de *Andira humilis* Mart. ex Benth na germinação e no crescimento de *Lactuca sativa* L. e *Raphanus sativus* L. **Acta Botânica Brasilica**, 18(3): 425-430, 2004.
- PORRO, A. M., YOSHIOKA, M. C. N. Manifestações dermatológicas da infecção pelo HIV. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, 75(6): 665-691, 2000.
- PORTO, A. L. M., MACHADO, S. M. F., OLIVEIRA, C. M. A., BITTRICH, V., AMARAL, M. C. E., MARSAIOLI, A. J. Polyisoprenylated benzophenones from *Clusia* floral resins. **Phytochemistry**, 55: 755-768, 2000.
- POUMALE, H. M. P., RANDRIANASOLO, R., RAKOTOARIMANGA, J. V., RAHARISOLOLALAO, A., KREBS, H. C., TCHOUANKEU, J. C., NGADJUI, B. T. Flavonoid glycosides and other constituents of *Psorospermum androsanemifolium* Baker. **Chem. Pharm. Bull.**, 56(10): 1428-1430, 2008.
- PROENÇA, N. G., ASSUMPÇÃO, S. B. P. Dermatofitoses nas crianças. Estudo de 139 casos. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, 64(2): 113-114, 1989.
- RAHMAN, M. M., GRAY, A. I. A benzoisofuranone derivative and carbazole alkaloids from *Murraya koenigii* and their antimicrobial activity. **Phytochemistry**, 66: 1601-1606, 2005.
- RAHMAN, M. M., GRAY, A. I. Antimicrobial constituents from the stem bark of *Feronia limonia*. **Phytochemistry**, 59: 73-77, 2002.

- RATTER, J. A., RIBEIRO, J. F., BRIDGEWATER, S. The Brazilian Cerrado vegetation and threats to its biodiversity. **Ann. Bot.**, 80: 223-230, 1997.
- RIBEIRO, J.F.; WALTER, B.M.T. Fitofisionomias do Bioma Cerrado. In Cerrado: Ambiente e Flora. Planaltina: EMPRAPA-CPAC, 1998. pp. 89-166.
- RIBEIRO, T. A. N., NDIAYE, E. A. S., VELOZO, E. S., VIEIRA, P. C., ELLENA, J., JÚNIOR, P. T. S. Limonoids from *Spiranthera odoratissima* St. Hill. **J. Braz. Chem. Soc.**, 16(6): 1347-1352, 2005.
- RINALDO, D., SILVA, M. A., RODRIGUES, C. M., CALVO, T. R., SANNOMIYA, M., SANTOS, L. C., VILEGAS, S. W. Preparative separation of flavonoids from the medicinal plant *Davilla elliptica* St. Hill. By high-speed counter-current chromatography. **Química Nova**, 29(5): 947-949, 2006.
- ROCHA, T. N., COSTA, R. O., SUDO, L., PORTO, J. A. Fungos em unhas normais. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, 62(3): 131-138, 1987.
- RODRIGUES, T. M., MACHADO, S. R. Pulvinus functional traits in relation to leaf movements: a light and transmission electron microscopy study of the vascular system. **Micron**, 39: 7-16, 2008.
- RODRIGUES, T. M., MACHADO, S. R. The pulvinus endodermal cells and their relation to leaf movement in legumes of the Brazilian Cerrado. **Plant Biology**, 9(4): 469-477, 2007.
- RODRÍGUEZ, F. M., LÓPEZ, M. R., JIMÉNEZ, E. A., MOUJIR, L., RAVELO, A. G., BAZZOCCHI, I. L. New phenolic triterpenes from *Maytenus blepharodes*. Semisynthesis of 6-deoxoblepharodol from pristimerin. **Tetrahedron**, 61: 2513-2519, 2005.
- ROSA, M., BENEZAR, C., PESSONI, L. A. Biologia floral e sistema reprodutivo de *Byrsonima coccolobifolia* (Kunth) em uma savana amazônica. **Acta Amazonica**, 36(2): 159-168, 2006.
- RUBIO, O. C., CUELLAR, A. C., ROJAS, N., CASTRO, H. V., RASTRELLI, L., AQUINO, R. A polyisoprenylated benzophenone from Cuban Propolis. **Journal of Natural Products**, 62(7): 1013-1015, 1999.

