

Avaliação da Atividade Antimicrobiana “in vitro e in vivo” e Estudo Químico Biomonitorado de Piper hayneanum C.DC. (Piperaceae) e Zeyheria tuberculosa (Vell.) Bur. (Bignoniaceae)

Maria Lysete de Assis Bastos

Maceió/AL
2008

Maria Lysete de Assis Bastos

Avaliação da Atividade Antimicrobiana “in vitro e in vivo” e Estudo Químico Biomonitorado de Piper hayneanum C.DC. (Piperaceae) e Zeyheria tuberculosa (Vell.) Bur. (Bignoniaceae)

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia do Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas, como cumprimento às exigências para a obtenção do título de *Doutor em Ciências*. Este trabalho foi realizado sob Orientação da *Profa Dra. Eliana Maria Mauricio da Rocha* e Co-orientação da *Profa. Dra. Lucia Maria Conserva*

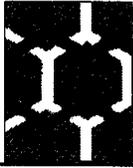
Maceió/AL
2008

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecária Responsável: Helena Cristina Pimentel do Vale

- B327a Bastos, Maria Lysete de Assis.
Avaliação da atividade antimicrobiana “in vitro e in vivo” e estudo químico biomonitorado de *Piper hayneanum* C.DC. (Piperaceae) e *Zeyheria tuberculosa* (Vell.) Bur. (Bignoniaceae) / Maria Lysete de Assis Bastos. – Maceió, 2008.
xvii, 254 f. : il. tabs., grafs.
- Orientadora: Eliana Maria Mauricio da Rocha.
Co-Orientadora: Lucia Maria Conserva.
Tese (doutorado em Química e Biotecnologia) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. Maceió, 2008.
- Bibliografia: f. [198]-250.
Anexos: f. [251]-254.
1. *Zeyheria tuberculosa*. 2. *Piper hayneanum*. 3. Atividade antimicrobiana.
4. *Artemia salina*. 5. Flora – Alagoas. 6. Produtos naturais. I. Título.

CDU: 547.9



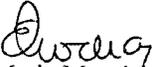
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA**

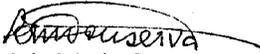
Instituto de Química e Biotecnologia
Universidade Federal de Alagoas
Tel. 55 82 3214-1384 Fax. 55 82 3214-1389
www.cpgqb@qui.ufal.br

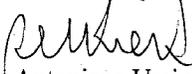
Campus A. C. Simões
Tabuleiro dos Martins
57072-970
Maceió-AL
Brasil

Membros da Comissão Julgadora da Tese de Doutorado de Maria Lysete de Assis Bastos intitulada: "Avaliação da Atividade Antimicrobiana in vitro e in vivo e Estudo Químico Biomonitorado das Espécies Vegetais *Piper hayneanum* V.DC. (Piperaceae) e *Zeyheria tuberculosa* (Vell.) Bur. (Bignoniaceae)", apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas em 29 de setembro de 2008, às 9hs na sala de Reuniões do IQB da UFAL.

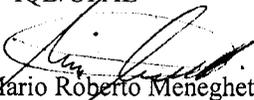
COMISSÃO JULGADORA

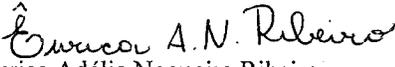

Prof.^a. Dr.^a. Eliana Maria Maurício da Rocha
Orientadora – PPGQB/ICBS/UFAL


Prof.^a. Dr.^a. Lúcia Maria Conserva
Co – Orientadora PPGQB/IQB/UFAL


Prof.^a. Dr.^a. Antoniana Ursine Krettli
Centro de Pesquisa René Rachou/Fundação Oswaldo Cruz


Prof.^a. Dr.^a. Ana Paula Freitas da Silva
IQB/UFAL


Prof. Dr. Mario Roberto Meneghetti
PPGQB/IQB/UFAL


Prof.^a. Dr.^a. Éurica Adélia Nogueira Ribeiro
ESENFAR/UFAL

À *Deus* e a *Sua Mãe Maria*, por todos os momentos em que a *Eles* me dirigi e, em que por meio de *Suas* respostas, se fortaleceu a minha caminhada.

À *minha família*, pelo incentivo e apoio recebidos, em especial ao meu esposo *Adelmo* e aos meus filhos *Bruno* e *Douglas*.

Dedico à concretização deste *sonho*!

*A sabedoria do prudente é entender o
seu próprio caminho.*

Provérbios, 14 : 8

Agradecimentos

Às **Professoras Dra. Eliana Maria Maurício da Rocha** e **Dra. Lucia Maria Conserva**, pela orientação, paciência, amizade, dedicação e ensinamentos transmitidos, os quais jamais serão esquecidos. Sinto-me privilegiada em compartilhar com vocês este trabalho, por tudo que representam como pesquisadoras;

À **Profa. Dra. Vânia Souza Andrade**, do Departamento de Patologia e Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de Alagoas (UFAL), pelos conhecimentos transmitidos durante a realização dos ensaios antimicrobianos e pela amizade e disponibilidade de ajuda e sugestões, contribuindo sempre com o melhor de si;

Ao **Prof. Dr. Ricardo Luís Simões Houly**, da Faculdade de Medicina/UFAL pela preparação das lâminas, realização da leitura e resultados do estudo histopatológico;

À **Botânica Rosângela Pereira de Lyra Lemos**, do Instituto do Meio Ambiente/AL, pela coleta e identificação do material vegetal;

Ao **Doutorando José Rui Reys**, do Instituto de Química e Biotecnologia/UFAL, pela colaboração na manipulação das pomadas utilizadas nos ensaios *in vivo*;

À **Dra. Elsie Franklin Guimarães**, do Jardim Botânico do Rio de Janeiro, pela identificação da nova espécie vegetal alagoana;

Ao **Prof. Dr. José Maria Barbosa Filho**, do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica da Universidade Federal da Paraíba, pelas informações presentes no banco de dados do Natural Products Alert (NAPRALERT) sobre os gêneros *Piper* e *Zeyheria*;

À **Dra. Raquel Ferreira de Lima**, pela importante contribuição na realização dos testes de Toxicidade da *Artemia salina* e também pelo companheirismo, incentivo e apoio;

Aos colegas da **Escola de Enfermagem e Farmácia//UFAL**, pelo meu afastamento e em especial, por aqueles que assumiram as minhas atividades docentes;

Ao **Laboratório de Ressonância Magnético Nuclear** – LRMN/UFAL, em especial ao **Prof. Dr. Edson de Souza Bento**, pelos espectros de RMN;

À **Profa. Dra. Patrícia Emanuella** e aos **Mestres Fabyanne** e **Gerson** pela inestimável ajuda no aprendizado do manejo com a Fitoquímica, pelo incentivo e principalmente pela amizade de vocês, que serviu de encorajamento para concretização do meu sonho;

À **Profa. Dra. Ana Paula Freitas** do Instituto de Química e Biotecnologia/UFAL pela amizade e disponibilidade para sugestões, visando à melhoria do trabalho Fitoquímico;

À **Profa. Doutoranda Vera Monteiro**, companheira de luta em prol de uma Enfermagem digna e revestida de conhecimento científico, pela amizade e solidariedade.

Aos docentes do Programa de Pós-graduação do Instituto de Química e Biotecnologia/UFAL, em especial aos **Professores Doutores Marília Goulart, Margarida Humberto, Gilberto Fontes, Edson Bento, Antonio Euzébio G. Sant'ana** e **Luís Carlos Caetano** por todo aprendizado transmitido durante as disciplinas cursadas;

Aos colegas do Laboratório de Pesquisa em Química dos Produtos Naturais - LPqPN: **Fernando, Sandovânio, Edmilson, Patrícia Vasconcelos, Nayara, Vivian, Jataí** e **Jesu**, pela amizade, troca de conhecimentos e momentos agradáveis vivenciados;

Aos colegas do **Laboratório de Pesquisa em Filariose/UFAL**, **Anderson Leite, Rafael Vital, Herbert Charles, Verônica Alves**, pela amizade, troca de conhecimentos e momentos agradáveis vivenciados;

Às **Mestres Rachel Vasconcelos** e **Juliana Lyra**, pela amizade e imensa colaboração nos ensaios microbiológicos e análise estatística;

Ao **Dr. Sebastião Palmeira** por toda ajuda durante as dificuldades enfrentadas no período das disciplinas, em especial Química Orgânica;

Ao **Prof. Dr. Thiago Barros** pela amizade, troca de conhecimentos e incentivo;

Aos estagiários do LQPN: *Érika, Lívia, Erlan e Morgana*, pela valiosa ajuda nas tarefas diárias que compõem o conjunto de atividades da fitoquímica, bem como pela colaboração nos ensaios antimicrobianos *in vivo*;

Aos colegas de Pós-Graduação que estiveram presentes enriquecendo as discussões e contribuindo para o meu aprendizado durante o Curso, em especial *Sivaldo Soares Paulino, Fabyanne Moura, Gerson Lima, Daniela de Nazaré, Lívia Mendonça, Nathalia Velasquez, Maria Vladmilza, e Jonathan Duarte*;

À *Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Alagoas (FAPEAL), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Instituto do Milênio do Semi-Árido (IMSEAR)*, pelos recursos financeiros concedidos;

Aos *funcionários e colaboradores* do Instituto de Química e Biotecnologia/UFAL, em especial *Aldy, Sandra, Rejane e Josilan*;

A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

Sumário

	<i>Agradecimentos</i>	iv
	<i>Lista de Figuras</i>	ix
	<i>Lista de Tabelas</i>	xii
	<i>Lista de Quadros</i>	xiii
	<i>Lista de Abreviaturas, Siglas e Símbolos</i>	xiv
	<i>Resumo</i>	xvi
	<i>Abstract</i>	xvii
1.	<i>Introdução</i>	1
2.	<i>Objetivos</i>	6
3.	<i>Considerações Gerais</i>	8
3.1	Doenças Infecciosas e Sistema Tegumentar	9
3.2	Atividade Antimicrobiana	11
3.3	Microrganismos Estudados	15
3.4	Espécies Vegetais Seleccionadas	20
3.5	Gêneros <i>Zeyheria</i> (Bignoniaceae) e <i>Piper</i> (Piperaceae)	21
3.5.1	Gênero <i>Zeyheria</i>	21
3.5.2	Gênero <i>Piper</i>	25
4.	<i>Experimental</i>	93
4.1	Solventes e Reagentes	94
4.2	Materiais para os diferentes ensaios	94
4.3	Equipamentos	95
4.4	Meios de Cultivos e Soluções Utilizadas nos Ensaio Antimicrobianos	96
4.4.1	Meios de cultivos (composição e preparo)	96
4.4.2	Soluções	97
4.5	Seleção, Coleta e Identificação dos Materiais Vegetais	98
4.6	Preparação dos Extratos, Frações de Partição ou de Tratamento Ácido-base	99
4.6.1	Metodologia utilizada no tratamento ácido-base	100
4.7	Procedimento Experimental dos Ensaio Antimicrobianos <i>in vitro</i>	103
4.7.1	Microrganismos utilizados	103
4.7.2	Preparo do inoculo contendo os microrganismos	103

4.7.3	Preparação dos extratos para os ensaios antimicrobianos <i>in vitro</i>	104
4.7.4	Avaliação da susceptibilidade dos microrganismos a antibióticos e antifúngicos	104
4.7.5	Aquisição e preparo dos controles para os ensaios antimicrobianos <i>in vitro</i>	105
4.7.6	Ensaio antimicrobianos <i>in vitro</i>	105
4.7.7	Leitura das placas e interpretação dos resultados	106
4.7.8	Determinação da Concentração Inibitória Mínima	106
4.7.9	Toxicidade frente a <i>Artemia salina</i> (TAS)	107
4.7.9.1	Ensaio biológico preliminar	108
4.7.9.2	Ensaio biológico quantitativo	108
4.8	Procedimento Experimental dos Ensaio Antimicrobianos <i>in vivo</i>	109
4.8.1	Ensaio antimicrobianos <i>in vivo</i>	110
4.8.2	Monitoramento dos ensaios antimicrobianos <i>in vivo</i>	111
4.9	Análise Estatística	113
4.10	Investigação Fitoquímica das Frações Ativas	113
4.10.1	Isolamento dos constituintes químicos da espécie <i>Zeyheria tuberculosa</i>	114
4.10.2	Isolamento dos constituintes químicos da espécie <i>Piper hayneanum</i>	115
4.11	Bioautografia das Substâncias Isoladas	117
4.12	Procedimento Experimental Efetuado com as Espécies Vegetais <i>Zeyheria tuberculosa</i> e <i>Piper hayneanum</i>	118
4.13	Dados Físicos e Espectrométricos das Substâncias Isoladas	118
5.	<i>Resultados e Discussão</i>	122
5.1	Perfil de Sensibilidade a Antimicrobianos dos Microrganismos Utilizados nos Testes	123
5.2	Avaliação Antimicrobiana <i>in vitro</i>	124
5.2.1	Avaliação dos extratos brutos	124
5.2.2	Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos extratos brutos	127
5.2.3	Avaliação das frações oriundas das partições	128
5.2.4	Concentração Inibitória Mínima (CIM) das frações oriundas das partições	131
5.2.5	Avaliação das subfrações oriundas das filtrações e tratamento ácido-base	135
5.3	Toxicidade Frente à <i>Artemia salina</i> (TAS)	141
5.4	Avaliação Antimicrobiana <i>in vivo</i>	146
5.4.1	Avaliação macroscópica - observação clínica das lesões	146
5.4.2	Análise microbiológica das feridas	152
5.4.3	Análise histopatológica das feridas	153

5.5	Identificação Estrutural das Substâncias Isoladas	157
5.5.1	Identificação estrutural dos constituintes químicos da espécie <i>Z. tuberculosa</i>	158
5.5.1.1	Identificação estrutural das substâncias codificadas de ZtCC-1 e ZtCC-2	158
5.5.1.2	Identificação estrutural das substâncias codificadas de ZtCC-3 e ZtCC-4	169
5.5.2	Isolamento dos constituintes químicos da espécie <i>Piper hayneanum</i>	180
5.5.2.1	Identificação estrutural das substâncias codificadas de PhCC-2a e PhCC-2b	180
5.5.2.2	Identificação Estrutural da Substância Codificada de PhCC-3	185
5.6	Ensaio Antimicrobiano com as Substâncias Isoladas (Bioautografia)	191
5.7	Considerações Gerais Sobre Flavonóides e Fitoesteróides	192
6.	<i>Considerações Finais</i>	195
7.	<i>Referências Bibliográficas</i>	198
8.	<i>Anexos</i>	251

Lista de Figuras

Figura 1.	Mapa dos Biomas brasileiros	5
Figura 2.	Desenho esquemático das camadas que constituem a pele	10
Figura 3.	Mecanismo de Ação dos Antimicrobianos	12
Figura 4.	<i>Staphylococcus aureus</i>	16
Figura 5.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	17
Figura 6.	<i>Candida albicans</i>	18
Figura 7.	Fotos das espécies vegetais <i>Z. tuberculosa</i> (Vell) Bur. e de <i>P. hayneanum</i> C.DC.	24
Figura 8.	Distribuição das Indicações populares cientificamente comprovadas	26
Figura 9.	Escala de MacFarland.	98
Figura 10.	Esquema geral do procedimento experimental efetuado na preparação de extratos, frações e subfrações das espécies vegetais selecionadas.	101
Figura 11.	Distribuição do inóculo dos microrganismos na placa de Petri utilizando <i>swab</i>	103
Figura 12.	Microplaca de 96 orifícios utilizada para depositar os discos de papel de filtro impregnados com os extratos/frações dispostos em microplacas	104
Figura 13.	Discos de antibiograma (A) e distribuição dos discos impregnados em placa de Petri (B)	106
Figura 14.	Larva de <i>A. salina</i> (A) e recipiente para eclosão de ovos (B).	108
Figura 15.	Microplacas utilizadas nos ensaios preliminares (A) e quantitativos do <i>TAS</i> (B).	109

Figura 16.	Técnicas usadas para anestesia (A) e para epilação (B).	111
Figura 17.	Antissepsia (A), lesões excisivas (B) e exposição do tecido aponeurótico (C)	111
Figura 18.	Coleta do exudato (A) e placa de Petri semeada (B)	112
Figura 19.	Coleta e acondicionamento dos fragmentos das feridas	113
Figura 20.	Esquema geral do procedimento experimental efetuado com a espécie vegetal <i>Z. tuberculosa</i>	120
Figura 21.	Esquema geral do procedimento experimental efetuado com a espécie vegetal <i>P. hayneanum</i>	121
Figura 22.	Zona de inibição dos antimicrobianos utilizados para avaliação do padrão de susceptibilidade do <i>S. aureus</i> (A), <i>C. albicans</i> (B) e <i>P. aeruginosa</i> a antimicrobianos. Controle Negativo (CN)	123
Figura 23.	Zona de inibição de extratos frente a <i>S. aureus</i> (A-B): <i>P. hayneanum</i> (A), <i>Z. tuberculosa</i> (B) e do controle positivo (vancomicina 30 µg/disco), bem como frente a <i>P. aeruginosa</i> (C) e do controle positivo (ciprofloxacina 5 µg/disco)	124
Figura 24.	Zona de inibição de extratos frente a <i>C. albicans</i> (A-B): <i>P. hayneanum</i> (A), <i>Z. tuberculosa</i> (B) e do controle positivo (miconazol 50 µg/disco)	125
Figura 25.	Concentração Inibitória Mínima dos extratos brutos frente à <i>S. aureus</i>	127
Figura 26.	Concentração Inibitória Mínima dos extratos brutos frente à <i>C. albicans</i> .	128
Figura 27.	Zona de inibição de frações frente a <i>S. aureus</i> (A-B): <i>P. hayneanum</i> (A), <i>Z. tuberculosa</i> (B) e do controle positivo (vancomicina 30 µg/disco), bem como frente a <i>P. aeruginosa</i> (C) e do controle positivo (ciprofloxacina 5 µg/disco)	129
Figura 28.	Zona de inibição de frações frente a <i>C. albicans</i> (A-B): <i>P. hayneanum</i> (A), <i>Z. tuberculosa</i> (B) e do controle positivo (miconazol 50 µg/disco)	130
Figura 29.	Curva de inibição do crescimento de <i>S. aureus</i> frente às frações em CHCl ₃ (A) e AcOEt (B) das raízes de <i>P. hayneanum</i>	131
Figura 30.	Curva de inibição do crescimento de <i>S. aureus</i> frente às frações em C ₆ H ₁₄ (A) e em CHCl ₃ (B) do caule de <i>Z. tuberculosa</i>	132
Figura 31.	Curva de inibição do crescimento de <i>C. albicans</i> frente às frações em CHCl ₃ (A) e em AcOEt (B) das raízes de <i>P. hayneanum</i>	133
Figura 32.	Curva de inibição do crescimento de <i>C. albicans</i> frente às frações em CHCl ₃ (A) do caule de <i>P. hayneanum</i> e em C ₆ H ₁₄ (B) do caule da <i>Z. tuberculosa</i>	134
Figura 33.	Curva de inibição do crescimento de <i>C. albicans</i> frente à fração em CHCl ₃ do caule de <i>Z. tuberculosa</i>	134
Figura 34.	Curva de inibição do crescimento de <i>S. aureus</i> (A) e <i>C. albicans</i> (B) frente à subfração em CHCl ₃ das raízes de <i>P. hayneanum</i>	135
Figura 35.	Curva de inibição do crescimento de <i>S. aureus</i> (A) e <i>C. albicans</i> (B) frente à subfração CHCl ₃ -MeOH (1:1) das raízes de <i>P. hayneanum</i>	136
Figura 36.	Curva de inibição do crescimento de <i>S. aureus</i> (A) e <i>C. albicans</i> (B) frente à subfração em C ₆ H ₁₄ -CHCl ₃ (1:1) do caule de <i>Z. tuberculosa</i>	136

Figura 37.	Curva de inibição do crescimento de <i>S. aureus</i> (A) e <i>C. albicans</i> (B) frente à subfração em CHCl ₃ do caule de <i>Z. tuberculosa</i>	137
Figura 38.	Curva de inibição do crescimento de <i>S. aureus</i> (A) e <i>C. albicans</i> (B) frente à subfração em CHCl ₃ -MeOH (1:1) do caule de <i>Z. tuberculosa</i>	137
Figura 39.	Curva de inibição do crescimento de <i>C. albicans</i> frente às subfrações em MeOH (A) das raízes e CHCl ₃ (B) do caule de <i>P. hayneanum</i>	139
Figura 40.	Curva de inibição do crescimento de <i>C. albicans</i> (B) frente às subfrações CHCl ₃ -AcOEt (1:1) (A) e AcOEt (B) do caule de <i>P. hayneanum</i>	139
Figura 41.	Curva de inibição do crescimento de <i>C. albicans</i> (B) frente às subfrações MeOH do caule de <i>P. hayneanum</i> (A) e ácida em C ₆ H ₁₄ do caule de <i>Z. tuberculosa</i>	140
Figura 42.	Mortalidade da <i>A. salina</i> em função das concentrações testes (µg/mL) para as frações CHCl ₃ (A) e AcOEt (B) do caule de <i>P. hayneanum</i>	144
Figura 43.	Mortalidade da <i>A. salina</i> em função das concentrações testes (µg/mL) para as frações em CHCl ₃ (A) das raízes de <i>P. hayneanum</i> e em C ₆ H ₁₄ Ácida (B) do caule de <i>Z. tuberculosa</i>	144
Figura 44.	Mortalidade da <i>A. salina</i> em função das concentrações testes (µg/mL) para as frações C ₆ H ₁₄ -CHCl ₃ (A) e em CHCl ₃ (B) do caule de <i>Z. Tuberculosa</i>	145
Figura 45.	Curva do peso corpóreo dos animais infectados com <i>S aureus</i> (A) e <i>C. albicans</i> (B) e submetidos a diferentes tratamentos	147
Figura 46.	Curva da temperatura corpórea dos animais infectados com <i>S aureus</i> (A) e <i>C. albicans</i> (B) e submetidos a diferentes tratamentos	148
Figura 47.	Aferição: Temperatura (A) e diâmetro da lesão (B)	149
Figura 48.	Cinética da cicatrização das lesões dos animais infectados com <i>S aureus</i> (A) ou <i>C. albicans</i> (B) e submetidos a diferentes tratamentos	150
Figura 49.	Cores apresentadas pelas lesões infectadas dos animais segundo agente etiológico e DPO	151
Figura 50.	Aspecto das lesões infectadas. Vermelho (A) e Rosa (B)	152
Figura 51.	Cortes histológicos das lesões no 3º DPO: ausência de epitelização, tecido de granulação (tg), neovascularização (nv), rede de fibrina (rf). Pomada 1 (A), Pomada 2 (B), controle positivo (C), controle negativo (D)	154
Figura 52.	Cortes histológicos das lesões no 9º DPO: epitelização (ep), tecido de granulação (tg), neovascularização (nv), rede de fibrina (rf). Pomada 1 (A), Pomada 2 (B), controle positivo (C), controle negativo (D)	155
Figura 53.	Cortes histológicos das lesões no 15º DPO: epitelização (ep), tecido de granulação (tg), neovascularização (nv), rede de fibrina (rf). Pomada 1 (A), Pomada 2 (B), controle positivo (C), controle negativo (D). (HE, 100X)	156
Figura 54.	Espectros de RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃ /CD ₃ OD) da substância ZtCC-1	163
Figura 55.	Espectros de RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃ /CD ₃ OD) da substância ZtCC-2	164
Figura 56	Espectros de RMN ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃ /CD ₃ OD) da substância ZtCC-1	165

Figura 57	Espectros de RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância ZtCC-2	166
Figura 58.	Espectro HMBC (^1H : 400; ^{13}C : 100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância ZtCC-1	167
Figura 59.	Espectro HMBC (^1H : 400; ^{13}C : 100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância ZtCC-2	168
Figura 60.	Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) da substância ZtCC-3	173
Figura 61.	Espectro de RMN ^1H (400 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância ZtCC-4	174
Figura 62.	Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da substância ZtCC-3	175
Figura 63.	Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância ZtCC-4	176
Figura 64.	Espectro HSQC (^1H : 400; ^{13}C : 100 MHz, CDCl_3) da substância ZtCC-3	177
Figura 65.	Espectro DEPT (100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância ZtCC-4	177
Figura 66.	Espectro HMBC (^1H : 400; ^{13}C : 100 MHz, CDCl_3) da substância ZtCC-3	178
Figura 67.	Espectro HMBC (^1H : 400; ^{13}C : 100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância ZtCC-4	179
Figura 68.	Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) das substâncias codificadas de PhCC-2a e PhCC-2b	183
Figura 69.	Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) das substâncias codificadas de PhCC-2a e PhCC-2b	184
Figura 70.	Espectro RMN ^1H (400 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância PhCC-3	187
Figura 71.	Espectro DEPT 135 (100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância PhCC-3	188
Figura 72.	Espectro HSQC (^1H : 400 MHz; ^{13}C : 100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância PhCC-3	189
Figura 73.	Espectro HMBC (^1H : 400 MHz; ^{13}C : 100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância PhCC-3	190
Figura 74.	Halo de inibição das substâncias (HI) frente a <i>S. aureus</i> (A-B) e frente a <i>C. albicans</i> (C)	192

Lista de Tabelas

Tabela 1.	Usos populares relatados em espécies do gênero <i>Piper</i> (Piperaceae)	28
Tabela 1a.	Usos populares de espécies de <i>Piper</i> associadas a outras espécies	54
Tabela 2	Atividades biológicas relacionadas em espécies do gênero <i>Piper</i> e comprovadas em modelos experimentais	59
Tabela 3.	Escores utilizados para avaliação do exame histopatológico	112
Tabela 4.	Resultados da atividade antimicrobiana com os extratos brutos	125
Tabela 5.	Resultados da atividade antimicrobiana com as partições	129
Tabela 6.	Subfrações de <i>P. hayneanum</i> e de <i>Z. tuberculosa</i> submetidas ao Teste de Toxicidade frente à <i>A. salina</i>	141
Tabela 7.	Escores do estudo histopatológico das feridas infectadas pelo <i>S. aureus</i>	153

Tabela 8.	Escores do estudo histopatológico das feridas infectadas pela <i>C. albicans</i>	153
Tabela 9.	Dados de RMN (¹ H: 400; ¹³ C: 100 MHz, CDCl ₃ /CD ₃ OD, δ, Hz) da substância codificada de ZtCC-1 e comparação com dados descritos na literatura	161
Tabela 10.	Comparação dos dados de RMN de ZtCC-2 (¹ H: 400 MHz; ¹³ C: 100 MHz, CDCl ₃ /CD ₃ OD, δ) com os dos modelos 5,6,7-Trimetoxiflavona (A) 5,7,8-Trimetoxiflavona (B) e 5,6,8-Trimetoxiflavona (C)	162
Tabela 11.	Dados de RMN (¹ H: 400 MHz; ¹³ C: 100 MHz, CDCl ₃ , δ, Hz) da substância codificada de ZtCC-3 e comparação com dados da literatura (200 MHz, CDCl ₃) e do modelo Tangeritina	171
Tabela 12.	Dados de RMN (¹ H: 400 MHz; ¹³ C: 100 MHz, CDCl ₃ /CD ₃ OD, δ, Hz) da substância codificada de ZtCC-4 e comparação com dados da literatura e dos modelos 4',5,6,7-Tetrametoxiflavona e 4',5,7-Trihidroxi-6-metoxiflavona	172
Tabela 13.	Dados de RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃ , δ, Hz) das substâncias codificadas de PhCC-2a e PhCC-2b e comparação com dados descritos na literatura	181
Tabela 14.	Dados de RMN ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃ , δ) das substâncias codificadas de PhCC-2a , PhCC-2b e comparação com dados do Sitosterol , Estigmasterol e Clionasterol	182
Tabela 15.	Dados de RMN (¹ H: 400; ¹³ C: 100 MHz, CDCl ₃ /CD ₃ OD, δ, Hz) da substância PhCC-3 e comparação com dados da literatura	186
Tabela 16.	Resultados da atividade antimicrobiana avaliada por bioautografia das substâncias isoladas das espécies vegetais Zeyheria tuberculosa e Piper hayneanum	191

Lista de Quadros

Quadro 1.	Antibióticos e antifúngicos utilizados no tratamento das infecções microbianas	13
Quadro 2.	Espécies vegetais selecionadas e coletadas em diferentes locais do Estado de Alagoas para estudo	99
Quadro 3.	Massas dos extratos brutos de diferentes plantas estudadas obtidos por maceração	100
Quadro 4.	Massas das frações provenientes de partições e de tratamento ácido-base.	102
Quadro 5.	Massas das subfrações provenientes de filtrações em gel de sílica.	102
Quadro 6.	Fármacos utilizados para avaliação da susceptibilidade segundo microrganismo	105
Quadro 7.	Resumo dos constituintes químicos isolados das frações em CHCl ₃ , promissoras nos ensaios <i>in vitro</i> , do caule de <i>Z. tuberculosa</i> e <i>P. hayneanum</i>	117
Quadro 8.	Perfil de susceptibilidade dos microrganismos utilizados nos ensaios antimicrobianos	124

Lista de Abreviaturas, Siglas e Símbolos

AMH	Agar Mueller Hinton
ASD	Agar Sabouraud Dextrose
ATCC	American Type Cell Colletion
BHI	Infusão de Cérebro e Coração
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CG-EM	Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas
CI ₅₀	Concentração inibitória capaz de eliminar 50% da população
CI ₉₀ e CI ₉₅	Concentração inibitória capaz de eliminar 90 e 95% da população
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CL ₅₀ ou LC ₅₀	Concentração letal capaz de eliminar 50% da população
Conc.	Concentração
Cult.	Cultura
δ	Deslocamento Químico
<i>d</i>	Dupleto
<i>dd</i>	Duplo Dupleto
DEPT	Distortioless Enhancement by Polarization Transfer
DL ₅₀ ou LD ₅₀	Dose letal capaz de eliminar 50% da população
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
ED ₅₀	Dose mínima capaz de produzir o efeito desejado de uma droga
Ext.	Extrato
HIV	Vírus da Imunodeficiência Adquirida
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence
IC	Intracardiaca
IC ₉₅	Intervalo de Confiança a 95%
ID	Intraduodenal
IG	Intragástrico
IMA	Instituto do Meio Ambiente
IR	Índice de Retenção
IP	Intraperitoneal
IV	Intravenoso
<i>J</i>	Constante de Acoplamento

<i>m</i>	Multiplete
MHz	Megahertz
p.	Página
p.f.	Ponto de Fusão
pH	Potencial Hidrogeniônico
PhCE	<i>Piper hayneanum</i> caule EtOH
PhRE	<i>Piper hayneanum</i> raízes EtOH
PhFE	<i>Piper hayneanum</i> folhas EtOH
PhFH	<i>Piper hayneanum</i> folhas C ₆ H ₁₄
PmCE	<i>Piper marginatum</i> caule EtOH
PmRE	<i>Piper marginatum</i> raízes EtOH
PmFE	<i>Piper marginatum</i> folhas EtOH
ppm	Partes por Milhão
q.s.p.	Quantidade Suficiente Para
Rf	Relação de Front
RNA	Ácido Ribonucléico
RMN ¹³ C	Ressonância Magnética Nuclear de carbono treze
RMN ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio
<i>s</i>	Simpleto
SaCE	<i>Swartzia apetala</i> caule EtOH
SaCCE	<i>Swartzia apetala</i> cascas do caule EtOH
SaCFH	<i>Swartzia apetala</i> cascas dos frutos C ₆ H ₁₄
<i>sl</i>	Simpleto Largo
SC	Subcutânea
SIDA	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
SNC	Sistema Nervoso Central
<i>t</i>	Triplete
TMS	Tetrametilsilano
UFC	Unidade Formadora de Colônia
UTI	Unidade de Terapia Intensiva
UV	Ultravioleta
VO	Via Oral
ZtCE	<i>Zeyheria tuberculosa</i> caule EtOH

Resumo

O presente trabalho descreve o estudo químico, monitorado pela atividade antimicrobiana, das espécies vegetais da flora alagoana: *Zeyheria tuberculosa* (Vell.) Bur. (Bignoniaceae), *Capparis cynophallophora* L e *C. spinosa* Jacq (Capparaceae), *Swartzia apetala* Raddi. (Papilionaceae), *Piper marginatum* Jacq. e *P. hayneanum* C.DC. (Piperaceae), e *Portulaca* cf. *elation* Mart. ex. Rohrb. (Portulacaceae). A avaliação da potencial antimicrobiano dos extratos, frações e subfrações foi realizado pelo método de difusão em ágar, e a bioprospecção com as substâncias isoladas investigado pelo ensaio da bioautografia. As espécies vegetais foram testadas frente a um painel de microrganismos, incluindo uma bactéria Gram-positiva *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), uma Gram-negativa *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), e um fungo *Candida albicans* (ATCC 10231). A Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi determinada para as frações e subfrações que apresentaram atividade inibitória sobre os microrganismos testados. Somente material extraído das espécies vegetais *Z. tuberculosa* e *P. hayneanum* foram capazes de inibir o crescimento do *S. aureus* e da *C. albicans*. Estes microrganismos foram mais sensíveis à ação das subfrações em CHCl₃ oriundas do caule de *Z. tuberculosa*, e do caule e das raízes de *P. hayneanum*, com CIM de 1 a 250 µg/disco. As subfrações ativas, submetidas ao bioensaio com o microcrustáceo *Artemia salina*, apresentaram baixa toxicidade ou foram atóxicas. Pomadas a base de extratos subfracionados CHCl₃-MeOH (1:1) e CHCl₃-AcOEt (1:1) de *P. hayneanum* mostraram bom potencial de aplicação como antimicrobiano em ensaios *in vivo* para tratamento de feridas infectadas em ratos. A investigação fitoquímica de extratos de *Z. tuberculosa* com potencial antimicrobiano conduziu ao isolamento de quatro flavonóides (5,6,7,8-Tetrametoxiflavona, 5,6,7-Trimetoxiflavona, 4'-Hidroxi-5,6,7,8-tetrametoxiflavona e 4'-Hidroxi-5,6,7-trimetoxiflavona); enquanto que da espécie *P. hayneanum* foram isolados três fitoesteróides (β -Sitosterol, Estigmasterol e β -Sitosterol glicosilado). Estas substâncias foram identificadas com base na análise de dados espectroscópicos de RMN uni e bidimensional (HMBC e HSQC), incluindo DEPT. O estudo fitoquímico contribuiu para ampliar o perfil quimiotaxonômico do gênero *Zeyheria*. Nos ensaios antimicrobianos com as substâncias isoladas pelo método da bioautografia as substâncias ativas contra *S. aureus* foram 5,6,7,8-Tetrametoxiflavona, 5,6,7-Trimetoxiflavona e 4'-Hidroxi-5,6,7,8-tetrametoxiflavona, enquanto para *C. albicans* foram 5,6,7,8-Tetrametoxiflavona, 4'-Hidroxi-5,6,7,8-tetrametoxiflavona e 3-O- β -D-Glicopiranosilsitosterol. Os resultados obtidos são considerados promissores, uma vez que, os extratos, frações e compostos isolados apresentaram capacidade de controlar o crescimento de microrganismos responsáveis pela contaminação de feridas que afetam o sistema tegumentar.

Palavras-chave: Atividade antimicrobiana, *Zeyheria tuberculosa*, *Piper hayneanum*, *Artemia salina*.

Abstract

The present work describes a chemical study, monitored by the antimicrobial activity, from the following plant species from Alagoas flora: *Zeyheria tuberculosa* (Vell.) Bur. (Bignoniaceae), *Capparis cynophallophora* L. and *C. spinosa* Jacq (Capparaceae), *Swatzia apetala* Raddi. (Fabaceae), *Piper marginatum* Jacq. and *P. hayneanum* C.DC. (Piperaceae), and *Portulaca* cf. *elation* Mart. ex. Rohrb. (Portulacaceae). The antimicrobial evaluation of the extracts, fractions and subfractions was carried out by the Agar diffusion method, and the bioprospection with isolated substances was investigated by the bioautographic assay. The plant species were tested against a panel of microorganisms, including one Gram positive bacteria *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), one Gram negative *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), and one fungus *Candida albicans* (ATCC 10231). The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) was determined for the fractions and subfractions that showed inhibitory activity against the tested microorganisms. Only the material extracted from the species *Z. tuberculosa* and *P. hayneanum* were able to inhibit *S. aureus* and *C. albicans* growth. These microorganisms were sensible to CHCl₃ subfractions from *Z. tuberculosa* stem and *P. hayneanum* stem and roots, with MIC from 1 to 250 µg/disc. Active subfractions, submitted to a bioassay with the brine shrimp *Artemia salina*, presented low or no toxicity at all. Pomade made out of subfractionated extracts CHCl₃-MeOH (1:1) and CHCl₃-AcOEt (1:1) from *P. hayneanum* showed a good potential for antimicrobial application in *in vivo* assays for infected wound treatment in rats. The phytochemical investigation from *Z. tuberculosa* extracts with antimicrobial potential, led to the isolation of four flavonoids (*5,6,7,8-Tetramethoxyflavone*, *5,6,7-Trimethoxyflavone*, *4'-Hydroxy-5,6,7,8-Tetramethoxyflavone* and *4'-Hidroxi-5,6,7-tetramethoxyflavone*); while in the *P. hayneanum* species three phytosteroids were isolated (*β-Sitosterol*, *Stigmasterol* and *β-Sitosterol-D-glucopiranoside*). These substances were identified from analysis of RMN spectroscopies uni and bidimensional (HMBC e HSQC), including DEPT. The phytochemical study contributed to extend the chemical taxonomic profile from *Zeyheria* gender. The isolated substances tested by bioautography method with antimicrobial activity against *S. aureus* were *5,6,7,8-Tetramethoxyflavone*, *5,6,7-Trimethoxyflavone* and *4'-Hydroxy-5,6,7,8-tetramethoxyflavone*, while against *C. albicans* were *5,6,7,8-Tetramethoxyflavone*, *4'-Hydroxy-5,6,7,8-tetramethoxyflavone* and *β-Sitosterol-3-O-β-D-glucopiranoside*. The results are considered promising, since that the extracts, fractions and isolated compounds showed ability to control the growth of microorganisms responsible for contamination of wounds that affect the integumentary system.

Keywords: antimicrobial activity, *Zeyheria tuberculosa*, *Piper hayneanum*, *Artemia salina*.

“O Senhor produziu da terra os medicamentos; o homem sensato não o despreza”.

(Eclesiástico, 38: 4)

1. Introdução

Na história da civilização humana, o reino vegetal sempre representou a base energética e estrutural da cadeia alimentar. Da mesma forma, a procura para o alívio e cura das enfermidades através da ingestão ou do uso tópico de ervas sob a apresentação de chás, tinturas, cataplasmas, dentre outras formas, talvez tenham sido uma das primeiras maneiras de utilização dos produtos vegetais, para além do seu papel como fonte de alimentos, de materiais para o vestuário e habitação (Lima *et al.*, 2001). As plantas, de acordo com Vale (2002), também, eram utilizadas como ingredientes de rituais religiosos, de festas comemorativas da vida, sexo e morte, além do emprego medicinal ou mágico por pajés e feiticeiros. Segundo este mesmo autor, historiadores da área médica descrevem que, provavelmente, o primeiro terapeuta teria sido um agricultor ou um pajé, no uso tradicional ou ritual de chás, linimentos, inalações e fumigações para alívio das doenças que afetavam a si ou a seus semelhantes.

Os primeiros relatos sobre plantas medicinais registrados pelo homem encontram-se escritos na obra chinesa denominada Pen T'sao, no papiro de Ebers e em alguns livros da Sagrada Escritura, sendo o mais antigo o Pen T'sao Ching (A Grande Fitoterapia), obra atribuída ao imperador chinês Shen Nung (2838-2698 a.C.), que contém uma lista de 365 ervas considerada a base da tradicional medicina chinesa (Tomazzoni *et al.*, 2006).

O papiro de Ebers foi descoberto e publicado por Georg Ebers, no século XIX, entre 1837 e 1898, que o encontrou nos arredores da casa mortuária de Ramsés II. Provavelmente,

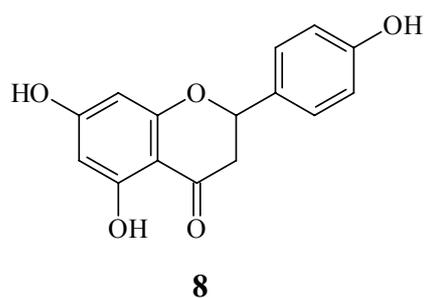
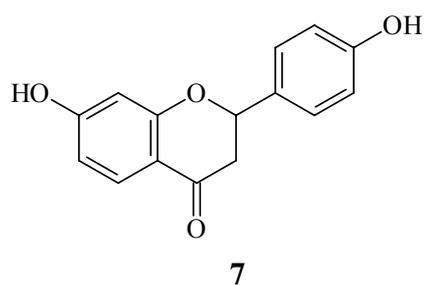
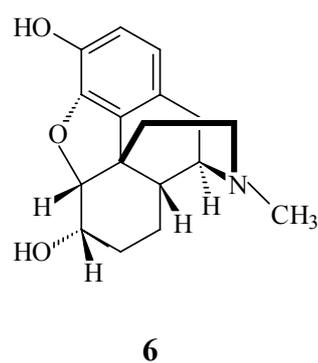
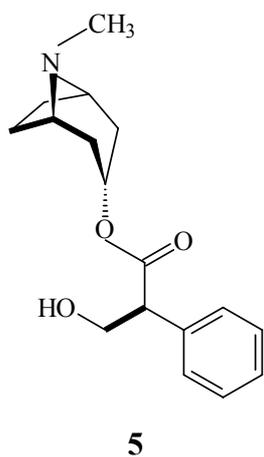
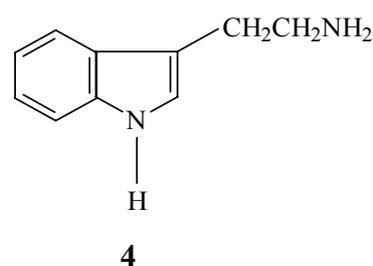
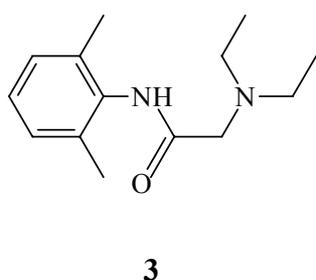
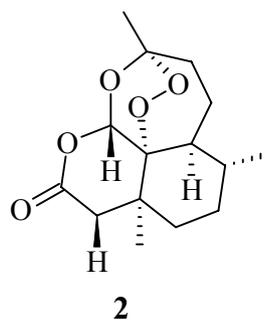
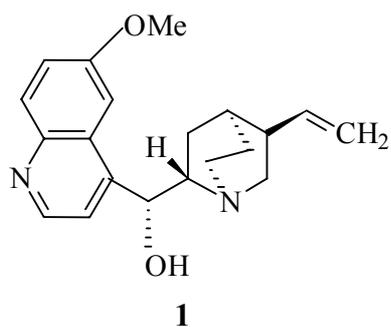
foi produzido à época da XVIII dinastia egípcia no reinado de Amen-Hotep I por volta de 1500 a.C. Este papiro foi traduzido pela primeira vez em 1890 por H. Joachin e cita em torno de 100 doenças e cerca de 700 drogas de origem animal e vegetal empregadas para o tratamento destas enfermidades (Dealey, 1996; Cândido, 2001).