- SBAMPATO, C. G., ABREU, L. R., FURTADO, M. M. Gorgonzola type chese manufactured with milk pasteurized by the HTST and steam ejector systems: physic-chemical and sensory parameters. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 35(1): 191-200, 2000.
- SCHARDL, C. L., PANACCIONE, D. G., TUDZYNSKI, P. Ergot alkaloids-biology and molecular biology. **The Alkaloids Chemical and Biology**, 63: 45-86, 2006.
- SCHMOLDT, S., SCHUHEGGER, R., WENDLER, T., HUBER, I., SOLLNER, H., HOGARDT, M., ARBOGAST, H., HEESEMANN, J., BADER, L., SING, A. Molecular evidence of nosocomial *Pneumocystis jirovecii* transmission among 16 patients after kidney transplantation. **Journal of Clinical Microbiology**, 46(3): 966-971, 2008.
- SEGAL, B. H. Aspergillosis. **The New England Journal of Medicine**, 360(18): 1870-1884, 2009.
- SEITO, L. N., MAZARO, R., DI STASI, L. C. Antiulcerogenic and analgesic effects of the *Austroplenckia populnea* extracts in mice. **Phytotherapy Research**, 16(2): 193-196, 2002.
- SHAI, L. J., MCGAW, L. J., MASOKO, P., ELOFF, J. N. Antifungal and antibacterial activity of seven traditionally used South African plant species active against *Candida albicans*. **South African Journal of Botany**, 74: 677-684, 2008.
- SILVA, G. D. F., DUARTE, L. P., PAES, H. C. S., NONATO, M. C., PORTEZANI, P. J., MASCARENHAS, Y. P. 3-Epiabrustactone A, a new triterpene lactone isolated from *Austroplenckia populnea*. **J. Braz. Chem. Soc.**, 9(5): 461-464, 1998.
- SILVA, O., GOMES, E. Guieranone A, a naphthyl butanone from the leaves of *Guiera senegalensis* with antifungal activity. **Journal of Natural Products**, 66(3): 447-449, 2003.
- SILVA, P. R., RABELO, R. A. S., TERRA, A. P. S., TEIXEIRA, D. N. S. Suscetibilidade a antifúngicos de variedades de *Cryptococcus neoformans* isoladas de pacientes em hospital universitário. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 41(2): 158-162, 2008.
- SIMIONATTO, E., BONANI, V. F. L., MOREL, A. F., POPPI, N. R., JÚNIOR, J. L. R., STUKER, C. Z., PERUZZO, G. M., PERES, M. T. L. P., HESS, S. C. Chemical composition and evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil of *Croton urucurana* Baillon (Euphorbiaceae) stem bark. **J. Braz. Chem. Soc.** 18(5): 879-885, 2007.

- SIMMONS, M. P., CAPPA, J. J., ARCHER, R. H., FORD, A. J., EICHSTEDT, D., CLEVINGER, C. C. Phylogeny of the Celastrae (Celastraceae) and the relationships of *Catha edulis* (qat) inferred from morphological characters and nuclear and plastid genes. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 48: 745-757, 2008.
- SLOAN, D., DLAMINI, S., PAUL, N., DEDICOAT, M. Treatment of acute cryptococcal meningitis in HIV infected adults, with an emphasis o resource-limited settings. **Cochrane Database Systematic Reviews**, 8(4), 2008.
- SOARES, M. M. S. R., CURY, A. E., SCHREIBER, A. Z. Micose superficial da região podal em indivíduos considerados imunocomprometidos. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, 70(3): 211-217, 1995.
- SODRÉ, G. S., MARCHINI, L. C., CARVALHO, C. A. L., MORETI, A. C. C. C. Pollen analysis in honey samples from the two main producing regions in the Brazilian northeast. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, 79(3): 381-388, 2007.
- SODRÉ, G. S., MARCHINI, L. C., MORETI, A. C. C. C., CARVALHO, C. A. L. Tipos polínicos encontrados em amostras de méis de *Apis mellifera* em Picos, Estados de Piauí. **Ciência Rural**, 38(3): 839-842, 2008.
- SONG, J. C., DERESINSKI, S. Hepatotoxicity of antifungal agents. **Current Opinion in Investigational Drugs**, 6(2): 170-177, 2005.