Antes da era cristã, vários filósofos puderam ser citados por suas obras sobre história natural. Hipócrates, considerado o pai da medicina moderna, se caracterizou por eleger a natureza como guia na escolha dos remédios (*Natura medicatrix*) e Teofrasto (372 a.C.), discípulo de Aristóteles, escreveu vários livros sobre a história das plantas (Cândido, 2001). Teofrasto registrou a utilização da espécie vegetal *Papaver somniferum* L. (Papaveraceae), da qual se extrai o ópio, cujo princípio ativo é a morfina. Porém, o conhecimento do ópio remonta provavelmente à períodos históricos muito anteriores, pois documentos sumerianos datados de 5.000 a.C. referem-se à papoula (*P. somniferum*), e a descrição de suas propriedades encontra-se registrada em tábulas assírias (Nogueira, 1983).

Diversas culturas têm feito uso das plantas medicinais, como a principal ou mesmo a única matéria prima para elaboração de medicamentos. O maior exemplo é o da medicina tradicional chinesa, que se desenvolveu com tal grandiosidade e eficiência que até hoje muitas espécies e preparados vegetais medicinais são estudados para entendimento de seu mecanismo de ação e isolamento dos princípios ativos (Viegas Jr. *et al.*, 2006).

De certa forma, os recursos vegetais utilizados de maneira artesanal foram, mundialmente, as principais alternativas terapêuticas utilizadas para o tratamento e a cura das doenças até meados do século XX. A partir desta época, as plantas começaram a ser estudadas, com a finalidade de utilização das suas substâncias ativas isoladas (princípios ativos) para aperfeiçoar o processo de cura das enfermidades (Foglio *et al.*, 2006). Dentre essas substâncias podem-se citar a quinina (1) e a artemisinina (2) extraídas, respectivamente da *Cinchona* spp. (Rubiaceae) e *Artemisia annua* L. (Asteraceae) utilizadas para o tratamento da malária (Krettli *et al.*, 2001); os alcalóides lidocaína (3) e triptamina (4) extraídos da espécie *Arundo donax* L. (Poaceae) com ação analgésica que atuam sobre o sistema nervoso central ou periférico; atropina (5) extraída da *Atropa beladonna* L. (Solanaceae) e a morfina (6) extraída da *Papaver somniferum* L. (Papaveraceae). Outro grupo de substâncias importantes são os flavonóides, a exemplo da daidzeína (7) e genisteína (8) extraídos da *Glycine max* (L.) Merr. (Fabaceae) que tem ação antioxidante, sendo indicado para aliviar os sintomas da menopausa, além de prevenir a aterosclerose, doenças inflamatórias crônicas e neoplasias do sistema reprodutor feminino (Schenkel *et al.*, 2004; Sheu *et al.*, 2001).

A descoberta e o desenvolvimento dos processos de síntese de compostos orgânicos para produção de fármacos no século XX culminaram no desenvolvimento de diversos medicamentos. Entretanto, devido aos efeitos colaterais causados por eles, somados aos altos valores dos medicamentos sintéticos, houve um incremento da fitoterapia, resgatando-se o interesse por compostos derivados de vegetais como uma forma alternativa de tratamento (Volak e Stodola, 1990).



Apesar do renovado interesse pela busca de alternativas terapêuticas naturais, o homem tem feito uso de uma fração muito pequena das plantas com as quais sempre conviveu. A humanidade, ao longo da sua história, selecionou apenas cerca de 300 plantas para a alimentação, e a partir de aproximadamente 100 espécies vegetais obteve princípios ativos puros para o tratamento de doenças. Estes números são pouco significativos diante da existência de um universo de aproximadamente 250.000 espécies de plantas superiores a nível mundial e de cerca de 55.000 no Brasil, já relatadas na literatura (Pinto *et al.*, 2002).

Diante desse contexto, as plantas medicinais continuam sendo usadas em todo o mundo para o tratamento de doenças e, a partir delas, novas drogas são desenvolvidas através da pesquisa de seus constituintes. Nos países desenvolvidos utiliza-se o fracionamento biomonitorado, visando o isolamento de princípios ativos que podem ser utilizados tanto como fitofármacos, quanto para o desenvolvimento de protótipos semi-sintéticos, modificados ou análogos sintetizados, de modo a intensificar sua atividade no organismo e minimizar os efeitos colaterais (Dreyfus *et al.*, 1994; Phillipson, 2000).

O Brasil, o país com a maior biodiversidade do planeta, apesar de possuir um número considerável de pesquisadores qualificados nas áreas de química e farmacologia, ainda não conseguiu consolidar uma política governamental que incentive um processo integrado e coordenado de todos: indústria, farmacólogos, fitoquímicos, químicos, farmacêuticos, médicos, enfermeiros, biólogos e demais profissionais afins, visando o desenvolvimento de fármacos a partir de plantas. O envolvimento de uma equipe multidisciplinar seria a garantia de qualidade do produto fabricado, uma vez que cada profissional estaria envolvido em uma etapa do processo, que vai da identificação botânica até os testes clínicos (Pinto *et al.*, 2002). O que acontece em nosso país, na maioria dos casos, é a manipulação de fitoterápicos fundamentada basicamente no uso popular das plantas sem comprovação científica não sendo, portanto, competitivo nacionalmente e muito menos internacionalmente (Yunes *et al.*, 2001). Mesmo assim, acredita-se que metade dos casos clínicos nos postos de saúde podem ser tratados com plantas medicinais, e que, se existissem mais programas com bases bem delineadas da utilização da medicina popular aplicada à área de saúde pública no Brasil, o custo com medicamentos seria bastante reduzido (Maroja, 1999). Isto proporcionaria um maior acesso da população a esses remédios, com uma conseqüente economia para os cofres públicos. Portanto, essa aplicabilidade se amolda ao perfil brasileiro, não somente pelo tamanho territorial, mas principalmente, pela riqueza de seus biomas (Figura 1, p. 5).

Nessa perspectiva, o estado de Alagoas, abriga dois dos sete biomas distribuídos pelo território nacional, quais sejam: caatinga e mata atlântica. A caatinga é um bioma

exclusivamente brasileiro, com espécies vegetais que apresentam características anátomo-fisiológicas e funcionais adaptadas às condições adversas de clima quente e irregularidade pluvial (Trovão *et al.*, 2004). A mata atlântica é um dos biomas mundiais mais representativos da biodiversidade do planeta, por ser constituído de uma estrutura geomorfológica diversificada, com multiplicidade de habitats onde ocorrem espécies vegetais endêmicas, freqüentemente ameaçadas de extinção (Oliveira *et al.*, 2004). As espécies vegetais coletadas para a realização do presente estudo são provenientes da Mata atlântica.



Figura 1. Mapa dos Biomas brasileiros. Destaque para os dois biomas existentes em Alagoas. Fonte: IBAMA. Disponível: <http://www.ibama.gov.br>. Acessado: em 30 de janeiro de 2008.

O presente trabalho consiste no estudo químico, monitorado pela avaliação da atividade antimicrobiana *in vitro* e *in vivo* de sete espécies vegetais da flora alagoana [*Zeyheria tuberculosa* (Vell.) Bur. (Bignoniaceae), *Capparis cynophallophora* L e *Capparis spinosa* Jacq (Capparaceae), *Swatzia apetala* Raddi. (Fabaceae), *Piper hayneanum* C.DC. (Piperaceae), e *Portulaca cf. elation* Mart. ex. Rohrb. (Portulacaceae)] frente à *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans*, bem como no teste de toxicidade frente à *Artemia salina*. O isolamento de substâncias ativas com ausência ou baixa toxicidade poderá subsidiar a produção de novos fármacos antimicrobianos de origem vegetal, oriundos da mata atlântica alagoana. Por outro lado, as substâncias ativas isoladas, porém com alta toxidez, podem ser submetidas a modificações estruturais e, novamente, avaliadas quanto à toxicidade, ou ainda, podem ser testadas para avaliação da atividade antitumoral, inseticida, larvicida ou cercaricida (Alkofahi *et al.*, 1989).

2. Objetivos

2. Objetivos

2.1 Geral

Estudo químico, biomonitorado pela atividade antimicrobiana, de plantas da flora alagoana, com a finalidade de contribuir para a ampliação do conhecimento químico e biológico das espécies vegetais ativas.

2.2 Específicos

- Selecionar e coletar espécies vegetais da flora alagoana, cujo gênero ou família apresentassem indicação na literatura de atividade antimicrobiana e/ou cicatrizante;
- Avaliar a atividade antimicrobiana *in vitro* de extratos obtidos das espécies vegetais selecionadas, frente às bactérias *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* e ao fungo *Candida albicans*;
- Determinar a concentração inibitória mínima de extratos, frações e subfrações que mostrem atividade *in vitro* frente aos microrganismos testados;
- Avaliar *in vitro* a toxicidade das subfrações bioativas;
- Avaliar *in vivo* a ação de subfrações com potencial antimicrobiano, no tratamento de feridas induzidas e contaminadas;
- Isolar e elucidar as estruturas dos constituintes químicos presentes nas subfrações provenientes das espécies vegetais consideradas ativas nos ensaios biológicos efetuados;
- Avaliar a atividade antimicrobiana por bioautografia das substâncias isoladas.

3. Considerações Gerais

3. Considerações Gerais

3.1 Doenças Infecciosas e Sistema Tegumentar

O termo doença infecciosa refere-se ao efeito debilitante, causado por um agente patogênico vivo (vírus, bactérias, fungos ou parasito), por meio da penetração, desenvolvimento ou multiplicação no organismo do hospedeiro (BVS, 2008).

O surgimento da teoria que descreve a origem microbiana das infecções, seguido dos progressos obtidos na microbiologia e na imunologia, como a descoberta dos antibióticos, antifúngicos e o desenvolvimento de vacinas, levou a comunidade científica da área de saúde a vislumbrar a erradicação e o controle das doenças infecciosas. Na prática esta perspectiva não se confirmou, e o que se tem observado é o ressurgimento de doenças que já haviam sido controladas. Um exemplo é a ocorrência de pneumonias causadas por microrganismos resistentes, o que torna a situação cada vez mais semelhante à que existia antes da descoberta dos antimicrobianos (Grisotti, 2007). Permanece, portanto, a necessidade da descoberta de novas alternativas terapêuticas como antibióticos de segunda e terceira gerações.

De acordo com Ochman e cols. (2000) os microrganismos possuem complexos mecanismos de adaptação aos antimicrobianos, que ocorrem mais rapidamente que a pesquisa básica para sua compreensão, e posterior produção de medicamentos que inibam seus processos de propagação e mutação. Luna (2002) acrescenta outros fatores que têm interferido no perfil epidemiológico das doenças infecciosas, como o reemergência de patógenos como o vírus ebola, da dengue e o bacilo da tuberculose, além do aparecimento de novos microrganismos, como o vírus da imunodeficiência humana (HIV). A síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA), causada pelo HIV, provoca uma deteriorização da resposta imunológica, aumentando a susceptibilidade do paciente às infecções oportunistas como por exemplo a candidíase no sistema tegumentar. Este sistema é constituído pela pele e seus anexos: pêlos, unhas, glândulas sudoríparas e sebáceas.

A pele (Figura 2, p. 10) é caracterizada por três camadas superpostas – epiderme, derme e hipoderme (Sampaio & Rivitti, 2007). Ela desempenha um importante papel na homeostase assegurando a integridade do organismo. Dentre as suas funções, a principal é a de proteção, representada pela barreira física que impede a penetração de microrganismos de origem exógena (Spencer, 1991). A pele é o maior sistema do corpo humano e representa em torno de 15% do peso corpóreo, constituindo o invólucro externo do organismo,

transformando-se em mucosa para revestir os orifícios dos sistemas respiratório, digestivo e urogenital (Sampaio & Rivitti, 2007).

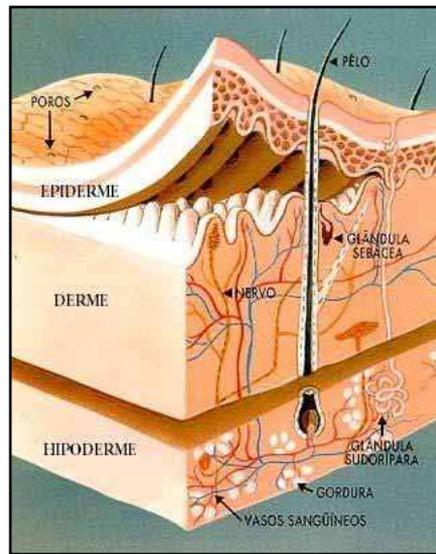


Figura 2. Desenho esquemático das camadas que constituem a pele. Fonte: URL: <http://www.cienciahoje.uol.com.br>. Acessado em 04/02/2008.

O sistema tegumentar, como qualquer outro sistema do corpo humano está sujeito às adversidades do meio ambiente. Dessa forma, a lesão da pele, denominada de ferida ou ferimento pode ser produzida por fatores extrínsecos, tais como incisão cirúrgica, lesões acidentais, corte ou trauma, ou por fatores intrínsecos como aqueles decorrentes de infecção e úlceras crônicas causadas por alterações vasculares, defeitos metabólicos ou neoplasias (Centre for Medical Education, 1994). O tratamento e a cicatrização de feridas exigem um conjunto de medidas que devem ser estabelecidas mediante a avaliação da lesão, bem como das condições clínicas do paciente (Fuerst *et al.*, 1977; Schull, 1996; Cândido, 2001).

A ferida pode acarretar ao seu portador sérios danos, às vezes, de difícil reparação. Neste aspecto, a contaminação por microrganismos se destaca visto que retarda o processo de cicatrização, dificultando a plena recuperação, refletindo-se em aumento do custo financeiro tanto para os portadores como para os cofres públicos (Dealey, 1996). Deve-se considerar além do impacto econômico, o psíquico e o social, uma vez que a cronificação do processo traz prejuízos à qualidade de vida, produtividade e rendimento do paciente que, freqüentemente, tem que se afastar de suas atividades normais. Embora não existam estatísticas precisas no Brasil, existem indicações que as úlceras crônicas representam uma importante causa de ausência ao trabalho no país (Moryson *et al.*, 1998). Finalmente, existe

ainda a preocupação com a morbidade duradoura, quando há desenvolvimento de seqüelas, e com a mortalidade (Cândido, 2001).

Apesar da disponibilidade de fármacos sintéticos, as plantas medicinais podem ser úteis para o tratamento de doenças da pele. As espécies vegetais *Stryphnodendron polyphyllum* Mart. e *S. obovatum* Benth (Leguminosaceae), conhecidas popularmente como barbatimão, foram utilizadas no tratamento de feridas em ratos *Wistar* demonstrando alto poder de cicatrização (Lopes *et al.*, 2005). O *Aloe vera* (Liliaceae) também tem sido relatado como antimicrobiano, cicatrizante de feridas e queimaduras, sendo muito difundido na prática clínica em indivíduos portadores de doenças infecciosas do sistema tegumentar com resultados bastante satisfatórios (Reynolds & Dweck, 1999).

3.2 Atividade Antimicrobiana

As primeiras observações acerca da utilização de produtos naturais com atividade antimicrobiana remontam aos tempos da Babilônia, 3.000 anos a.C., quando portadores de feridas infeccionadas usavam o alho, *Allium sativum* L. (Liliaceae), na forma de cataplasma para a cura de suas chagas (Cavallito & Bailey, 1944). Ao longo da história muitas foram as personalidades que buscaram identificar propriedades antimicrobianas na natureza. Os médicos chineses, por exemplo, há aproximadamente 3.000 anos atrás usavam os bolores para tratamento de tumores e cicatrização de feridas infeccionadas. Os sumerianos curavam suas feridas lançando mão de emplastos feitos com vinho, cerveja, zimbro e ameixas (Tavares, 1996). Muitos desses produtos foram, também, usados por renomados personagens da história como Hipócrates na Grécia, Avicena nos Países Árabes e Paracelso no centro da Europa, com a mesma finalidade. As propriedades antimicrobianas desses produtos naturais foram posteriormente comprovadas cientificamente, com identificação de suas composições e dos princípios ativos (Domingo & López-Brea, 2003).

Na atualidade, os fármacos usados no tratamento de doenças causadas por bactérias e fungos são denominados agentes antimicrobianos. Este termo, introduzido com a descoberta da penicilina por Fleming em 1928, foi considerado o primeiro antibiótico a ser produzido em escala industrial (Pereira & Pita, 2005). Os antimicrobianos contribuíram de forma decisiva para a diminuição das taxas de morbidade e mortalidade, particularmente das doenças infecciosas de origem bacteriana. A partir da introdução da penicilina e sulfonamidas, ocorreu um crescente progresso no isolamento e no desenvolvimento de

agentes antimicrobianos utilizados na terapia e na profilaxia das patologias decorrentes da ação dos microrganismos (Silva, 2006).

Os antimicrobianos são classificados por diferentes autores levando-se em consideração critérios distintos. Bresolin & Cechinel-Filho (2003) os divide em específicos e inespecíficos. Os específicos são aqueles que agem sobre o organismo invasor, sem afetar o hospedeiro; os inespecíficos são os capazes de matar ou inibir o crescimento microbiano *in vitro*. Fazem parte deste grupo os antissépticos, germicidas e biocidas, que são de uso exclusivamente tópico. Uma outra classificação adotada separa antimicrobianos em bactericidas ou fungicidas, quando matam os microorganismos, e bacteriostáticos ou fungistáticos, quando atuam apenas impedindo seu crescimento (Bresolin & Cechinel-Filho, 2003; Silva, 2006). Silva (2006) classifica os antimicrobianos segundo a sua química de origem, farmacocinética e farmacodinâmica. A classificação segundo a farmacodinâmica (Figura 3, p. 12) depende dos diferentes mecanismos de ação dos antimicrobianos, quais sejam: a) inibição da síntese do peptidoglicano da parede celular bacteriana ou do β -1,3-glicano/quitina da parede celular do fungo; b) lesão da membrana citoplasmática, interferindo na sua função; c) interferência na síntese e replicação de DNA; d) inibição da RNA-polimerase dependente de DNA, e consequentemente da transcrição do ácido nucleico e síntese proteica; e) inibição competitiva da síntese de metabólitos essenciais (Pelczar *et al.*, 1996, Tortora *et al.*, 2001).

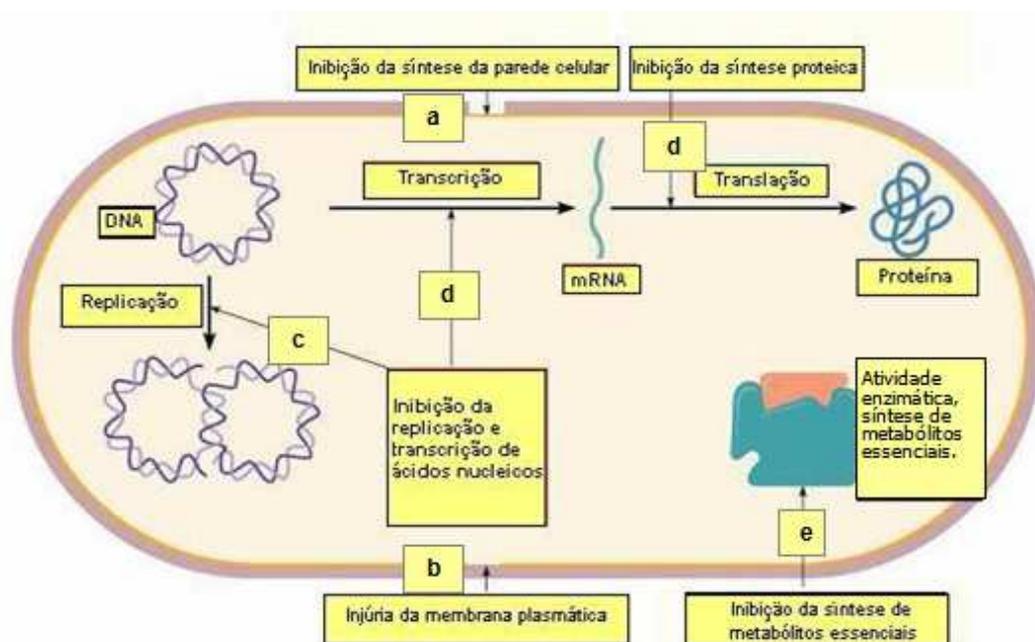


Figura 3. Mecanismo de ação dos antimicrobianos. Fonte: Adaptado de Tortora *et al.*, 2001.

Os antimicrobianos mais utilizados, classificados de acordo com seu mecanismo de ação, estão listados no Quadro 1 (pp. 13 a 14) (Adaptado de Pelczar *et al.*, 1996).

Quadro 1. Antibióticos e antifúngicos utilizados no tratamento das infecções microbianas.

Antimicrobiano	Atividade	Espectro de ação/via de administração
Antibacterianos		
Inibidores da síntese da parede celular : β-lactâmicos		
<i>Penicilinas Naturais</i>		
Penicilina G	Bactericida	Gram-positivas, parenteral
Penicilina V		Gram-positivas, oral
<i>Penicilinas Sintéticas</i>		
Ampicilina	Bactericida	Amplo espectro de ação, oral e parenteral
Meticilina		Resistente a penicilinase, parenteral
<i>Monobactâmico</i>		
Aztreonam	Bactericida	Gram-negativas, parenteral
Cefalosporinas		Amplo espectro, oral e parenteral
<i>Carbapenêmicos</i>		
Imipenem	Bactericida	Amplo espectro, parenteral
Bacitracina		Amplo espectro, tópica
Vancomicina		Gram-positivas resistentes à penicilina, parenteral
Isoniazida	Bacteriostático	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> , oral
Etambutol		
Lesão da membrana plasmática		
<i>Polipeptídeos</i>		
Colistina	Bactericida	Gram-negativas, oral
(Polimixina E)		Gram-negativas, tópica
Polimixina B		
Inibidores da síntese de metabólitos essenciais		
<i>Sulfonamidas</i>		
Sulfametoxazol + Trimetoprima	Bactericida	Amplo espectro, oral
Inibidores da síntese de ácido nucléico		
<i>Quinolonas e Fluroquinolonas</i>		
Ácido nalidíxico	Bactericida	Gram-negativas, oral (infecções urinárias)
Norfloxacina e Ciprofloxacina		Gram-negativas, oral e parenteral

(Continua)

Rifamicinas		
Rifampicina	Bactericida	Amplo espectro, oral (tuberculose e hanseníase)
Rifamicina sódica		Amplo espectro, tópica
Inibidores da síntese protéica		
Aminoglicosídeo		
Estreptomicina	Bactericida	Amplo espectro, parenteral (tuberculose)
Espectinomicina		Amplo espectro, parenteral (gonorréia)
Neomicina		Amplo espectro, tópica
Canamicina		Gram-negativas, oral
Gentamicina		Amplo espectro, tópica e parenteral
Tetraciclina	Bacteriostático	Amplo espectro, oral e parenteral
Macrolídeos		
Eritromicina	Bacteriostático	Gram-positivas, oral e parenteral
Lincomicina		Gram-positivas, parenteral
Cloranfenicol		Amplo espectro, oral e parenteral
Streptogamínas		
Quinuprestina + Dalfopristina	Bacteriostático	Gram-positivas, parenteral
Antifúngicos		
Inibidores do ergosterol da membrana plasmática fúngica		
Polienos		
Nistatina	Fungicida	Amplo espectro, oral e tópica (<i>C. albicans</i>)
Anfotericina B		Amplo espectro, tópica e parenteral (<i>C. albicans</i>)
Azóis		
Miconazol	Fungicida	Amplo espectro, oral e tópica
Fluconazol		Amplo espectro, oral e parenteral
Cetoconazol	Fungistático	Amplo espectro, oral e tópica
Inibidores da síntese da parede celular: via interferência nos microtúbulos mitóticos		
Griseofulvina	Fungistático	Amplo espectro, oral e tópica (dermatófitos)
Inibe a biossíntese do ácido ribonucléico e proteínas fúngicas		
Flucitocina	Fungicida	Ação restrita: <i>Cryptococcus neoformans</i> e <i>Candida</i> spp., oral, tópica e parenteral

A quantidade de medicamentos disponíveis para tratamento das doenças infecciosas tem crescido, consideravelmente, nos últimos anos. A indústria farmacêutica vem investindo de forma considerável, principalmente após o surgimento da SIDA nos anos 80, quando foi

intensificada a busca por drogas antimicrobianas mais específicas em seus sítios de atuação e com poucos efeitos adversos (Silva, 2006).

O uso indiscriminado dos antimicrobianos e a administração de forma não controlada, juntamente com o aumento da prevalência das doenças imunossupressoras têm sido as mais importantes causas da resistência aos antimicrobianos. Os principais mecanismos de resistência são desencadeados pela inativação enzimática, modificações nos receptores, devido a mudanças ribossômicas e de DNA girase, alterações de enzimas bacterianas e fúngicas, de transporte do antimicrobiano, nas proteínas da membrana externa, na força protônica reduzida e transporte ativo a partir da célula microbiana (Silva, 2006). A busca de novas alternativas que possam substituir ou melhorar os antimicrobianos disponíveis é urgente, e uma das fontes de pesquisa é representada pelos produtos de origem natural. Grande parte dos antimicrobianos em uso (penicilinas, cefalosporinas, aminoglicosídeos, entre outros) é derivada de metabólitos secundários de fungos e bactérias. É possível que da mesma forma, existam em metabólitos provenientes de espécies vegetais com propriedades semelhantes e que futuramente possam substituir os medicamentos outrora eficientes. O antimicrobiano ideal, objeto permanente de pesquisa, é aquele que apresenta atividade letal ou inibitória contra diferentes espécies de microorganismos, não provoque efeitos colaterais, seja quimicamente estável e não induza resistência microbiana (Schenkel *et al.*, 2004).

3.3 Microrganismos Estudados

Os *Staphylococcus* (Figura 4, p. 16) são células Gram-positivas pertencentes à família Micrococcaceae, geralmente dispostas em cachos irregulares semelhantes a “cachos de uva”. Esses microrganismos patogênicos hemolisam o sangue, coagulam o plasma e produzem uma variedade de enzimas e toxinas extracelulares. O gênero *Staphylococcus* tem cerca de 30 espécies. As três espécies de maior importância clínica são *S. aureus*, *S. epidermidis* e *S. saprophyticus*. O *S. epidermidis* e o *S. saprophyticus* são encontrados na microbiota normal do sistema tegumentar e apresentam baixo potencial patogênico, enquanto o *S. aureus* é um patógeno em potencial, podendo ser encontrado na naso e orofaringe (Jawetz, & Levinson, 2005).

O *S. aureus* é o agente etiológico mais comum em infecções piogênicas da pele ou em regiões mais profundas, como fáscia, músculos, vísceras e tecido ósseo. Na pele a infecção é designada de acordo com a localização e/ou características da lesão, tais como foliculite, furunculose, carbúnculo, hordéolo, celulite, e impetigo (Sampaio & Rivitti, 2007).

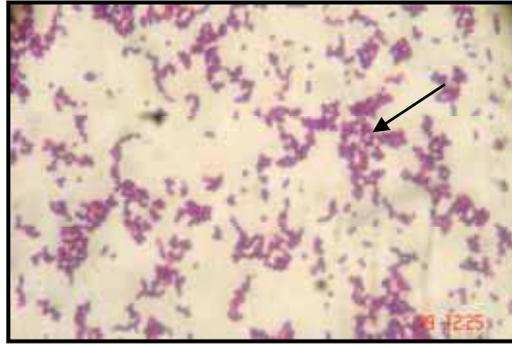


Figura 4. *Staphylococcus aureus*

A foliculite é a inflamação de um folículo piloso, que surge em decorrência de sua obstrução. O furúnculo, ou abscesso, é a infecção dos folículos pilosos e das glândulas sebáceas obstruídas, com envolvimento do tecido celular subcutâneo. Quando o furúnculo apresenta vários tipos de drenagem, recebe a designação de carbúnculo, particularmente quando localizado na nuca e parte superior das costas. O hordéolo, ou terçol, é a infecção estafilocócica de uma glândula sebácea marginal das pálpebras (Sampaio & Rivitti, 2007). A celulite é uma infecção da derme e tecido subcutâneo profundo, caracterizada por inflamação supurativa, aguda e difusa do tecido conjuntivo frouxo, geralmente resultante da infecção de uma ferida, úlcera ou outras lesões de pele, inclusive de fissuras anais (Montemarano & James, 1993). O impetigo consiste em uma infecção bacteriana da pele, também causada pelo *S. aureus*, com maior incidência na primeira infância, caracterizada por vesículas, pústulas ou bolhas flácidas em bases eritematosas que rompem com facilidade deixando uma erosão úmida que seca e forma uma crosta (Araújo & Schachner, 2006)

Tradicionalmente os *Staphylococcus* são divididos em duas categorias: coagulase positivos e coagulase negativos, de acordo com a capacidade de coagular o plasma, uma propriedade considerada como importante marcador de patogenicidade. Entre as espécies coagulase positivas, a principal responsável por infecções humanas, de origem comunitária ou hospitalar, é a *S. aureus*, sendo por isto a mais estudada. As espécies coagulase negativas são, também, consideradas como importantes causas de infecções, particularmente no ambiente hospitalar, em pacientes com defesas orgânicas comprometidas ou portadores de corpos estranhos como próteses, cateteres e enxertos sintéticos (Trabulsi *et al.*, 1999).

A espécie *Pseudomonas aeruginosa* (Figura 5, p. 17), família Pseudomonadaceae, é constituída por bacilos Gram negativos, aeróbios, cuja mobilidade é feita por flagelos.

Estes bacilos produzem energia para sobreviverem apenas por oxidação dos açúcares, não tendo a capacidade de fermentá-los. Em decorrência dessa deficiência eles produzem

citocromo-oxidase, utilizando o nitrato em substituição ao oxigênio como acceptor final de elétrons, produzindo também arginina desidrolase e ornitina-descarboxilase. A forma patogênica desses bastonetes Gram negativos não fermentadores depende de algumas características, como: aderência a células hospedeiras, produção de polissacarídeos (alginato), toxinas extracelulares, resistência aos fatores bactericidas do soro e presença de lipopolissacarídeo de parede celular (endotoxina). Por ser considerada a espécie com maior poder de virulência desta classe de microrganismos, essas características têm sido exaustivamente estudadas na *P. aeruginosa* (Arnow & Flaherty, 1996).



Figura 5. *Pseudomonas aeruginosa*. Fonte: URL: <http://keprice.myweb.uga.edu/pseudomonas.htm>. Acessado em 20/08/2008.

Estes microrganismos são vastamente encontrados na natureza, sendo o solo e a água, seus principais habitats. No entanto, se comportam também como comensais do intestino grosso em cerca de 10% dos seres humanos. Considerando a *P. aeruginosa* como uma bactéria que pode fazer parte da microbiota humana, ela raramente é causa de infecções comunitárias em indivíduos saudáveis. Entretanto, como já mencionado, em ambientes nosocomiais, esta bactéria torna-se um importante agente infeccioso, principalmente, em pacientes imunossuprimidos. Além disto, o número de fatores de virulência é significativamente maior em cepas provindas de isolados clínicos, quando comparados as cepas do meio ambiente (Paviani *et al.*, 2004). Essas condições a elegem como um dos mais prevalentes agentes de infecções hospitalares em todo o mundo (Jawetz *et al.*, 2005).

O espectro de doenças causadas por *Pseudomonas* compreende desde infecções superficiais da pele até septicemia fulminante (Murray, 1995). A *P. aeruginosa* pode causar infecção aguda pela produção de toxinas, e infecção crônica pela ação da camada espessa que consiste no seu biofilme, ou ainda em uma patologia que é resultado do somatório destes fatores de virulência (Palleroni, 1993).

Estudos epidemiológicos realizados entre 1995 e 1997, em instituições hospitalares do Rio de Janeiro, revelaram que dentre as 24 espécies bacterianas identificadas nos casos de infecção hospitalar, a *P. aeruginosa* foi o segundo agente mais frequentemente encontrado. Esta bactéria foi responsável por 18,5% dos casos, sendo superado apenas pelo *S. aureus* com 21% das ocorrências (Asensi *et al.*, 2000). A alta incidência deste patógeno pode ser atribuída a diversas propriedades como fácil adaptação às condições ambientais de nutrição, temperatura e umidade, e sua capacidade de receber e transmitir fatores de resistência a antimicrobianos (Favero *et al.*, 1977). Esta bactéria é capaz de sobreviver por períodos prolongados em ambientes úmidos, permitindo que equipamentos e materiais hospitalares (respiradores e nebulizadores, bem como, soluções antissépticas desinfetantes e de uso terapêutico), sirvam de reservatório. Este conjunto de fatores facilita a infecção de pacientes internados, principalmente em Unidades de Terapia Intensiva (UTI), locais nos quais os indivíduos muitas vezes encontram-se imunodeprimidos e submetidos a procedimentos invasivos (Moolenaar *et al.*, 2000). Uma característica marcante das infecções por *P. aeruginosa* adquiridas em UTI é a multirresistência (Sader *et al.*, 1993). Os percentuais de resistência são mais elevados em amostras isoladas nestas unidades de tratamento, refletindo maior intensidade de uso de antimicrobianos nesse ambiente, e, possivelmente transmissão de cepas multirresistentes entre os pacientes (Goldmann & Huskins, 1997).

A espécie *Candida albicans* (Figura 6, p. 18) é um fungo Gram positivo, polimorfo, oportunista ou patogênico pertencente à família das Saccharomycetaceae (Nobre *et al.*, 2002). Esta espécie pode causar infecções superficiais variando de doenças da pele e mucosas aos tecidos profundos, sendo responsável por 85% dos casos de candidíase (Val & Almeida Filho, 2001; Crocco *et al.*, 2004).



Figura 6. *Candida albicans*. Fonte: URL: <http://upload.wikimedia.org>. Acessado em 20/02/2008.

A virulência e patogenicidade da *C. albicans* não podem ser atribuídas apenas a um fator isolado. Elas são resultantes da produção concomitante dos diversos fatores que este organismo possui de transformar-se numa célula adaptada à invasão dos tecidos de um hospedeiro (Kunamoto *et al.*, 2005). A capacidade da *C. albicans* desenvolver formas filamentosas (hifas e pseudo-hifas) é um dos principais determinantes da sua virulência e está intimamente associada à sua capacidade de causar doenças. Sua forma filamentosa facilita a invasão tecidual e reforça a colonização. Além disso, tem sido sugerido que estímulos ambientais tais como temperatura em torno de 37° C e pH maior que 5,5 podem aumentar a formação de hifas. Os filamentos também desempenham um importante papel no desenvolvimento da arquitetura do biofilme do fungo maduro (Braga *et al.*, 2007). Outros fatores que influenciam a virulência e patogenicidade deste fungo são: a estrutura da sua superfície celular, que pela sua adaptação ao contato com células do hospedeiro determina sua adesão e penetração; e a produção de enzimas extracelulares hidrolíticas, que têm sido alvo de diversos estudos.

Nos últimos anos, as micoses humanas apresentam caráter oportunista produzindo infecções em pacientes imunocomprometidos, principalmente devido a doenças como tuberculose, diabetes, SIDA, câncer ou ainda pelo uso de drogas imunossupressoras. No entanto, esses fungos podem também produzir infecção em hospedeiros imunocompetentes na cavidade oral, trato gastrointestinal, pele e genitália. Entre muitos agentes oportunistas fúngicos, a *C. albicans* continua a ser a espécie mais comum, que produz um amplo espectro clínico tanto em seres humanos, como em animais (Jadhav *et al.*, 2003).

A candidíase manifesta-se clinicamente de três diferentes formas: cutânea, mucosa e sistêmica. A forma cutânea está presente, geralmente, nas dobras do corpo humano, como os espaços interdigitais dos pés e das mãos, pregas axilares, nuca, região interglútea e inguinal. As formas clínicas mais comuns da candidíase de mucosa são a pseudomembranosa, caracterizada por placas brancas removíveis denominadas de aftas ou sapinhos quando acomete crianças pequenas, e a forma atrófica, que se apresenta como placas vermelhas, lisas, pruriginosas e ardentes. Esta última atinge, principalmente, a genitália feminina, sendo caracterizada por corrimento esbranquiçado, tipo leitoso. A infecção sistêmica pode alcançar diversos órgãos, causando candidíase pulmonar, endocardite, nefrite e fungemia, levando o paciente na maioria dos casos a óbito (Menezes *et al.*, 2004).

A fungemia ou septicemia fúngica acomete indivíduos imunocomprometidos, geralmente, internos em UTI. Entretanto, são os neonatos de baixo peso, suas principais vítimas em decorrência dos achados clínicos serem inespecíficos e, quase sempre,

indistinguíveis de uma septicemia bacteriana, ou de outras complicações comuns do período neonatal tais como: hipotermia, resíduo gástrico acompanhado de distensão abdominal, hipoatividade, e alteração respiratória que pode levar a apnéia, hiperglicemia, hipotensão e bradicardia (Moreira, 2005).

3.4 *Espécies Vegetais Seleccionadas*

Sete espécies vegetais da flora alagoana foram selecionadas para o presente estudo químico biomonitorado pela atividade antimicrobiana: *Zeyheria tuberculosa* (Vell.) Bur. (Bignoniaceae), *Capparis cynophallophora* L e *C. spinosa* Jacq. (Capparaceae), *Piper hayneanum* C.DC. e *P. marginatum* Jacq. (Piperaceae), *Portulaca* cf. *elation* Mart. ex. Rohrb (Portulacaceae) e *Swatzia apetala* Raddi. (Fabaceae). Após a triagem antimicrobiana *in vitro* dos extratos brutos provenientes destas plantas, somente a *Z. tuberculosa* e *P. hayneanum* apresentaram resultados promissores. Portanto, o restante do trabalho de biomonitoramento foi conduzido com estas duas espécies vegetais, cujas características estão apresentadas separadamente no item 3.5 (p. 21).

O gênero *Capparis* é um dos 50 da família Capparaceae, que possui 700 espécies de ocorrência nos Trópicos e Subtrópicos de ambos os hemisférios. No Brasil esta família está representada por 9 gêneros e 46 espécies, constituídas por plantas herbáceas, arbustivas e arbóreas sendo os gêneros *Capparis* e *Cleome* mais prevalentes. Popularmente, as espécies *C. cynophallophora* e *C. spinosa* têm sido usadas para tratamento de infecções e inflamação das articulações (Ribeiro, 1999).

O gênero *Portulaca* é um dos 30 gêneros da família Portulacaceae que ocorre, predominantemente, nas regiões tropicais e subtropicais do mundo. Este gênero tem cerca de 40 espécies, dentre elas, a *P. oleraceae* é originária da Europa e se caracteriza como uma erva rasteira, suculenta medindo 3 cm de tamanho conhecida popularmente como beldroega. É usada pela medicina popular como antisséptico e antimicrobiano no tratamento de feridas da pele, sendo estas propriedades já comprovadas cientificamente. Na culinária tem sido relato o seu uso como legume e condimento em países como China, França, dentre outros (Santos *et al.*, 1992; Rashed *et al.*, 2003).

O gênero *Swatzia* está alocado em um dos 650 gêneros da família Fabaceae que tem ampla distribuição geográfica. Este gênero possui mais de 18.000 espécies de arbustos ou árvores, que variam de 5 a 40 metros de altura. A *S. apetala* é conhecida como “arruda rajada ou vermelha”, devido à coloração da sua madeira, sendo muito usada na construção civil,

pela sua durabilidade. Esta espécie vegetal tem sido relatada como antifúngica e antioxidante (Braz Filho *et al.*, 2002; Araújo *et al.*, 2007).

A espécie vegetal *P. marginatum* compreende uma das 700 espécies do gênero *Piper*. Este gênero é considerado o maior dentre os dez da família Piperaceae. As plantas deste gênero apresentam uma variedade muito grande de uso pela medicina popular, dentre eles, tem sido descrita a utilização da *P. marginatum* no tratamento de doenças provocadas por bactérias e fungos, além de ser um potente antiinflamatório (Chiappeta, *et al.*, 1983; D'Angelo *et al.*, 1997).

3.5 Gêneros *Zeyheria* (Bignoniaceae) e *Piper* (Piperaceae)

As famílias destes gêneros são angiospermas que apresentam seu corpo vegetativo dividido em raiz, caule e folha. As angiospermas estão alocadas em duas classes: monocotiledônea e dicotiledônea. Tanto o gênero *Zeyheria* quanto o *Piper* são dicotiledôneas Magnoliophytas pertencentes à classe das Magnoliopsida. No entanto, a partir da subclasse, os gêneros seguem chaves classificatórias diferenciadas, de acordo com a linha filogenética de Arthur Cronquist, que levou em consideração os diversos aspectos morfo-fisiológicos. Assim, o gênero *Zeyheria* pertence à subclasse Lamiidae, ordem Scrophulariales e família Bignoniaceae. Enquanto o gênero *Piper* é da subclasse Magnoliidae, ordem Piperales e família Piperaceae (Agarez, 1994).