- SOTANAPHUM, U., LIPIPUN, V., SUTTISRI, R., BAVOVADA, R. A new antiviral and antimicrobial sesquiterpene from *Glyptopetalum sclerocarpum*. **Planta Médica**, 65(3): 257-258, 1999.
- SOUSA, C. M. M., SILVA, H. R., VEIRA, G. M., AYRES, M. C. C., COSTA, C. L. S., ARAÚJO, D. S., CAVALCANTE, L. C. D., BARROS, E. D. S., ARAÚJO, P. B. M., BRANDÃO, M. S., CHAVES, M. H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, 30(2): 351-355, 2007.
- SOUSA, J. R., SILVA, G. D. F., MIYAHOSHI, T., CHEN. C. Constituents of the root wood of *austroplenckia populnea* var *ovata*. **Journal of Natural Products**, 69(8): 1225-1227, 2006.
- SOUZA, L. B., PINTO, L. P., MEDEIROS, A. M. C., JUNIOR, R. F. A., MESQUITA, O. J. X. Manifestações orais em pacientes com AIDS em uma população brasileira. **Pesq. Odont. Bras.**, 14(1): 79-85, 2000.

- SOUZA, L. F. Recursos vegetais usados na medicina tradicional do Cerrado (comunidade de Baús, Acorizal, MT, Brasil). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, 9(4): 44-54, 2007.
- SRIVASTAVA, S. K., SRIVASTAVA, S. D., CHOUKSEY, B. K. New antifungal constituents from *Terminalia alata*, **Fitoterapia**, 72: 106-112, 2001.
- STAMFORD, T. L. M., ARAUJO, J. M., STAMFORD, N. P. Atividade enzimática de microorganismos isolados do Jacatupé (*Pachyrhizus erosus* L. Urban). **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, 18(4): 382-385, 1998.
- STEENKAMP, V. FERNANDES, A. C., VAN RENSBURG, C. E. J. Screening of venda medicinal plants for antifungal activity against *Candida albicans*. **South African Journal of Botany**, 73: 256-258, 2007.
- TANEJA, J., BHARGAVA, A., LOOMBA, P., DOGRA, V., THAKUR, A., MISHRA, B. Cryptococcal granulomas in na immunocompromised HIV-negative patient. **Indian Journal of Pathology and Microbiology**, 51(4): 554-555, 2008.
- TANGMOUO, J. G., MELI, A. L., KOMGUEM, J., KUETE, V., NGOUNOU, F. N., LONTSI, D., BENG, V. P., CHOUDHARY, M. I., SONDEGAM, B. L. Crassiflotone, a new naphthoquinone from *Diospyros crassifolia* (Hien). **Tetrahedron Letters**, 47: 3067-3070, 2006.
- TANIWAKI, M. H., HOCKING, A. D., PITT, J. I., FLEET, G. H. Growth and mycotoxin production by food spoilage fungi under high carbon dioxide and low oxygen atmospheres. **International Journal of Food Microbiology**, 132(2-3): 100-108, 2009.
- TAYLOR, R. S. L., EDEL, F., MANANDHAR, N. P., TOWERS, G. H. N. Antimicrobial activities of southern Nepalese medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, 50: 97-102, 1996.
- TEJESVI, M. V., KINI, K. R., PRAKASH, H. S., SUBBIAH, V., SHETTY, H. S. Genetic diversity and antifungal activity of species of *Pestalotiopsis* isolated as endophytes from medicinal plants. **Fungal Diversity**, 24: 37-54, 2007.
- TENE, M., TANE, P., TAMOKOU, J. D., KUIATE, J. R., CONNOLLY, J. D. Degraded diterpenoids from the stem bark of *Neoboutania mannii*. **Phytochemistry Letters**, 1(2): 120-124, 2008.

- TORTORA, G. J., FUNKE, B. R., CASE, C. L. Microbiologia. 6^a Ed. Editora Artmed, Rio de Janeiro, 2002.
- USMAN, H., MUSA, Y. M., AHMADU, A. A., TIJANI, M. A. Phytochemical and antimicrobial effects of *Chrozophora senegalensis*. **African Journal of Traditional Complementary and Alternative Medicines**, 4(4): 488-494, 2007.