3.5.1 Gênero *Zeyheria*

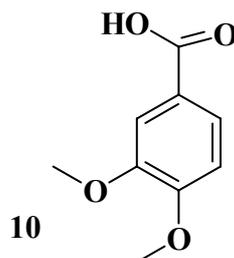
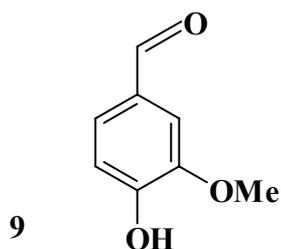
A família Bignoniaceae compreende cerca de 120 gêneros e 800 espécies distribuídas nas regiões tropicais de todo o mundo (Joly, 1998). Nas Américas, *Tabebuia* e *Zeyheria* são os gêneros mais representativos, cujas espécies apresentam importância econômica por serem úteis na construção civil, na fabricação de móveis e na indústria papeleira, além do uso no paisagismo urbano. As espécies destes dois gêneros são constituídas por árvores de grande porte que têm entre 10 a 30 metros de altura com uma copa arredondada medindo aproximadamente cinco metros de diâmetro, sendo conhecidas popularmente no Brasil como Ipê (Corrêa, 1931; Lorenzi, 2002).

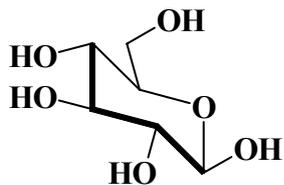
Espécies pertencentes à família Bignoniaceae (*Jacaranda micranta* Cham., *Tabebuia caraiba* Bur., *Tecoma sambucifolia* Kunth e *T. stans* L.) foram amplamente utilizadas como antiinflamatório, anticoncepcional, antireumático, anestésico e antisifilítico pelas culturas indígenas da América do Sul (Muñoz-Mingarro *et al.*, 2003).

O uso popular relatado para o gênero *Zeyheria* refere-se a espécie *Z. tuberculosa* (Vell) Bur., para tratamento das afecções cutâneas (uso externo - banho) por índios brasileiros da região sudeste, e para o tratamento de câncer. O extrato aquoso é administrado por via oral em adultos, no estado de Minas Gerais, Brasil (Duarte Weinberg *et al.*, 1976) e o decocto, preparado a partir das raízes de *Z. montana* Mart., é utilizado sob a forma de banhos contra as doenças de pele (Jácome *et al.*, 1999).

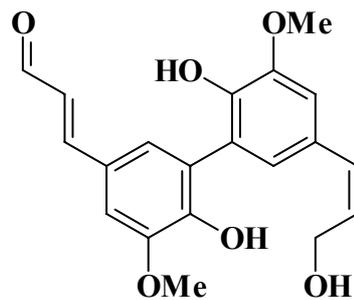
Estudos biológicos com espécies desta família têm revelado atividade antimicrobiana em alguns dos gêneros, dentre os quais: *Dolichandrone*, *Kigelia*, *Arrabidaea*, *Newbouldia*, *Oroxylum* e *Stereospermum*, *Mayodendron* (Houghton *et al.*, 1997; Houghton *et al.*, 2002; Lima, *et al.*, 2003; Eyong *et al.*, 2006; Hashem *et al.*, 2007). No entanto, não há relatos na literatura deste tipo de estudo com espécies do gênero *Zeyheria*.

As dez espécies que compõem o gênero *Zeyheria* são: *Z. barbata* Miq., *Z. digitada* Miq., *Z. fluviatilis* Miq., *Z. hamburiana* Corr. Mello, *Z. kuntzei* K. Shum., *Z. montana* Mart., *Z. digitalis* (Vell.) Hoehne, *Z. surinanensis* Miq., *Z. tuberculosa* (Vell.) Bur. e *Z. velloziana* Miers (Gentry, 1992; Raffauf, 1996). O levantamento bibliográfico para avaliação do perfil químico destas espécies revelou estudos fitoquímicos com apenas três delas. As espécies vegetais estudadas foram coletadas no Brasil, e estão descritas a seguir: a) *Z. digitalis* (Vell.) Hoehne: do caule [2 benzenóides: Vanilina (**9**) e Ácido verátrico (**10**), 1 carboidrato: D-glicose (**11**), 1 lignana: Zeyherol (**12**), 1 quinóide: Lapachol (**13**), 1 fitoesteróide: β -Sitosterol (**14**)]; das raízes [1 benzenóide: Benzoato de N-(N'-benzoil-S-fenilalanil)-fenilalaninila (**15**)]; b) *Z. montana* Mart.: 4 quinóides: Lapachol (**13**), α -Lapachona (**16**), Dehidro- α -lapachona (**17**) e 4-hidroxi- α -lapachona (**18**) todos provenientes das raízes; c) *Z. tuberculosa* (Vell.) Bur.: das folhas [2 flavonas: 5-6-7-8-Tetrametoxi-flavona (**19**), 5,6,7-Trimetoxiflavona (**20**), do caule [1 fitoesteróide: β -Sitosterol (**14**), 1 lignana: Zeyherol (**12**) e 4 quinóides: Lapachol (**13**), α -Lapachona (**16**), Dehidro- α -lapachona (**17**) e 4-hidroxi- α -lapachona (**18**) (Ferreira *et al.*, 1995) (Kutney & Hanssen, 1971; Da Silveira *et al.*, 1975; Duarte Weinberg *et al.*, 1976; Gupta & Khanna, 1978; Jácome *et al.*, 1999).

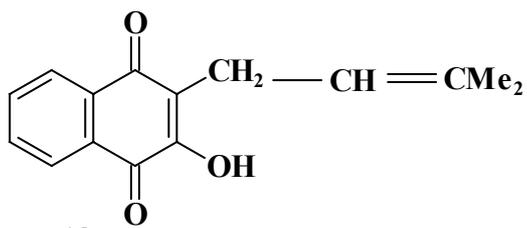




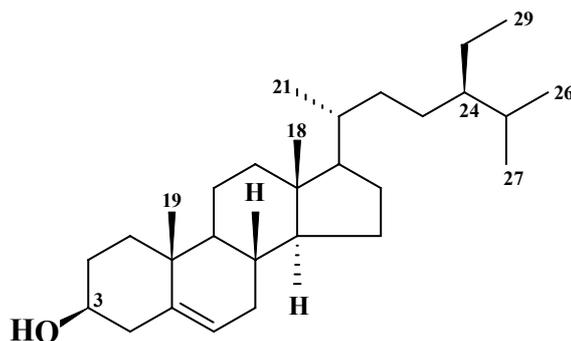
11



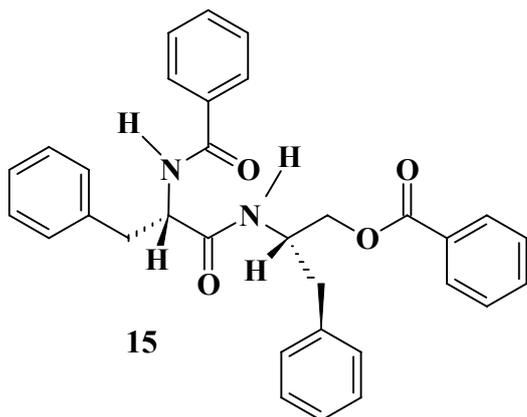
12



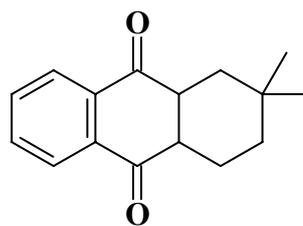
13



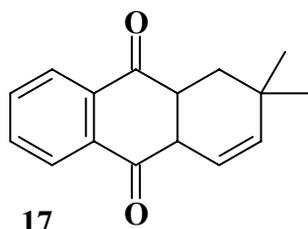
14



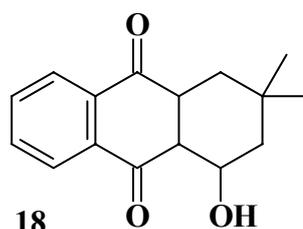
15



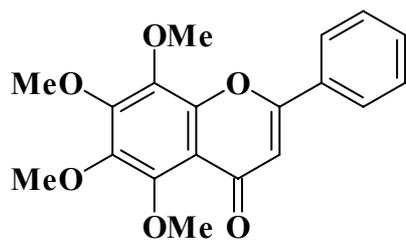
16



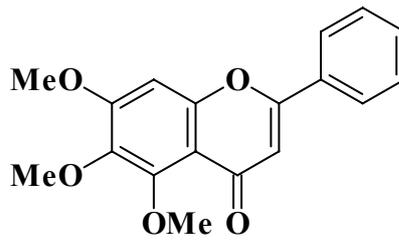
17



18

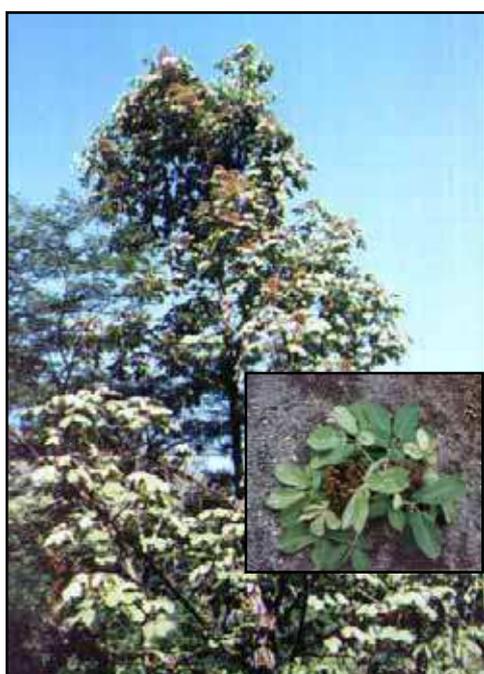


19



20

A espécie *Z. tuberculosa* (Figura 7, p. 24) é uma árvore de médio a grande porte, conhecida como "Ipê tabaco ou felpudo", com tronco reto, cilíndrico e casca grossa cinza-clara a pardo-amarelada. A folha inteira, assim como o resto da planta, é recoberta por uma camada espessa, semelhante a um veludo, daí a origem do nome popular. Seus ramos geralmente são grossos, ásperos, e felpudos quando novos. As folhas são opostas cruzadas, pentadigitadas e grandes. A inflorescência surge após a brotação das folhas, em forma de cachos entre os meses de novembro a fevereiro. Seus frutos se apresentam capsulados na forma oval, externamente revestidos de densas expansões semelhantes a um pêlo grosso lenhoso, com inúmeras saliências, tipo tubérculos, sendo esta a razão do nome da espécie. As sementes são achatadas, branco-amareladas, felpudas, que germinam facilmente quando colocadas sob uma fina camada de solo ou palha úmida. Esta espécie, de grande potencial econômico, está ameaçada de extinção em decorrência da atuação humana em atividades agropecuárias, madeireiras e de carvoaria (Luz & Ferreira, 1985). Esta espécie vegetal não possui um único tipo de habitat no território brasileiro, podendo ser encontrada nos cerrados, na mata atlântica e região amazônica (Pauletti *et al.*, 2003).



Zeyheria tuberculosa (Vell) Bur.



Piper hayneanum C.DC.

Figura 7. Fotos das espécies vegetais *Z. tuberculosa* (Vell) Bur.* e de *P. hayneanum* C.DC.

*Fonte: URL: <http://www.arvores.brasil.com.br>. Acessado em 23/02/2008.

3.5.2 Gênero *Piper*

O gênero *Piper* é um dos dez gêneros da família Piperaceae, com vasta distribuição mundial, compreendendo cerca de 2.300 espécies. No Brasil, essa família é representada pelos gêneros: *Piper* L., *Peperomia* Ruiz & Pav., *Potomorphe* Miq., *Ottonia* Spreng., e *Sarchorhachis* Trel., sendo a última exclusiva das regiões Sul e Sudeste (Guimarães & Giordano, 2004). Este gênero possui em torno de 700 espécies, distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais de ambos os hemisférios. As plantas caracterizam-se por espécies arbustivas, arvoretas, ou plantas herbáceas epifíticas, geralmente variando de um a dez metros de altura, com caule nodoso. Suas folhas são alternadas variando na forma e no tamanho e as flores aperiântadas (Guimarães & Giordano, 2004). Este gênero engloba um grande número de espécies que se caracterizam pelo uso popular e pela importância econômica e comercial, em decorrência da produção de óleos essenciais utilizados pela indústria de condimentos, farmacêutica, inseticida e de cosméticos (Albiero *et al.*, 2005)

O levantamento bibliográfico do gênero *Piper* revelou amplo uso popular das suas espécies, sendo constatadas 84 diferentes utilizações destas plantas de forma isolada (Tabela 1, p. 28), e 31 em associação com outras espécies do mesmo gênero e/ou de outros gêneros (Tabela 1a, p.54). Destes relatos 52% foram registrados nas Américas, 25% na Ásia, 12% na África, 10% na Oceania e apenas 1% na Europa.

Ensaio biológicos realizados com algumas espécies deste gênero identificaram a existência de 76 diferentes atividades (Tabela 2, p.59), sendo que em 25 do total foram confirmadas as indicações terapêuticas a elas atribuídas. Das 25 indicações terapêuticas (Figura 8, p. 26) cientificamente constatadas, cinco merecem destaque por se tratarem de ocorrências nas quais geralmente microrganismos patogênicos estão envolvidos: 1- cicatrização de feridas, 2- diarreias e cólera, 3-distúrbios pulmonares (bronquite e pneumonia), 4- doenças microbianas (cutâneas, da boca, do aparelho reprodutor feminino, oculares), 5- inflamação e infecção. Estas atividades foram relatadas para 15 espécies vegetais, quais sejam: *P. aduncum* L., *P. angustifolium* Lam., *P. amalago* L., *P. attenuatum* Willd., *P. auritum* Kunt., *P. betle* L., *P. guineense* Schumach & Thonn., *P. hispidum* Hayata, *P. longum* L., *P. lenticellosum* C.DC., *P. marginatum* Jacq., *P. methysticum* G. Forst., *P. nigrum* L., *P. peltatum* L., *P. retrofractum* Vahl. O relato de atividades antimicrobianas (Tabela 2, p. 59) e cicatrizantes de feridas nestas espécies pode servir de indicativo para a busca de tais atividades em outras espécies do mesmo gênero.

Considerando-se o número de compostos descobertos, a fitoquímica do gênero *Piper* é rica. No entanto, em decorrência da diversidade de espécies deste gênero e da variedade intraespecífica de metabólitos secundários nas espécies que já foram examinadas, a química da *Piper*, ainda, necessita de investigação. Somente cerca de 10% de todas as espécies de *Piper* foram fitoquimicamente estudadas (Dyer *et al.*, 2004). O que já foi elucidado está documentado e tem sido objeto de extensa revisão. Das espécies estudadas foram encontrados em torno de 592 compostos distribuídos nas seguintes classes: 145 alcalóides/amidas, 39 propenilfenóis, 47 lignanas, 70 neolignanas, 89 terpenos, 15 esteróides, 18 kavapironas, 4 piperolidas, 17 chalconas/dihidrochalconas, 16 flavonas, 6 flavanonas e 126 compostos miscelâneos (Parmar *et al.* 1997). Os metabólitos secundários são encontrados em todas as partes das plantas, todavia, particularmente, em algumas espécies de *Piper*, eles se apresentam muito interligados (*P. betle*, *P. nigrum* e *P. auritum*). Por este motivo alguns estudos sugerem a possibilidade de sinergismo entre estes compostos (Scott *et al.*, 2002; Dyer *et al.*, 2003).

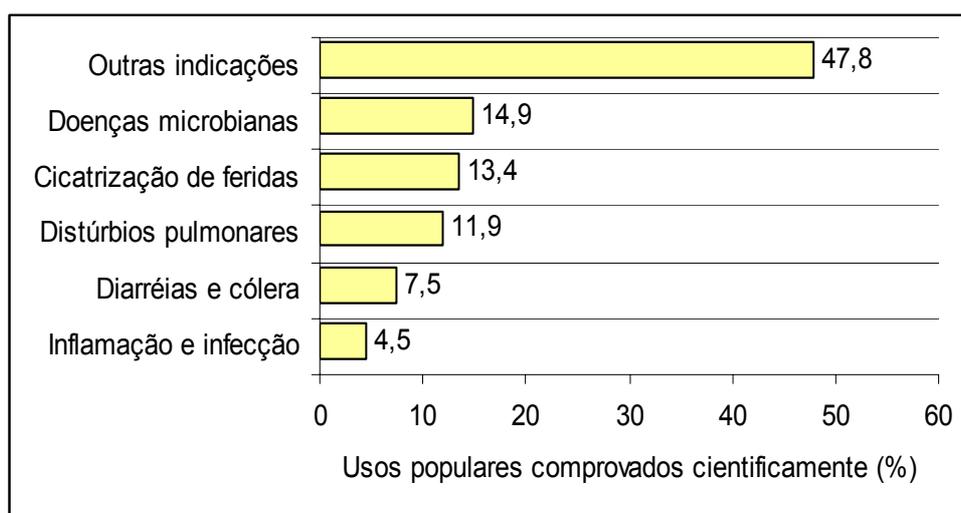


Figura 8. Distribuição das Indicações populares cientificamente comprovadas.

A espécie *P. hayneanum* C.DC. (Figura 7, p. 24), anteriormente identificada como *Ottonia macrophylla* Kunth, é uma planta herbácea terrestre que mede aproximadamente um metro de altura quando adulta. Esta espécie vegetal apresenta caule nodular e liso, não lenhoso e delgado, com folhas alternas, inervadas, elípticas de ápice acuminado que medem de 4,5 a 11,5 cm de comprimento. As flores são aclamídeas, diminutas, protegidas por bracteólas pediceladas, formando umbelas. O fruto é constituído por uma drupa pequena, em

forma de espiga, com sementes minúsculas, dispostas verticalmente acima da copa da planta, estando presente no final das estações chuvosas (Guimarães & Giordano, 2004).

No Brasil, a ocorrência de *P. hayneanum* foi relatada, somente, nos estados de Minas Gerais, Rio de Janeiro, Pernambuco e Paraíba (Yuncker, 1972, 1973; Guimarães & Giordano, 2004). Este é o primeiro relato da ocorrência desta planta em Alagoas.

Após levantamento realizado na base de dados NAPRALERT (NAtural PProducts ALERT), no *site* do The International Plant Name Index (<http://www.ipni.org/index.html>), na base de dados (web of science) do periódicos CAPES e na base de dados do SciFinder Scholar foi constatada ausência de estudos com esta espécie vegetal.

Tabela 1. Usos populares relatados em espécies do gênero *Piper* (Piperaceae).

Uso Popular	Espécies	Local de Uso	Parte da Planta	Extratos/Modo de Uso	Referências	
Abortivo	<i>P. aurantiacum</i> Wall.	Índia	Frutos	Frutos (VO)	Saha <i>et al.</i> , 1961	
	<i>P. austrocaledonicum</i> C.DC.	Nova Caledônia	Caule	Seiva (VO, gestante)	Rageau, 1973	
	<i>P. dilatatum</i> Rich.	Argentina	Folhas	Aquoso quente (VO, gestante)	Martinez-Crovetto, 1981	
	<i>P. longum</i> L.	Índia	Frutos	Não citado (VO, gestante)	Saha <i>et al.</i> , 1961	
		Tailândia	Sementes	Aquoso quente (VO, gestante)	Piyachaturawat <i>et al.</i> , 1982	
	<i>P. methysticum</i> G. Forst.	Havaí	Folhas	Aquoso quente (VO) ou Folhas (Intravaginal, gestante)	Handy <i>et al.</i> , 1934 Gutmanis, 1977	
	<i>P. nigrum</i> L.	EUA	Frutos	Alcoólico (VO, gestante)	Malhi, & Trivedi, 1972	
		Índia	Frutos	Não citado (Vaginal e VO, gestante)	Thompson, 1941 Saha <i>et al.</i> , 1961	
		Indonésia	Não citada	Não citado (gestante)	Steenis-Kruseman, 1953	
		Malásia	Frutos	Não citado (VO, gestante)	Gimlette, 1929; 1939; Quisumbing, 1951; Petelot, 1954; Burkill, 1966	
			Tailândia	Sementes	Aquoso quente (VO, gestante)	Piyachaturawat <i>et al.</i> , 1982
			Leste da África	Frutos	Não citado (VO, gestante)	Watt & Breyer-Brandwi JK, 1962
	<i>P. peltatum</i> L.	Brasil	Partes aéreas	Infuso (VO, gestante)	Milliken, 1997b	
	<i>P. sanctum</i> Schltld.	México	Folhas	Folhas (VO, gestante)	Martinez, 1984	
	<i>P. sarmentosum</i> Roxb.	México	Não citada	Não citado (VO, gestante)	Lozoya, 1976	
Acne	<i>P. umbellatum</i> L.	México	Folhas	Creme (Tópico, adulto)	Zamora-Martinez & Pola, 1992	
Adstringente	<i>P. angustifolium</i> Lam.	USA	Folhas	Aquoso quente (VO, adulto)	Anon, 1931	

(Continua)

Tabela 1 (Continuação)

Afrodisíaco	<i>P. betle</i> L.	Índia	Folhas, Pecíolos	Não citado, Infuso ou Decocto (VO, adulto)	Tewari <i>et al.</i> , 1970; Mitra <i>et al.</i> , 1996; Adhikary, 1989
	<i>P. cubeba</i> L f.	Malásia	Frutos	Sementes (VO, adulto)	Burkill, 1966
		Yemen	Amostra comercial	Não citado (VO, adulto)	Fleurentin & Pelt, 1982
	<i>P. erythroxyloides</i> R.E. Schult & Garcia-Barr.	Venezuela	Nó (Caule)	Não citado (VO, adulto)	Schultes, 1975
	<i>P. guineense</i> Schumach & Thonn.	Costa Ivore	Raízes	Aquoso quente (VO, adulto)	Bouquet & Debray, 1974
	<i>P. longum</i> L.	Afeganistão	Frutos	Não citado (VO, adulto)	Elisabetsky <i>et al.</i> , 1992
	<i>P. nigrum</i> L.	Marrocos	Frutos	Não citado (VO, adulto)	Bellakhdar <i>et al.</i> , 1991
		Itália	Frutos	Aquoso quente (VO, adulto)	Amico, 1972
	<i>P. retrofractum</i> Vahl.	Morocco	Frutos	Frutos (VO, adulto)	Bellakhdar <i>et al.</i> , 1991
	Alimento ou condimento	<i>P. aduncum</i> L.	Porto Rico	Frutos	Frutos (VO)
<i>P. auritum</i> Kunt.		Honduras	Caule	Suco (VO)	Lentz, 1993
<i>P. betle</i> L.		Tailândia	Folhas	(VO, adulto)	Maukakami, <i>et al.</i> , 1997
<i>P. sarmentosum</i> Roxb.					Murakami <i>et al.</i> , 1995
<i>P. excelsum</i> G. Forst.		Nova Zelândia	Folhas	Chá (VO)	Brooker <i>et al.</i> , 1989
		Nigéria	Planta inteira	Infuso (VO, adulto)	Udoh <i>et al.</i> , 1996
<i>P. guineense</i> Schumach & Thonn					
<i>P. longum</i> L.		Nigéria	Raízes	Não citado (VO, adulto)	Gill & Akinwumi, 1986
		Índia	Sementes	Aquoso quente (VO, adulto)	Shanmugasundaram & Radah Shanmugasundar, 1986
<i>P. malamiris</i> L.		Índia	Folhas	Folhas (VO, adulto)	Maikhuri & Gangwar, 1993
<i>P. methysticum</i> G. Forst.		USA	Raízes	Aquoso quente (VO, adulto)	Anon, 1931
<i>P. nigrum</i> L.		Tailândia	Frutos	Frutos (VO)	Murakami <i>et al.</i> , 1995; 1997
		Malásia	Folhas	Folhas (VO, adulto)	Mackeen <i>et al.</i> , 1997
	China	Folhas	Folhas (VO, adulto)	Pei, 1985	

(Continua)

Tabela 1 (Continuação)

Analgésico

<i>P. allenii</i> Trel.	Colômbia	Raízes	Não citado (adulto)	Schultes, 1975
<i>P. amalago</i> L.	México	Cascas, Folhas, Raízes	Aquoso (VO, adulto)	Dominguez & Alcorn, 1985; Dominguez <i>et al.</i> , 1986
<i>P. aduncum</i> L.	Jamaica Honduras	Folhas + Caule Flores, Folhas, Caule	Aquoso quente (VO, adulto) Decocto (VO, adulto)	Asprey & Thornton, 1955 Lentz <i>et al.</i> , 1998
<i>P. arboricola</i> C.DC.	China	Planta inteira	Aquoso quente (VO, adulto)	Ho <i>et al.</i> , 1981
<i>P. auritum</i> Kunt.	Guatemala	Folhas	Decocto (VO, adulto)	Giron <i>et al.</i> , 1991 Comerford, 1996
	Nicarágua	Folhas	Não citado Decocto (VO, adulto)	Barrett, 1994 Coe & Anderson, 1996a; 1996b
<i>P. betle</i> L.	Fiji	Folhas	(VO, adulto)	Singh, 1986
<i>P. callosum</i> Opiz	Brasil	Folhas	Emplastro (Tópico)	Martins <i>et al.</i> , 2005
<i>P. capense</i> L.f.	Venda	Cascas	Aquoso quente (VO, adulto)	Arnold & Gulumian, 1984
<i>P. divaricatum</i> G. Mey.	Colômbia	Não citada	Não citado	Benítez & Valois, 2004
<i>P. erythroxyloides</i> R.E. Schult & Garcia-Barr.	Venezuela	Nó (Caule)	Não citado (VO, adulto)	Schultes, 1975
<i>P. hispidum</i> Hayata	Nicarágua	Folhas	Não citado; Decocto (adulto)	Coe & Anderson, 1996a; 1996b
<i>P. jacquemontianum</i> Kunt.	Nicarágua	Folhas	Decocto e infuso (VO, adulto)	Coe & Anderson, 1996a; 1996b
<i>P. longum</i> L.	Nicarágua Índia	Flores, Folhas Frutos, Raízes	Decocto; Não citado (adulto) Não citado e Aquoso quente (VO); Pó (VI, adulto)	Barrett, 1994 Chen, 1981; Deka <i>et al.</i> , 1983; Singh & Maheshwari, 1994

(Continua)

Tabela 1 (Continuação)

		China	Frutos	Aquoso quente (VO) (adulto)	Pei, 1983
	<i>P. marginatum</i> Jacq.	Panamá	Folhas	Aquoso quente (VO) (adulto)	Gupta <i>et al.</i> , 1979
		Brasil	Folhas	Infuso/Não citado (adulto)	D'Angelo <i>et al.</i> , 1997
	<i>P. methysticum</i> G. Forst.	Havaí	Folhas	Aquoso (VO, adulto)	Handy <i>et al.</i> , 1934
	<i>P. nigrum</i> L.	Fiji	Sementes	Não citado (VO, adulto)	Singh, 1986
		Nigéria	Sementes	Pasta (Tópico)	Ndukwu & Ben-Nwadibia, 2005
			Frutos	Decocto e infuso (VO)	
		Tailândia	Caule	Aquoso quente (VO, adulto)	Laupattarakasem <i>et al.</i> , 2003
	<i>P. peltatum</i> L.	Peru	Partes aéreas	Decocto (VO, adulto)	Mongelli <i>et al.</i> , 1995
		Nicarágua	Folhas	(Externo)	Coe & Anderson, 1996a;
			Partes aéreas	Decocto (VO, adulto)	1996b
	<i>P. sarmentosum</i> Roxb.	Malásia	Folhas	Infuso (VO, adulto)	Ilham <i>et al.</i> , 1995
	<i>Piper</i> spp.	Nova Guiné	Folhas	Não citado (Tópico, adulto)	Holdsworth, 1984
	<i>P. umbellatum</i> L.	Nigéria	Frutos	Decocto (VO)	Ndukwu & Ben-Nwadibia, 2005
		Brasil	Não citada	Infuso (adulto)	Stehmann & Brandão, 1995
	<i>P. tricuspe</i> C.DC.	Colômbia	Não citada	Não citado	Benítez & Valois, 2004
Anemia	<i>P. auritum</i> Kunt.	Nicarágua	Folhas	Não citado (adulto)	Barrett, 1994
Anorexia	<i>P. retrofractum</i> Vahl.	Bangladesh	Frutos	Infuso (VO, adulto)	Connolly <i>et al.</i> , 1995
Antiabortivo	<i>P. amalago</i> L.	México	Cascas, Folhas	Aquoso (VO, gestante)	Dominguez & Alcorn, 1985
	<i>P. sanctum</i> Schldl.	México	Não citada	Não citado (VO, gestante)	Lozoya, 1976
	<i>P. umbellatum</i> L.	Costa do Marfim	Planta inteira	Aquoso quente (VO, gestante)	Bouquet & Debray, 1974
Anticoncepcional	<i>P. nigrum</i> L.	Países Árabes	Frutos	Não citado e emplastro (Vaginal, adulto)	Razzack, 1980
		Índia	Frutos	Aquoso quente (VO) ou Pó (Vaginal após o coito, adulto)	Basu, 1939; Naktani <i>et al.</i> , 1979; Vedavathy <i>et al.</i> , 1991

(Continua)

Tabela 1 (Continuação)

	<i>P. peltatum</i> L.	Brasil	Folhas	Aquoso quente (VO, adulto)	Gonzalez & Silva, 1978
	<i>Piper</i> spp.	Nicarágua	Folhas	Infuso (VO, adulto)	Dennis, 1988
	<i>Piper</i> spp.	Nova Guiné	Não citada	Aquoso quente (VO, adulto)	Womersley, 1974
		Equador	Folhas	Aquoso quente (VO, adulto)	Gonzalez & Silva, 1978
Antiespasmódico	<i>P. callosum</i> Opiz	Brasil	Folhas	Decocto (VO)	Martins <i>et al.</i> , 2005
	<i>P. marginatum</i> Jacq.	Peru	Folhas	Não citado (VO, adulto)	Duke, 1994
		Brasil	Folhas	Decocto (VO, adulto)	Ramos <i>et al.</i> , 1986
Antiemético	<i>P. guineense</i> Schumach & Thonn.	Nigéria	Raízes, Frutos	Não citado Infuso (VO, adulto)	Gill & Akinwumi, 1986 Ndukwu & Ben-Nwadibia, 2005
	<i>P. longum</i> L.	China	Frutos	Aquoso quente (VO, adulto)	Pei, 1983
Antiepiléptico	<i>P. umbellatum</i> L.	Brasil	Raízes	Aquoso quente (VO, adulto)	KIjjoa <i>et al.</i> , 1980
Antihelmíntico/ Vermicida	<i>P. boehmerifolium</i>	Índia	Raízes	Aquoso quente (VO, adulto)	Mahanta <i>et al.</i> , 1974
	<i>P. capense</i> L.f.	África (Leste)	Raízes	Aquoso (VO, adulto)	Kokwaro, 1976
		Zimbabwe	Raízes	Decocto (VO, adulto)	Kokwaro, 1976
		Índia	Sementes	Aquoso quente (VO, adulto)	Shanmugasundaram & Radah Shanmugasundar, 1986
	<i>P. guineense</i> Schumach & Thonn.	Nigéria	Frutos	Infuso (VO)	Ndukwu & Ben-Nwadibia, 2005
	<i>P. nigrum</i> L.	Índia	Frutos	Aquoso quente (VO, adulto)	Deka <i>et al.</i> , 1979
		Nepal	Frutos	Pó (VO, adulto)	Bhattarai, 1992
	<i>P. sylvaticum</i> Roxb.	Índia	Raízes	Aquoso quente (VO, adulto)	Mahanta <i>et al.</i> , 1974
Antihemorragico	<i>P. amalago</i> L.	Porto Rico	Planta inteira	Não citado (Externo, adulto)	Stimson, 1971
		México	Folhas	Aquoso (VO, adulto)	Dominguez & Alcorn, 1985

(Continua)

Tabela 1 (Continuação)

	<i>P. betle</i> L.	Islândia	Folhas	Seiva (VO, adulto)	Holdsworth & Wamoi, 1982
	<i>P. marginatum</i> Jacq.	Panamá	Folhas	Não citado (Externo, adulto)	Gupta <i>et al.</i> , 1979
		Brasil	Folhas	Não citado (Externo, adulto)	D'Angelo <i>et al.</i> , 1997
	<i>P. nigrum</i> L.	Nova Guiné	Sementes	Não citado (adulto)	Vasileva, 1969
Antiinflamatório	<i>P. amalago</i> L.	México	Raízes	Aquoso quente (VO, adulto)	Dominguez <i>et al.</i> , 1986
	<i>P. angustifolium</i> Lam.	Peru	Folhas	Infuso (VO, adulto)	Duke, 1994
	<i>P. marginatum</i> Jacq.	Brasil	Folhas	Infuso (Não citado, adulto)	D'Angelo <i>et al.</i> , 1997
	<i>P. peltatum</i> L.	Bolívia	Folhas	Não citado (VO, adulto)	Desmarchelier <i>et al.</i> , 1997
	<i>P. umbellatum</i> L.	Nigéria	Raízes	Decocto (VO)	Ndukwu & Ben-Nwadibia, 2005
			México	Folhas frescas	Infuso (VO, adulto)
Antimicótico	<i>P. peltatum</i> L.	Peru	Folhas	Infuso (Tópico, adulto)	Jovel <i>et al.</i> , 1996
Antiofídico e antídoto	<i>P. allenii</i> Trel.	Panamá	Folhas	Não citado (adulto)	Schultes, 1975
	<i>P. amalago</i> L.	Índia	Raízes	Decocto (VO, adulto)	Selvanayahgam <i>et al.</i> , 1994
		Guatemala	Folhas, Raízes	Suco ou decocto (Tópico, adulto)	Comerford, 1996
	<i>P. arboreum</i> Aubl.	Colômbia	Partes aéreas	Decocto (Banho, adulto)	Otero <i>et al.</i> , 2000a; 2000b
	<i>P. auritum</i> Kunt.	Colômbia	Partes aéreas	Decocto (VO, adulto)	Otero <i>et al.</i> , 2000a
	<i>P. betle</i> L.	Índia	Folhas	Não citado (adulto)	Selvanayahgam <i>et al.</i> , 1994
		México	Galhos	Não citado (adulto)	Dimayuga <i>et al.</i> , 1998
	<i>P. coruscans</i> Kunt., <i>P. hispidum</i> Hayata, <i>P. longivillosum</i> Trel., <i>P. marginatum</i> Jacq., <i>P. multiplinervium</i> Trel.	Colômbia	Partes aéreas	Decocto (Banho ou Cataplasma, adulto)	Otero <i>et al.</i> , 2000a; 2000b
	<i>P. coruscans</i> Kunt.	Honduras	Folhas, Caule	Decocto (Banho, adulto)	Lentz, 1993; Lentz <i>et al.</i> , 1998

(Continua)

Tabela 1 (Continuação)

	<i>P. longum</i> L.	Índia	Frutos	Não citado (adulto)	Selvanayahgam <i>et al.</i> , 1994
	<i>P. nigrum</i> L.	Índia	Frutos, Sementes	Não citado e pó (VO, adulto)	John, 1984; Siddiqui & Husain, 1990 Selvanayahgam <i>et al.</i> , 1994
	<i>P. peltatum</i> L., <i>P. pulchrum</i> C.DC., <i>P. reticulatum</i> L.	Colômbia	Partes aéreas	Decocto (VO) ou infuso (Banho ou Cataplasma ou Tópico, adulto)	Otero <i>et al.</i> , 2000a; 2000b
	<i>P. sempervirens</i> L.	Guatemala	Raízes	Decocto (VO, adulto)	Comerford, 1996
Antisséptico	<i>P. acutifolium</i> Ruiz & Pav.	Peru	Folhas	Decocto (Tópico vaginal)	Duke, 1994
	<i>P. aduncum</i> L.	Nova Guiné	Folhas	Não citado (Adulto)	Orjala <i>et al.</i> , 1993a
	<i>P. angustifolium</i> Lam.	Peru	Folhas	Não citado (Adulto)	Duke, 1994
	<i>P. betle</i> L.	Brunei	Folhas	Suco (VO, adulto)	Haji Mohiddin <i>et al.</i> , 1992
	<i>P. guineense</i> Schumach. & Thonn.	Guiné	Folhas	Aquoso (Tópico, adulto)	Akendengue, 1992
	<i>P. hispidum</i> Hayata <i>P. retrofractum</i> Vahl.	Honduras Indonésia	Folhas, Caule Sementes	Decocto (Banho, adulto) Não citado (Tópico)	Lentz <i>et al.</i> , 1998 Ohsumi <i>et al.</i> , 1995
Antitérmico	<i>P. amalago</i> L.	México	Não citada	Aquoso (VO, adulto)	Dominguez & Alcorn, 1985
	<i>P. amazonicum</i> Miq.	Colômbia	Frutos	Decocto (VO, adulto)	Schultes & Raffauf, 1994
	<i>P. arboreum</i> Aubl.	Brasil	Partes aéreas	Infuso (Banho, adulto)	Milliken & Albert, 1996
	<i>P. attenuatum</i> Willd.	Índia	Raízes + Caule	Decocto (VO, adulto)	Pushpangadan & Atal, 1984
	<i>P. auritum</i> Kunt	Guatemala	Folhas	Decocto (VO ou Banho, adulto)	Giron <i>et al.</i> , 1991 Comerford, 1996
		Nicarágua	Folhas	Decocto (Banho) Infuso (VO, adulto)	Barrett, 1994; Coe & Anderson, 1996a; 1996b
	<i>P. betle</i> L.	Borneo Brunei	Folhas Folhas	Decocto (VO, adulto) Suco (VO, adulto)	Pezzuto, 1995 Haji Mohiddin <i>et al.</i> , 1992
	<i>P. cubeba</i> L. f.	Tailândia	Frutos	Aquoso quente (VO, adulto)	Mokkhasmit <i>et al.</i> , 1971b

(Continua)

Tabela 1 (Continuação)

<i>P. hispidum</i> Hayata	Nicarágua	Folhas	Infuso (VO, adulto)	Coe & Anderson, 1996a; 1996b
<i>P. insectifugum</i> C.DC.	Peru	Folhas	Infuso (VO, adulto)	Duke, 1994
	Rotuma	Folhas	Infuso (VO, adulto)	Mc Clatchey, 1996
<i>P. Jacquemontianum</i> Kunt.	Nicarágua	Flores, Folhas	Decocto ou infuso (VO, adulto)	Barrett, 1994; Coe & Anderson, 1996a; 1996b
<i>P. longum</i> L.	China	Planta inteira	Decocto ou infuso (VO, adulto)	Lama & Santra, 1979
<i>P. methysticum</i> G. Forst.	EUA	Raízes	Aquoso quente (VO, adulto)	Anon, 1931
<i>P. nigrum</i> L.	Bangladesh	Frutos	Não citado (VO, adulto)	Khanom <i>et al.</i> , 2000
	Índia	Frutos Sementes	Aquoso quente (VO, adulto)	Deka <i>et al.</i> , 1983; Siddiqui & Husain, 1994; Shanmugasundaram & Radah Shanmugasundar, 1986
<i>P. peltatum</i> L.	Arábia Saudita	Sementes	Aquoso (VO, adulto)	Seabrook, 1927
	Peru	Partes aéreas	Decocto (VO, adulto)	Mongelli <i>et al.</i> , 1995
	Brasil	Partes aéreas	Infuso (VO, adulto)	Milliken, 1997
	Nicarágua	Folhas	Decocto (VO, adulto)	Coe & Anderson, 1996a; 1996b
<i>P. retrofractum</i> Vahl.	Peru	Folhas	Infuso (VO, adulto)	Duke, 1994; Jovel <i>et al.</i> , 1996
	Colômbia	Folhas	Decocto (VO, adulto)	Schultes & Raffauf, 1994
	Tailândia	Raízes	Aquoso quente (VO, adulto)	Mokkhasmit <i>et al.</i> , 1971
<i>P. sarmentosum</i> Roxb.	Tailândia	Planta inteira	Aquoso quente (VO, adulto)	Mokkhasmit <i>et al.</i> , 1971b
<i>Piper</i> spp.	Brasil	Folhas	Decocto (Banho, adulto)	Milliken & Albert, 1996
	Tailândia	Caule	Aquoso quente (VO, adulto)	Mokkhasmit <i>et al.</i> , 1971b
	Índia	Raízes	Aquoso quente (VO, adulto)	Patra & Ghosh, 1974
<i>P. umbellatum</i> L.	Gabão	Folhas	Aquoso (Banho)	Akendengue & Louis, 1994

(Continua)

Tabela 1 (Continuação)

		Brasil	Folhas	Mascadas ou infuso (VO, adulto)	Hammer & Johns, 1993
	<i>P. trioicum</i> L.	Índia	Raízes + Caule	Decocto (VO, adulto)	Pushpangadan & Atal, 1984
	<i>P. wallichii</i> Miq.	Nepal	Raízes	Suco (VO)	Manandhar, 1995b
Ascite (Barriga d' agua)	<i>P. umbellatum</i> L.	Nigéria	Folhas	Infuso (VO, adulto)	Ndukwu & Ben-Nwadibia, 2005
Caça	<i>P. bartlingianum</i> Miq.	Guiana Holandesa	Planta inteira	Não citado	Schultes, 1975
	<i>P. dumosum</i> Rudge	Peru	Folhas	Não citado	Duke, 1994
	<i>P. hispidum</i> Hayata	Colômbia	Não citada	Não citado	Schultes & Raffauf, 1990
	<i>P. longum</i> L.	Colômbia	Não citada	Não citado	Schultes & Raffauf, 1990
	<i>P. marginatum</i> Jacq.	Índia	Frutos	Não citado	Bisset & Mazars, 1984
	<i>P. methysticum</i> G. Forst.	Colômbia	Não citada	Não citado	Schultes & Raffauf, 1990
	<i>P. umbellatum</i> L.	Ilhas Salomão Colômbia	Raízes	Não citado	Pickard & Cox, 1986
			Cascas	Aquoso quente Não citado	Schultes, 1980 Schultes & Raffauf, 1990
Cicatrização (corte, ferida, entorse, hematoma e equimose)	<i>P. aduncum</i> L.	Nova Guiné	Folhas	Infuso (Não citado, adulto)	Okunade <i>et al.</i> , 1997 Orjala <i>et al.</i> , 1993b
	<i>P. angustifolium</i> Lam.	Panamá	Folhas	Suco (Tópico, adulto)	Gupta <i>et al.</i> , 1979
	<i>P. auritum</i> Kunt	Guatemala	Folhas	Não citado (VO, adulto)	Giron <i>et al.</i> , 1991
		Guatemala	Folhas	Decocto (Tópico, adulto)	Giron <i>et al.</i> , 1991
		Fiji	Folhas	Suco (VO, adulto)	Singh, 1986
	<i>P. capense</i> L.f.	Venda	Cascas		Arnold & Gulumian, 1984
	<i>P. carpunya</i> Ruiz & Pav.	Peru	Folhas + Caule	Aquoso quente (VO, adulto)	Ramirez <i>et al.</i> , 1988
	<i>P. elongatum</i> C.DC.	Peru	Folhas + Caule	Aquoso quente (VO ou tópico, adulto)	Ramirez <i>et al.</i> , 1988
	<i>P. marginatum</i> Jacq.	Brasil	Folhas	Infuso (VO, adulto)	D'Angelo <i>et al.</i> , 1997

(Continua)

Tabela 1 (Continuação)

	<i>P. nigrum</i> L.	Guatemala	Frutos	Aquoso quente (Tópico, adulto)	Caceres <i>et al.</i> , 1987
	<i>P. peltatum</i> L.	Argentina	Folhas	Decocto (Lavagem, adulto)	Desmarchelier <i>et al.</i> , 1996
		Peru	Folhas	(Cataplasma ou Tópico, adulto)	Duke, 1994
	<i>P. sempervirens</i> L.	Guatemala	Raízes	Decocto (VO, adulto)	Comerford, 1996
	<i>Piper</i> spp.	Nova Guiné	Seiva	(Banho ou tópico, adulto)	Holdswor, 1984
	<i>P. sylvaticum</i> Roxb.	Índia	Raízes	Não citado (adulto)	Mahanta <i>et al.</i> , 1974
	<i>P. umbellatum</i> L.	Brasil	Folhas frescas	Infuso (Banho ou Tópico)	Hammer & Johns, 1993
Clareador de pele	<i>P. aduncum</i> L.	Honduras	Flores, Folhas, Caule	Decocto (VO, adulto)	Lentz <i>et al.</i> , 1998
Cólera	<i>P. nigrum</i> L.	Sri Lanka	Frutos	Aquoso quente (VO, adulto)	Arseculeratne <i>et al.</i> , 1985
Cólica menstrual	<i>P. aduncum</i> L.	Honduras	Flores, Folhas, Caule	Decocto (VO, adulto)	Lentz <i>et al.</i> , 1998
	<i>P. marginatum</i> Jacq.	Peru	Folhas	Infuso (VO, adulto)	Duke, 1994
Contraceptivo	<i>P. guineense</i> Schumach & Thonn.	Nigéria	Raízes	Não citado (VO, adulto)	Gill & Akinwumi, 1986
Desordens do fígado	<i>P. marginatum</i> Jacq.	Brasil	Folhas	Infuso (VO, adulto)	Ramos <i>et al.</i> , 1986
	<i>P. umbellatum</i> L.	Brasil	Raízes	Aquoso quente (VO, adulto)	Kijjoa <i>et al.</i> , 1980
Desordens gastrintestinais (cólica flatulência, náuseas, regurgitação e úlceras)	<i>P. aduncum</i> L.	Haiti	Folhas	Decocto (VO, adulto)	Weniger <i>et al.</i> , 1986
	<i>P. amalago</i> L.	México	casca	Aquoso (VO, adulto)	Dominguez & Alcorn, 1985
		Índia	Não citada	Não citado	Mitchel <i>et al.</i> , 2006
	<i>P. angustifolium</i> Lam.	Panamá	Folhas	Aquoso quente (VO, adulto)	Gupta <i>et al.</i> , 1979
	<i>P. arboreum</i> Aubl.	Peru	Folhas	Não citado (VO, adulto)	Duke, 1994
					Machado <i>et al.</i> , 1994
	<i>P. auritum</i> Kunt	Guatemala	Folhas	Decocto (VO, adulto)	Comerford, 1996
	<i>P. betle</i> L.	Malásia	Folhas	Infuso (VO, adulto)	Ilham <i>et al.</i> , 1995
	<i>P. carpunya</i> Ruiz & Pav.	Peru	Folhas + Caule	Aquoso quente (VO, adulto)	Ramirez <i>et al.</i> , 11988

(Continua)

Tabela 1 (Continuação)

	<i>P. cubeba</i> L.f.	EUA	Frutos	Aquoso quente (VO, adulto)	Anon, 1931
	<i>P. elongatum</i> C.DC.	Peru	Folhas + Caule	Aquoso quente (VO, adulto)	Ramirez <i>et al.</i> , 11988
	<i>P. guineense</i> Schumach & Thonn.	Gana	Planta inteira	Não citado	Dwuma-Badu <i>et al.</i> , 1975; 1976
		Nigéria	Raízes	Não citado	Gill & Akinwumi, 1986
			Sementes	(VO, adulto)	Bhat <i>et al.</i> , 1990
		EUA	Folhas	Aquoso (VO, adulto)	Noumi & Yomi, 2001
		Nigéria	Frutos, Folhas	Infuso (VO)	Ndukwu & Ben-Nwadibia, 2005
		Índia	Frutos, Raízes, Sementes	Aquoso quente ou fresco (VO, adulto)	Das <i>et al.</i> , 1979; Deka <i>et al.</i> , 1979; Kholkute <i>et al.</i> , 1979; Shanmugasundaram & Radah, 1986; Shanmugasundaram <i>et al.</i> , 1986
	<i>P. jacquemontianum</i> Kunt.	Nicarágua	Flores e Folhas	Decocto (VO, adulto)	Barrett, 1994
	<i>P. marginatum</i> Jacq.	Brasil	Folhas	Infuso (VO, adulto)	Ramos <i>et al.</i> , 1986
		Panamá	Folhas	Aquoso quente (VO, adulto)	Gupta <i>et al.</i> , 1979
	<i>P. nigrum</i> L.	Coréia do Sul	Frutos	Aquoso quente (VO, adulto)	Lee <i>et al.</i> , 1984
		Índia	Sementes	Aquoso quente (VO, adulto)	Shanmugasundaram & Radah, 1986
		Omã	Frutos	Não citado (VO, adulto)	Shanmugasundaram <i>et al.</i> , 1986
		Nicarágua	Folhas	Decocto (VO, adulto)	Ghazanfar & AL-Sabahi, 1993
	<i>P. sarmentosum</i> Roxb.	Tailândia	Folhas	Não citado (VO, adulto)	Coe & Anderson, 1996a,b
	<i>P. umbellatum</i> L.	EUA	Folhas	Aquoso (VO, adulto)	Riditid <i>et al.</i> , 1998
Diabete Mellitus	<i>P. guineense</i> Schumach & Thonn.	Nigéria	Frutos	Suco (VO, adulto)	Noumi & Yomi, 2001
					Iwu & Anyanwu, 1982

(Continua)

Tabela 1 (Continuação)

	<i>P. Jacquemontianum</i> Kunt.	Nicarágua	Flores e folhas	Decocto (VO, adulto)	Barrett, 1994
	<i>P. nigrum</i> L.	Índia	Frutos	Aquoso (VO, adulto)	Atique <i>et al.</i> , 1985; Singh & Ali, 1989; Alam <i>et al.</i> , 1990
Diarréia	<i>P. aduncum</i> L.	Nova Guiné Brasil	Folhas Não citada Folhas	Infuso (Não citado, adulto) Infuso (VO) Decocto (VO)	Okunade <i>et al.</i> , 1997 Souza & Felfili, 2006 Rodrigues & Carvalho, 2001
	<i>P. angustifolium</i> Lam.	Peru EUA	Folhas Folhas	Infuso (VO, adulto) Aquoso quente (VO, adulto)	Duke, 1994 Anon, 1931
	<i>P. betle</i> L.	Brunei	Folhas	Suco (VO, adulto)	Haji Mohiddin <i>et al.</i> , 1992
	<i>P. longum</i> L.	Índia China	Frutos, Raízes Frutos	Decocto (VO) Aquoso quente (VO, adulto)	Krishnaraju <i>et al.</i> , 2006 Pei, 1983
	<i>P. marginatum</i> Jacq.	México	Planta inteira	Suco (VO, adulto)	Zamora-Martinez & Pola, 1992
	<i>P. nigrum</i> L.	Argentina	Frutos	Decocto (VO, adulto)	Perez & Anesini, 1994
	<i>P. peltatum</i> L.	Peru	Folhas	Infuso (VO, adulto)	Jovel <i>et al.</i> , 1996
	<i>P. sanctum</i> Schltdl.	México	Folhas	(VO, adulto)	Martinez, 1984
	<i>P. sarmentosum</i> Roxb.	Tailândia	Raízes, Frutos	Aquoso quente (VO, adulto)	Wasuwat, 1967
	<i>Piper</i> spp.	Bangladesh	Raízes	Suco (VO, adulto)	Alam, 1992
<i>P. umbellatum</i> L.	Brasil	Raízes	Pó com vinho branco (VO)	Hammer & Johns, 1993	
Disfunção erétil	<i>P. nigrum</i> L.	Malásia	Frutos	Não citado (VO, adulto)	Gimlette, 1939
	<i>P. volkensii</i> L.	Leste da África	Raízes	Não citado (VO, adulto)	Watt & Breyer-Brandwi, 1962
Dispepsia e gastrite	<i>P. acutifolium</i> Ruiz & Pav.	Peru	Folhas	Decocto (Tópico)	Duke, 1994
	<i>P. amalago</i> L.	México	Folhas	Decocto (VO, adulto)	Zamora-Martinez & Pola, 1992
	<i>P. aduncum</i> L.	Honduras	Flores, Folhas, Caule	Decocto (VO, adulto)	Lentz <i>et al.</i> , 1998

(Continua)

Tabela 1 (Continuação)

	<i>P. auritum</i> Kunt	Nicarágua	Folhas	Infuso ou decocto (VO, adulto)	Coe & Anderson, 1996a; 1996b
	<i>P. callosum</i> Opiz	Brasil	Folhas	Não citado (VO, adulto)	van den Berg, 1984
	<i>P. guineense</i> Schumach & Thonn.	Nigéria	Raízes	Não citado (VO, adulto)	Gill & Akinwumi, 1986
	<i>P. hispidum</i> Hayata	Nicarágua	Folhas	Infuso e decocto (VO, adulto)	Coe & Anderson, 1996a; 1996b
	<i>P. jacquemontianum</i> Kunt.	Nicarágua	Folhas	Infuso e decocto (VO, adulto)	Coe & Anderson, 1996a; 1996b
	<i>P. peltatum</i> L.	Nicarágua	Folhas	Decocto (VO, adulto)	Coe & Anderson, 1996a
	<i>P. sarmentosum</i> Roxb.	Tailândia	Planta inteira	Não citado (VO, adulto)	Mokkhasmit <i>et al.</i> , 1971b
Distúrbios cardiovasculares e hipertensão	<i>P. auritum</i> Kunt	México	Galhos, Folhas	Não citado (VO, adulto)	Dimayuga <i>et al.</i> , 1998
		Guatemala	Folhas	Decocto (VO, adulto)	Giron <i>et al.</i> , 1991
	<i>P. tuberculatum</i> Jacq.	Nicarágua	Folhas	Infuso (VO, adulto)	Barrett, 1994
	<i>P. methysticum</i> G. Forst.	Não citado	Raízes	Não citado (VO, adulto)	Norton & Ruze, 1994
Distúrbios hepáticos	<i>P. auritum</i> Kunt	Nicarágua	Folhas	Decocto (VO, adulto)	Barrett, 1994
	<i>P. peltatum</i> L.	Peru	Folhas	Infuso (VO, adulto)	Jovel <i>et al.</i> , 1996
		Bolívia	Folhas	Infuso (VO, adulto)	Desmarchelier <i>et al.</i> , 1997b
		Brasil	Partes aéreas	Infuso (VO, adulto)	Milliken, 1997
	<i>P. umbellatum</i> L.	Brasil	Raízes	Não citado (VO, adulto)	Desmarchelier <i>et al.</i> , 1997b
Distúrbios pulmonares (asma, bronquite, dispnéia, pneumonia)	<i>P. angustifolium</i> Lam.	Peru	Folhas	Infuso (VO, adulto)	Duke, 1994
	<i>P. attenuatum</i> Willd.	Índia	Raízes + Caule	Decocto (VO, adulto)	Pushpangadan & Atal, 1984
	<i>P. auritum</i> Kunt.	México	Galhos, Folhas	Não citado (Inalação, adulto)	Dimayuga <i>et al.</i> , 1998
	<i>P. betle</i> L.	Brunei	Folhas	Suco (VO, adulto)	Haji Mohiddin <i>et al.</i> , 1992
	<i>P. callosum</i> Opiz	Peru	Folhas	Folhas (VO, adulto)	Van den berg, 1984

(Continua)

Tabela 1 (Continuação)

Diurético	<i>P. futokadsura</i> Siebold	Taiwan	Caule	Aquoso quente (VO, adulto)	Chang <i>et al.</i> , 1985
	<i>P. guineense</i> Schumach & Thonn.	Gana	Planta inteira, Raízes + Sementes	Não citado	Dwuma-Badu <i>et al.</i> , 1975; 1976a; 1976b
	<i>P. hancei</i> Maxim.	China	Planta inteira	Aquoso quente (VO, adulto)	Han <i>et al.</i> , 1983
		Nigéria	Planta inteira	Infuso (VO, adulto)	Udoh <i>et al.</i> , 1996
			Raízes	Pó (VO, adulto)	Akah <i>et al.</i> , 1997
		Oeste da África	Frutos	Aquoso quente (VO, adulto)	Woode, 1985
	<i>P. longum</i> L.	Nepal	Frutos, Raízes	Aquoso quente (VO, adulto)	Gupta <i>et al.</i> , 1979
	<i>P. methysticum</i> G. Forst.	Haváí	Folhas	Aquoso (VO, adulto)	Hope <i>et al.</i> , 1993
		Rarotonga	Folhas	Aquoso quente (VO, adulto)	Holdsworth, 1991
		EUA	Folhas	Infuso (VO, adulto)	Yarnel, 1997
		Islândia	Raízes	Aquoso (VO, adulto)	Whistler, 1985
	<i>P. nigrum</i> L.	Argentina	Frutos	Decocto (VO, adulto)	Perez & Anesini, 1994
	<i>P. auritum</i> Kunt.	Cuba	Folhas	Infuso (VO, adulto)	Ruiz <i>et al.</i> , 1996
	<i>P. longum</i> L.	Índia	Sementes	Aquoso quente (VO, adulto)	Shanmugasundaram & Radah, 1986 Shanmugasundar <i>et al.</i> , 1986
	<i>P. cubeba</i> L.f.	Não citado	Frutos	Decocto (VO, adulto)	Belkin <i>et al.</i> , 1952
	Itália	Frutos	Aquoso quente (VO, adulto)	Amico, 1972	
	Sri Lanka	Frutos	Aquoso quente (VO, adulto)	Arseculeratne <i>et al.</i> , 1985	
<i>P. guineense</i> Schumach & Thonn.	Nigéria	Raízes	Não citado (VO, adulto)	Gill & Akinwumi, 1986	
<i>P. marginatum</i> Jacq.	Panamá	Folhas	Aquoso quente (VO, adulto)	Gupta <i>et al.</i> , 1979	
<i>P. methysticum</i> G. Forst.	Samoa	Raízes	Decocto (VO, adulto)	Belkin <i>et al.</i> , 1952	
	EUA	Raízes	Aquoso quente (VO, adulto)	Anon, 1931	

(Continua)

Tabela 1 (Continuação)

	<i>P. nigrum</i> L.	Nigéria	Frutos	Decocto (VO)	Ndukwu & Ben-Nwadibia, 2005
		Índia	Frutos	Aquoso quente (VO)	Deka <i>et al.</i> , 1983
	<i>P. schultesii</i> Yunck	Colômbia	Folhas+Caule	Aquoso quente (VO, adulto)	Schultes, 1980
	<i>P. umbellatum</i> L.	Nigéria	Frutos	Infuso (VO)	Ndukwu & Ben-Nwadibia, 2005
Doenças cutâneas (abscesso, eczema, infecção, irritação, prurido e verruga)	<i>P. augustum</i> Rudge	Brasil	Cascas	Aquoso quente (VO, adulto)	Schultes, 1980
	<i>P. boehmerifolium</i> Wall.	Índia	Raízes	Aquoso quente (VO, adulto)	Mahanta <i>et al.</i> , 1974
	<i>P. guineense</i> Schumach & Thonn.	Gana	Sementes	Não citado	Tackie <i>et al.</i> , 1975
	<i>P. marginatum</i> Jacq.	Brasil	Folhas	Emplastro (Tópico)	Martins <i>et al.</i> , 2005
	<i>P. methysticum</i> G. Forst.	Rotuma	Folhas	Não citado (Tópico, adulto)	Mc Clatchey, 1996
	<i>P. nigrum</i> L.	Índia	Frutos	Não citado (Tópico, adulto)	Atique <i>et al.</i> , 1985
		Sri Lanka	Frutos	Aquoso quente (VO, adulto)	Arseculeratne <i>et al.</i> , 1985
		Malásia	Sementes	Não citado (Tópico)	Ilham <i>et al.</i> , 1995
		Guatemala	Frutos	Aquoso quente (VO, adulto)	Caceres <i>et al.</i> , 1987
	<i>P. peltatum</i> L.	Peru	Partes aéreas	Decocto (Externo, adulto)	Mongelli <i>et al.</i> , 1995
	<i>P. retrofractum</i> Vahl.	Indonésia	Sementes	Não citado (Tópico)	Ohsumi, 1995
	<i>P. umbellatum</i> L.	Brasil	Folhas frescas	Pasta (Tópico)	Hammer & Johns, 1993
	Doenças da boca (abscesso, afta, amigdalite, ferida e parotidite)	<i>P. capense</i> L.f.	Venda	Cascas	Aquoso (VO, adulto)
<i>P. dactylostigma</i> Yunck		Brasil	Folhas + Caule	Não citado	Schultes, 1975
<i>P. hispidum</i> Hayata		Peru	Folhas	Infuso (VO, adulto)	Duke, 1994
		México	Folhas	Cataplasma (Tópico, adulto)	Martinez, 1984
<i>P. nigrum</i> L.		Índia	Frutos	Não citado	Atique <i>et al.</i> , 1985
				Aquoso (VO, adulto)	Deka <i>et al.</i> , 1983
<i>P. sarmentosum</i> Roxb.		Tailândia	Planta inteira	Não citado (VO, adulto)	Mokkhasmit <i>et al.</i> , 1971b
<i>P. soledadense</i> Trel.		Peru	Folhas	Não citado (VO, adulto)	Duke, 1994
<i>Piper</i> spp.	Brasil	Folhas	Aquoso quente (VO, adulto)	Prance, 1972	

(Continua)

Tabela 1 (Continuação)

Doenças do aparelho reprodutor feminino	<i>P. angustifolium</i> Lam.	Panamá	Folhas	Aquoso quente (Vaginal)	Gupta <i>et al.</i> , 1979
	<i>P. umbellatum</i> L.	Guiné	Folhas	Aquoso quente (VO, adulto)	Vasileva, 1969
	<i>P. betle</i> L.	Malásia	Folhas	Suco (VO, adulto)	Ahmad & Holdsworth, 1994
	<i>P. cubeba</i> L.f.	Moroco	Frutos	Frutos (VO, adulto)	Bellakhdar <i>et al.</i> , 1991
Doenças oculares (infecções e vasodilatação)	<i>P. erythroxyloides</i> R.E. Schult. & Garcia-Barr.	Venezuela	Nó (Caule)	Não citado (VO, adulto)	Schultes, 1975
	<i>P. marginatum</i> Jacq.	Panamá	Folhas	Suco (Lavagem, adulto)	Gupta <i>et al.</i> , 1979
	<i>P. retrofractum</i> Vahl.	Indonésia	Sementes	Não citado (Tópico)	Ohsumi <i>et al.</i> , 1995
Doenças neuropsíquicas (ansiedade, demência do idoso, depressão, estresse, pânico) e Sedação	<i>P. insectifugum</i> C.DC.	Rotuma	Folhas	Infuso (VO, adulto)	Mc Clatchey, 1996
	<i>P. Jacquemontianum</i> Kunt.	Nicarágua	Flores e folhas	Decocto (VO, adulto)	Barrett, 1994
	<i>P. marginatum</i> Jacq.	México	Planta inteira	Uso externo (adulto)	Zamora-Martinez & Pola, 1992
	<i>P. medium</i> Jacq.	México	Planta inteira	Uso externo (adulto)	Locher <i>et al.</i> , 1996
	<i>P. methysticum</i> G. Forst.	Havaí	Folhas	Não citado (adulto)	Norton & Ruze, 1994
	<i>P. schultesii</i> Yunk.	Não citado	Raízes	Não citado (VO, adulto)	Schultes, 1993
	<i>Piper</i> spp.	Colômbia	Folhas+Caule	Não citado (VO, adulto)	Schultes, 1993
	<i>P. tuberculatum</i> Jacq.	Nicarágua	Folhas	Infuso (Banho, adulto)	Barrett, 1994; De Araujo <i>et al.</i> , 1999
		Brasil	Caule	Infuso (VO, adulto)	De Araujo-Junior <i>et al.</i> , 1997
		<i>P. umbellatum</i> L.	República do Congo	Folhas	Aquoso quente (VO)
Doenças venéreas (sífilis, gonorréia)	<i>P. aduncum</i> L.	Guatemala	Frutos	Infuso (VO, adulto)	Caceres <i>et al.</i> , 1995
	<i>P. angustifolium</i> Lam.	Peru	Folhas	Infuso (VO, adulto)	Duke, 1994
	<i>P. auritum</i> Kunt.	Guatemala	Folhas	Infuso (VO, adulto)	Caceres <i>et al.</i> , 1995
	<i>P. capense</i> L.f.	Venda	Cascas	Aquoso quente (VO, adulto)	Arnold & Gulumian, 1984
	<i>P. cubeba</i> L.f.	Indonésia	Frutos	Frutos (VO, adulto)	Oriel, 1998

(Continua)

Tabela 1 (Continuação)

	<i>P. guineense</i> Schumach & Thonn.	Sri Lanka Gana	Frutos Planta inteira, Frutos	Aquoso quente (VO, adulto) Não citado	Arseculeratne <i>et al.</i> , 1985 Dwuma-Badu <i>et al.</i> , 1975; 1976a; 1976b
	<i>P. methysticum</i> G. Forst.	Nigéria	Raízes	Não citado (VO, adulto)	Gill & Akinwumi, 1986
	<i>P. mullesua</i> Buch-Ham.	Rarotonga Índia	Raízes Folhas + Sementes	Seiva (VO, adulto) (VO, adulto)	Holdsworth, 1991 Jamir, 1990
Edema	<i>P. amalago</i> L.	México	Não citada	Aquoso (VO, adulto)	Dominguez & Alcorn, 1985
	<i>P. dilatatum</i> Rich.	México	Folhas	Infuso (Não citado)	Zamora-Martinez & Pola, 1992
	<i>P. guineense</i> Schumach & Thonn.	Guiné	Frutos	Aquoso (Tópico, adulto)	Vasileva, 1969
	<i>Piper</i> spp.	México	Folhas	Não citado (adulto)	Zamora-Martinez & Pola, 1992
Epigastralgia	<i>P. aduncum</i> L.	Jamaica	Folhas	Infuso (VO, adulto)	Okunade <i>et al.</i> , 1997
	<i>P. betle</i> L.	Brunei	folhas	Suco (VO, adulto)	Haji Mohiddin <i>et al.</i> , 1992
	<i>P. peltatum</i> L.	Haiti	Folhas	Não citado (VO, adulto)	Weniger <i>et al.</i> , 1986
	<i>P. scabrum</i> Ruiz & Pav.	Nicarágua México	Folhas Folhas	Decocto (VO, adulto) Decocto (VO, adulto)	Coe & Anderson, 1996b Zamora-Martinez & Pola, 1992
	<i>Piper</i> spp.	Tailândia Filipinas	Caule Casca+Caule	Não citado (VO, adulto) Decocto (VO, adulto)	Mokkhasmit <i>et al.</i> , 1971b Madulid <i>et al.</i> , 1989
	<i>P. tuberculatum</i> Jacq.	México	Folhas	Decocto (VO, adulto)	Zamora-Martinez & Póla, 1992
	<i>P. nigrum</i> L.	Grécia	Frutos	Não citado (Vaginal, adulto)	Jochle, 1971
Estimulante da produção de leite	<i>P. betle</i> L.	Índia	Folhas	Não citado (adulto)	Quisumbing, 1951
		Malásia	Folhas	Infuso (VO, adulto)	Ilham <i>et al.</i> , 1995

(Continua)

Tabela 1 (Continuação)

materno	<i>P. longum</i> L.	Índia	Raízes	(VO)	Singh <i>et al.</i> , 1996a
	<i>Piper</i> spp.	México	Planta inteira	Aquoso quente (Banho, adulto)	Cosminsky, 1982
Estimulante e alucinógeno	<i>P. betle</i> L.	Tailândia	Folhas	Folhas (VO)	Evans <i>et al.</i> , 1984
	<i>P. cubeba</i> L.f.	Nova Guiné	Frutos	Frutos (VO)	Eisen, 1946
		Yemen	Amostra comercial	Não citado (VO, adulto)	Fleurentin & Pelt, 1982
	<i>P. guineense</i> Schumach & Thonn.	EUA	Frutos	Aquoso quente (VO, adulto)	Anon, 1931
		Guiné	Frutos	Aquoso quente (VO, adulto)	Vasileva, 1969
	<i>P. interitum</i> Trel.	Peru	Folhas, Folhas + Raízes	Não citado (adulto)	Schultes, 1975 De Smet & Rivier, 1985
	<i>P. longum</i> L.	Índia	Sementes	Aquoso quente (VO, adulto)	Shanmugasundaram & Radah, 1986 Shanmugasundar <i>et al.</i> , 1986
<i>P. methysticum</i> G. Forst.	Não citado	Raízes	Aquoso quente (VO ou cigarro, adulto)	Siegel, 1976	
Estimulante do apetite	<i>P. marginatum</i> Jacq.	Panamá	Folhas	Aquoso quente (VO, adulto)	Gupta <i>et al.</i> , 1979
	<i>P. nigrum</i> L.	Índia	Frutos	Infuso (VO)	Krishnaraju <i>et al.</i> , 2006
Estimulante da secreção biliar	<i>P. nigrum</i> L.	Índia	Frutos	Não citado (VO, adulto)	Atique <i>et al.</i> , 1985
Estimulante uterino (Expulsão do feto)	<i>P. aurantiacum</i> Wall. <i>P. auritum</i> Kunt.	Índia	Frutos	Frutos (VO)	Banerjee & Dandiya, 1967
		Nicarágua	Folhas	Infuso ou decocto (VO, adulto)	Coe & Anderson, 1996a; 1996b
	México	Folhas	Decocto	Browner, 1985	
		Raízes	Não citado (VO, adulto)	Zamora-Martinez & Pola, 1992	
<i>P. betle</i> L.	Brunei	Folhas	Suco (VO, adulto)	Haji Mohiddin <i>et al.</i> , 1992	

(Continua)

Tabela 1 (Continuação)

	<i>P. dilatatum</i> Rich.	Índia México	Folhas Planta inteira	Aquoso quente (VO, adulto) Não citado (Banho)	Jain & Tarafder, 1970 Zamora-Martinez & Pola, 1992
	<i>P. guineense</i> Schumach & Thonn.	Nigéria	Planta inteira	Infuso (VO, adulto)	Udoh <i>et al.</i> , 1996
	<i>P. marginatum</i> Jacq.	República de Trindade	Folhas	Aquoso quente (VO, parturiente)	Ayensu, 1978
	<i>P. nigrinodum</i> L.	Jamaica	Não citada	Aquoso quente (VO, adulto)	Ayensu, 1978
	<i>P. nigrum</i> L.	México	Frutos	Aquoso (VO, adulto)	Roys, 1931; Ishikura, 1982
		México	Folhas frescas	Decocto (VO, adulto)	Browner, 1985
	<i>P. peltatum</i> L.	Argentina	Folhas	Decocto (VO, adulto)	Coe & Anderson, 1996a
		Nicarágua	Folhas	Decocto (VO, adulto)	Coe & Anderson, 1996b
	<i>P. retrofractum</i> Vahl.	Malásia	Planta inteira	Tintura (VO, adulto)	Burkill, 1966
		Tailândia	Flores, Raízes	Aquoso quente (VO, adulto)	Mokkhasmit <i>et al.</i> , 1971a; 1971b
	<i>P. umbellatum</i> L.	Costa do Marfim	Raízes	Aquoso quente (VO, adulto)	Browner, 1985
Expectorante	<i>P. betle</i> L.	Malásia	Folhas	Infuso (VO, adulto)	Ilham <i>et al.</i> , 1995
	<i>P. sarmentosum</i> Roxb.	Tailândia	Folhas	Não citado (VO, adulto)	Ridtitid <i>et al.</i> , 1998
Fadiga	<i>P. betle</i> L.	Brunei	Folhas	Suco (VO, adulto)	Haji Mohiddin <i>et al.</i> , 1992
Fratura	<i>P. coruscans</i> Kunt.	Colômbia	Não citada	Cataplasma (Tópico)	Benítez & Valois, 2004
Gota	<i>P. longum</i> L.	Índia	Raízes	Aquoso quente (VO, adulto)	Deka <i>et al.</i> , 1983
Gripe	<i>P. amalago</i> L.	Índia	Não citada	Infuso (VO)	Mitchell <i>et al.</i> , 2006
	<i>P. Jacquemontianum</i> Kunt.	Nicarágua	Flores, Folhas	Decocto (VO, adulto)	Barrett, 1994
	<i>P. marginatum</i> Jacq.	Panamá	Folhas	Aquoso quente (VO, adulto)	Gupta <i>et al.</i> , 1979
Hemorroidas	<i>P. nigrum</i> L.	Sri Lanka	Frutos	Não citado (VO, adulto)	Arseculeratne <i>et al.</i> , 1985

(Continua)

Tabela 1 (Continuação)

	<i>P. retrofractum</i> Vahl.	Índia	Planta inteira	Aquoso quente (VO, adulto)	Sircar, 1984
Hepatoprotetor	<i>P. peltatum</i> L.	Bolívia	Folhas	Não citado (VO, adulto)	Desmarchelier <i>et al.</i> , 1997
Hérniopatia	<i>P. obliquum</i> Ruiz & Pav.	Peru	Folhas	Não citado	Duke, 1994
Herpes Zoster	<i>P. guineense</i> Schumach & Thonn.	Oeste da África	Frutos	Aquoso quente (VO, adulto)	Woode, 1985
Infestação por carrapato ou piolho	<i>P. auritum</i> Kunt.	El Salvador	Folhas	Suco (VO)	Schultes, 1975
	<i>P. hispidum</i> Hayata	Panamá	Caule, Folhas	Não citado (adulto)	Gupta <i>et al.</i> , 1996
Inflamação e infecção não especificada	<i>P. hispidum</i> Hayata	Equador	Folhas	Aquoso (Banho, adulto)	Schultes, 1975
	<i>P. auritum</i> Kunt.	Guatemala	Folhas	Não citado	Comerford, 1996
	<i>P. dumosum</i> Ruge	Peru	Folhas	Não citado	Duke, 1994
	<i>P. insectifugum</i> C.DC.	Rotuma	Raízes	Infuso (VO) ou Tópica (adulto)	Mc Clatchey, 1996
Inseticida	<i>P. lenticellosum</i> C.DC.	Equador	Frutos	Infuso (Não citado, adulto)	Ortega <i>et al.</i> , 1996
	<i>P. divaricatum</i> G. Mey.	Colômbia	Caule	Não citado	Avella <i>et al.</i> , 1994
	<i>P. guineense</i> Schum & Thonn.	Gana	Sementes	Não citado	Tackie <i>et al.</i> , 1975
Insônia	<i>P. methysticum</i> G. Forst.	Havaí	Folhas	Aquoso quente (VO, adulto)	Handy <i>et al.</i> , 1934
	<i>P. nigrum</i> L.	Coréia do Sul	Frutos	Aquoso quente (VO, adulto)	Lee <i>et al.</i> , 1984
Laxativo	<i>P. boehmerifolium</i> Wall.	Filipinas	Folhas	Supositório (Retal, criança)	Velazco, 1980
		Índia	Raízes	Aquoso quente (VO, adulto)	Mahanta <i>et al.</i> , 1974
	<i>P. callosum</i> Opiz	Peru	Folhas	Folhas (VO, adulto)	Van den berg, 1984
	<i>P. sylvaticum</i> Roxb.	Índia	Raízes	Aquoso quente (VO, adulto)	Mahanta <i>et al.</i> , 1974
	<i>P. umbellatum</i> L.	Guiné	Folhas	Aquoso quente (VO, gestante)	Vasileva, 1969
Malária	<i>P. angustifolium</i> Lam.	Peru	Folhas	Infuso (VO, adulto)	Duke, 1994

(Continua)

Tabela 1 (Continuação)

	<i>P. guineense</i> Schum & Thonn.	Nigéria	Frutos	Não citado (adulto)	Etkin, 1997
	<i>P. hispidum</i> Hayata	Peru	Folhas	Decocto (VO, adulto)	Duke, 1994
	<i>P. longum</i> L.	Índia	Cascas (Raízes)	Pó (VO, adulto)	Anis & Iqbal, 1986
	<i>P. peltatum</i> L.	Brasil	Partes aéreas	Infuso	Milliken, 1997
			Não citada	Não citado (VO, adulto)	Milliken <i>et al.</i> , 1997
	<i>P. sarmentosum</i> Roxb.	Malásia	Folhas	Infuso (VO, adulto)	Rahman <i>et al.</i> , 1999
	<i>Piper</i> spp.	Brasil	Planta inteira	Decocto (VO, adulto)	Brandao <i>et al.</i> , 1992
	<i>P. umbellatum</i> L.	Guiné	Folhas	Aquoso/Nasal (adulto)	Akendengue, 1992
Metrorragia	<i>P. marginatum</i> Jacq.	Porto Rico	Folhas	Aquoso quente (VO, adulto)	Morton, 1977
		Argentina	Folhas	Aquoso quente (VO, adulto)	Manfred, 1974
	<i>P. pellucidum</i> L.	Tailândia	Caule	Decocto (VO, adulto)	Anderson, 1986
	<i>P. trichostachyon</i> Miq.	Ilhas	Folhas	Folhas (Vaginal, adulto)	Suggs, 1966
		Marquesas			
Miorrelaxante	<i>P. sarmentosum</i> Roxb.	Tailândia	Folhas	Uso externo (adulto)	Riditid <i>et al.</i> , 1998
Neoplasia	<i>P. latifolium</i> Lam.	Rarotonga	Folhas	Aquoso (VO, adulto)	Holdsworth, 1991
Odontalgia	<i>P. auritum</i> Kunt.	Guatemala	Folhas	Bochecho (VO, adulto)	Comerford, 1996
		Nicarágua	Folhas	Não citado (adulto)	Barrett, 1994
	<i>P. callosum</i> Opiz	Bolívia	Raízes	Raízes (VO, adulto)	Pring, 1982
	<i>P. canejoense</i> L.	Equador	Caule	Não citado (VO, adulto)	Davis & Yost, 1983
	<i>P. dumosum</i> Rudge	Peru	Folhas	Não citado	Duke, 1994
	<i>Piper</i> spp.	Brasil	Raízes	Não citado (VO, adulto)	Prance, 1972
		Filipinas	Caule	Não citado (adulto)	Madulid <i>et al.</i> , 1989
Otalgia	<i>P. nigrum</i> L.	Omã	Frutos	Não citado/Auricular	Ghazanfar & AL-Sabahi, 1993
Paralisia e dormência	<i>P. erythroxyloides</i> R.E. Schult. & Garcia-Barr.	Colômbia	Caule	Não citado (VO, adulto)	Schultes, 1975

(Continua)

Tabela 1 (Continuação)

	<i>P. nigrum</i> L.	Índia	Frutos	Aquoso quente (VO, adulto)	Deka <i>et al.</i> , 1983
	<i>P. peltatum</i> L.	Peru	Folhas	Infuso (VO, adulto)	Jovel <i>et al.</i> , 1996
Prevenção da cárie e Tártaro	<i>P. augustum</i> Rudge	Equador	Caule	Não citado (adulto)	Davis & Yost, 1983
	<i>P. erythroxyloides</i> R.E. Schult. & Garcia- Barr.	Colômbia	Caule	Não citado (VO, adulto)	Schultes, 1975
	<i>P. marginatum</i> Jacq.	Peru	Folhas	Não citado (VO, adulto)	Duke, 1994
		Brasil	Folhas	Mastigação (VO, adulto)	Lewis & Elvin-Lewis, 1984
	<i>P. hispidum</i> Hayata	Peru	Folhas	Mastigação (VO, adulto)	Lewis & Elvin-Lewis, 1984
	<i>P. tingens</i> Trel.	Peru	Planta inteira	Mastigação (VO, adulto)	Lewis & Elvin-Lewis, 1984
Pós-parto	<i>P. amalago</i> L.	México	Folhas+Raízes	Decocto (VO, adulto)	Zamora-Martinez & Pola, 1992; Jain & Tarafder, 1970
	<i>P. betle</i> L.	Malásia	Folhas	Aquoso quente (VO, adulto)	Loewsoponkul, 1982
	<i>P. longum</i> L.	Tailândia	Frutos	Não citado (VO)	Duke, 1994
	<i>P. obliquum</i> L.	Peru	Folhas	Não citado (VO, adulto)	Burkill, 1966
	<i>P. retrofractum</i> Vahl.	Malásia	Frutos	Aquoso quente (VO, adulto)	Cosminsky, 1982
	<i>Piper</i> spp.	México	Planta inteira	Aquoso quente (Banho)	Akendengue & Louis, 1994
	<i>P. umbellatum</i> L.	Gabon	Folhas	(VO, adulto)	
Queimadura	<i>P. auritum</i> Kunt.	Nicarágua	Folhas	Tópico (VO, adulto)	Coe & Anderson, 1996a,b
	<i>P. nigrum</i> L.	Nigéria	Sementes	Pasta (Tópico)	Ndukwu & Ben-Nwadibia, 2005
	<i>P. peltatum</i> L.	Nicarágua	Folhas	Decocto (VO, adulto)	Coe & Anderson, 1996a,b
Regulador do ciclo menstrual	<i>P. amalago</i> L.	México	Folhas + Caule	Aquoso quente (VO, adulto)	Asprey & Thornton, 1955
	<i>P. auritum</i> Kunt.	México	Folhas	Decocto (VO, adulto)	Browner, 1985
		Panamá	Folhas e Caule	(Não citado, adulto)	Gupta <i>et al.</i> , 1996
	<i>P. cubeba</i> L.f.	Índia	Frutos	Aquoso quente (VO, adulto)	Kamboj, 1988
	<i>P. fraguanum</i> Trel.	México	Folhas	Decocto (VO, adulto)	Zamora-Martinez & Pola, 1992
	<i>P. geniculatum</i> Sw.	México	Planta inteira	Aquoso quente (VO, adulto)	Dragendorff, 1898
	<i>P. hispidum</i> Hayata	Peru	Folhas	Infuso (VO, adulto)	Duke, 1994

(Continua)

Tabela 1 (Continuação)

	<i>P. longum</i> L.	Índia	Frutos	Aquoso quente (Não citado) Infuso (VO, adulto)	Saha <i>et al.</i> , 1961; Malhi, & Trivedi, 1972; Tatkon, 1976; Kholkute <i>et al.</i> , 1979; Flint, 1982; Kamboj, 1988
		Tailândia	Frutos	Não citado	Loewsoponkul, 1982
	<i>P. marginatum</i> Jacq.	Panamá	Sementes	Aquoso quente (VO)	Piyachaturawat <i>et al.</i> , 1979
	<i>P. nigrum</i> L.	Malásia	Folhas	Aquoso quente (VO, adulto)	Gupta <i>et al.</i> , 1979
		Índia	Frutos	Não citado (VO, adulto)	Gimlette, 1939
		Índia	Frutos	Não citado (adulto)	Atique <i>et al.</i> , 1985
		Tailândia	Frutos Sementes	Suco	Hemadri &
				Aquoso quente (VO, adulto)	Sasibhushanaroao, 1983;
					Piyachaturawat <i>et al.</i> , 1982
	<i>P. methysticum</i> G. Forst.	Havaí	Raízes	Não citado (VO, adulto)	Handy <i>et al.</i> , 1934
	<i>P. parthenium</i> Mart.	Brasil	Planta inteira, Não citada	Suco	Dragendorff, 1898;
				Aquoso quente (VO, adulto)	Moreno <i>et al.</i> , 1975
	<i>P. retrofractum</i> Vahl.	Coréia do Sul	Frutos	Aquoso quente (VO, adulto)	Woo <i>et al.</i> , 1981
	<i>P. umbellatum</i> L.	Costa do Marfim	Planta inteira	Aquoso quente (VO, adulto)	Bouquet & Debray, 1974
		Brasil	Folhas	Suco (VO, adulto)	Roig & Mesa, 1945
Repelente de insetos	<i>P. guineense</i> Schum & Thonn.	Gana	Planta inteira	Não citado	Dwuma-Badu <i>et al.</i> , 1975;
			Frutos		1976a; 1976b
	<i>P. peltatum</i> L.	Peru	Folhas	Não citado (Tópico, adulto)	Duke, 1994
Reumatismo e artrite	<i>P. arboreum</i> Aubl.	Peru	Folhas	Não citado (VO, adulto)	Machado <i>et al.</i> , 1994
	<i>P. auritum</i> Kunt.	Guatemala	Folhas	Não citado (VO, adulto)	Giron <i>et al.</i> , 1991
		Nicarágua	Folhas	Não citado (adulto)	Barrett, 1994
	<i>P. cubeba</i> L.f.	Índia	Folhas	Cataplasma (Tópico)	Pushpangadan & Atal, 1984
	<i>P. dilatatum</i> Rich.	México	Córtex	Infuso (VO, adulto)	Zamora-Martinez & Pola, 1992

(Continua)

Tabela 1 (Continuação)