- VALSARAJ, R., PUSHPANGADAN, P., SMITT, U. W., ADSERSEN, A., CHRISTENSEN, S. B., SITTIE, A., NYMAN, U., NIELSEN, C., OLSEN, C. E. New anti-HIV-1, antimalarial, and antifungal, compounds from *Terminalia bellerica*. **Journal of Natural Products**, 60: 739-742, 1997.
- VAN VUUREN, S. F., VILJOEN, A. M. In vitro evidence of phyto-synergy for plant part combinations of *Croton gratissimus* (Euphorbiaceae) used in African traditional healing. **Journal of Ethnopharmacology**, 119: 700-704, 2008.
- VAZQUEZ, J. A., Therapeutic options for the management of oropharyngeal and esophageal candidiasis in HIV/AIDS patients. **Clinical Trials**, 1:47-53, 2000.
- VETTORATO, G., CARVALHO, A. V. E., LECOMPTE, S. M., TREZ, E. G., GARCIA, V. D., KEITEL, E. Frequência de dermatoses infecciosas em 208 pacientes transplantados renais. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, 78(3): 283-288, 2003.
- VIEIRA, S. A., DUARTE, L. P., SILVA, G. D. F., HOWARTH, O. W., LULA, I. S. 3 beta-(stearyloxy)olean-12-ene from *Austroplenckia populnea*: Structure elucidation by 2D-NMR and quantitative C-13-NMR spectroscopy. **Helvetica Chimica Acta**, 86(10): 3445-3449, 2003.
- VILJOEN, A. M., MOOLLA, A., VAN VUUREN, S. F., BASER, K. H., DEMIRCI, B., OZEK, T. A seasonal variation study of the chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Agathosma ovate* (Thunb.) Pillans (Rutaceae). **J. Essent. Oil Res**, 18: 30-36, 2006b.
- VILJOEN, A. M., MOOLLA, A., VAN VUUREN, S. F., VAN ZYL, R. L., BASER, K., H. C., DEMIRCI, B., OZEK, T., TRINDER-SMITH, T. H. The biological activity and essential oil composition of 17 *Agathosma* (Rutaceae) species. **J. Essent. Oil Res.**, 18: 2-16, 2006.
- VISWANATHAN, M. B., RAMESH, N. AHILAN, A., LAKSHMANAPERUMALSAMY, P. Phytochemical constituents and antimicrobial activity from the stems of *Jatropha maheshwarii*. **Medicinal Chemistry Research**, 13(6/7): 361-368, 2004.

- VONSHAK, A., BARAZANI, O., SATHIYAMOORTHY, P., SHALEV, R., VARDY, D., GOLAN-GOLDHIRSH, A. Screening South Indian medicinal plants for antifungal activity against cutaneous pathogens. **Phytotherapy Research**, 17(9): 1123-1125, 2003.
- WANSI, J. D., WANDJI, J., WAFFO, A. F. K., NGEUFA, H. E., NDOM, J. C., FOTSO, S., MASKEY, R. P., NJAMEN, D., FOMUM, T. Z., LAATSCH, H. Alkaloids from *Oriciopsis glaberrima* Engl. (Rutaceae). **Phytochemistry**, 67: 475-480, 2006.
- WEBSTER, D., TASCHEREAU, P., BELLAND, R. J., SAND, C., RENNIE, R. P. Antifungal activity of medicinal plant extracts preliminary screening studies. **Journal of Ethnopharmacology**, 115: 140-146, 2008.
- WEITZMAN, I., SUMMERBELL, R. C. The dermatophytes. **Clinical Microbiology Reviews**, 8(2): 240-259, 1995.
- WHITE, T. C., MARR, K. A., BOWDEN, R. A. Clinical, Cellular, and Molecular Factors That Contribute to Antifungal Drug Resistance. **Clin. Microbiol. Rev.**, 11(2): 382-402, 1998.
- YAMADA, C. K., MENDES, A. V. T. O., MEIRA, M. C. A. M., BOHNENSTENGEL, E., SABONGI, V. P. G. Incidência de dermatofitoses e candidoses em pacientes HIV soropositivos. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, 75(2): 157-163, 2000.
- ZARDO, V., MEZZARI, A. Os antifúngicos nas infecções por *Candida* sp.. **NewsLab**, 63: 136-146, 2004.
- ZONIOS, D. I., BENNETT, J. E. Update on azole antifungals. **Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine**, 29(2): 198-210, 2008.