	<i>P. futokadsura</i> Siebold	Taiwan	Caule	Aquoso quente (VO, adulto)	Chang <i>et al.</i> , 1985
	<i>P. guineense</i> Schum & Thonn	Gana	Planta inteira, Frutos, Raízes + Sementes	Não citado	Dwuma-Badu <i>et al.</i> , 1975; 1976a; 1976b
		Nigéria	Planta inteira	Infuso (VO, adulto)	Udoh <i>et al.</i> , 1996
		África	Frutos	Aquoso quente (VO, adulto)	Woode, 1985
		Nigéria	Raízes	Não citado (VO, adulto)	Gill & Akinwumi, 1986
	<i>P. guineense</i> Schum & Thonn.	Nigéria	Frutos	Infuso (VO)	Ndukwu & Ben-Nwadibia, 2005
	<i>P. hancei</i> Maxim.	China	Planta inteira	Aquoso quente (VO, adulto)	Han <i>et al.</i> , 1983
	<i>P. longum</i> L.	Índia	Raízes	Aquoso quente (VO, adulto)	Deka <i>et al.</i> , 1983
	<i>P. marginatum</i> Jacq.	México	Folhas	Cataplasma (Tópico)	Zamora-Martinez & Pola, 1992
	<i>P. mullesua</i> Buch.-Ham.	Índia	Folhas + Sementes	(VO, adulto)	Jamir, 1990
	<i>P. médium</i> Jacq.	México	Planta inteira	(Externo, adulto)	Zamora-Martinez & Pola, 1992
	<i>P. puberulum</i> Benth.	China	Folhas + Caule	Decocto (VO, adulto)	Wu <i>et al.</i> , 1997 Zhang <i>et al.</i> , 1995
Surdez	<i>P. nigrum</i> L.	Omã	Frutos	Não citado (adulto)	Ghazanfar & AL-Sabahi, 1993
Tônico fortificante	<i>P. aduncum</i> L.	Brasil	Não citada	Infuso (VO)	Souza & Felfili, 2006
	<i>P. amalago</i> L.	Índia	Não citada	Não citado	Mitchell <i>et al.</i> , 2006
	<i>P. longum</i> L.	Índia	Frutos, Sementes	Não citado	Rege <i>et al.</i> , 1999
				Aquoso quente (VO, adulto)	Shanmugasundaram & Radah Shanmugasundar, 1986
		Nepal	Frutos, Raízes	Aquoso quente (VO, adulto)	Singh <i>et al.</i> , 1979
	<i>P. insectifugum</i> C.DC.	Rotuma	Folhas	Infuso (VO, adulto)	Mc Clatchey, 1996

(Continua)

Tabela 1 (Continuação)

	<i>P. marginatum</i> Jacq.	Brasil	Folhas	Decocto (VO, adulto)	Ramos <i>et al.</i> , 1986
	<i>P. methysticum</i> G. Forst.	EUA	Raízes	Aquoso quente (VO, adulto)	Anon, 1931
	<i>P. nigrum</i> L.	Marrocos	Frutos	Não citado (VO, adulto)	Bellakhdar <i>et al.</i> , 1991
		Índia	Frutos	Não citado (VO, adulto)	Atique <i>et al.</i> , 1985
	<i>Piper</i> spp.	Pápuia	Folhas	Decocto (VO, adulto)	Holdsworth, 1974
Tétano	<i>P. longum</i> L.	Índia	Raízes	Aquoso quente (VO, adulto)	Deka <i>et al.</i> , 1983
Tosse	<i>P. amalago</i> L.	México	Cascas	Aquoso (VO, adulto)	Dominguez & Alcorn, 1985
	<i>P. amalago</i> var. <i>nigrinodum</i>	Índia	Não citada	Não citado	Mitchell <i>et al.</i> , 2006
	<i>P. attenuatum</i> Willd.	Índia	Frutos, Raízes + Caule	Frutos (VO)	Pushpangadan & Atal, 1984
	<i>P. auritum</i> Kunt.	México	Galhos, Folhas	Decocto Não citado (VO, adulto)	Giron <i>et al.</i> , 1991 Dimayuga <i>et al.</i> , 1998
	<i>P. betle</i> L.	Brunei	Folhas	Suco (VO, adulto)	Haji Mohiddin <i>et al.</i> , 1992
		Fiji	Folhas	Suco (VO, adulto)	Singh, 1986
	<i>P. cubeba</i> L.f.	Índia	Frutos	Infuso (VO)	Krishnaraju <i>et al.</i> , 2006
	<i>P. guineense</i> Schum & Thonn.	Gana	Planta inteira, Frutos	Não citado	Dwuma-Badu <i>et al.</i> , 1975; 1976a; 1976b
	<i>P. mullesua</i>	Nepal	Frutos	Frutos (VO)	Manandhar, 1995
		Nepal	Folhas	Suco (VO, adulto)	Dangol & Gurung, 1991
	<i>P. nigrum</i> L.	Marrocos	Frutos	Não citado (VO, adulto)	Bellakhdar <i>et al.</i> , 1991
		Índia	Frutos	Não citado (VO, adulto)	Atique <i>et al.</i> , 1985
	<i>P. retrofractum</i> Vahl.	Bangladesh	Frutos	Infuso (VO, adulto)	Connolly <i>et al.</i> , 1995
		Índia	Frutos	Aquoso quente (VO, adulto)	Arseculeratne <i>et al.</i> , 1985
	<i>Piper</i> spp.	Brasil	Folhas	Aquoso quente (VO, adulto)	Prance, 1972
	<i>P. trioicum</i> L.	Índia	Frutos, Raízes + Caule	Frutos (VO) Decocto (VO, adulto)	Pushpangadan & Atal, 1984
Tratamento da Hipotermia	<i>P. aduncum</i> L.	Nova Guiné	Folhas	Decocto (VO, adulto)	Okunade <i>et al.</i> , 1997
	<i>P. auritum</i> Kunt.	México	Galhos, Folhas	Não citado (VO, adulto)	Dimayuga <i>et al.</i> , 1998

(Continua)

Tabela 1 (Continuação)

	<i>P. carpunya</i> Ruiz & Pav.	Peru	Folhas + Caule	Aquoso quente (VO, adulto)	Ramirez <i>et al.</i> , 1988
	<i>P. cubeba</i> L.f.	Morocco	Frutos	Frutos (VO, adulto)	Bellakhdar <i>et al.</i> , 1991
		Panamá	Caule, Folhas	Não citado (VO, adulto)	Gupta <i>et al.</i> , 1996
		Fiji	Folhas	Suco (VO, adulto)	Singh, 1986
	<i>P. guineense</i> Schum & Thonn.	Gana	Planta inteira	Não citado	Dwuma-Badu <i>et al.</i> , 1975; 1976a
	<i>P. nigrum</i> L.	Marrocos	Frutos	Não citado (VO, adulto)	Bellakhdar <i>et al.</i> , 1991
	<i>P. retrofractum</i> Vahl.	Morocco	Frutos	Frutos (VO, adulto)	Bellakhdar <i>et al.</i> , 1991
		Bangladesh	Frutos	Infuso (VO, adulto)	Connolly <i>et al.</i> , 1995
		Índia	Frutos	Aquoso quente (VO, adulto)	Arseculeratne <i>et al.</i> , 1985
Trichomoníase	<i>P. angustifolium</i> Lam.	Panamá	Folhas	Aquoso quente (Vaginal)	Gupta <i>et al.</i> , 1979
Vertigem e desmaio	<i>P. amalago</i> L.	México	Brotos	Aquoso (VO, adulto)	Dominguez & Alcorn, 1985

Tabela 1a. Usos populares de espécies de *Piper* associadas a outras espécies de plantas.

Uso Popular	Espécies	Local de Uso	Parte da Planta	Extratos/Modo de Uso	Referências
Afrodisíaco	<i>P. nigrum</i> L.	Afeganistão EUA-TN	Frutos Frutos	Preparação líquida associada com ginseng, niacina e outros (VO, adulto)	Elisabetsky <i>et al.</i> , 1992 Czajka <i>et al.</i> , 1978
	<i>P. umbellatum</i> L.	Leste da África	Raízes	Aquoso quente ou associado com <i>Aframomum</i> (VO)	Kokwaro, 1976
Alcoolismo	<i>P. longum</i> L. <i>P. nigrum</i> L.	Índia	Sementes	Aquoso quente ou associado com <i>P. nigrum</i> , <i>Santalum album</i> , <i>P. santalinus</i> e outros (VO, adulto)	Shanmugasundaram & Radah, 1986 Shanmugasundar <i>et al.</i> , 1986
	<i>P. longum</i> L. <i>P. retrofractum</i> Vahl.	China	Planta inteira, Folhas	Pó associado com <i>P. pinnata</i> , <i>Citrullus colocynthis</i> , <i>P. retrofractum</i> , <i>P. zeylanica</i> , <i>Zingiber officinale</i> e <i>Z. outrose</i> (VO, adulto)	Lama & Santra, 1979
Anticoncepcional	<i>P. betle</i> L.	Índia	Planta inteira, Raízes	Aquoso ou associado com <i>Chaerophyllum silvestre</i> ou <i>P. nigrum</i> (VO, adulto)	Basu, 1939; Tewari <i>et al.</i> , 1970; Majumder <i>et al.</i> , 1978; Tiwari <i>et al.</i> , 1979a; 1979b
	<i>P. capense</i> L.f.	Venda	Cascas	Decocto associado com <i>Nudaurelia capensis</i> , <i>Maesa lanceolata</i> , <i>Albizia gummifera</i> (VO, adulto)	Arnold & Gulumian, 1984

(Continua)

Tabela 1a (Continuação)

	<i>P. longum</i> L.	Índia	Raízes, Frutos Sementes, Não citada	Aquoso quente ou associado com <i>Michelia champaca</i> , <i>Vallisneria spiralis</i> ; ou Pó com leite associado com <i>Embelia ribes</i> e Bórax (VO)	Guru & Tewari, 1966; Majumder <i>et al.</i> , 1978; Venkataraghavan & Sundaresan, 1981; Prakash, 1984;
Antihelmíntico	<i>P. longum</i> L.	China	Planta inteira	Decocto associado com <i>Cyperus rotundus</i> , <i>Embelia ribes</i> e <i>Berberis aristata</i> (VO)	Lama & Santra, 1979
Antitérmico	<i>P. methysticum</i> G. Forst.	Índia	Frutos	Associado com <i>Vitex negundo</i> (VO, adulto)	Bajpai <i>et al.</i> , 1995
Cólera	<i>P. nigrum</i> L.	Índia	Frutos	Aquoso associado com <i>Calotropis procera</i> e <i>Hordeum vulgare</i> (VO)	Sahu, 1984
Desordens gastrintestinais (cólica flatulência, náuseas, regurgitação e úlceras)	<i>P. longum</i> L.	China	Planta inteira, Frutos, Folhas	Decocto associado com <i>P. retrofractum</i> , <i>P. pinnata</i> , <i>P. zeylanica</i> , <i>Citrullus colocynthis</i> e <i>Zingiber</i> ou aquoso quente com frutos (VO, adulto)	Lama & Santra, 1979 Pei, 1983
	<i>P. retrofractum</i> Vahl.	China	Folhas	Pó associado com <i>P. pinnata</i> , <i>Citrullus colocynthis</i> , <i>P. retrofractum</i> , <i>Zingiber officinale</i> , <i>P. zeylanica</i> , e <i>Zebrasoma outrose</i> (VO)	Lama & Santra, 1979
Diarréia	<i>P. nigrum</i> L.	Índia	Frutos, Sementes	Aquoso ou pó associado com <i>Holarrhena antidysenterica</i> e <i>Zingiber officinale</i> (VO)	Deka <i>et al.</i> , 1983 Jain & Puri, 1984

(Continua)

Tabela 1a (Continuação)

Dispepsia e gastrite	<i>P. betle</i> L.		Folhas	Decocto ou suco associado com <i>Zingiber officinale</i> (VO)	Krishnaraju <i>et al.</i> , 2006 John, 1984
Distúrbios cardiovasculares e hipertensão	<i>P. longum</i> L.	China	Frutos	Aquoso quente <i>Santalum album</i> , <i>Asarum sieboldii</i> , <i>Coridalis. yanhusno</i> e <i>Alpinia officinarum</i> (VO, adulto)	Chen, 1981
		Índia	Frutos	Pó associado com <i>Terminalia arjuna</i> , <i>T. chebula</i> , <i>Ircinia racemosa</i> , <i>Sida cordofolia</i> , <i>Calliphylla retusa</i> , <i>Zingiber officinale</i> e <i>Kaempferia galanga</i>	Kumar & Prabhakar, 1987
Doenças cutâneas (abscesso, eczema, prurido, infecção/irritação, verruga)	<i>P. betle</i> L.	Nova Guiné	Folhas	Associado com enxofre, cânfora e alho ou látex (Tópico)	Reddy <i>et al.</i> , 1989; Holdsworth, 1993
Doenças do aparelho reprodutor feminino	<i>P. methysticum</i> G. Forst.	Tonga	Flores+Raízes	Infuso com <i>Gyrocarpus americanus</i> (VO, adulto)	Singh <i>et al.</i> , 1984
	<i>P. capense</i> L.f.	África do Sul	Cascas	Pó associado com geléia (Vaginal, adulto)	Arnold & Gulumian, 1984
Doenças oculares (infecções e vasodilatação)	<i>P. longum</i> L.	China	Folhas	Não citado – associado com <i>Terminalia chebula</i> (VO)	Reddy <i>et al.</i> , 1988
Distúrbios pulmonares (asma, bronquite, dispnéia, pneumonia)	<i>P. longum</i> L.	Índia	Frutos, Folhas, Raízes + Caule Sementes	Lambedor (associado com <i>Adhatoda. vasica</i> e <i>Zingiber officinale</i>), Aquoso quente, frutos frescos (VO, adulto); Não citado (VO)	Nayampalli & Satoskar, 1980; Deka <i>et al.</i> , 1983; Shanmugasundaram & Radah, 1986; Shanmugasundar <i>et al.</i> , 1986; Reddy <i>et al.</i> , 1989;

(Continua)

Tabela 1a (Continuação)

Doenças venéreas (sífilis, gonorréia)	<i>P. nigrum</i> L.	Índia	Frutos, Sementes	Não citado – puro ou com Crisântemo ou com <i>Hemidesmus indicus</i> (VO, adulto)	Das <i>et al.</i> , 1996; Singh <i>et al.</i> , 1996b Sahu, 1984; Atique <i>et al.</i> , 1985; Diddiqui & Husain, 1993; Bajpai <i>et al.</i> , 1995
Epigastralgia	<i>P. nigrum</i> L.	Índia	Sementes	Associado com <i>Zingiber officinale</i> (VO, adulto)	Jain & Puri, 1984
Estimulante da circulação sangüínea	<i>P. longum</i> L.	China	Frutos	Aquoso quente <i>Santalum album</i> , <i>Asarum sieboldii</i> , <i>Coridalis yanhusno</i> e <i>Alpinia officinarum</i> (VO, adulto)	Chen, 1981
Estimulante e alucinógeno	<i>P. betle</i> L.	Índia	Folhas	Associado com <i>Acacia catechu</i> e <i>Nicotiana tabaccum</i> (VO)	Quisumbing, 1951
Febre tifóide	<i>P. longum</i> L.	Índia	Folhas	Pílulas associadas com alho + <i>Lagerstroemia indica</i> (VO)	Reddy <i>et al.</i> , 1989
Gripe	<i>P. nigrum</i> L.	Fiji	Sementes	Aquoso associado com <i>Zingiber officinale</i> + <i>Elettaria cardamomum</i> (VO, adulto)	Singh, 1986
		Índia	Frutos	Decocto associado com <i>Ocimum sanctum</i> + <i>Adhatoda vasica</i> (VO, adulto)	John, 1984
Laxativo	<i>P. umbellatum</i> L.	México	Folhas frescas	Decocto associado com óleo de amêndoa, cinzas e toucinho	Browner, 1985
Lombalgia	<i>P. nigrum</i> L.	Fiji	Sementes	Ungüento com <i>Allium sativum</i> e <i>Capsicum annuum</i> (Tópico)	Singh, 1986

(Continua)

Tabela 1a (Continuação)

Malária	<i>P. nigrum</i> L.	Índia	Frutos Sementes	Não citado; Pílulas associadas com <i>C. procera</i> ou com <i>Eucladium verticillatum</i> (VO)	Atique <i>et al.</i> , 1985 Anis & Iqbal, 1986
Odontalgia	<i>P. nigrum</i> L.	Índia	Frutos	Emplastro + gengibre (Dente dolorido, adulto)	John, 1984
Perda da libido	<i>P. nigrum</i> L.	Índia	Frutos	Associada com <i>Homalanthus crinitus</i> (VO, adulto)	Dixit & Pandey, 1984
Reumatismo e artrite	<i>P. nigrum</i> L.	Índia	Sementes	Pílulas associadas com <i>Zingiber officinale</i> , <i>Prunus amygdalus</i> e <i>Vera aloe</i> (VO)	Jain & Puri, 1984
Sarna	<i>P. betle</i> L.	Índia	Folhas	Associadas com enxofre, cânfora e alho (Tópico)	Reddy <i>et al.</i> , 1989
Tosse	<i>P. longum</i> L.	Índia	Frutos	Associados com mel ou com <i>Curcuma zedoaria</i> + <i>Cinnamomum zeylanicum</i> ou aquoso quente (VO, adulto)	Bajpai <i>et al.</i> , 1995; Singh & Maheshwari, 1994; Deka <i>et al.</i> , 1983
	<i>P. nigrum</i> L.	Fiji	Sementes	Aquoso associado com <i>Zingiber officinale</i> + <i>Elettaria cardamomum</i> (VO, adulto)	Singh, 1986
Tratamento da hipotermia	<i>P. longum</i> L.	Índia	Frutos	Associados com <i>C. zeylanicum</i> + <i>Z. zedoaria</i> ou com mel	Bajpai <i>et al.</i> , 1995; Singh & Maheshwari, 1994
		China	Frutos	Aquoso quente associado com <i>Asarum sieboldii</i> , + <i>Alpinia officinarum</i> , + <i>Corydalis lutea</i> + <i>Santalum album</i> (VO)	Chen, 1981
	<i>P. nigrum</i> L.	Índia	Frutos	Decocto com gengibre + café	John, 1984

Tabela 2. Atividades biológicas relatadas em espécies do gênero *Piper* e comprovadas em modelos experimentais.

Atividade Biológica/Concentração ou Dose	Espécies	Local de Coleta	Parte da Planta	Extratos	Referências		
Abortiva							
- 100 mg/Kg (IG, Ratos)	<i>P. longum</i> L.	Índia	Raízes	Não citado	Garg, 1981		
- Dose não citada (IP, Ratos)			Frutos		Kamboj, 1988		
- 122,5 mg/Kg (VO, Ratos)	<i>P. peepuloides</i> Roxb.	Não citado	Não citada	EtOH (95%)	Atal <i>et al.</i> , 1980		
- Dose não citada (VO, Adulto humano)					Índia	Folhas	Das <i>et al.</i> , 1966
- Dose não citada (IP, Ratos)							Kamboj, 1988
Afrodisíaco							
- 122,5 mg/Kg (Ratos)	<i>P. guineense</i> Schumach. & Thonn.	EUA	Frutos	Aquoso	Kamtchouing <i>et al.</i> , 2002		
Alergênico							
- Dose não citada (Adulto humano)	<i>P. methysticum</i> G. Forst.	Alemanha	Raízes		Suss & Lehmann, 1996		
Alterações cromossômicas							
- 9,4 mg/Kg (Ratos, Medula óssea)	<i>P. betle</i> L.	Índia			Sen <i>et al.</i> , 1991		
Analgésica e antitérmica							
- 1 mg/Kg (IG, Camundongo)	<i>P. abutiloides</i> Kunth, <i>P. cincinnatoris</i> Yuncker, <i>P. gaudichaudianum</i> Kunth, <i>P. lindbergii</i> C. DC.	Brasil	Folhas	EtOH (95%)	Costa <i>et al.</i> , 1989		
- 125 mg/Kg (IP, Ratos)						Brasil	Folhas
- 3 mg/Kg (IG, Ratos)	<i>P. lindbergii</i> C. DC.	Índia	Caule	Pó	Shukia <i>et al.</i> , 1987		
- 0,5 mg/Kg (IG, Ratos)	<i>P. longum</i> L.	Costa Rica	Folhas	Aquoso	D'Angelo <i>et al.</i> , 1997		
- 250 mg/Kg (Ratos)	<i>P. marginatum</i> Jacq.	Não citado	Não citada		Jamieson & Duffield, 1990		
- 150 e 200 mg/Kg (Ratos)	<i>P. methysticum</i> G. Forst.					Não citado	Jamieson & Duffield, 1990

(*Continua*)

Tabela 2 (Continuação)

- 150 mg/Kg (Ratos)				MeOH	Jamieson <i>et al.</i> , 1989
- 250 mg/Kg (Ratos)				Aquoso	Jamieson <i>et al.</i> , 1989
- 150 e 200 mg/Kg (Ratos)			Raízes	Resina	Jamieson & Duffield, 1990
- 250 mg/Kg (Ratos)				Aquoso	Jamieson & Duffield, 1990
- 2 mg/Kg (IG, Ratos)	<i>P. nigrum</i> L.	China		EtOH	Hu & Tan, 1996
- 1 mg/Kg (IG, Ratos)	<i>P. pseudopothifolium</i> C. DC	Brasil	Folhas	EtOH (95%)	Costa <i>et al.</i> , 1989
- 5 mg/Kg (IP, Ratos)	<i>P. umbellatum</i> L.	Congo		Aquoso	Bioka & Abena, 1990
Anestésica					
- Dose não citada (Coelho, oftálmico)	<i>P. methysticum</i> G. Forst.	Índia		Suco	Krishnakumar <i>et al.</i> , 2001
- 0,1 mL/animal (Cobaia, oftálmico)					Krishnakumar <i>et al.</i> , 2001
- Dose não citada (Rã, tópico)			Tubérculo	Não citado	Kaushik <i>et al.</i> , 2003
Ansiolítica					
- Doses variadas (VO, Adulto humano)		Não citada	Fibras	EtOH-H ₂ O (1:1)	Pittler & Ernst, 2000
- 60 mg/dia (VO, Adulto humano)			Raízes		Bhate <i>et al.</i> , 1989
- 400 mg/dia (VO, Adulto humano)					Boerner <i>et al.</i> , 2003
- 210 mg/dia (VO, Adulto humano)					Pepping, 1999
- 100 mg/dia (VO, Adulto humano)				Não citado	De Le <i>et al.</i> , 2001
- 300 mg/dia (VO, Adulto humano)					Feltenstein <i>et al.</i> , 2003
					Habs & Honold, 1994
					Heiligenstein & Guenther, 1998
- Dose não citada (VO, Adulto humano)					Pittler & Ernst, 2000
- 100 mg/pessoa (VO, Adulto humano)					Lehmann <i>et al.</i> , 1996
					De Leo <i>et al.</i> , 2000
					Cagnacci <i>et al.</i> , 2003
- Dose não citada (VO, Adulto humano)		Samoa			Cawte, 1985
- 100 mg/pessoa (VO, Adulto humano)		Havaí			Kinzler <i>et al.</i> , 1991
- 60 mg/dia (VO, Adulto humano)				Éter	Bhate & Gerster, 1992

(Continua)

Tabela 2 (Continuação)

- 280 mg/dia (VO, Adulto humano)	<i>P. methysticum</i> G. Forst			EtOH	Connor <i>et al.</i> , 2001
- 30 mg/dia (Pinto)					Smith <i>et al.</i> , 2001
- 135 mg/dia (VO, Adulto humano)					Boerner, 2001
- Doses variadas (VO, Adulto humano)		Não citada		Acetona	Pittler & Ernst, 2000
- 200 mg/dia (VO, Adulto humano)					Witte <i>et al.</i> , 2005
- Dose não citada (VO, Adulto humano)					Lehrl, 2004
- 300 mg/dia (VO, Adulto humano)		Fiji	Raízes	Aquoso	Cawte, 1985
- Doses variadas (VO, Adulto humano)		Alemanha	Espiga	EtOH	Volz & Kieser, 1997
- 5 mL/Kg (IP, Ratos)	<i>P. umbellatum</i> L.	EUA		Aquoso	Shulgin, 1973
		Congo	Folhas	Aquoso	Bioka & Abena, 1990
Antialcólica					
- 5 mL/animal (IG, Ratos)	<i>P. longum</i> L., <i>P. nigrum</i> L.	Índia	Sementes	Fermentado	Shanmugasundaram <i>et al.</i> , 1986
Antialergênica					
- 200 mg/Kg (Ratos)	<i>P. cubeba</i> L. f. <i>P. longum</i> L.	Coréia do Sul	Frutos	MeOH (80%)	Choi & Hwang, 2003
- 100 mg/Kg (IG, Ratos)		Índia			Aquoso
- 100 mg/Kg (Ratos), 150 mg/Kg (IG, Cobaia)				Não citado	Dahanukar & Karandikar, 1984
- Dose não citada (Ratos)			Não citada		Nayampalli <i>et al.</i> , 1981
Antianginoso					
- Não citada (Adulto humano)		China	Não citada	Óleo essencial	Guo <i>et al.</i> , 1983
- Doses variadas (Adulto humano)			Frutos	Aquoso quente	Chen, 1981
Antiasmático					
- Não citada (VO, Adulto humano)		Índia	Planta inteira	Não citado	Upadhay <i>et al.</i> , 1982
- 150 a 750 mg/dia/idade (Crianças)				Pó	Dahanukar <i>et al.</i> , 1984
- 100 mg/dia (VO, Criança)			Frutos	Aquoso	Nayampalli & Satoska, 1980

(Continua)

Tabela 2 (Continuação)

Antibacteriana						
- <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Mycobacterium smegmatis</i> , <i>S. aureus</i> - 20 mg/mL (Placa, Agar = Pc Agar)	<i>P. adumcum</i> L.	Brasil	Não citada	Óleo essencial	Lemos <i>et al.</i> , 1990	
- Várias bactérias – 100 µL/poço (Pc, Agar)		Honduras	Folhas, Flores, Caule	EtOH (80%)	Lentz <i>et al.</i> , 1998	
- <i>B. subtilis</i> , <i>E.coli</i> , <i>Micrococcus luteus</i> , <i>Penicillium oxalicum</i> - Conc. não citada	<i>P. adumcum</i> L.	Papua-Nova Guiné EUA	Folhas	CH ₂ Cl ₂ , Éter de petróleo Hexano	Orjala <i>et al.</i> , 1993a,b,c,d Orjala <i>et al.</i> , 1994 Okunade <i>et al.</i> , 1997	
- <i>S. aureus</i> - 100 µg/mL (Placa, Agar)		Marrocos	Planta inteira	Aquoso	Larhsini <i>et al.</i> , 1999	
- <i>S. aureus</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Shigella flexneri</i> – Conc. não citada						
- <i>E. coli</i> , <i>K. aeruginosa</i> , <i>Proteus vulgaris</i> , <i>P. aeruginosa</i> - 3000 ppm (Placa, Agar)	<i>P. attenuatum</i> Willd.	Índia	Folhas		Samy <i>et al.</i> , 1998	
- <i>Neisseria gonorrhoea</i> – 50 µL/disco (Placa Agar)	<i>P. auritum</i> Kunt	Guatemala	Folhas	MeOH-H ₂ O (1:1)	Caceres <i>et al.</i> , 1995	
- <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>Sarcina lutea</i> , <i>Salmonella newport</i> <i>S. aureus</i> , – Conc. não citada (Placa, Agar)		Cuba	Folhas	Acetona	Misas <i>et al.</i> , 1979	
- <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. flexneri</i> , <i>Serratia marcescens</i> - Conc. não citada (Pc, Agar)			Folhas, Caule	Aquoso	Misas <i>et al.</i> , 1979	
- <i>S. newport</i> , <i>S. typhi</i> , <i>S. lutea</i> – Conc. não citada (Placa, Agar)			Caule	Aquoso	Misas <i>et al.</i> , 1979	
- <i>S. flexneri</i> , <i>S. aureus</i> - Conc. não citada (P - Bactéria – Conc. não citada (Placa,Agar)	<i>P. betle</i> L.	Taiwan	Caule Folhas	Acetona EtOH (95%)	Misas <i>et al.</i> , 1979 Ju & Chou, 1983	
- Espécies de <i>Erwinia</i> – Conc. não citada		Tailândia		Éter e Aquoso	Silpasuwon, 1979	
- <i>A. aerogenes</i> , <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>P. vulgaris</i> , <i>S. enteritidis</i> , <i>S. flexneri</i> , <i>S. marcescens</i> – Conc. não citada (Agar)				Aquoso, Éter, Éter de petróleo	Silpasuwon, 1979	

(Continua)

Tabela 2 (Continuação)

- <i>S. aureus</i> - 20 mL/disco (Placa, Agar)		Filipinas		Óleo essencial	Ontengco <i>et al.</i> , 1995
- <i>S. typhi</i> H e <i>Vibrião colera ogawa</i> : Conc. não citada (Placa, Agar)		Índia	Folhas+Caule	AcOEt, Benzeno	Shitut <i>et al.</i> , 1999
- <i>Mycobacterium tuberculose</i> - CIM 15 mg/mL (Placa, Agar)	<i>P. betle</i> L.		Não citada	Óleo essencial	Gupta & Viswana, 1955 Gupta & Viswana, 1956
- Espécies de <i>Alternaria</i> , <i>Klebsiella aerogenes</i> , <i>Shigella dysenteriae</i> , <i>S. typhi</i> - Conc. não citada (Placa, Agar)				Hexano	Shitut <i>et al.</i> , 1999
- <i>S. aureus</i> , <i>S. dysenteriae</i> , <i>S. typhi</i> , <i>K. aerogenes</i> - Conc. não citada				EtOH (95%)	Shitut <i>et al.</i> , 1999
- <i>E. coli</i> - Conc. (Placa, Agar)				Hexano Benzeno	Shitut <i>et al.</i> , 1999
- <i>E. coli</i> e <i>V. colera ogawa</i> : Conc. não citada (Placa, Agar)				EtOH (95%) AcOEt	Shitut <i>et al.</i> , 1999
- <i>Diplococcus pneumoneae</i> – Conc. não citada. (Placa, Agar)				AcOEt, Hexano	Shitut <i>et al.</i> , 1999
- <i>K. aerogenes</i> – Conc. não citada				Benzeno	Shitut <i>et al.</i> , 1999
- <i>S. aureus</i> - 5 mg/disco (Agar)			Raízes	Óleo essencial	Garg & Jain, 1992
- <i>S. aureus</i> , <i>S. pneumoneae</i> - 15,5 µmol	<i>P. caninum</i> Blume	Austrália	Cascas	Não citado	Setzer <i>et al.</i> , 1999
- <i>Bacillus cereus</i> , <i>S. aureus</i> ,		Austrália	Cascas	CHCl ₃	Setzer <i>et al.</i> , 1999
- <i>Streptococcus pneumoneae</i> - 39 µg/mL (Placa, Agar)					
- <i>S. aureus</i> – Conc. não citada	<i>P. cernuum</i> Opiz	Brasil	Folhas	Óleo essencial	Constantin <i>et al.</i> , 2001
- <i>Bacillus pumilus</i> , <i>Corynebacterium diphtheriae</i> , <i>E. coli</i> , <i>P. albus</i> , <i>P. faecalis</i> , <i>Pseudomonas solacearum</i> , <i>S. aureus</i> , <i>Salmonella typhosa</i> , <i>Streptococcus pyogenes</i> , <i>S. dysenteriae</i> , <i>S. lutea</i> , <i>V. colera</i> – Conc. não citada	<i>P. cubeba</i> L. f.	Índia	Não citada		Kar & Jain, 1978

(Continua)

Tabela 2 (Continuação)

- <i>B. subtilis</i> – Conc. não citada Placa, Agar)	<i>P. cubeba</i> L.f.	Não citado	Frutos		Opdyke, 1976 Janssen <i>et al.</i> , 1986 Opdyke, 1976 Janssen <i>et al.</i> , 1986
- <i>Bacillus brevis</i> - Conc. não citada					
- <i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i> - Conc. não citada (Placa, Agar)					
- <i>E. coli</i> – 500 µg/disco (Placa, Agar)	<i>P. longum</i> L.	Coréia do Sul		EtOH (90 %)	Woo <i>et al.</i> , 1979
- <i>S. aureus</i> , <i>Mycobacterium smegmatis</i> , <i>B. subtilis</i> - Conc. não citada (Placa, Agar)	<i>P. marginatum</i> Jacq.	Brasil	Não citada	Não citado	Chiappeta <i>et al.</i> , 1983
- <i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37RVTMC 102 - Conc. não citada (Meio de cultivo)	<i>P. methysticum</i> G. Forst.	Não citado		EtOH (95 %)	Grange & Davey, 1990
- <i>S. aureus</i> , <i>P. mirabilis</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i> , <i>S. flexneri</i> - Conc. não citada (Placa, Agar)	<i>P. nigrum</i> L.	Morocco	Planta inteira	Aquoso	Larhsini <i>et al.</i> , 1999
- <i>Yersinia enterocolitica</i> - 4,6 % (Meio de cultivo)		Brasil	Frutos	Pó	Bara & Vanetti, 1995
- <i>S. aureus</i> – 10 mg/L; <i>Lactobacillus plantarum</i> - 2 mg/L (Cult. de células)		Não citado			Nes <i>et al.</i> , 1984
- <i>S. aureus</i> - 50 µL/placa (Placa, Agar)		Argentina		EtOH (95 %)	Perez & Anesini, 1994
- <i>S. aureus</i> – Conc. não citada		Não citado		Óleo essencial	Janssen <i>et al.</i> , 1986
- <i>S. aureus</i> - 20 mL/disco (Placa, Agar)		Filipinas	Folhas		Ontengco <i>et al.</i> , 1995
- <i>S. aureus</i> - Conc. não citada (Placa, Agar)	<i>P. peltatum</i> L.	Peru	Partes aéreas	Decocto	Mongelli <i>et al.</i> , 1995
- <i>S. aureus</i> – Conc. não citada (Placa, Agar)	<i>P. regnellii</i> Miq.	Brasil	Folhas	Óleo essencial	Constantin <i>et al.</i> , 2001
- <i>Enterobacter aerogenes</i> , <i>Salmonella enteritidis</i> , <i>S. flexneri</i> , <i>E. coli</i> - Conc. não citada (Placa, Agar)	<i>P. rostratum</i> Roxb.	Tailândia	Folhas	Éter, Éter de petróleo	Silpasuwon, 1979
- <i>S. typhi</i> - 8 mg/mL; <i>P. aeruginosa</i> - 4 mg/mL <i>S. aureus</i> – 2 mg/mL (Placa, Agar)	<i>P. sylvestre</i> Lam.	Mauritius	Partes aéreas	MeOH	Jelager <i>et al.</i> , 1998
- Diversas bactérias (100 µL/poço)		Honduras	Folhas, Flores, Caule	EtOH (80%)	Lentz <i>et al.</i> , 1998

(Continua)

Tabela 2 (Continuação)

Anticarcinogênica					
- Carcinoma esofágico - Dose não citada (Mulheres, uso diário/12 anos)	<i>P. betle</i> L.	Paquistão	Sementes	Não citado	Sheikh <i>et al.</i> , 1992
- Dose não citada (Ratos)		Índia	Folhas		Sarkar <i>et al.</i> , 1990
- Dose variada. (VO, Adulto humano)					Stich <i>et al.</i> , 1982
- 2,5 mg/dia (Ratos)				Éter	Azuine & Bhide, 1992
- 1 mg/dia (Ratos)					Azuine <i>et al.</i> , 1991
- 2,5 mg/dia (Camundongo)					Bhide <i>et al.</i> , 1991
- Carcinoma transbucal - Dose não citada				Pó	Khrime <i>et al.</i> , 1991
- Tumor de mama - 100 mg/6 vezes/dia (IG)				Aquoso	Rao <i>et al.</i> , 1985
- 2,5 mg/dia (Ratos)	<i>P. betle</i> L.	Não citado			Bhide <i>et al.</i> , 1994
- 2,5 mg/dia (Hamster)					Azuine & Bhide, 1992
- Carcinoma esofágico - 1 mg/dia e 2,5 mg/dia (IG, Ratos)				EtOH (95%)	Padma <i>et al.</i> , 1989
- 200 µg/mL (Cultura de células)		Tailândia		MeOH	Murakami <i>et al.</i> , 1997
- 50 mg/animal (IG, Ratos)	<i>P. longum</i> L.	Índia	Frutos	Aquoso	Unnikrishnan & Kutun, 1990
- Dose não citada (VO, Adulto humano)	<i>P. methysticum</i> G. Forst.	Não citado	Raízes		Steiner, 2000
- CA-Ehrlich-Ascites – 50 mg/animal (IG)	<i>P. nigrum</i> L.	Índia	Frutos		Unnikrishnan & Kutun, 1990
- Sarcoma 180 (ASC) - 100 mg/Kg (Ratos)		Japão			Itokawa, 1988
- Células C3H/10T1/2 - 50 µg/mL (Cult. de células)				AcOEt, Hexano, MeOH	Okuyama <i>et al.</i> , 1995
- Células Raji - 200 µg/mL e 200 mg/mL	<i>P. nigrum</i> L.	Tailândia		MeOH	Murakami <i>et al.</i> , 1997
- 6,65 mg/animal (IG, Ratos)			Sementes	Aquoso quente	Jongsuwat, 1981
- CA Lewis Lung - Conc. não citada (Cult. de células)	<i>P. novaehollandiae</i> L.	Austrália	Caule	EtOH (95%)	Loder <i>et al.</i> , 1969
- 6,65 mg/animal (IG, Ratos)	<i>P. retrofractum</i> Vahl.	Tailândia	Frutos	Aquoso quente	Jongsuwat, 1981
- Células Raji - 200 µg/mL (Cult. de células)	<i>P. sarmentosum</i> Roxb.		Folhas	MeOH	Murakami <i>et al.</i> , 1995; 1997
Anticonvulsivante					
- Dose não citada (IP, Ratos)	<i>P. guineense</i> Schum & Thonr	Nigéria	Frutos	Aquoso	Abila <i>et al.</i> , 1993

(Continua)

Tabela 2 (Continuação)

- ED ₅₀ 263,4 e 3,2 mg/Kg (IP, Ratos); ED ₅₀ 2,2 e 44,3 mg/Kg (IG, Ratos); 0,5 mg/Kg (IP, Ratos)	<i>P. longum</i> L.	China		EtOH (95%)	Pei, 1983
- 3 e 10 mg/Kg (IG, Ratos)		Índia	Caule	Pó	Shukia <i>et al.</i> , 1987
- 300 mg/pessoa (VO, Adulto humano)		Não citado	Raízes	CHCl ₃	Nickl & Keck, 1963
- ED ₅₀ 140 mg/Kg (Ratos)		Fiji	Raízes	CHCl ₃	Klohs <i>et al.</i> , 1959
- ED ₅₀ 1,7 mg/Kg (Ratos)				Pó	Klohs <i>et al.</i> , 1959
- 2 mg/Kg (IG, Ratos)	<i>P. nigrum</i> L.	China		EtOH	Hu <i>et al.</i> , 1996
Antiedema					
- 2 mg (Camundongo, Via auricular)		Japão	Frutos Sementes	MeOH	Yasukawa <i>et al.</i> , 1993
Antiepiléptico					
- 6 mg/pessoa (VO, Adulto humano)		EUA	Raízes	Não citado	Pfeifer <i>et al.</i> , 1967
- Cortex cerebral - Dose não citada (Ratos)		China	Frutos	EtOH-H ₂ O (1:1) Aquoso	Hu & Davies, 1997
Antiespasmódica					
- 33,0 mL/L (Cobaia, íleo)	<i>P. aduncum</i> L.	Jamaica	Folhas Caule	Aquoso EtOH (95%)	Feng <i>et al.</i> , 1962
- 12,5 mg/L (Coelho e Ratos, intestino)	<i>P. betle</i> L.	Taiwan	Folhas	Óleo essencial	Ali & Mehta, 1970
- Dose não citada (Cobaia, íleo)	<i>P. longum</i> L.	Índia	Planta inteira	EtOH-H ₂ O (1:1)	Dhar <i>et al.</i> , 1968
- Doses variadas (Coelho, íleo)	<i>P. nigrum</i> L.		Frutos	EtOH (95%)	Annamalai & Manavalan, 1990
- 200 µg/mL (Cobaia, íleo)		Japão		EtOH (95%), Aquoso	Itokawa <i>et al.</i> , 1983
- Dose não citada (Ratos, jejuno)	<i>P. regnellii</i> Miq.	Brasil	Folhas	EtOH-H ₂ O (1:1)	Pereira <i>et al.</i> , 2004
- Dose não citada (Ratos, íleo)	<i>P. sarmentosum</i> Roxb.	Tailândia		Não citado	Apisariyakul, 1984 Apisariyakul & Anantasarn, 1984

(Continua)

Tabela 2 (Continuação)

Antiespermatogênico - 1500 mg/Kg (IG, Ratos)	<i>P. betle</i> L.	Índia	Caule	EtOH (95%)	Chatterjee <i>et al.</i> , 1994
Antifadiga - Dose não citada (VO, Adulto humano)	<i>P. methysticum</i> G. Forst.	Não citado Samoa Fiji	Folhas Raízes	Não citado Não citado Aquoso	Cawte, 1985 Cawte, 1985 Cawte, 1985
Antiestrogênico - Dose não citada (Coelho)	<i>P. longum</i> L.	Índia	Frutos	Não citado	Chakravarti 1961
Antifertilizante - 0,28 g/pessoa (VO, Adulto humano)	<i>P. betle</i> L.	Índia	Folhas	Aquoso quente	Das, 1966
- 500 mg/Kg (IG, Camundongo)	<i>P. betle</i> L.		Folhas+Caule	EtOH (95%)	Sarkar <i>et al.</i> , 2000
- 30 mg/Kg (SC, Ratos)			Pecíolos		Adhikary <i>et al.</i> , 1989
- 1500 mg/Kg (IG, Ratos)			Caule		Chatterjee <i>et al.</i> , 1994
- 50 mg/animal (VO, Ratos)	<i>P. longum</i> L.		Frutos	Benzeno	Kholkute <i>et al.</i> , 1979
- 20 e 40 mg/animal (VO, Ratos)				CHCl ₃	Kholkute <i>et al.</i> , 1979
- 0,28 mg/pessoa (Adulto humano)				Aquoso quente	Das, 1976
- Dose não citada (IG, Ratos)					Prakash, 1984
- Dose não citada (VO, Ratos)				EtOH-H ₂ O	Das <i>et al.</i> , 1987
- 250 mg/animal (Ratos)			Não citada	Não citado	Guru & Tewari, 1966
- Dose não citada (VO, Ratos)				Anon, 1978	
Antifúngica - <i>Aspergillus flavus</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Sarccharomyces cerevisiae</i> , <i>Trichophyton mentagrophytes</i> - 20 mg/mL	<i>P. adumcum</i> L.	Brasil	Não citada	Óleo essencial	Lemos <i>et al.</i> , 1990
- <i>Cladosporium cucumerinum</i> (Placa, Agar)				Fração cromatográfica	Evans <i>et al.</i> , 1984

(Continua)

Tabela 2 (Continuação)

- <i>Trichophyton mentagrophytes</i> – CIM 10 µg/mL	<i>P. angustifolium</i> Lam.	Peru	Partes aéreas	Óleo essencial	Trillini <i>et al.</i> , 1996
- <i>Aspergillus auricomus</i> , <i>A. candidus</i> , <i>A. fischeri</i> , <i>A. flavus</i> , <i>A. nidulans</i> , <i>A. niger</i> , <i>A. sydowi</i> , <i>A. terricola</i> , <i>A. terreus</i> , <i>A. versicolor</i> e <i>A. ustus</i> - ED50 < 10,0 ppm (Placa, Agar)	<i>P. betle</i> L.	Tailândia	Folhas	Não citado	To-A-Nun <i>et al.</i> , 1985
- <i>A. flavus</i> , <i>A. candidus</i> , <i>A. fumigatus</i> , <i>A. niger</i> , <i>A. ochraceus</i> e <i>A. serratus</i> , <i>Arthroderma benhameae</i> , <i>Ctenomyces serratus</i> , <i>Microsporium gypseum</i> e <i>Trichophyton mentagrophytes</i> – 5 mg/disco (Placa, Agar)			Raízes	Óleo essencial	Garg & Jain, 1992
- <i>Aspergillus oryzae</i> e <i>Drechslera oryzea</i> - Conc. não citada (Placa, Agar)	<i>P. cernuum</i> Opiz	Brasil	Folhas+Caule	EtOH (95%) AcOEt	Shitut <i>et al.</i> , 1999
- <i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>A. luchuensis</i> e <i>A. ochraceus</i> , <i>Trichothecium roseum</i> , espécies de <i>Alternaria</i> e <i>Nigrospora</i> ; <i>Penicillium</i> (SP 1/11 e white) - Conc. não citada (Placa, Agar)			Folhas + Caule	AcOEt	Shitut <i>et al.</i> , 1999
- <i>Aspergillus oryzae</i> , <i>A. terreus</i> , <i>Penicillium</i> (SR 4/2 e SP 1/11), <i>Trichothecium roseum</i> - Conc. não citada (Placa, Agar)			Folhas	Hexano	Shitut <i>et al.</i> , 1999
- <i>Aspergillus candidus</i> , <i>A. fumigatus</i> , <i>A. luchuensis</i> – Conc. não citada (Pc, Agar)			Folhas	EtOH (95%) Benzeno	Shitut <i>et al.</i> , 1999
- <i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. niger</i> , <i>A. nidulans</i> , <i>A. sydowi</i> , <i>A. terreus</i> , <i>Penicillium</i> (SR 4/2 <i>penicillium</i> SR 3/1) - Conc. não citada (Placa, Agar)			Folhas	Benzeno	Shitut <i>et al.</i> , 1999

(Continua)

Tabela 2 (Continuação)

- <i>Aspergillus niger</i> , <i>A. nidulans</i> , <i>A. sydowi</i> , <i>Penicillium</i> (SR 3/1, 4/2 e white), <i>Fusarium semitectum</i> - Conc. não citada (Placa, Agar)	<i>P. betle</i> L.	Índia		EtOH (95%)	Shitut <i>et al.</i> , 1999
- <i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>A. niger</i> , <i>Botrytis</i> <i>cinerea</i> , <i>C. albicans</i> , <i>Penicillium</i> <i>digitatum</i> , <i>Rhizopus nigricans</i> , <i>Saccharomyces pastorianus</i> , <i>Trichophyton</i> <i>mentagrophytes</i> - 333 mg/mL (Pc, Agar)	<i>P. methysticum</i> G. Forst.	Não citado	Raízes	EtOH-H ₂ O (1:1)	Guerin & Reveillere, 1984
- <i>Aspergillus. auricomus</i> , <i>A. candidus</i> , <i>A.</i> <i>flavus</i> , <i>A. fischeri</i> , <i>A. fumigatus</i> , <i>A.</i> <i>nidulans</i> , <i>A. niger</i> , <i>A. sydowi</i> , <i>A. terricola</i> , <i>A. terreus</i> , <i>A. versicolor</i> e <i>A. ustus</i> – Conc. não citada (Placa, Agar)	<i>P. nigrum</i> L. <i>P. retrofractum</i> Vahl.	Tailândia	Frutos	Não citado	To-A-Nun <i>et al.</i> , 1985
- <i>Botryodiplodia theobromae</i> – Conc. não citada (Placa, Agar)	<i>P. cernuum</i> Opiz	Brasil	Folhas	Não citado	Chile & Vyas, 1984
- <i>Candida albicans</i> – 50 µg/placa	<i>P. auritum</i> Kunt	Panamá	Folhas	Aquoso	Rahalison <i>et al.</i> , 1993
- <i>C. albicans</i> - CIM 18,7 mg/mL (Pc, Agar)		Índia		Aquoso	Vaijayanthimala <i>et al.</i> , 2000
- <i>C. albicans</i> - CIM 9,3 mg/mL (Pc, Agar)	<i>P. betle</i> L.	Índia		EtOH	Vaijayanthimala <i>et al.</i> , 2000
- <i>C. albicans</i> - Conc. não citada (Pc, Agar)	<i>P. cernuum</i> Opiz	Brasil	Folhas	Óleo essencial	Constantin <i>et al.</i> , 2001
- <i>C. albicans</i> – Conc. não citada (Pc, Agar)	<i>P. nigrum</i> L.	Não citado		Óleo essencial	Janssen <i>et al.</i> , 1986
- <i>C. albicans</i> – Conc. não citada (Pc, Agar)	<i>P. regnellii</i> Miq.	Brasil		Óleo essencial	Constantin <i>et al.</i> , 2001
- <i>Cryptococcus neoformans</i> - 5 mg/disco	<i>P. fulvescens</i> C. DC.	Paraguai			Freixa <i>et al.</i> , 1998
- <i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Trichophyton</i> <i>rubrum</i> , <i>Aspergillus flavus</i> - 100 µg/mL e <i>Scopulariopsis brevicaulis</i> - 50 µg/mL				Hexano	Ngane <i>et al.</i> , 2003
- <i>Diversos fungos</i> - 100 µL/poço (Pc, Agar)	<i>P. hispidum</i> Hayata	Honduras	Flores + Folhas+Caule	EtOH (80%)	Lentz <i>et al.</i> , 1998
- Espécies e conc. não citados (Placa, Agar)	<i>P. cernuum</i> Opiz	Brasil	Folhas	Não citado	Tewari & Dath, 1984

(Continua)

Tabela 2 (Continuação)

- Fungos de vegetais - <i>Ustilago maydis</i> e <i>U. nuda</i> – Conc. não citada (Placa, Agar)						Singh & Pathak, 1984
- Fungos e conec. não citados (Agar)	<i>P. cernuum</i> Opiz	Brasil	Folhas	EtOH (95%)		Ju & Chou, 1983
- <i>Microsporum gypseum</i> , <i>Trichophyton mentagrophytes</i> - 5 e 10 mg/disco	<i>P. elongatum</i> C. DC.	Peru		CH ₂ Cl ₂		Freixa <i>et al.</i> , 1998
- <i>M. gypseum</i> - 50 µg/mL; <i>Scopulariopsis brevicaulis</i> e <i>T. rubrum</i> - 25 µg/mL; <i>T. mentagrophytes</i> - 125 µg/mL (Pc, Agar)	<i>P. fulvescens</i> C. DC.	Paraguai		CH ₂ Cl ₂		
- <i>Neurospora crassa</i> - 10 mg/disco	<i>P. guineense</i> Schumach. & Thonn.	EUA	Sementes	CHCl ₃		Ngane <i>et al.</i> , 2003
- <i>T. mentagrophytes</i> e <i>T. rubrum</i> - 125 µg/mL (Placa, Agar)	<i>P. elongatum</i> C. DC.	Peru		CH ₂ Cl ₂		Freixa <i>et al.</i> , 1998
- <i>Trichophyton rubrum</i> , <i>Microsporum canis</i> - CIM 1000 µg/mL; <i>Epidermophyton floccosum</i> - CIM 125 µg/mL (Pc, Agar)	<i>P. guineense</i> Schumach. & Thonn.	EUA	Sementes	EtOH (90%)		Ngane <i>et al.</i> , 2003
- Espécies e conc. não citadas (Placa, Agar)	<i>P. methysticum</i> G. Forst.	Não citado	Caule	Aquoso		Locher <i>et al.</i> , 1995
	<i>P. orphyrophyllum</i>	Tailândia	Folhas	Não citado		LaohathaI & Ratanasangwan, 1975
Antihalitosa						
Conc. não citada (VO, Adulto humano)	<i>P. methysticum</i> G. Forst.	Não citado	Folhas	Não citado		LaohathaI & Ratanasangwan, 1975
Antihistamínico						
- 150 mg/Kg (IG, Cobaia)	<i>P. longum</i> L.	Índia	Frutos	Não citado		Dahanukar & Karandikar, 1984; Dahanukar <i>et al.</i> , 1984
- 9 a 15 mg/pessoa (VO, Criança)				Não citado		
Antihepatotóxico						
- 0,05 mg/Kg (IG, Camundongo)	<i>P. longum</i> L.	Índia		Não citado		Chhajed <i>et al.</i> , 1991
Antiinflamatória						
- 1000 µg/Via auricular (Modelo animal)	<i>P. amalago</i> L.	Belize	Folhas	Hexano		Sosa <i>et al.</i> , 2002
- 300 µg/Via auricular (Mod. animal)				CHCl ₃ , MeOH		Sosa <i>et al.</i> , 2002
- 1 mg/Kg (IG, Ratos) e 2 mg/Kg	<i>P. betle</i> L.	Malásia		CH ₂ Cl ₂		Khazirah <i>et al.</i> , 2000

(Continua)

Tabela 2 (Continuação)

- 200 mg/Kg (Ratos)	<i>P. cubeba</i> L. f.	Coréia do Sul	Frutos	MeOH (80%)	Choi & Hwang, 2003
-10 mg/Kg (Ratos)	<i>P. guineense</i> Schumach. & Thonn.	Nigéria	Raízes	Aquoso	Akah <i>et al.</i> , 1997
- 1,25 mg/Kg (IG, Ratos)	<i>P. lenticelloseum</i> C. DC.	Equador	Planta inteira	EtOH	De Las Heras <i>et al.</i> , 1998
- 1,25 mg/Kg (IG, Ratos)			Frutos	CH ₂ Cl ₂	Ortega <i>et al.</i> , 1996
- Doses variadas (Adulto humano)	<i>P. longum</i> L.	Índia	Frutos+ raízes	Não citado	Dabral & Sharma, 1983
- 1 mg/Kg (IG, Ratos)	<i>P. marginatum</i> Jacq.	Brasil	Folhas	Aquoso quente	D'Angelo <i>et al.</i> , 1997
- 200 mg/Kg (IG, Ratos)	<i>P. nigrum</i> L.	Índia	Galhos	CHCl ₃	Rajesh <i>et al.</i> , 2007
				EtOH (95%)	
- 20 µL/animal (Ratos)		Japão	Frutos	AcOEt, MeOH, Hexano	Okuyama <i>et al.</i> , 1995
Antiisquêmico					
- Conc. não citada (Cachorro)	<i>P. longum</i> L.	China		Aquoso quente	Chen, 1981
- Conc. não citada (Córtex cerebral de ratos e galinhas)	<i>P. methysticum</i> G. Forst.	Não citado	Raízes	Não citado	Backhauss & Krieglstein, 1992
- 150 mg/Kg (IG, Artéria cerebral de ratos)					Backhauss & Krieglstein, 1995
Antileishmania					
- <i>Leishmania. amazonensis</i> - IC ₅₀ 24 µg/mL	<i>P. aduncum</i> L.	Brasil	Inflorescência	CH ₂ Cl ₂	Torres-Santos <i>et al.</i> , 1999
- <i>L. amazonensis</i> , <i>L. brasiliensis</i> e <i>L. donovani</i> a 100 µg/mL	<i>P. rusbyi</i> C. DC.	Bolívia	Planta inteira	AcOEt, Éter de Petróleo	Rajesh <i>et al.</i> , 2007
Antimalárica					
- <i>Plasmodium falciparum</i> W-2 a 20 µg/mL	<i>P. betle</i> L.	Borneo	Folhas	EtOH (95%)	Leaman <i>et al.</i> , 1995
- <i>P. falciparum</i> – Conc. não citada	<i>P. guineense</i> Schumach. & Thonn.	Nigéria	Frutos	EtOH-H ₂ O (1:1)	Etkin <i>et al.</i> , 1997
- <i>P. berghei</i> - 100 e 250 mg/KG (SC, Ratos)	<i>P. umbellatum</i> L.	Brasil	Folhas	EtOH (95%)	Amorim <i>et al.</i> , 1988
Antimicótica					
- 0,5% (fungo das raízes <i>Allium cepa</i>)	<i>P. betle</i> L.	Índia		Aquoso	Abraham & Cherian, 1978

(Continua)

Tabela 2 (Continuação)

Antimutagênica						
- <i>Salmonella typhimurium</i> TA98 – 200 µg/placa				Aquoso, Acetona	Nagabhushan <i>et al.</i> , 1987	
-100 mg/Kg (Ratos)				MeOH-H ₂ O	Dhote <i>et al.</i> , 2007	
- 500 mg/Kg (IP, Ratos)				EtOH	Padma <i>et al.</i> , 1989	
- <i>S. typhimurium</i> TA 100 – 200 µg (Agar)				EtOH	Padma <i>et al.</i> , 1989	
- <i>S. typhimurium</i> TA 98 e 100 - 1 mg/placa (Placa, Agar)	<i>P. nigrum</i> L.	Tailândia	Frutos	Aquoso quente	Higashimoto <i>et al.</i> , 1993	
- <i>S. typhimurium</i> TA 100 - 1 mg/ placa (Placa, Agar)		China	Não citado	MeOH	Higashimoto <i>et al.</i> , 1993	
- <i>S. typhimurium</i> TA 98 e 100 - 40 mg/placa (Placa, Agar)				Aquoso quente	Liu <i>et al.</i> , 1990	
- 5 % /placa (Placa, Agar)		EUA	Frutos	Aquoso	El hamss <i>et al.</i> , 2003	
- IC ₅₀ 0,125 µL/disco (Microsossomos em fígado de ratos)	<i>P. nigrum</i> L.	Não citado		Óleo essencial	Hashim <i>et al.</i> , 1994	
Antiofidica						
- Conc. não citada	<i>P. arboreum</i> Aubl.	Colômbia	Folhas + Galhos	EtOH	Otero <i>et al.</i> , 2000	
Antioxidante						
- 0,06 %	<i>P. betle</i> L.	Taiwan	Caule, Folhas, Frutos	Resina	Huang <i>et al.</i> , 2001	
- Conc. não citada.			Folhas	Fração Fenólica	Wang & Wu	
- 1 %		Índia		Aquoso	Patel, 1979	
- 20 µg/mL					Jeng <i>et al.</i> , 2002	
- IC ₅₀ 225,3 mg/mL	<i>P. callosum</i> Opiz	Peru			Desmarchelier <i>et al.</i> , 1997a	
- 0,1 %	<i>P. nigrum</i> L.	Não citado	Frutos	Éter de Petróleo	Saito <i>et al.</i> , 1976	

(Continua)

Tabela 2 (Continuação)

- 0,004%				Óleo essencial	Tipsrisukond <i>et al.</i> , 1996
- 0,02 %				Óleo-resina	Tipsrisukond <i>et al.</i> , 1996
- 4 mg/Kg (IG, Camundongo)		Índia	Sementes	EtOH (95%),	Panda & Kar, 2003
- IC ₅₀ 5 µg/mL	<i>P. peltatum</i> L.	Bolívia	Folhas	MeOH	Desmarchelier <i>et al.</i> , 1997b
- IC ₅₀ 57,3 µg/mL					Desmarchelier <i>et al.</i> , 1997a
- Concentrações variadas	<i>P. sarmentosum</i> Roxb.	Tailândia		Éter	Chanwitheesuk <i>et al.</i> , 2002
- IC ₅₀ 13,3 µg/mL	<i>P. umbellatum</i> L.	Brasil	Raízes	MeOH	Desmarchelier <i>et al.</i> , 1997b
Antipsicótico					
- 120 mg/Kg (Ratos)	<i>P. methysticum</i> G. Forst.	Não citado		Aquoso	Jamieson <i>et al.</i> , 1989
Antitóxico					
- 250 mg/Kg (Ratos)				Aquoso	Jamieson <i>et al.</i> , 1989
- 50 mg/Kg (Ratos)				MeOH	Shin & Woo, 1980
- Conc. não citada (Camundongo)	<i>P. nigrum</i> L.	Coréia do Sul	Frutos	Éter	Han <i>et al.</i> , 1984
- 125 mg/Kg (Camundongo)	<i>P. retrofractum</i> Vahl.			MeOH (75 %),	Woo <i>et al.</i> , 1978
				MeOH	Shin & Woo, 1980
Antitripanossoma					
- <i>Trypanosoma cruzi</i> - 100 µg/mL	<i>P. rusbyi</i> C. DC.	Bolívia	Planta inteira	AcOEt, Éter de petróleo	Fournet <i>et al.</i> , 1994
Antiulcerativa					
- Doses variadas (Coelho, estômago)	<i>P. longum</i> L.	Índia	Frutos	EtOH (95 %)	Annamalai & Manavalan, 1990; Agrawal <i>et al.</i> , 2000
- 50 mg/Kg (IG, Coelho)				Aquoso quente	
- Doses variadas (Coelho, estômago)	<i>P. nigrum</i> L.			EtOH (95 %)	Annamalai & Manavalan, 1990
Antiviral					
- <i>Herpes simplex 2</i> – Conc. não citada (Cult. de células)	<i>P. cordulatum</i> C. DC.	Panamá	Folhas	Aquoso, CH ₂ Cl ₂ , Éter de petróleo, EtOH (95%)	Roming <i>et al.</i> , 1992

(Continua)

Tabela 2 (Continuação)

- Herpes, Poliovirus, Influenza e Vaccinia – Conc. não citada (Cult. de células)	<i>P. cubeba</i> L. f.	Não citado	Frutos	Não citado	Kaij-A-Kamb <i>et al.</i> , 1992
- Herpes Tipo 2, Poliovirus II, Vaccinia, Influenza A2 – 10 % (Cult. de células)				Aquoso	May & Willuhn, 1978
- Influenza - Conc. não citada (nasal, rato)				Óleo essencial	Opdyke, 1976
- Herpes zoster – Conc. não citada (Pasta é aplicada nas lesões)	<i>P. guineense</i> Schumach. & Thonn.	Gana	Não citado	Aquoso	Ampofo, 1977
- Herpes simplex 1 - 100 µg/mL (Cult. de células)	<i>P. longum</i> L.	China	Frutos	MeOH	Nawaqi <i>et al.</i> , 1999
- Herpes e Vaccinia – Conc. não citada (Cult. de células)	<i>P. nigrum</i> L.	Não citado	Frutos	Aquoso	Kaij-A-Kamb <i>et al.</i> , 1992 May & Willuhn, 1978
- Virus-HIV-1 - IC ₅₀ 68,8 µg/mL (Cult. de células)	<i>P. methysticum</i> G. Forst.	Havaí	Folhas		Locher <i>et al.</i> , 1996
Avaliação da Toxicidade					
- Dose tóxica mínima 1,0 mL/(Ratos)	<i>P. amalago</i> L.	Jamaica	Folhas Caule	EtOH (95%)	Feng <i>et al.</i> , 1962
- <i>Artemia salina</i> - ED ₅₀ 719 µg/mL e 220 µg/mL (Doseamento da atividade antitumoral)	<i>P. angustifolium</i> Lam.	Peru	Folhas	MeOH CH ₂ Cl ₂	Desmarcheilier <i>et al.</i> , 1996
- <i>Artemia salina</i> - ED ₅₀ 350 ppm (Doseamento da atividade antitumoral)	<i>P. augustum</i> Rudge	Colômbia	Caule	EtOH (95%)	Delgado <i>et al.</i> , 1988
- IC ₅₀ 1802 mg/Kg (Doseamento da atividade antitumoral (IG, Ratos))	<i>P. auritum</i> Kunt	Cuba	Folhas	EtOH-H ₂ O (1:1)	Delgado <i>et al.</i> , 1978
- <i>Artemia salina</i> - IC ₅₀ 26,67 µg/mL (Doseamento da atividade antitumoral)					Delgado <i>et al.</i> , 1978
- Displasia do cervix - Conc. não citada	<i>P. betle</i> L.	Índia	Sementes	Planta	Chakrabarti <i>et al.</i> , 1990
- DL ₅₀ > 5.0 mg/Kg (IG ou ID, Ratos)	<i>P. cubeba</i> L. f.	Não citado	Frutos	Óleo essencial	Opdyke, 1976
- DL ₅₀ 18,6 e 20,9 mg/Kg (Ratos)	<i>P. guineense</i> Schum & Thon	Nigéria	Raízes	Aquoso	Akah <i>et al.</i> , 1997
- <i>Artemia salina</i> – Conc. não citada	<i>P. jactianum</i> Trel & Standl.	Porto Rico	Planta inteira	EtOH (95 %)	Chavez <i>et al.</i> , 1997

(Continua)

Tabela 2 (Continuação)

- DL ₅₀ 500 mg/Kg (Ratos)	<i>P. longum</i> L.	Índia		EtOH-H ₂ O	Dhar <i>et al.</i> , 1968
- <i>Artemia salina</i> - LD ₅₀ 6,9 µg/mL			Frutos	EtOH (95 %)	Padmaja <i>et al.</i> , 2002
- DL ₅₀ 500 mg/Kg (Ratos)				EtOH (90 %)	Woo <i>et al.</i> , 1979
- DL ₅₀ 87,4 mg/Kg (Ratos)		China		EtOH (95 %)	Pei, 1983
- <i>Artemia salina</i> - DL ₅₀ 107 µg/mL		Jordânia			Mahmoud <i>et al.</i> , 1992
- <i>Artemia salina</i> - DL ₅₀ 1,2; 1,65 e 550 ppm	<i>P. nigrum</i> L.	Malásia		Aquoso, CHCl ₃ EtOH (95 %)	Rahmani <i>et al.</i> , 1992
- DL ₅₀ 12,66 e 424,4 mg/Kg (IG, Ratos)		China	Raízes	EtOH (100%)	Hu <i>et al.</i> , 1996
- DL ₅₀ > 5 mg/Kg (VO, Ratos e Coelho)		Não citado	Sementes	Óleo essencial	Opdyke <i>et al.</i> , 1978
- <i>Artemia salina</i> - DL ₅₀ 89 e 9,6 µg/mL (Doseamento da atividade antitumoral)	<i>P. peltatum</i> L.	Peru	Folhas	MeOH, Fração cromatográfica	Monqelli <i>et al.</i> , 1999,
- <i>Artemia salina</i> – Conc. não citada	<i>P. peltatum</i> L.	Argentina	Não citada	Fração cromatográfica	Mongelli <i>et al.</i> , 1999
- DL ₅₀ > 1000 mg/Kg (Ratos)	<i>P. schmidtii</i> Hook. F.	Índia	Partes aéreas	EtOH-H ₂ O	Abraham <i>et al.</i> , 1996
- DL ₅₀ > 1 mg/Kg (IP, Ratos)	<i>P. trichostachyon</i> Miq.				Bhakun <i>et al.</i> , 1971
- <i>Artemia salina</i> - CL ₅₀ 122,5 mg/L	<i>P. umbellatum</i> L.	Brasil	Folhas	Aquoso	Hammer & Johns, 1993
- DL ₅₀ 681 mg/Kg (IP, Ratos)	<i>P. wightii</i> Miq.	Índia	Partes aéreas	EtOH-H ₂ O (1:1)	Abraham <i>et al.</i> , 1996
- DL ₅₀ > 5.0 mg/Kg (IG ou ID, Ratos)	<i>P. cubeba</i> L. f.	Não citado	Frutos	Óleo essencial	Opdyke, 1976
- DL ₅₀ 18,6 e 20,9 mg/Kg (Ratos)	<i>P. guineense</i> Schum & Thon	Nigéria	Raízes	Aquoso	Akah <i>et al.</i> , 1997
- <i>Artemia salina</i> – Conc. não citada	<i>P. jactianum</i> Trel & Standl.	Porto Rico	Planta inteira	EtOH (95 %)	Chavez <i>et al.</i> , 1997
- DL ₅₀ 500 mg/Kg (Ratos)	<i>P. longum</i> L.	Índia		EtOH-H ₂ O	Dhar <i>et al.</i> , 1968
- <i>Artemia salina</i> - LD ₅₀ 6,9 µg/mL			Frutos	EtOH (95 %)	Padmaja <i>et al.</i> , 2002
- DL ₅₀ 500 mg/Kg (Ratos)				EtOH (90 %)	Woo <i>et al.</i> , 1979
- DL ₅₀ 87,4 mg/Kg (Ratos)		China		EtOH (95 %)	Pei, 1983
- <i>Artemia salina</i> - DL ₅₀ 107 µg/mL		Jordânia			Mahmoud <i>et al.</i> , 1992
- <i>Artemia salina</i> - DL ₅₀ 1,2; 1,65 e 550 ppm	<i>P. nigrum</i> L.	Malásia		Aquoso, CHCl ₃ EtOH (95 %)	Rahmani <i>et al.</i> , 1992
- DL ₅₀ 12,66 e 424,4 mg/Kg (IG, Ratos)		China	Raízes	EtOH (100%)	Hu <i>et al.</i> , 1996

(Continua)

Tabela 2 (Continuação)

- DL ₅₀ > 5 mg/Kg (VO, Ratos e Coelhos)		Não citado	Sementes	Óleo essencial	Opdyke <i>et al.</i> , 1978
- <i>Artemia salina</i> - DL ₅₀ 89 e 9,6 µg/mL (Doseamento da atividade antitumoral)	<i>P. peltatum</i> L.	Peru	Folhas	MeOH, Fração cromatográfica	Monqelli <i>et al.</i> , 1999,
- <i>Artemia salina</i> – Conc. não citada	<i>P. peltatum</i> L.	Argentina	Não citada	Fração cromatográfica	Mongelli <i>et al.</i> , 1999
- DL ₅₀ > 1000 mg/Kg (Ratos)	<i>P. schmidtii</i> Hook. F.	Índia	Partes aéreas	EtOH-H ₂ O	Abraham <i>et al.</i> , 1996
- DL ₅₀ > 1 mg/Kg (IP, Ratos)	<i>P. trichostachyon</i> Miq.				Bhakun <i>et al.</i> , 1971
- <i>Artemia salina</i> - CL ₅₀ 122,5 mg/L	<i>P. umbellatum</i> L.	Brasil	Folhas	Aquoso	Hammer & Johns, 1993
- DL ₅₀ 681 mg/Kg (IP, Ratos)	<i>P. wightii</i> Miq.	Índia	Partes aéreas	EtOH-H ₂ O (1:1)	Abraham <i>et al.</i> , 1996
Bloqueador do canal de Cálcio					
- 0,03 mg/mL (Coelho, em jejum)	<i>P. betle</i> L.	Paquistão	Folhas	Aquoso	Gilani <i>et al.</i> , 2000
Carcinogênica					
- 220 µg/mL (Cult. de células)		Tailândia		MeOH	Murakami <i>et al.</i> , 1995; 1997
- Dose não citada (Ratos)	<i>P. nigrum</i> L.	Não citado	Frutos	EtOH (95%)	Concon <i>et al.</i> , 1979
- 2 mg/mL e 1 mg/animal (SC, Sapos)					El-Mofty <i>et al.</i> , 1988
- 20 mg/animal (VO, Sapos)			Sementes		El-Mofty <i>et al.</i> , 1988
- 2 mg/animal mL (IG, Sapos)		Egito			El-Mofty <i>et al.</i> , 1991
Cicatrização de feridas					
- Contração total da ferida no 10º dia de tratamento (Coelhos)		Índia			Santhanam & Nagarajan, 1990
Citotoxicidade <i>in vitro</i>					
- CA-9KB - IC ₅₀ 12 µg/mL (Cult. de células) e Conc. não citada	<i>P. adumcum</i> L.	Papua-Nova Guiné	Folhas	CH ₂ Cl ₂	Orjala <i>et al.</i> , 1993a
- LEUK-P388 (ED ₅₀ 1,4 e < 200 µg/mL) e CA-9KB (ED ₅₀ 5,4 e < 200 µg/mL)	<i>P. arborescens</i> Miq.	Taiwan		CHCl ₃	Orjala <i>et al.</i> , 1994
- CV-79 – 100 µg/mL (Cult. de células)					Duh <i>et al.</i> , 1990a
- Fibroblastos humano - 800 µg/mL	<i>P. betle</i> L.	Panamá	Folhas + Caule	MeOH	Duh <i>et al.</i> , 1990b
		Não citado	Influorescência	Aquoso	Gupta <i>et al.</i> , 1996
					Jeng <i>et al.</i> , 1994

(Continua)
Tabela 2 (Continuação)

- CA-9KB - 20µg/mL (Cult. de células)		Borneo	Folhas	EtOH (95%)	Leaman <i>et al.</i> , 1995
- Células HELA –10% (Cult. de células)	<i>P. cubeba</i> L. f.	Não citado	Frutos	Aquoso	May & Willuhn, 1978
- CA-9KB - 50µg/mL (Cult. de células)	<i>P. fulvescens</i> C. DC.	Japão	Folhas	MeOH	Arisawa, 1994
- Células HELA S3 – 21 µg/mL (Cult. de células)	<i>P. hancei</i> Maxim.		Frutos	EtOH (95%)	Takatsuki <i>et al.</i> , 1996
- Células de ovário de hamsters chineses (CHO) - IC ₅₀ 20 µg/mL e células HELA - IC ₅₀ 8 µg/mL (Cult. de células)	<i>P. jactianum</i> Trel & Standl.	Porto Rico	Planta inteira	EtOH (95%)	Chavez <i>et al.</i> , 1997
- Células VERO - ED ₅₀ 0,13 mg/mL; células CHO - ED ₅₀ 0,145 mg/mL e Linfoma Dalton's - ED ₅₀ 0,3 mg/mL (Cult. de células)	<i>P. longum</i> L.	Índia		EtOH (90%)	Unnikrishnan & Kuttan, 1988
- 100 mg/Kg (Embriotóxico, Ratos)		Índia	Frutos	Éter de petróleo	Chandhoke <i>et al.</i> , 1978
- Células MCL-5 - IC ₅₀ 52,7 e 49 µmol				EtOH (95%)	Zou <i>et al.</i> , 2004
- Células VERO - ED ₅₀ 0,14 mg/mL e Linfoma Dalton's - ED ₅₀ 0,45 mg/mL células CHO - ED ₅₀ 29 mg/mL; Linfócitos humano - 0,5 mg/mL; (Cult. de células)	<i>P. nigrum</i> L.				Unnikrishnan & Kuttan, 1988
- LEUK-P 815 - Conc. não citada (Cult. de células)		Tailândia		Aquoso	Miwa <i>et al.</i> , 1990
- CA-9KB – Conc. não citada (Cult. de células)	<i>P. peltatum</i> L.	Argentina	Não citada	Fração cromatográfica	Mongelli <i>et al.</i> , 1999
- CA-9KB - ED ₅₀ < 20 mg/mL (Cult. de células)	<i>P. umbellatum</i> L.	Ghana	Caule	EtOH-H ₂ O (1:1)	Anon, 1976
Colinérgico					
- 1.0 mg/mL (Cobaia, ileo)	<i>P. betle</i> L.	Paquistão	Folhas	Aquoso	Gilani <i>et al.</i> , 2000

Avaliação da Toxicidade

- Dose tóxica mínima 1,0 mL/(Ratos)	<i>P. amalago</i> L.	Jamaica	Folhas Caule	EtOH (95%)	Feng <i>et al.</i> , 1962
- <i>Artemia salina</i> - ED ₅₀ 719 µg/mL e 220 µg/mL (Doseamento da atividade antitumoral)	<i>P. angustifolium</i> Lam.	Peru	Folhas	MeOH CH ₂ Cl ₂	Desmarcheilier <i>et al.</i> , 1996
- <i>Artemia salina</i> - ED ₅₀ 350 ppm (Doseamento da atividade antitumoral)	<i>P. augustum</i> Rudge	Colômbia	Caule	EtOH (95%)	Delgado <i>et al.</i> , 1988
- IC ₅₀ 1802 mg/Kg (Doseamento da atividade antitumoral (IG, Ratos))	<i>P. auritum</i> Kunt	Cuba	Folhas	EtOH-H ₂ O (1:1)	Delgado <i>et al.</i> , 1978
- <i>Artemia salina</i> - IC ₅₀ 26,67 µg/mL (Doseamento da atividade antitumoral)					Delgado <i>et al.</i> , 1978
- Displasia do cervix - Conc. não citada	<i>P. betle</i> L.	Índia	Sementes	Planta	Chakrabarti <i>et al.</i> , 1990
- DL ₅₀ > 5.0 mg/Kg (IG ou ID, Ratos)	<i>P. cubeba</i> L. f.	Não citado	Frutos	Óleo essencial	Opdyke, 1976
- DL ₅₀ 18,6 e 20,9 mg/Kg (Ratos)	<i>P. guineense</i> Schum & Thon	Nigéria	Raízes	Aquoso	Akah <i>et al.</i> , 1997
- <i>Artemia salina</i> – Conc. não citada	<i>P. jactianum</i> Trel & Standl.	Porto Rico	Planta inteira	EtOH (95 %)	Chavez <i>et al.</i> , 1997
- DL ₅₀ 500 mg/Kg (Ratos)	<i>P. longum</i> L.	Índia		EtOH-H ₂ O	Dhar <i>et al.</i> , 1968
- <i>Artemia salina</i> - LD ₅₀ 6,9 µg/mL			Frutos	EtOH (95 %)	Padmaja <i>et al.</i> , 2002
- DL ₅₀ 500 mg/Kg (Ratos)				EtOH (90 %)	Woo <i>et al.</i> , 1979
		China		EtOH (95 %)	Pei, 1983
- DL ₅₀ 87,4 mg/Kg (Ratos)					
- <i>Artemia salina</i> - DL ₅₀ 107 µg/mL		Jordânia			Mahmoud <i>et al.</i> , 1992
- <i>Artemia salina</i> - DL ₅₀ 1,2; 1,65 e 550 ppm	<i>P. nigrum</i> L.	Malásia		Aquoso, CHCl ₃ EtOH (95 %)	Rahmani <i>et al.</i> , 1992
- DL ₅₀ 12,66 e 424,4 mg/Kg (IG, Ratos)		China	Raízes	EtOH (100%)	Hu <i>et al.</i> , 1996
- DL ₅₀ > 5 mg/Kg (VO, Ratos e Coelhos)		Não citado	Sementes	Óleo essencial	Opdyke <i>et al.</i> , 1978
- <i>Artemia salina</i> - DL ₅₀ 89 e 9,6 µg/mL (Doseamento da atividade antitumoral)	<i>P. peltatum</i> L.	Peru	Folhas	MeOH, Fração cromatográfica	Monqelli <i>et al.</i> , 1999,

- <i>Artemia salina</i> – Conc. não citada	<i>P. peltatum</i> L.	Argentina	Não citada	Fração cromatográfica	Mongelli <i>et al.</i> , 1999
(Continua)					
Tabela 2 (Continuação)					
- DL ₅₀ > 1000 mg/Kg (Ratos)	<i>P. schmidtii</i> Hook. F.	Índia	Partes aéreas	EtOH-H ₂ O	Abraham <i>et al.</i> , 1996
- DL ₅₀ > 1 mg/Kg (IP, Ratos)	<i>P. trichostachyon</i> Miq.				Bhakun <i>et al.</i> , 1971
- <i>Artemia salina</i> - CL ₅₀ 122,5 mg/L	<i>P. umbellatum</i> L.	Brasil	Folhas	Aquoso	Hammer & Johns, 1993
- DL ₅₀ 681 mg/Kg (IP, Ratos)	<i>P. wightii</i> Miq.	Índia	Partes aéreas	EtOH-H ₂ O (1:1)	Abraham <i>et al.</i> , 1996
Bloqueador do canal de Cálcio					
- 0,03 mg/mL (Coelho, em jejum)	<i>P. betle</i> L.	Paquistão	Folhas	Aquoso	Gilani <i>et al.</i> , 2000
Carcinogênica					
- 220 µg/mL (Cult. de células)		Tailândia		MeOH	Murakami <i>et al.</i> , 1995; 1997
- Dose não citada (Ratos)	<i>P. nigrum</i> L.	Não citado	Frutos	EtOH (95%)	Concon <i>et al.</i> , 1979
- 2 mg/mL e 1 mg/animal (SC, Sapos)					El-Mofty <i>et al.</i> , 1988
- 20 mg/animal (VO, Sapos)			Sementes		El-Mofty <i>et al.</i> , 1988
- 2 mg/animalmL (IG, Sapos)		Egito			El-Mofty <i>et al.</i> , 1991
- SNC - 250 e 350 mg/Kg (IG, Ratos)				EtOH (70 %)	Capasso & Sorrentino, 2005
- SNC - 600 mg/dia (VO, Adulto humano)				EtOH-H ₂ O (1:1)	Schulz <i>et al.</i> , 1998
- Síntese de prostaglandina - 100 µg/mL.		Samoa		EtOH	Dunstan <i>et al.</i> , 1997
- SNC - 10 e 300 mg/Kg (Ratos)		Fiji		Pó, CHCl ₃	Klohs <i>et al.</i> , 1959
- Ciclooxygenase 1 e 2			Não citado	MeOH	Wu <i>et al.</i> , 2002
- SNC - 1 mg/Kg (VO, Ratos)				Não citado	Cox <i>et al.</i> , 1989
- SNC - 50 mg/Kg (Ratos)		Havaí	Caule	EtOH	Fong <i>et al.</i> , 1972
- Receptor GABA - IC ₅₀ 1; 3; 4; 5; 6 e 23 µg/mL; histamina IC ₅₀ 4 e 36 µg/mL; Receptores opiáceos - IC ₅₀ 19 µg/mL			Folhas	MeOH	Dinh <i>et al.</i> , 2001
- SNC - 60 mg/Kg (Ratos)				EtOH (95 %)	Woo <i>et al.</i> , 1977
- Prolil endopeptidase - 0,1 mg/mL	<i>P. nigrum</i> L.	Bangladesh		MeOH	Khanom <i>et al.</i> , 2000
- Agregação plaquetária - IC ₅₀ 0,3 mg/mL		China		AcOEt	Okada <i>et al.</i> , 1998
- Malondialdeído – 2 % da dieta (Ratos)		Índia	Sementes	Não citado	Singh & Rao, 1993

- HIV-1 - IC₅₀ 70 µg/mL (Cult. de células)

EtOH (95%) Yoshinaga *et al.*, 2003

(*Continua*)

Tabela 2 (*Continuação*)

- Transpeptidase <i>Gama</i> -Glutamil e do ácido úrico - 5 mL/dia (Ratos)				Fermentado	Shanmugasundaram & Radah Shanmugasundaram, 1986
- Motilidade intestinal - Doses variadas (IG, Coelhos)		Koréia do Sul	Frutos		Annamalai & Manavalan, 1990
- <i>Alfa</i> -amilase – Conc. não citada				Aquoso	Suh, 1976
- Tirosinase - 0,1 mg/mL	<i>P. nigrum</i> L.	Japão		MeOH-H ₂ O (1:1), Acetona (60%), MeOH	Khanom <i>et al.</i> , 2000
- Protease (Vírus da hepatite C) 100 µg/mL		Sudão		MeOH	Hussein <i>et al.</i> , 2000
- HIV-1 - IC ₅₀ 8 µg/mL (Cult. de células)		Tailândia		Aquoso	Yoshinaga <i>et al.</i> , 2003
- SNC - 2 mg/Kg (IG, Ratos)		China	Raízes	EtOH	Hu <i>et al.</i> , 1996
- Tirosinase: 1mg/mL				MeOH	Mukherjee <i>et al.</i> , 2001
- Tabagismo - Conc. não citada		EUA	Sementes	Óleo essencial	Rose & Behm, 1994
- Agregação plaquetária - 10 µg/mL	<i>P. pedicellatum</i> C. DC.	China	Partes aéreas	CH ₂ Cl ₂	Guiqiu, 1995
- Fosforilase A2 - 2 mg/mL	<i>P. peltatum</i> L.	Costa Rica	Galhos	Não citado	Nunez <i>et al.</i> , 2005
- Agregação plaquetária - 10 µg/mL	<i>P. polysiphorum</i> C. DC.	China	Partes aéreas	CH ₂ Cl ₂	Guiqiu, 1995
- Agregação plaquetária – Conc. não citada (Cult. de células)			Planta inteira	Fração apolar	Ma <i>et al.</i> , 1991
- Agregação plaquetária - Dose não citada	<i>P. puberulum</i> Benth.		Caule	Éter	Zhang <i>et al.</i> , 1995
- SNC - Dose não citada (Ratos)	<i>P. retrofractum</i> Vahl.	Coréia do Sul	Frutos	Não citado	Shin & Woo, 1979
- Cicloxigenase 1 - IC ₅₀ 19 µg/mL;	<i>P. sarmentosum</i> Roxb.	China	Partes aéreas	Hexano	Stohr <i>et al.</i> , 1999
Lipogenase 5 - IC ₅₀ 10 µg/mL					
- Agregação plaquetária - 10 µg/mL (Coelho)	<i>P. senporeiense</i> C. DC.			CH ₂ Cl ₂	Guiqiu, 1995
- SNC – 5 % (SC, Ratos)	<i>P. solmsianum</i> C. DC.	Brasil	Folhas	Óleo essencial	Moreira <i>et al.</i> , 2001
- Agregação plaquetária - 10 µg/mL	<i>P. submultinerve</i> C. DC.	China	Partes aéreas	CH ₂ Cl ₂	Guiqiu, 1995

- Fosforilase A2 – 2 mg/mL	<i>P. umbellatum</i> L.	Costa Rica	Galhos	Não citado	Nunez <i>et al.</i> , 2005
----------------------------	-------------------------	------------	--------	------------	----------------------------

(*Continua*)

Tabela 2 (*Continuação*)

- Agregação plaquetária - 10 µg/mL	<i>P. wallichii</i> Miq.	China	Partes aéreas	CH ₂ Cl ₂	Guiqiu, 1995
Espasmolítica/Espasmogênica					
- 0,033 mL/L (Cobaia, íleo)	<i>P. amalago</i> L.	Jamaica	Folhas Caule	Aquoso EtOH (95%)	Feng <i>et al.</i> , 1962
- 2 mg/mL (Cobaia, íleo)	<i>P. graeffei</i> Warb.	Samoa	Folhas	Não citado	Cox <i>et al.</i> , 1989
- 1 mg/mL (Cobaia, jejuno)	<i>P. guineense</i> Schumach. & Thonn.	Nigéria	Planta inteira	Aquoso	Udoh <i>et al.</i> , 1996
- 10 µg/mL (Ratos, útero)					Udoh <i>et al.</i> , 1996
- 0,1 e 1,0 mg/mL (Cobaia, íleo)					Udoh <i>et al.</i> , 1996
- 5,0 mg/mL (Cobaia)					Akah <i>et al.</i> , 1997
- 100 µg/mL (Cobaia, íleo)			Sementes		Udoh <i>et al.</i> , 1996
- 10 µmol/mL (Cobaia, jejuno)					Udoh <i>et al.</i> , 1996
- 5,0 µg/mL (Ratos, íleo)	<i>P. longum</i> L.	Coréia do Sul	Frutos	MeOH	Lee, 1981
- 2 mg/mL (Cobaia, íleo)	<i>P. methysticum</i> G. Forst.	Samoa	Raízes	Não citado	Cox <i>et al.</i> , 1989
- 2 mg/mL (Cobaia, íleo)	<i>P. spp.</i>		Folhas		Cox <i>et al.</i> , 1989
Espermatogênica					
- 500 mg/Kg (IG, Ratos); aumenta os níveis de testosterona	<i>P. betle</i> L.	Índia		Aquoso	Mitra <i>et al.</i> , 1996
Espermicida					
- 30 mg/Kg (SC, Ratos)			Pecíolos	EtOH (95%)	Adhikary <i>et al.</i> , 1989
- 100 mg/Kg (IG, Camundongo)	<i>P. longum</i> L.	Não citado	Frutos		Shah <i>et al.</i> , 1998
Estimulante					
- Músculo liso do intestino com aumento do tônus e diminuição da contração - Dose não citada (Coelhos)	<i>P. aurantiacum</i> Wall.	Índia			Banerjee & Dandiya, 1967

- Músculo liso – 0,15 µg/mL (Ratos)					Banerjee & Dandiya, 1967
- Dose não citada (Ratas não prenhas)				Fr. alcaloídica	Banerjee & Dandiya, 1967

(Continua)

Tabela 2 (Continuação)

- 0,1 µg/mL (Ratas não prenhas, útero)				EtOH (95%)	Banerjee & Dandiya, 1967
- 0,33 mL/L (Ratas, útero)	<i>P. auritum</i> Kunt	Jamaica	Folhas, Caule	EtOH (95%)	Feng <i>et al.</i> , 1962
- Crescimento da raiz da planta - 25 ppm	<i>P. guineense</i> Schumach. & Thonn.	Nigéria	Frutos	Óleo essencial	Oguntimein & Elakovich, 1991
- Músculo liso – 2,5 mg/mL (Ratas, útero)			Folhas, Sementes	Aquoso	Udoh, 1999
- Músculo liso - 2 mg/mL (Cobaia, íleo)			Raízes		Akah <i>et al.</i> , 1997
- Músculo liso - 4 mg/mL (Ratos)					Akah <i>et al.</i> , 1997
- Músculo liso - 5 mg/mL (Ratos, íleo)	<i>P. longum</i> L.	Coréia do Sul	Frutos	MeOH	Lee, 1982
- Lacrimejamento - 1 mg/Kg (Ratos)	<i>P. marginatum</i> Jacq.	Brasil	Folhas	Aquoso	D'Angelo <i>et al.</i> , 1997
- SNC - 150 e 250mg/Kg (Ratos)	<i>P. methysticum</i> G. Forst.	Não citado	Raízes	Aquoso, MeCl ₂	Jamieson <i>et al.</i> , 1989
- Crescimento da raiz da planta - 2 mg/L	<i>P. nigrum</i> L.	Japão	Frutos	Aquoso quente	Shimomura <i>et al.</i> , 1981
- Aumento da produção de ácido no estômago - 1,5 mg/Kg (IV, Coelho)				EtOH (95 %)	Annamalai & Manavalan, 1990
- Motilidade intestinal - 1,5 mg/pessoa		Não citado		Não citado	Vazquez-Olivencia <i>et al.</i> , 1992
- Músculo liso - 10% (Ratos, jejuno; Rã, esquelético)			Sementes	Aquoso	Haranath <i>et al.</i> , 1987
- Citocromo P450 – 1 % da dieta (Ratos)		China			Singh & Rao, 1993
- Alcalino Fosfatase - Dieta a 0,5 % (Ratos)		Índia		Pó	Babu & Srinivasan, 1993
- Colesterol-7- α -hidroxilase - Dieta a 0,5%		Tailândia		Não citado	Srinivasan & Sambaiah, 1991
- Macrófago WBC - 2 mg/mL				Aquoso	Miwa <i>et al.</i> , 1990
- Músculo liso - Doses variadas (Cobaia, íleo)	<i>P. retrofractum</i> Vahl.	Tailândia	Inflorescência + Raízes + Galhos	EtOH-H ₂ O (1:1)	Mokkhasmit <i>et al.</i> , 1971a

- Músculo liso - 0,01 mg/mL (Cobaia, íleo)	<i>P. sarmentosum</i> Roxb.	Tailândia	Planta inteira	EtOH-H ₂ O	Mokkhasmit <i>et al.</i> , 1971a
	<i>P. spp.</i>		Caule	(1:1)	Mokkhasmit <i>et al.</i> , 1971b
- SNC – 5 % (SC, Ratos)	<i>P. solmsianum</i> C. DC.	Brasil	Folhas	Óleo essencial	Moreira <i>et al.</i> , 2001

(*Continua*)

Tabela 2 (*Continuação*)

Euforia psíquica

- Conc. não citada (VO, Adulto humano)	<i>P. methysticum</i> G. Forst.	Não citado	Folhas	Não citado	Cawte, 1985
- Conc. não citada (VO, Adulto humano)			Não citada	Aquoso quente	Siegel, 1976

Hepatotóxico

- Conc. não citada (VO, Adulto humano)		Costa Rica	Raízes	Não citado	Humberston <i>et al.</i> , 2003
- Dose variada mg/dia (VO, Adulto)		Islândia		EtOH	Escher <i>et al.</i> , 2001
- 210 mg/dia (VO, Adulto humano)		Não citado		Fração lactona	Russmann & Helbling, 2001
- Dose variada (VO, Adulto humano)				EtOH (95%)	Ernst, 2002
- Dose variada (VO, Adulto humano)				Não citado	Furbee <i>et al.</i> , 2006
					Clouatre, 2004
- Doses variadas (VO, Adulto humano)				EtOH-H ₂ O	Russmann <i>et al.</i> , 2001
				(1:1)	Strahl <i>et al.</i> , 1998

Hiperglicêmica

- 100 mg/Kg (IG, Ratos)	<i>P. betle</i> L.	Índia	Folhas	Aquoso	Saravanan & Pugalendi, 2004
- 5 mL/dia (VO, Ratos)	<i>P. longum</i> L. <i>P. nigrum</i> L.		Sementes	Fermentado	Shanmugasundaram & Radah Shanmugasundar, 1986

Hipertensiva

- 0,1 mg/Kg (IV, Cachorro)	<i>P. amalago</i> L.	Jamaica	Folhas, Caule	Aquoso, EtOH	Woode, 1985
				(95%)	Feng <i>et al.</i> , 1962
- 0,5 e 1 mg/Kg (IV, Ratos)	<i>P. marginatum</i> Jacq.	Costa Rica	Folhas	Não citado	D'Angelo <i>et al.</i> , 1997
- 10 - 20 mg/Kg (IV, Cachorro)	<i>P. nigrum</i> L.	Índia		Aquoso quente	Sridharan <i>et al.</i> , 1978
- 10 - 20 mg/Kg (IV, Cachorro)	<i>P. retrofractum</i> Vahl.	Tailândia	Inflorescência	EtOH-H ₂ O	Mokkhasmit <i>et al.</i> , 1971a

- Doses variadas (IV, Cachorro)	<i>P. sarmentosum</i> Roxb.	Tailândia	+ Raízes + Galhos	(1:1)	Planta inteira EtOH-H ₂ O (1:1)	Mokkhasmit <i>et al.</i> , 1971b
(Continua)						
Tabela 2 (Continuação)						
Hipocolesterolêmica						
- 100 mg/Kg (Ratos, Fígado e Rins);	<i>P. betle</i> L.	Índia	Folhas	Aquoso	Saravanan & Pugalendi, 2004	
- 5 mg/dia (IG, Ratos)	<i>P. longum</i> L. <i>P. nigrum</i> L.		Sementes	Fermentado	Shanmugasundaram & Radah Shanmugasundar, 1986	
Hipoglicêmica						
- 250 mg/Kg (VO, Ratos)	<i>P. longum</i> L.		Planta inteira	EtOH-H ₂ O (1:1)	Dhar <i>et al.</i> , 1968	
- 5 mL/dia (Ratos)			Sementes	Fermentado	Shanmugasundaram & Radah Shanmugasundar, 1986	
- 0,250 e 0,125 mg/Kg (IG, Ratos)	<i>P. sarmentosum</i> Roxb.	Tailândia	Planta inteira	Aquoso	Peugvicha <i>et al.</i> , 1998	
Hipotensiva						
- Dose não citada	<i>P. adumcum</i> L.	Não citado	Folhas	Éter, CHCl ₃ ,	Achenbach <i>et al.</i> , 1984	
- 0.1 mL/Kg (IV, Cachorro)	<i>P. auritum</i> Kunt	Jamaica	Folhas, Caule	Aquoso	Feng <i>et al.</i> , 1962	
- 1 mg/Kg (IP ou IV, Ratos)	<i>P. betle</i> L.	Taiwan	Inflorescência	Aquoso	Chen <i>et al.</i> , 1995	
- 50 mg/animal (IV, Cachorro)	<i>P. betle</i> L.	Índia	Folhas	Óleo essencial	Ali & Mehta, 1970	
- Doses variadas (IV, Cachorro)	<i>P. cubeba</i> L.f.	Tailândia	Frutos	EtOH-H ₂ O (1:1)	Mokkhasmit <i>et al.</i> , 1971b	
- 10 % (Ratos)	<i>P. nigrum</i> L.	Não citado	Sementes	Não citado	Haranath <i>et al.</i> , 1987	
Hipovitaminose						
- Aumento dos níveis de vitamina A (Ratos, fígado e plasma)				EtOH (95%)	Padma <i>et al.</i> , 1989	
Indutor						
- Inflamação - 4,9 mg/Kg (Ratos)				Aquoso	Sen <i>et al.</i> , 1987	

- Irritação da pele - Dose não citada (Tópico, Ratos, Coelho e Cobaia)	<i>P. cubeba</i> L. f.	Não citado	Frutos	Óleo essencial	Opdyke, 1976
- Inibição do contato celular em <i>L. braziliensis</i> - Dose não citada	<i>P. elongatum</i> C. DC.	Peru	Partes aéreas	EtOH (95%)	Hermoso <i>et al.</i> , 2003

(Continua)
Tabela 2 (Continuação)

- Fator vinculado à inibição plaquetária, bloqueador do receptor adrenérgico, receptor Colecistoquinina e Alfa 2 –	<i>P. futokadsura</i> Siebold	China		Aquoso	Han <i>et al.</i> , 1991
- Fator vinculado à inibição plaquetária – Conc. não citada (Coelho)		Taiwan	Caule	Fração cromatográfica	Chang <i>et al.</i> , 1985
- Efeito sobre o SNC - 1 mg/Kg (Ratos)	<i>P. graeffei</i> Warb.	Samoa	Folhas	Não citado	Cox <i>et al.</i> , 1989
- Bloqueio neuromuscular - 2 mg/mL (Coelho)	<i>P. guineense</i> Schumach. & Thonn.	Nigéria		Aquoso	Udoh <i>et al.</i> , 1999
- Liberação de superóxido	<i>P. lenticellosum</i> C. DC.	Equador	Planta inteira	EtOH	De Las Heras <i>et al.</i> , 1998
- Potencialização de barbitúricos - 25 mg/Kg (Ratos)	<i>P. longum</i> L.	China	Frutos	EtOH (95 %)	Pei <i>et al.</i> , 1983
- Relaxamento uterino – Conc. não citada		Tailândia		Não citado	Loewsoponkul, 1982
- Aumento do nível de melatonina; liberação de serotonina 5-HT e histamina - 1 mg/Kg (IG, Ratos)		Índia			Upadhya <i>et al.</i> , 1988
- Potencialização de barbitúricos - 10 mg/Kg (IG, Ratos)	<i>P. longum</i> L.		Caule	Não citado	Shukia <i>et al.</i> , 1987
- Hipolipidemia - 50 mg/Kg (IG, Ratos)					Khanna <i>et al.</i> , 1991
- Hepatoregeneração - 100 mg/Kg (Ratos)					Rege <i>et al.</i> , 1984
- Hipotermia - 300 mg/Kg (Ratos)				EtOH (90 %)	Woo <i>et al.</i> , 1979
- Potencialização de barbitúricos - 125 mg/Kg (Ratos)			Folhas	AcOEt, Aquoso, Éter de petróleo	Manavalan & Singh, 1979
- Aumento da taxa de estrogênio - 50 mg/mL (VO, Ratos)			Não citada	EtOH (95 %)	Atal <i>et al.</i> , 1980

- Bloqueio neuromuscular - 4,6 mg/pessoa
 - Aumento da conc. de proteína – 5 mL/dia
 (Ratos, plasma)

Raízes
 Sementes

Decocto
 Fermentado

Siddiqui & Hasan, 1981
 Shanmugasundaram &
 Radah Shanmugasundar,
 1986

(*Continua*)

Tabela 2 (*Continuação*)

- Estimulo imunológico - 100 mg/Kg (IV)	<i>P. marginatum</i> Jacq.	Não citado	Planta inteira	Não citado	Di Carlo <i>et al.</i> , 1964
- Efeito refrescante - Conc. não citada (VO)		Costa Rica	Folhas	MeOH (80%)	Hussain <i>et al.</i> , 1990
- Aumento da dopamina - IC ₅₀ 43 e 68 µg/mL	<i>P. methysticum</i> G. Forst.	Havaí		MeOH	Dinh <i>et al.</i> , 2001
- Antagonista da serotonina 5-HT - ED ₅₀ 22,5 µg/mL (Ratos)			Raízes	Liofilizado	O'Hara <i>et al.</i> , 2001
- Otimização do raciocínio - 200 mg/pessoa				Não citado	Munte <i>et al.</i> , 1993
- Alívio dos sintomas da menopausa - 300 mg/dia (VO, Adulto humano)				EtOH-H ₂ O (1:1)	Habs <i>et al.</i> , 1994
- Alívio dos sintomas da menopausa - Doses variadas (VO, Adulto humano)	<i>P. methysticum</i> G. Forst.	Não citado		Não citado	Warnecke <i>et al.</i> , 1994
- Otimização do raciocínio - 300 mg/dia (VO, Adulto humano)					Thompson <i>et al.</i> , 2004
- Sistêmico do SNC - 200 mg/dia (VO)				EtOH-H ₂ O (1:1)	Boerner & Klement, 2004
- Aumento da dopamine cerebral - 20 e 120 mg/Kg (VO, Ratos)					Baum <i>et al.</i> , 2004
- Modulador do receptor GABA - ED ₅₀ 300 µmol (Ratos, cérebro)				Fração cromatográfica	Jussofie <i>et al.</i> , 2004
- Aumento do tempo de sono - 200 mg/dia (IG, Ratos)				EtOH (95%)	Jamieson & Duffield, 1990
- Irritação da pele (dermatite) – Conc. não citada (VO, Adulto humano)		Tonga		Aquoso	Ruze, 1990
- Sono - 200 mg/dia (VO, Adulto humano)				Acetona	Lehrl, 2004
- Potencialização de barbitúricos – 10 e 160 mg/Kg (Ratos)		Fiji		Pó e CHCl ₃	Klohs <i>et al.</i> , 1959
- Distúrbios visuais - 600 mL (VO, Adulto)				Aquoso	Garner & Klinger, 1985

- Rapidez do raciocínio - 350 mg/Kg (IG, Adulto humano)			CHCl ₃	Jemieson & Duffield, 1990
- Bloqueio neuromuscular - 5 mg/mL (Ratos e Rã)		Caule	Aquoso	Sing, 1983

(Continua)
Tabela 2 (Continuação)

- Potencialização de barbitúricos - 60 mg/Kg <i>P. nigrum</i> L.	Coréia do Sul	Frutos	EtOH (95%) Éter	Woo <i>et al.</i> , 1977 Han <i>et al.</i> , 1984
- Potencialização de barbitúricos - 50 e 200 mg/Kg (Ratos)				
- Glutaciona-S-transferase - Dieta a 2 % (Camundongo)	Japão		Pó	Ueda <i>et al.</i> , 1999
- Potencialização de barbitúricos - 50 e 125 mg/Kg (Ratos)	Não citado		MeOH	Shin & Woo, 1980
- Liberação de superóxido - 0,1 mg/mL <i>P. nigrum</i> L.	Bangladesh			Khanom <i>et al.</i> , 2000
- Glutaciona-S-transferase - Dieta a 2 % (Ratos)	Índia		Não citado	Singh & Rao, 1993
- Aumento de compostos sulfidríla - dieta a 2 % (Ratos); do Citocromo B5 - dieta a 1 % e de Melanoma 2 - a 0,01 mg/mL				Singh & Rao, 1993
- Aberrações cromossômicas - 100 mg/Kg			Aquoso	Abraham & John, 1989
- Interleucina - Dose não citada	Tailândia			Miwa <i>et al.</i> , 1990
- Potencialização de barbitúricos – 50 e 100 mg/Kg (Ratos)	Índia	Folhas	Aquoso quente, Éter de petróleo	Sridharan <i>et al.</i> , 1978
- Aumento do tempo do Sono - Dose não citada (Ratos)	China	Raízes	MeOH	Wei <i>et al.</i> , 2004
- Aumento do nível de colesterol - Dieta a 0,5 % (Ratos)	Índia	Sementes	Pó	Babu & Srinivasan, 1993
- Aumento da conc. de proteína – 5 mL/dia (Ratos, plasma)			Fermentado	Shanmugasundaram & Radah Shanmugasundar, 1986
- Irritação - Dose não citada (Coelhos)	Não citado		Óleo essencial	Opdyke <i>et al.</i> , 1978

- Potencialização de barbitúricos - 125 mg/Kg (Ratos)	<i>P. retrofractum</i> Vahl.	Coréia do Sul	Frutos	MeOH (75%)	Woo <i>et al.</i> , 1978
- Bloqueio neuromuscular - 4 mg/mL	<i>P. sarmentosum</i> Roxb.	Tailândia	Folhas	MeOH	Shin & Woo, 1980
- Hipotermia - 5 mg/Kg (Ratos)	<i>P. umbellatum</i> L.	Congo		Aquoso	Riditid <i>et al.</i> , 1998 Bioka & Abena, 1990

(Continua)

Tabela 2 (Continuação)

Inseticida/Larvicida

- <i>Aedes aegypti</i> e mosca doméstica – Conc. não citada	<i>P. acutisleginum</i> C. DC.	Índia	Caule	CH ₂ Cl ₂	Olsen <i>et al.</i> , 1998
	<i>P. falconeri</i> C. DC.	Índia	Folhas+Caule	Não citado	Parmar <i>et al.</i> , 1993
- <i>Aedes aegypti</i> – Conc. não citada	<i>P. longum</i> L.	Índia	Não citada	MeOH	Yang <i>et al.</i> , 2002
- <i>Aedes atropalpus</i> - 10 µg/mL e <i>Ostrinia nubilalis</i> - Dieta a 0,4 %	<i>P. decurrens</i> Miq.	Costa Rica	Folhas	EtOH (95%)	Moreno, <i>et al.</i> , 1996
- <i>Aedes aegypti</i> - 15 ppm	<i>P. nigrum</i> L.	Paquistão	Sementes	Não citado	Siddiqui <i>et al.</i> , 2004
- <i>Aedes atropalpus</i> - IC ₅₀ 80,5 µg/mL	<i>P. guanacostensis</i> C. DC.	Costa Rica		Fração CHCl ₃	Roman, 1997
- <i>Aedes aegypti</i> e mosca doméstica (vicina e nebula) - 0,625 %	<i>P. peepuloides</i> Roxb.	Índia	Frutos	Éter de petróleo	Srivastava, 1970
- <i>Aedes aegypti</i> - 0,125%	<i>P. peepuloides</i> Roxb.	Índia	Frutos	Éter de petróleo	Srivastava, 1970
- <i>Acanthoscelides obtectus</i> – Conc. variada	<i>P. nigrum</i> L.	Não citado	Frutos	Acetona	Lathrop & Keirstead, 1946
- <i>Bruchus chinensis</i> - 0,46 %; <i>Sitophilus oryzae</i> - 0,18 %	<i>P. longum</i> L.	Índia	Não citada	Óleo essencial	Kokate <i>et al.</i> , 1980
- <i>Callosobruchus maculatus</i> – Conc. não citada	<i>P. nigrum</i> L.	Não citado	Frutos	Acetona	Su & Horvat, 1981
- <i>Ceratetis capitata</i> – Conc. não citada	<i>P. nigrum</i> L.	Egito	Planta inteira	Acetona	Barakat <i>et al.</i> , 1985
- <i>Culex quinquefasciatus</i> - DL ₅₀ 24 ppm	<i>P. cubeba</i> L. f.	Não citado	Frutos	Acetona	Hartzell, 1947
- <i>Culex quinquefasciatus</i> - LD ₅₀ 27 ppm	<i>P. nigrum</i> L.	Não citado	Frutos	Acetona	Hartzell, 1947
- <i>Culex pipiens</i> - 10 µg/mL	<i>P. longum</i> L.	Não citado	Frutos	Óleo essencial	Lee, 2000
- <i>Rhipicephalus appendiculatus</i> - 50 mg/mL	<i>P. acutisleginum</i> C. DC.	Ruanda	Folhas	MeOH	Kalisa, 1985
- <i>Callosobruchus maculatus</i> - 0,037 mg/mL e 0,1 mg/mL	<i>P. guineense</i> Shumach. & Thonn.	Nigéria	Frutos	EtOH (95 %) e Pó	Oji <i>et al.</i> , 1992

- <i>Spodoptera litura</i> – Conc. não citada	<i>P. futokadsura</i> Siebold	Japão	Folhas	Benzeno	Matsui & Munskata, 1975
- <i>Ssitophilus zeamais</i> - 1,25 mg	<i>P. guineense</i> Shumach. & Thonn.	Nigéria	Sementes	Pó	Oji, 1991
- Mosca doméstica - 6 µg		Nigéria	Raízes	Fração cromatográfica	Gbewonyo & Candy, 1992
(Continua)					
Tabela 2 (Continuação)					
- Mosca doméstica - DL ₅₀ 0,27 µg/mL			Raízes	Éter de petróleo	Gbewonyo & Candy, 1992
- <i>Toxocara canis</i> - Conc. não citada	<i>P. nigrum</i> L.	Indonésia	Frutos	Não citado	Kiuchi <i>et al.</i> , 1988
- <i>Callosobruchus chinensis</i> - DL ₅₀ 0,15 e 0,25 ppm	<i>P. nigrum</i> L.	Indonésia	Frutos	Fração cromatográfica	Miyakado <i>et al.</i> , 1983
- <i>Callosobruchus chinensis</i> - ED ₅₀ 1 ppm	<i>P. nigrum</i> L.	Japão	Frutos	EtOH (95%)	Miyakado <i>et al.</i> , 1980
Inotropia					
- Negativa sobre a perfusão cardíaca – 1,0 µg/IC (Coelhos)	<i>P. aurantiacum</i> Wall.			EtOH (95%)	Banerjee & Dandiya, 1967
- Positiva sobre o átrio – 5 µg/IC (Ratos)	<i>P. marginatum</i> Jacq.	Brasil	Folhas	Aquoso quente	D'Angelo <i>et al.</i> , 1997
Metaplasia - 9,40 mg/Kg (IG, Ratos)	<i>P. betle</i> L.	Índia		Aquoso	Sen <i>et al.</i> , 1987
Mitogênica - 9,40 mg/Kg (Ratos)				Aquoso	Sen <i>et al.</i> , 1991
Moluscicida					
- <i>Biomphalaria glabrata</i> – Conc. não citada	<i>P. adumcum</i> L.	Papua-Nova Guiné		Éter de petróleo	Orjala <i>et al.</i> , 1993a,b,c
- <i>B. glabrata</i> – CIM 400 ppm	<i>P. auritum</i> Kunt	Panamá	Ramos	CHCl ₃	Marston <i>et al.</i> , 1996
- <i>B. glabrata</i> - óleo saturado c/ água durante 1 a 5 semanas	<i>P. marginatum</i> Jacq.	Brasil	Folhas	Óleo essencial	Rouquayrol <i>et al.</i> , 1980
- <i>B. glabrata</i> - DL ₁₀₀ 1-10 e 1-20 ppm	<i>P. tuberculatum</i> Jacq.	Brasil		Óleo essencial	Rouquayrol <i>et al.</i> , 1980
- <i>B. glabrata</i> e <i>B. straminea</i> - DL ₁₀₀ 500 ppm				EtOH (95%)	Pinheiro De Sousa & Rouquayrol, 1974
Mutagênica					
- <i>Salmonella typhimurium</i> TA 100 - 2	<i>P. betle</i> L.	Taiwan	Frutos	Fração	Wang & Peng <i>et al.</i> , 1996

mg/placa				alcaloídica	
- <i>S. typhimurium</i> TA 98 - 50 mg/placa		Índia	Folhas	EtOH (95%)	Bagwe et al., 1990
- Conc. não citada (IG, Ratos)	<i>P. betle</i> L.	Índia	Folhas	Suco	Sen et al., 1989
- <i>S. typhimurium</i> TA 98 e 100 - 10 mg/placa (Placa, Agar)	<i>P. nigrum</i> L.	Tailândia	Frutos	Aquoso quente MeOH	Higashimoto et al., 1993
(Continua)					
Tabela 2 (Continuação)					
- <i>S. typhimurium</i> TA 98 - 5 mg/placa		Índia	Sementes	EtOH (95%)	Shashikanth & Hosono, 1986
Neuritogênica - Células PC 12 - 30 µg/mL	<i>P. fulvescens</i> C. DC.	Não citado	Planta inteira	MeOH	Li <i>et al.</i> , 1999
Progestagênico - 500 mg/Kg (VO)	<i>P. betle</i> L.	Índia	Pecíolos	EtOH (95%)	Tewari <i>et al.</i> , 1970
Psicotrópica					
- Conc. Não citada (VO, Adulto humano)	<i>P. methysticum</i> G. Forst.	Não citado	Folhas	Não citado, Aquoso	Cawte, 1985
Relaxante					
- 100 mg/L (Ratas, útero) e - 2,5 mg/L (Rã, músculo esquelético)	<i>P. betle</i> L.	Índia	Folhas	Óleo essencial	Ali & Mehta, 1970
- Conc. não citada (Músculo liso)	<i>P. marginatum</i> Jacq.	Porto Rico	Folhas	Éter	Hoyo de Nunez & jonson, 1943
- ED ₅₀ 22,5 µg/mL (Ratas, útero)	<i>P. methysticum</i> G. Forst.	Havaí	Raízes	Liofilizado	Jamieson <i>et al.</i> , 1989
- 10 µg/mL (Ratas, útero)		Não citado		Aquoso	Buckley et al., 1967
- ED ₅₀ 279 mg/L (Cobaia, traquéia)	<i>P. nigrum</i> L.	Não citado	Não citada	Óleo essencial	Reiter & Brandt, 1985
- Conc. não citada (Ratos, íleo)		Tailândia	Frutos	Não citado	Apisariyakul & Anantasarn, 1984
- 10 mg/mL (Cobaia, íleo)		Bangladesh	Sementes	Aquoso	Chakma <i>et al.</i> , 2001
- Conc. não citada (Ratos, íleo)	<i>P. retrofractum</i> Vahl.	Tailândia	Frutos	Não citado	Apisariyakul, 1984
- Conc. não citada (ratos, íleo)	<i>P. sarmentosum</i> Roxb.		Folhas	Não citado	Apisariyakul, 1984
Repelente de insetos					
- <i>A. octospinosus</i> - Conc. não citada	<i>P. arieianum</i> C. DC.	Costa Rica	Folhas	MeOH-H ₂ O 1:1	Green <i>et al.</i> , 1999
- <i>A. octospinosus</i> - Conc. não citada	<i>P. taboganum</i> C. DC.	Panamá	Folhas	CHCl ₃	Roussis <i>et al.</i> , 1990

- Doses variadas (Gatos)	<i>P. methysticum</i> G. Forst.	Não citado	Caule Raízes	EtOH-H ₂ O (1:1)	Hoover <i>et al.</i> , 1962
--------------------------	---------------------------------	------------	-----------------	-----------------------------	-----------------------------

Vasodilatador

- 3,3 mL/L (Ratos)	<i>P. auritum</i> Kunt	Jamaica	Folhas, Caule	EtOH (95%)	Feng <i>et al.</i> , 1962
- Dose não citada (Coelhos, artéria)	<i>P. longum</i> L.	Japão	Frutos	AcOEt	Shoji <i>et al.</i> , 1986

(*Continua*)

Tabela 2 (*Continuação*)

Vermicida

- <i>Ascaris gali</i> - Dose não citada	<i>P. betle</i> L.	Índia	Folhas	Óleo essencial	Shilaskar & Parasar, 1985
- <i>Ascaris lumbricoides</i> - 1mg/L	<i>P. betle</i> L.	Índia	Folhas	Óleo essencial	Ali & Mehta, 1970
- <i>Ascaris lumbricoides</i> - 0,002 %	<i>P. longum</i> L.	Sri Lanka	Frutos, Raízes	Óleo essencial	D'Cruz <i>et al.</i> , 1980
- <i>Ascaris lumbricoides</i> - 10 mg/mL	<i>P. longum</i> L.	Índia	Sementes	Aquoso	Krishnakumari & Majumder, 1960
- <i>A. lumbricoides</i> e <i>Ancylostoma duodenale</i> - 1 a 2 mg (VO, Adulto humano)	<i>P. longum</i> L.	Índia	Não citada	Não citado	Tyagi <i>et al.</i> , 1978
- <i>Entamoeba histolytica</i> - 125 µg/mL	<i>P. boehmerifolium</i> Wall.		Partes aéreas	EtOH-H ₂ O (1:1)	Bhakuni <i>et al.</i> , 1988
- <i>E. histolytica</i> - 900 e 1000 µg/Kg (IG)	<i>P. longum</i> L.	Índia	Frutos	EtOH (95 %)	Ghoshal <i>et al.</i> , 1996
- <i>Entamoeba</i> - 1000 µg/mL	<i>P. schmidtii</i> Hook. F.	Índia	Partes aéreas	EtOH (95 %)	Joshi <i>et al.</i> , 1990
- <i>Entamoeba histolytica</i> - 1000 µg/mL	<i>P. longum</i> L.	Tailândia	Raízes	EtOH (95 %)	Ghoshal & Lakshmi, 2002
- <i>Entamoeba histolytica</i> - 0,5 µL/mL	<i>P. longum</i> L.	Não citado	Não citada	Óleo essencial	De Blasi <i>et al.</i> , 1990
- <i>Giardia lamblia</i> -1000 e 500 µg/mL	<i>P. longum</i> L.	Sri Lanka	Frutos, Raízes	Hexano, CH ₂ Cl ₂ , BuOH	Tripathi <i>et al.</i> , 1999
- <i>Giardia lamblia</i> - 250, 125 e 125 µg/mL	<i>P. longum</i> L.			Aquoso, AcOEt,	Tripathi <i>et al.</i> , 1999
- <i>Giardia lamblia</i> - 900 mg/Kg (Ratos)	<i>P. longum</i> L.			AcOEt, Aquoso, CH ₂ Cl ₂ , BuOH	Tripathi <i>et al.</i> , 1999
- <i>Giardia lamblia</i> - 1 mg/pessoa (VO)	<i>P. longum</i> L.	Tailândia	Raízes	Pó	Dubey & Saxena, 1997
- <i>Leishmania mexicana</i> - 250 mg/Kg	<i>P. longum</i> L.	Tailândia		MeOH	Sawangaroen <i>et al.</i> , 2004
- Parasito e conc. não citados	<i>P. retrofractum</i> Vahl.	Índia	Sementes	Não citado	Feroz <i>et al.</i> , 1982
- <i>S. mansoni</i> - 10 mg/Kg	<i>P. marginatum</i> Jacq.	Brasil	Não citada	Óleo essencial	Frischkorn <i>et al.</i> , 1978
- <i>Taenia solium</i> e <i>Bunostomum</i>	<i>P. betle</i> L.	Índia	Raízes	Óleo essencial	Garg & Jain, 1992

trigonocephalum - 1%					
- <i>Toxocara canis</i> - 1 mg/mL	<i>P. longum</i> L.	Japão	Frutos	Aquoso, MeOH	Kiuchi <i>et al.</i> , 1990
		Sri Lanka	Frutos	Decocto	Kiuchi <i>et al.</i> , 1989
- <i>Toxocara canis</i> - 10 mg/mL	<i>P. retrofractum</i> Vahl.	Sri Lanka	Raízes	Decocto	Kiuchi <i>et al.</i> , 1989
- <i>Toxocara canis</i> - 1 e 10 mg/mL		Bangladesh	Caule	Aquoso, MeOH	Ali <i>et al.</i> , 1991

4. *Experimental*

4. *Experimental*

4.1 *Solventes e Reagentes*

Os solventes utilizados neste estudo foram C₃H₆O, C₆H₁₄ e EtOH (preparação dos extratos brutos); C₆H₁₄, CHCl₃ e AcOEt (partições líquido-líquido), NaOH 4 % e HCl (tratamento ácido-base), C₂H₄O₂, CHCl₃, CH₂Cl₂, AcOEt e MeOH (filtrações e cromatografias em coluna e em Sephadex LH-20), PA ou destilados no próprio laboratório. Os reagentes utilizados foram: Dragendorff e sulfato cérico.

4.2 *Materiais para os diferentes ensaios*

a) **Ensaio antimicrobianos *in vitro* e *in vivo***

Os principais materiais utilizados nesses ensaios foram: pipetas automáticas de volumes variáveis (Eppendorf do Brasil, Indústria e Comércio Ltda, São Paulo/SP/Brasil), ponteiros de polietileno, placas de Petri descartáveis de 9 cm de diâmetro, microplacas de 96 orifícios em poliestireno de fundo chato com tampa estéril (TPP[®], Techno Plastic Products AG, Trasadingen/Switzerland), lamparina, tubos de ensaios, recipientes para biópsia, Erlenmeyers, béqueres e provetas de volumes variados (Vidrolabor, Astra do Brasil Indústria de Vidros Ltda, Ferraz de Vasconcelos/SP/Brasil), pinça anatômica, hemostática, de campo, afastadores e cabos de bisturi de tamanhos variados, caixa cirúrgica, cubas redonda e rim de tamanhos variados (Jedmed Instrument Company, St. Louis/MO/USA), alças de platina, *punch* de números 9 e 3 (Kai Industries, Co., Ltd., Gifu/Japan), lâminas de bisturi nº 15 (Solidor, Lamedid Comercial e Serviços Ltda, Barueri/SP/Brasil), máscaras, gorro e aventais cirúrgicos, luvas de procedimento e estéreis, esparadrapo, ataduras de crepe, algodão, *swabs*, gazes estéreis, compressas e campos cirúrgicos (adquiridos da Starmed Artigos Médicos e Hospitalares Ltda, Curitiba/PR/Brasil), meios de cultivos Ágar Müller-Hinton, Brain-Heart Infusion Broth e Sabouraud Dextrose (Acumedia Manufacturers Inc., MI/USA), discos para antibiograma (DME, Diagnósticos Médicos Especializados, Araçatuba/SP/Brasil), papel Whatman nº 1, soro fisiológico 0,9% (Equiplex Indústria Farmacêutica Ltda, São Paulo/SP/Brasil), propilenoglicol 10% e creme não iônico, que consiste em uma base pronta, composta de ácidos graxos, emulsionantes não-iônicos e emoliente (adquiridos da Farmácia Homeopática Natural, Maceió/AL), seringas (Becton Dickinson and Company, New Jersey/USA), lâminas e lamínulas para microscopia (Perfecta Ind. e Com. de Lâminas de

Vidro Ltda, São Paulo/SP/Brasil), paquímetro mecânico (Starret Company, Athol/MA/USA) gaiolas para ratos de polipropileno (Sogorb, Indústria e Comércio Ltda, São Paulo/SP/Brasil).

b) Investigação Fitoquímica

Nesta etapa foram utilizados: funil de separação, colunas cromatográficas em gel de sílica G 60 [70 – 230 mesh ASTM e G 60 para pressão 230 – 400 mesh (Merck Chemicals KGaA, Darmstadt, Alemanha)] e em gel de Sephadex LH-20 (Pharmacia Fine Chemicals Inc., Piscataway/NJ/USA), de tamanhos e diâmetros variados, bem como placas de vidro e alumínio em gel de sílica GF₂₅₄ (Merck).

c) Teste de Toxicidade

Neste ensaio foram utilizadas as microplacas de 96 e de 12 orifícios em poliestireno de fundo chato com tampa (TPP[®], Techno Plastic Products AG, Trasadingen/Switzerland), luminária (Force Line Indústria e Comércio Ltda., São Paulo/SP/Brasil), ovos de *Artemia salina* Leach (adquiridos da Sea Word Comercial Ltda., Maceió/AL/Brasil), recipientes plásticos 12 x 8 cm, água do mar fresca e livre de poluição, pipetas automáticas de volumes variáveis (Eppendorf), ponteiros de polietileno, placas de Petri descartáveis de 9 cm de diâmetro (TPP[®], Techno Plastic Products AG, Trasadingen/ Switzerland), solução de Timol 0,01% (Azul de Timol solução 0,04%, Panreac Química, S.A.U, Barcelona/Espanha), e microscópio estereoscópico binocular (Coleman Equipamentos para Laboratório Com. e Imp. Ltda. - Santo André - SP).

d) Bioautografia

Nesse ensaio foram utilizados placas de alumínio em gel de sílica G60 F₂₅₄ medindo 5,0 x 2,5 cm, placas de Petri de 9 cm de diâmetro, pipeta automática de 1-20 µL com ponteiros, meios de cultivo Agar Muller Hinton ou Agar Sabouroud Dextrose, borrifador com revelador [2,3,5 trifênil cloreto de tetrazólio - 20 mg/mL (Sigma – Aldrich Corporation, St. Louis/MO/USA), amostras das substâncias a serem testadas e suspensão bacteriana ou antifúngica padronizada segundo a escala de MacFarland.

4.3 Equipamentos

Os principais equipamentos utilizados foram: evaporadores rotativos (Ika/Werke GmbH & Co. KG., Danbure, CT/USA), autoclave vertical e estufa bacteriológica (Fabbe –

Primar Industrial Ltda, São Paulo/SP/Brasil), capela de fluxo laminar (Veco do Brasil Indústria e Comércio de Equipamentos Sociedade Ltda, Campinas/SP/Brasil), balança analítica (Acculab Industrial Scales, London/England), placa aquecedora (Termolyne Corporation, Dubuque/IA/USA), banho de ultra-som (Bransom Ultrasonics Corporation, Danbure/CT/USA), extratores cônicos de vidro e de polietileno e capela de exaustão (Permutation EJ. Krieger e Cia Ltda., Curitiba/PR/Brasil), espectrômetro [Bruker Avance 400 (RMN ¹H: 400 MHz e ¹³C: 100 MHz - referência interna utilizada foi o solvente usado na dissolução das amostras ou TMS) Bruker Corporation, Billerica, MA/USA], espectrofotômetro (Fabbe - Primar) e Gabinete com lâmpada UV (Spectroline, Spectronics Manufacturers Corporation, NY/USA).

4.4 Meios de Cultivos e Soluções Utilizadas nos Ensaio Antimicrobianos

4.4.1 Meios de cultivos (composição e preparo)

a) Brain-Heart Infusion Broth (BHI, Acumedia): Meio líquido de enriquecimento utilizado para a propagação dos microrganismos durante o preparo dos inóculos. Segundo o fabricante, este meio é composto de Infusão de cérebro e coração (17,5 g), Gelatina de digestão enzimática (10,0 g), Dextrose (2,0 g), Cloreto de sódio (5,0 g) e Fosfato de sódio dibásico (25,0 g). Este foi preparado diluindo-se o meio em pó (37,0 g), sob agitação manual com auxílio de um bastão de vidro, em quantidade suficiente (q.s.p.) para um litro de água destilada. Após completa dissolução, distribuiu-se em Erlenmeyers, vedados com rolhas de algodão e gaze protegidas com papel alumínio. Após esterilização em autoclave a 121 °C durante 15 minutos (pH final de 7,4 ± 0,2 a 25 °C), armazenou-se sob refrigeração a uma temperatura de 4-8 °C, até o momento do uso. Posteriormente, a cada bateria de testes o meio foi redistribuído em tubos de ensaios (15 x 100 mm), esterilizado para receber o inóculo inativo e propagá-lo.

b) Ágar Mueller-Hinton (AMH, Acumedia) - Meio sólido preconizado para o teste de susceptibilidade antibacteriana (*Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*), que apresenta boa reprodutibilidade nos testes e suporta o crescimento da maioria dos microrganismos (NCCLS¹, 2003). Segundo o fabricante, este meio é composto por: Extrato de carne (2,0 g), Caseína de ácido hidrolizado (17,5 g), Amido (1,5 g) e Ágar (17,0 g). Seu preparo consistiu em diluir o meio em pó (38,0 g), sob agitação manual com

¹ National Committee for Clinical Laboratory Standards

auxílio de um bastão de vidro, q.s.p. um litro de água destilada. Após completa dissolução, colocou-se em Erlenmeyers vedados com rolhas de algodão e gaze protegidas com papel alumínio. A seguir, esterilizou-se em autoclave a 121 °C durante 15 minutos e o pH final foi ajustado para $7,3 \pm 0,1$ a 25 °C. Em seguida, distribuiu-se (cerca de 25 mL) em placas de Petri (9 cm de diâmetro) a uma temperatura de 45 °C (NCCLS, 2003).

c) Agar Sabouraud Dextrose (ASD, Acumedia) - Meio sólido utilizado para a propagação do fungo *Candida albicans*. Segundo o fabricante, este meio contém Caseína de digestão enzimática (5,0 g), Tecido animal de digestão enzimática (5,0 g), Dextrose (40,0 g) e Ágar (15,0 g). Seu preparo foi feito diluindo-se o meio (65,0 g), sob agitação manual com auxílio de um bastão de vidro, em q.s.p. um litro de água destilada. Após completa dissolução, distribuiu-se em Erlenmeyers, vedados com rolhas de algodão e gaze protegidas com papel alumínio. Após esterilização em autoclave a 121 °C durante 15 minutos, o pH final foi ajustado para $5,6 \pm 0,2$ a 25 °C. A seguir, cerca de 25 mL foi distribuído em placas de Petri (9 cm de diâmetro) a uma temperatura de 45 °C.

4.4.2 Soluções

a) Salina Tamponada - Utilizada para diluir o inóculo visando obter o equivalente a $1,5 \times 10^6$ Unidades Formadoras de Colônias (UFC)/mL (NCCLS, 2003). Esta solução foi preparada utilizando os sais: Cloreto de sódio (5,61 g), Cloreto de potássio (0,11 g), Fosfato de potássio monobásico (1,0 g) e Fosfato dibásico de sódio (2,0 g) (Manzone & Mario, 1993). Sob agitação manual com auxílio de um bastão de vidro, todos os componentes foram dissolvidos em 1 litro de água destilada. Após completa dissolução, o meio foi vertido em um Erlenmeyer, o qual foi vedado com rolha de algodão com gaze protegida com papel alumínio. Após esterilização em autoclave a 121°C durante 15 minutos e ajuste do pH ($7,4 \pm 0,2$ a 25 °C), armazenou-se em refrigerador a uma temperatura de 4-8 °C, até o momento do uso. Posteriormente, a cada bateria de testes a solução foi redistribuída em Erlenmeyer de 50 mL e, novamente esterilizada, para receber os inóculos ativos e ajustar a $1,5 \times 10^6$ UFC/mL, constituindo assim a solução microbiana para semeadura das placas testes.

a) Solução de Sulfato de Bário da Escala de MacFarland – Foram utilizadas soluções padrão de turbidez de sulfato de bário ($BaSO_4$), denominada Escala de MacFarland (Figura 9, p. 98). Esta escala é utilizada para padronização da densidade do

inóculo dos microrganismos para testes *in vitro*, e ajuste do número de UFC/mL. A escala foi preparada adicionando-se em 10 tubos de ensaio, sequencialmente, quantidades crescentes de solução de cloreto de bário (BaCl_2) 1% (0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,6; 0,7; 0,8; 0,9; 1,0 mL) e ácido sulfúrico (H_2SO_4) 1% q.s.p. 10 mL. Considera-se que as densidades resultantes correspondem respectivamente a:

Tubo 1 – $1,5 \times 10^5$ UFC/mL	Tubo 6 – $3,0 \times 10^6$ UFC/mL
Tubo 2 – $3,0 \times 10^5$ UFC/mL	Tubo 7 – $6,0 \times 10^6$ UFC/mL
Tubo 3 – $6,0 \times 10^5$ UFC/mL	Tubo 8 – $9,0 \times 10^6$ UFC/mL
Tubo 4 – $9,0 \times 10^5$ UFC/mL	Tubo 9 – $1,5 \times 10^7$ UFC/mL
Tubo 5 – $1,5 \times 10^6$ UFC/mL	Tubo 10 – $3,0 \times 10^7$ UFC/mL

Para o presente estudo selecionou-se o tubo nº 5, que corresponde a $1,5 \times 10^6$ UFC/mL na escala de MacFarland (Silva, 1999).

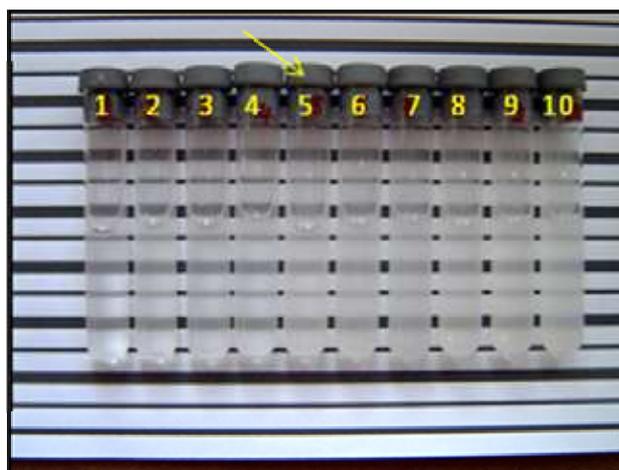


Figura 9. Escala de MacFarland. Destaque do tubo 5, equivalente a $1,5 \times 10^6$ UFC/mL

4.5 Seleção, Coleta e Identificação dos Materiais Vegetais

Diferentes partes (caule, raízes, cascas, folhas, sementes, frutos e planta inteira) de sete espécies vegetais, pertencentes a cinco famílias distintas, com relato na literatura como antimicrobianos e/ou cicatrizantes, ou ainda, relato de triagens preliminares cujos resultados indicaram as referidas atividades, foram selecionadas e coletadas em diferentes localidades do Estado de Alagoas (Quadro 2, p. 99). A identificação dessas espécies foi feita pela botânica ***Rosângela Pereira de Lyra Lemos*** do Instituto do Meio Ambiente do Estado de Alagoas (IMA), onde exsiccatas dos referidos materiais encontram-se catalogadas.

Quadro 2. Espécies vegetais selecionadas e coletadas em diferentes locais do Estado de Alagoas para estudo.

Família	Espécie	Local e Data da Coleta ^a	Nº MAC ^b
Bignoniaceae	<i>Zeyheria tuberculosa</i> (Vell.) Bur.	Fazenda Camarão: Município de Boca da Mata (junho/2005).	23.819
Capparaceae	<i>Capparis cynophallophora</i> L <i>Capparis spinosa</i> Jacq	APA- Santa Rita (Mucuri), Marechal Deodoro (junho/ 2005).	23.829 23.841
Fabaceae	<i>Swatzia apetala</i> Raddi.	APA - Serra da Nacéia, Boca da Mata (junho/2005).	22.924
Piperaceae	<i>Piper hayneanum</i> C.DC. <i>Piper marginatum</i> Jacq.	APA - Fazenda Lamarão, Pilar (março/2005).	22.138 22.131
Portulacaceae	<i>Portulaca</i> cf. <i>elation</i> Mart. ex. Rohrb.	Fazenda Camarão, Município de Boca da Mata (junho/2005).	23.816

^aAPA - Área de Proteção Ambiental; ^b Número de Catálogo no Herbário do IMA/AL.

4.6 Preparação dos Extratos, Frações de Partição ou de Tratamento Ácido-base

Os materiais vegetais (folhas, caules, raízes, sementes, pericarpos das sementes, plantas inteiras e cascas do caule, dos frutos e das raízes), após secagem à temperatura ambiente e trituração, foram individualmente extraídos, através de maceração, com C₆H₁₄ ou C₃H₆O e/ou EtOH 90 %. Após concentração das soluções em evaporador rotativo e secagem a temperatura ambiente, obteve-se um total de 29 extratos brutos (Quadro 3, p. 100). Alguns desses extratos foram suspensos em solução MeOH-H₂O (9:1 para o extrato em C₆H₁₄ das cascas dos frutos de *S. apetala* ou 3:2 para os demais extratos) e extraídos sucessivamente com C₆H₁₄, CHCl₃ e AcOEt, ou foram tratados com base (Figura 10, p. 101; Quadro 4, p. 102).

Quadro 3. Massas dos extratos brutos de diferentes plantas estudadas obtidos por maceração.

Espécies	Parte da Planta	Serragem (g)	Ext. em C ₆ H ₁₄ (g)	Ext. em C ₃ H ₆ O (g)	Ext. em EtOH (g)
<i>Capparis cynophallophora</i>	Folhas	2300	-	77,3	160,3
	Raízes	1600	-	-	49,2
	Cascas (Raízes)	300	-	-	17,1
	Caule	5000	-	-	122,6
	Cascas (Caule)	600	-	-	9,1
<i>C. spinosa</i>	Planta inteira	393,10	7,24	-	19,2
<i>Piper marginatum</i>	Folhas	603,44	20,53	-	49,02
	Raízes	4090	-	-	301,03
	Caule	1650	-	-	257,74
<i>P. hayneanum</i>	Folhas	119,38	4,67	-	10,31
	Raízes	129,66	-	-	10,20
	Caule	233,15	-	-	12,91
<i>Portulaca cf. elation</i>	Planta inteira	1750	7,02	-	68,7
<i>Swatzia apetala</i>	Cascas (Frutos)	220,17	2,39	-	45,44
	Sementes	156,05	0,35	-	50,25
	Pericarpo (Sementes)	63,27	1,09	-	13,01
	Cascas (Caule)	496,15	-	-	32,71
	Caule	3300	-	-	217,22
	Folhas	403,10	-	15,4	31,2
	<i>Zeheria tuberculosa</i>	Caule	900	-	-
Total	29 Extratos				

4.6.1. Metodologia utilizada no tratamento ácido-base

Os extratos em C₆H₁₄ das folhas de *P. hayneanum* (4,2 g) e do caule de *Z. tuberculosa* (2,9 g) foram suspensos, sob agitação durante duas horas, em solução aquosa de NaOH a 2 % e extraídos com C₆H₁₄. Após acidificação da fração aquosa básica com HCl (pH ≈ 2) as soluções aquosas ácidas foram novamente extraídas com C₆H₁₄ e concentradas em evaporador rotatório para obtenção dos constituintes químicos de caráter ácido (Quadro 4, p. 102).

Posteriormente, todos os extratos brutos obtidos, bem como as frações provenientes de partição ou de tratamento ácido-base de onze desses extratos, foram submetidos a ensaios preliminares antimicrobianos, pelo método de difusão em disco (Bauer *et al.*, 1966).

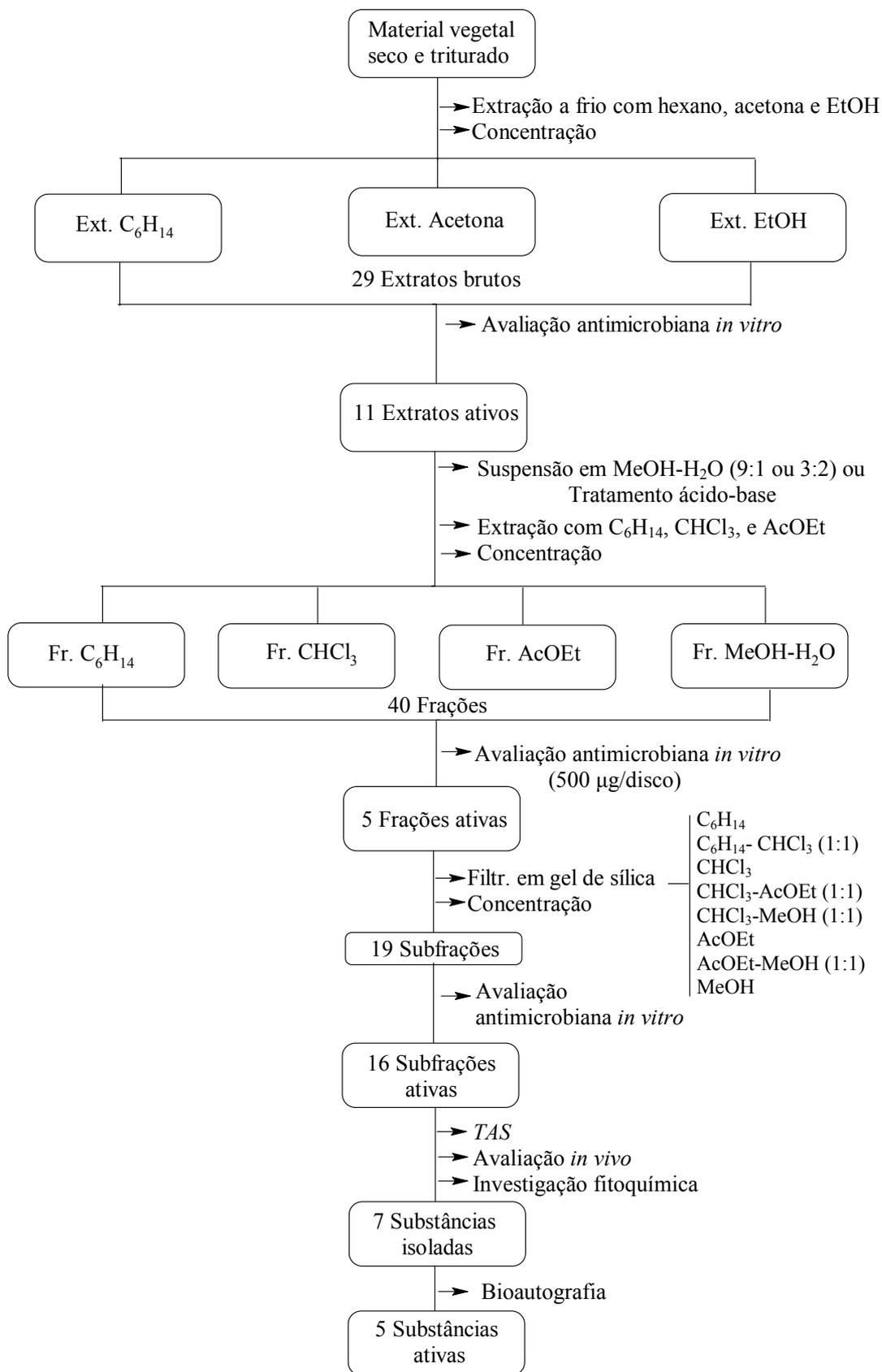


Figura 10. Esquema geral do procedimento experimental efetuado na preparação de extratos, frações e subfrações das espécies vegetais selecionadas.

Quadro 4. Massas das frações provenientes de partições e de tratamento ácido-base.

Espécies	Extrato Bruto - Parte da Planta	Fração (g)					
		Neutra	Ácida	Em C ₆ H ₁₄	Em CHCl ₃	Em AcOEt	Em MeOH-H ₂ O
<i>Piper hayneanum</i>	C ₆ H ₁₄ - Folhas	2,8	1,4	-	-	-	-
	EtOH - Folhas	-	-	1,9	2,4	0,3	5,2
	EtOH - Raízes	-	-	0,4	7,6	0,7	0,7
	EtOH - Caule	-	-	1,3	9,4	0,2	1,5
<i>P. marginatum</i>	EtOH - Folhas	-	-	25,8	6,0	4,4	9,1
	EtOH - Raízes	-	-	25,4	30,8	15,1	189,0
	EtOH - Caule	-	-	17,6	13,2	6,4	151,0
<i>Swatzia apetala</i>	C ₆ H ₁₄ - Cascas (Frutos)	-	-	0,5	-	-	0,4
	EtOH - Cascas (Caule)	-	-	0,6	1,8	3,0	22,8
	EtOH - Caule	-	-	9,7	9,4	7,4	171,6
<i>Zeheria tuberculosa</i>	C ₆ H ₁₄ - Caule	1,4	1,42	-	-	-	-
	EtOH - Caule	-	-	2,9*	2,6	0,6	1,5

* Submetido a tratamento ácido-base

Das quarenta frações provenientes de partições e do tratamento ácido-base cinco foram promissoras nos ensaios antimicrobianos. Estas frações foram filtradas em gel de sílica (70-230 mesh) com solventes de diferentes polaridades resultando em dezenove subfrações, que foram avaliadas quanto a atividade antimicrobiana, das quais, dezesseis foram promissoras (Quadro 5, p. 102).

Quadro 5. Massas das subfrações provenientes de filtrações em gel de sílica.

Subfrações	Espécie/Fração/Parte da Planta (g)			
	<i>Piper hayneanum</i>			<i>Zeheria tuberculosa</i>
	CHCl ₃ (Caule)	CHCl ₃ (Raízes)	AcOEt (Raízes)	CHCl ₃ (Caule)
C ₆ H ₁₄ -CHCl ₃ 1:1		1,18		0,55
C ₆ H ₁₄ -AcOEt 1:1			0,10	
CHCl ₃	1,10	0,55		0,44
CHCl ₃ -AcOEt 1:1	5,10 *			
CHCl ₃ -MeOH 1:1		6,96 *		1,65
AcOEt	0,70		0,25	
AcOEt-MeOH 1:1			0,31	
MeOH	2,20	0,05	0,20	0,02

* Subfrações submetidas a ensaios antimicrobianos *in vivo*.

4.7 Procedimento Experimental dos Ensaio Antimicrobianos *in vitro*

Os ensaios antimicrobianos foram realizados em colaboração com a **Prof^a Dr^a Vânia Sousa Andrade**, do Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de Alagoas.

4.7.1 Microrganismos utilizados

Os microrganismos utilizados [*Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) e *Candida albicans* (ATCC 10231)] foram adquiridos da empresa NEWPROO - Produtos para Laboratório, Pinhais/PR, Brasil, e foram padronizados e distribuídos pelo American Type Cell Collection (ATCC, Manassas/VA/USA). As amostras foram mantidas em refrigerador com temperatura entre 4 a 8 ° C até o momento do uso.

4.7.2 Preparo do inóculo contendo os microorganismos

Em um tubo de ensaio contendo cultivo recente (máximo 24 h) preparou-se o inóculo a partir de uma suspensão de cada microrganismo em solução salina tamponada. A concentração do inóculo foi ajustada de modo a se obter $1,5 \times 10^6$ UFC/mL. Para tanto, comparou-se a turbidez da suspensão com o tubo 5 da escala de MacFarland (Figura 9, p.98). Após o ajuste, o inóculo foi distribuído em placas de Petri previamente preparadas com meio de cultivo (item 4.4.1, p. 96) com auxílio de um *swab* de algodão estéril (Figura 11, p. 103).

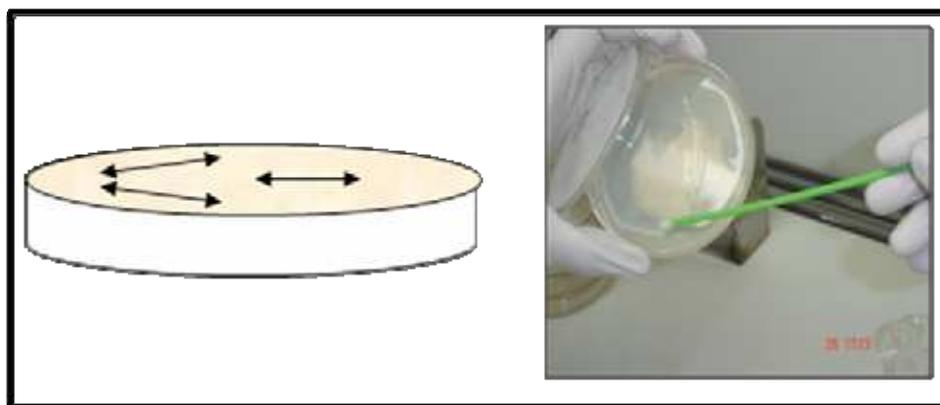


Figura 11. Distribuição do inóculo dos microrganismos na placa de Petri utilizando *swab*

Para retirar o excesso de material, o *swab* foi pressionado acima do nível do líquido contra a parede interna do tubo contendo o inóculo. As superfícies de cada placa de Ágar Müeller-Hinton (bactérias) e Sabouraud Dextrose (*C. albicans*) foram inoculadas esfregando-

se o *swab* em toda a superfície do Ágar. Com o objetivo de assegurar a distribuição uniforme do microrganismo, o procedimento foi repetido duas vezes girando a placa aproximadamente 60° a cada vez (NCCLS, 2003).

4.7.3 Preparação dos extratos para os ensaios antimicrobianos *in vitro*

As amostras testes foram dissolvidas, de acordo com a sua polaridade em MeOH ou CHCl₃, nas concentrações de 50 mg/mL para os extratos brutos e 25 mg/mL para as frações oriundas das partições. Para tanto, discos estéreis de papel filtro Whatman nº 1, com 6 mm de diâmetro, foram colocados em microplacas estéreis de 96 orifícios de fundo chato com tampa, e impregnados com 20 µL da solução estoque das amostras testes (Figura 12, p. 104). As concentrações testes foram de 1000 µg/disco (extratos brutos) e de 500 µg/disco (frações oriundas das partições e do tratamento ácido-base). Após secos em capela de fluxo laminar, à temperatura ambiente, os discos contendo os extratos/frações testes foram mantidos sob refrigeração ($\approx 4\text{ }^{\circ}\text{C}$) até o momento do uso.



Figura 12. Microplaca de 96 orifícios utilizada para depositar os discos de papel de filtro impregnados com os extratos/frações dispostos em microplacas.

4.7.4 Avaliação da susceptibilidade dos microrganismos a antibióticos e antifúngicos

A susceptibilidade dos microrganismos, utilizados nos testes, a antibióticos ou antifúngicos de uso corrente na prática clínica, foi avaliada através do método de difusão em disco, conforme descrito no item 4.7.5 (p. 105). A sensibilidade ou resistência de cada microrganismo frente aos antibióticos ou aos antifúngicos (Quadro 6, p. 105) foi determinada através da medida do diâmetro dos halos de inibição em experimentos feitos com três repetições utilizando-se um controle negativo impregnado com o solvente usado na

dissolução dos extratos/frações (MeOH ou CHCl₃ e comparados com os padrões determinados pelo) National Committee for Clinical Laboratory Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests (NCCLS, 2005).

Quadro 6. Fármacos utilizados para avaliação da susceptibilidade segundo microrganismo.

Microrganismo	Fármaco			
<i>Staphylococcus aureus</i>	Vancomicina 30µg/disco	Gentamicina 10 µg/disco	Oxacilin 1 µg/disco	Rifampicina 5 µg/disco
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Ciprofloxacina 5 µg/disco	Amicacina 30 µg/disco,	Ampicilina 10 µg/disco	Ceftriaxona 30 µg/disco
<i>Candida albicans</i>	Miconazol 50 µg/disco	Cetoconazol 50 µg/disco	Fluconazol 25 µg/disco	Nistatina 100 UI/disco

4.7.5 *Aquisição e preparo dos controles para os ensaios antimicrobianos in vitro*

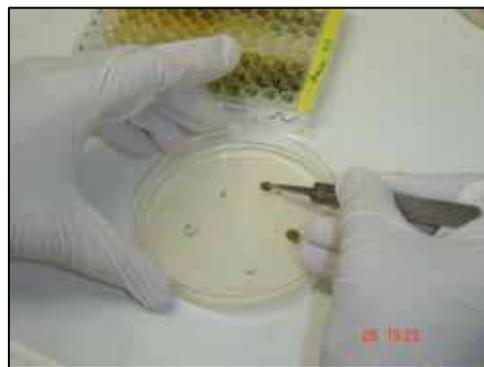
Discos padronizados para antibiograma (6 mm de diâmetro) (Figura 13A, p. 106), foram utilizados como controle positivo nos ensaios com bactérias [*S. aureus* (vancomicina - 30 µg/disco) e para *P. aeruginosa* (ciprofloxacina - 5 µg/disco)]. No caso do fungo *C. albicans*, os discos usados como controles positivos foram confeccionados artesanalmente, seguindo os mesmos padrões do antibiograma, impregnados com 20 µL de miconazol (50 µg/disco). Em todos os ensaios, o controle negativo também foi confeccionado artesanalmente e os discos impregnados com o solvente utilizado na dissolução das amostras (Carpinella *et al.*, 1999; NCCLS, 2005). Todos os discos foram mantidos em refrigerador a uma temperatura entre 4 e 8°C até o momento do uso.

4.7.6 *Ensaio antimicrobianos in vitro*

Os experimentos foram realizados em triplicata, de acordo com o método de difusão em disco descrito por Kirby-Bauer (Bauer *et al.*, 1966). Para tanto, cinco discos (três para os extratos, um para o controle positivo e outro para o negativo), levemente pressionados contra a superfície do meio de cultivo para garantir o contato total com os microrganismos, foram igualmente distribuídos em placas de Petri (90 mm de diâmetro semeadas previamente com 1,5 x 10⁶ UFC/mL) (Figura 13B, p. 106). O material foi deixado à temperatura ambiente durante uma hora para difusão dos extratos em Ágar (Rios *et al.*, 1988). Após este período, as placas foram invertidas e incubadas a 35 °C durante 24 h (bactérias), 28 °C durante 48 h (leveduras) e a 72-96 h (micélios do fungo) (Chandrasekaran & Venkatesalu, 2004).



A



B

Figura 13. Discos de antibiograma (A) e distribuição dos discos impregnados em placa de Petri (B).

4.7.7 *Leitura das placas e interpretação dos resultados*

A avaliação da atividade inibitória do crescimento dos microrganismos foi feita através da mensuração, com auxílio de um paquímetro, do halo de inibição (mm), ou seja, área sem crescimento detectável a olho nu. O halo de inibição induzido de cada amostra teste foi comparado com os obtidos pela média dos controles positivos (vancomicina, ciprofloxacina e miconazol). A percentagem de inibição do crescimento dos microrganismos foi calculada de acordo com a seguinte fórmula:

$$\% \text{ de inibição} = \frac{\text{Média do halo de inibição da amostra}}{\text{Média do halo de inibição do controle}} \times 100$$

Nos ensaios preliminares *in vitro* com os extratos brutos e as frações da partição ou do tratamento ácido-base utilizou-se como base para avaliação da atividade os critérios adotados por Caceres *et al.* (1998):

- a) Zona de inibição $\geq 75\%$ → ativo;
- b) Zona de inibição $\geq 25\%$ e $< 75\%$ → moderadamente ativo;
- c) Zona de inibição $< 25\%$ → inativo.

4.7.8 *Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)*

Os extratos brutos, frações e subfrações que apresentaram resultados promissores (ativos ou moderadamente ativos) tiveram a CIM determinada. Esta foi definida como a menor concentração na qual o halo de inibição detectável foi observado, isto é, zona de

inibição clara de pelo menos 1-2 mm em torno do disco impregnado com as amostras testes (Fyrhrquist *et al.*, 2002; Chandrasekaran & Venkatesalu, 2004).

A CIM foi determinada em discos impregnados com 20 µL de soluções das amostras dissolvidas em MeOH, em concentrações obtidas em diluições seriadas (extratos brutos: 1000, 750, 500, 450, 350, 250 e 125 µg/disco, e para frações: 500, 450, 350, 250, 125, 62,5, 31,2 e 15,6 µg/disco). As cinco frações oriundas de duas das sete espécies vegetais avaliadas apresentaram os valores de CIM mais elevados [CHCl₃ (caule e raízes) e AcOEt (raízes) de *P. hayneanum*); C₆H₁₄ e CHCl₃ (caule de *Z. tuberculosa*)], foram filtradas.

Para avaliação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos extratos brutos, frações e subfrações, os critérios estabelecidos foram adaptados de Aligiannis *et al.* (2001) e de Pretto *et al.* (2004), respectivamente:

- a) **Extratos Brutos**: CIM < 510 µg/disco → ativo; b) CIM = 510 µg/disco e < a 810 µg/disco → moderadamente ativo; c) CIM > 810 µg/disco → inativo;
- b) **Frações e Subfrações**: CIM < 100 µg/disco → ativo; b) CIM = 100 µg/disco e < 300 µg/disco → moderadamente ativo; c) CIM > 300 µg/disco → inativo.

As subfrações resultantes (Quadro 5, p. 102) tiveram a CIM determinada, em concentrações que variaram de 250 a 1 µg/disco, e o grau de toxicidade avaliado através do teste da *Artemia salina* Leach (*TAS*).

4.7.9 Toxicidade frente a *Artemia salina* Leach (*TAS*)

Inúmeros trabalhos determinam a toxicidade de extratos vegetais ou de substâncias com diferentes atividades biológicas, através do bioensaio com *A. salina* (Artemiidae), um microcrustáceo conhecido popularmente como camarão de água salgada (Figura 14A, p. 108) (Meyer *et al.*, 1992; McLaughlin, 1991; Solis, *et al.*, 1992; Guerra, 2001). A *TAS* é uma das ferramentas mais usadas pelo baixo custo, fácil execução, apresentar boa reprodutibilidade, ser uma técnica não asséptica e fornecer resultados rápidos (Siqueira *et al.*, 2001; Cuadra *et al.*, 2005). De acordo com Alkofahi *et al.* (1989), extratos ou substâncias que apresentam alta toxicidade frente a *A. salina* possuem reduzido valor terapêutico, porém deverão ser avaliados quanto ao potencial antitumoral, inseticida ou pesticida antes do descarte.



Figura 14. Larva de *A. salina* (10X) – (A)* e recipiente para eclosão de ovos (B).

*Fonte: URL: <http://www.acuariolasmercedes.com/artemia-salina>

4.7.9.1 *Ensaio biológico preliminar*

As larvas de *Artemia* foram obtidas a partir de 50mg de ovos depositados por 24 horas sob iluminação artificial, em recipiente plástico (15 x 9 x 5 cm) contendo água do mar (Figura 14B, p.108). Após eclosão as larvas de primeiro instar foram retiradas com o auxílio de uma pipeta automática e transferidas para placas de Petri (6 cm de diâmetro) contendo água do mar. As larvas foram novamente incubadas por 24 horas até atingirem o segundo instar, ideal para a realização da *TAS*.

De cada subfração que apresentou a CIM superior a 75% foi preparada uma solução estoque em água do mar contendo 1% de DMSO (3000 µg/mL) (Caceres *et al.*, 1998). A partir da fração estoque, quatro concentrações-teste (1000, 100, 10 e 1 µg/mL) foram obtidas através de diluições sucessivas com água do mar contendo 1% de DMSO. O grau de toxicidade de cada amostra foi determinado utilizando-se microplacas de poliestireno de 96 poços, em um volume final de 150 µL/poço (Figura 15A, p. 109), expondo-se 10 a 15 larvas durante 24 horas (Molina-salinas *et al.*, 2006). Nestes experimentos, feitos em triplicata, a leitura foi feita com auxílio de um microscópio estereoscópio (aumento 10X). Como controle positivo foi utilizado água do mar com 1% de DMSO, e como controle negativo Timol 0,01% (Cantrell *et al.*, 2003).

4.7.9.1 *Ensaio biológico quantitativo*

O grau de toxicidade das subfrações provenientes dos extratos vegetais foi determinado conforme preconizado por Déciga-Campos e cols. (2007). Estes autores consideram como atóxicos extratos que apresentam $CL_{50} \geq 1000 \mu\text{g/mL}$, de baixa toxicidade se $CL_{50} \geq 500$ e $< 1000 \mu\text{g/mL}$, e altamente tóxico quando $CL_{50} < 500 \mu\text{g/mL}$. As amostras que

apresentaram, nos ensaios preliminares, mortalidade $\geq 30\%$ na concentração de 1000 $\mu\text{g/mL}$ (item 4.7.9.1, p. 108), foram submetidas ao ensaio quantitativo. Estes experimentos foram realizados em triplicata, em placas de poliestireno de 12 poços (Figura 15B, p.109) em um volume final de 5 mL/poço de água do mar com 1% de DMSO nas concentrações de 1000, 500, 250, 125, 100, 50, 25 e 12,5 μg subfração/mL (Parra *et al.*, 2000).

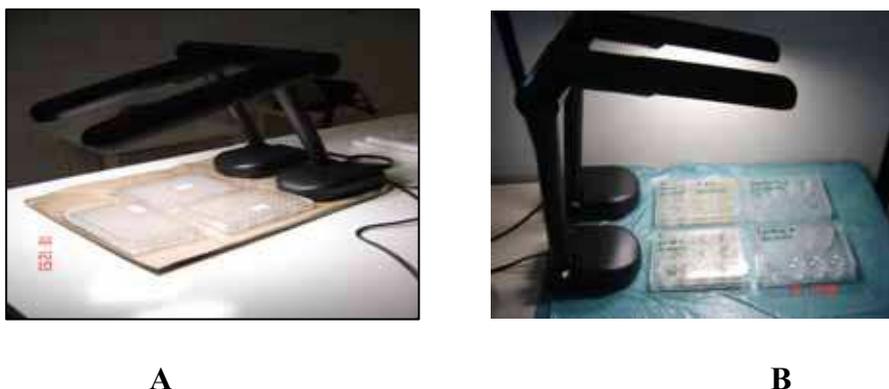


Figura 15. Microplacas utilizadas nos ensaios preliminares (A) e quantitativos do *TAS* (B).

Após a eclosão dos ovos cerca de 10 larvas foram transferidas para cada poço e deixadas em contato com as subfrações. Passadas 24 h, com auxílio de um microscópio estereoscópio, determinou-se o número de mortos, incluindo larvas que permaneceram imóveis após estímulo durante pelo menos 10s. Os valores de CL_{50} (concentração que causa 50% de mortalidade), e os respectivos intervalos de confiança (IC_{95} e IC_{90}), foram calculados usando o método PROBIT analyses (Finney, 1972).

4.8 Procedimento Experimental dos Ensaio Antimicrobianos in vivo

Os ensaios *in vivo* foram realizados somente com amostras que apresentaram as menores CIM nos experimentos *in vitro*, e que foram atóxicas frente a *Artemia salina*.

Os experimentos foram feitos com ratos machos *Wistar (Ratus norvegicus albinus)*, com idade aproximada de quatro meses e peso corporal de 300 ± 20 g, fornecidos pelo Biotério Central da Universidade Federal de Alagoas. Os protocolos foram conduzidos respeitando-se os Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal – COBEA (2000). Com o objetivo de identificar as possíveis variáveis que pudessem influenciar na análise dos resultados, os ratos foram observados por um período de 15 dias, antes do início dos experimentos. Os animais foram mantidos em ambiente climatizado (22 ± 2 °C), sob iluminação artificial, alternando para

claro-escuro a cada 12 horas. Para tanto, foram acondicionados em gaiolas individuais, identificadas, contendo forro de maravalha, com livre acesso a ração padrão e água.

As subfrações foram testadas somente frente à bactéria *S. aureus* e ao fungo *C. albicans*, uma vez que, nenhuma espécie vegetal mostrou atividade contra *P. aeruginosa* nos ensaios antimicrobianos *in vitro*. Foram utilizados 12 animais para cada microrganismo testado. Os animais infectados com *S. aureus* foram distribuídos em quatro grupos (n=3) pelo método probabilístico de escolhas aleatórias, sendo dois grupos controles (positivo e negativo) e dois grupos experimentais (pomada 1 e pomada 2). O mesmo protocolo foi seguido para os animais infectados com *C. albicans*.

4.8.1 Ensaios antimicrobianos *in vivo*

a) Preparação das amostras

Duas subfrações, ambas provenientes da espécie vegetal *P. hayneanum* - CHCl₃-MeOH 1:1 (raízes) e CHCl₃-AcOEt 1:1(caule), foram preparadas na concentração de 5% na forma de pomada (Pomada 1 e Pomada 2). Para isto, cada subfração foi homogeneizada com propilenoglicol a 10%, e em seguida incorporada ao creme não iônico, em quantidade suficiente para preparo de 20g .

b) Preparação dos Animais – Procedimento cirúrgico

Todos os procedimentos foram realizados com os animais sob anestesia geral induzida por via inalatória em funil de vidro com éter dietílico a 70% (Figura 16A, p. 111) (Hall *et al.*, 2000). Os ratos foram pesados e em seguida colocados em decúbito ventral e imobilizados para epilação da região dorsal média (Figura 16B, p. 111). Após antissepsia desta região (Figura 17A, p. 111), foram feitas, com auxílio de um *Punch* nº 9 e lâmina de bisturi nº 15 estéreis, quatro lesões excisivas para-vertebrais a 0,5 cm da linha mediana dorsal, até o nível do tecido aponeurótico (Figuras 17B e C, p. 111) (Gomez-Beloz *et al.*, 2003). Em seguida, as lesões foram contaminadas com 1 mL de suspensão dos microrganismos (*S. aureus* e *C. albicans* - $1,5 \times 10^6$ UFC/mL), ocluídas com gaze esterilizada embebida em solução fisiológica a 0,9%, fixadas com atadura de crepon e tiras de espradrapo.



A **B**
Figura 16. Técnicas usadas para anestesia (A) e para epilação (B).



A **B** **C**
Figura 17. Antissepsia (A), lesões excisivas (B) e exposição do tecido aponeurótico (C)

4.8.2 Monitoramento dos ensaios antimicrobianos *in vivo*

Após 24 horas da contaminação com *S. aureus* ou *C. albicans*, as lesões dos animais dos grupos experimentais foram tratadas por via tópica com 20 mg de pomada/lesão. Os grupos controles positivos infectados com *S. aureus* foram tratados com 20 mg de gamicina 1mg/g (Gentamicina, Ind. Quim. Farm. Schering-Plough S.A.) e infectados com *C. albicans* foram tratados com miconazol a 20 mg/g. O grupo controle negativo recebeu somente creme não iônico. O curativo de todos os ratos foi trocado diariamente até o 15º dia de tratamento.

Durante todo o ensaio, os animais foram monitorados por meio de três parâmetros de avaliação:

- a) Observação clínica a cada 48 ou 72 horas (peso, temperatura corpórea, diâmetro da lesão, tecido de granulação, necrose, inflamação e cor da lesão - Anexo I, p. 252);
- b) Análise microbiológica - feita através da coleta de exsudato no 3º, 9º e 15º dias do pós-operatório. Nesta etapa o material coletado foi semeado em placas de Petri contendo meios de cultivos apropriados e colocados em estufa para observação do crescimento microbiano (Figura 18, p. 112; Anexo II, p. 253);

c) Análise histopatológica - fragmentos das feridas de um animal por grupo, foram coletados no 3º, 9º e 15º dia de pós-operatório com auxílio de um *Punch* nº 3 (Figura 19, p. 113; Anexo III, p. 254) (Shukla *et al.*, 1999), foram acondicionados em frascos devidamente identificados, contendo 10 mL de formaldeído a 10%. Esta análise foi efetuada com a colaboração do Prof. Ricardo Luís Simões Houly do Laboratório de Análise Patológica do Hospital Universitário Prof. Alberto Antunes da Universidade Federal de Alagoas. Para análise dos exames histopatológicos foi adotado o modelo de escore proposto por Myers (1961) modificado por Medeiros e cols. (1999) com algumas adaptações (Tabela 3, p. 112).

Tabela 3. Escores utilizados para avaliação do exame histopatológico*

Variáveis	+ 1 Ausente	+ 2 Presente/ Discreta	+ 3 Moderada/ crônica	+ 4 Intensa/ aguda	Fator	Total
Epitelização					+ 5	
Intensidade da Inflamação					- 4	
Tipo de inflamação					-1	
Rede de fibrina					+ 5	
Tecido de granulação					+ 4	
Neovascularização					+ 1	
Fibras colágenas					+ 5	
Score Total						

*As intensidades das variáveis (1+ a 4+) foram multiplicadas por fatores positivos ou negativos baseadas na sua importância para a cicatrização. A soma destes produtos correspondeu ao escore total para cada animal



A

B

Figura 18. Coleta do exudato (A) e placa de Petri semeada (B).

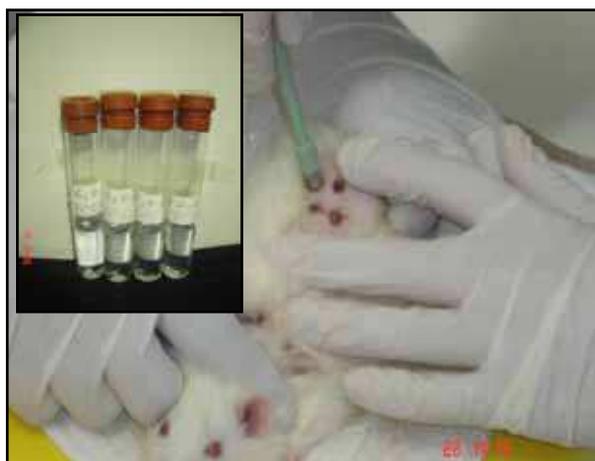


Figura 19. Coleta e acondicionamento dos fragmentos das feridas.

4.9 Análise Estatística

A relação entre as concentrações testadas e a atividade nos ensaios antimicrobianos *in vitro* e de toxicidade frente à *Artemia*, foi analisada por regressão. Para interpretação dos valores do coeficiente de determinação (R^2) obtidos, adotou-se o seguinte critério (Bisquerra *et al.*, 2004):

$R^2 = 1 \rightarrow$ correlação perfeita
 $0,80 < R^2 < 1 \rightarrow$ muito alta
 $0,60 < R^2 < 0,80 \rightarrow$ alta
 $0,40 < R^2 < 0,60 \rightarrow$ moderada
 $0,20 < R^2 < 0,40 \rightarrow$ baixa
 $0 < R^2 < 0,20 \rightarrow$ muito baixa
 $R^2 = 0 \rightarrow$ nula

Para análise dos resultados dos exames histopatológicos dos testes antimicrobianos *in vivo*, foi feita a Análise de Variância (ANOVA) seguida do teste de Tukey. Em todos os testes, foi adotado um nível de significância estatística de 5%, ou seja, $p \leq 0,05$. Os dados foram analisados com auxílio do programa “Statistical Package for Social Science” (SPSS) versão 11.5 (2002) e “Microcal OriginPro 7.0” (OriginLab Corporation, 1991-2002).

4.10 Investigação Fitoquímica das Frações Ativas

Este procedimento foi efetuado com as frações biologicamente ativas, que apresentaram os menores valores de CIM nos ensaios antimicrobianos *in vitro*, e que continham massa suficiente para estudo químico (Quadro 7, p. 117).

4.10.1 Isolamento dos constituintes químicos da espécie *Zeyheria tuberculosa*

a) Fração ácida em C₆H₁₄ do caule

A fração ácida em C₆H₁₄ (1,42 g), proveniente da fração em C₆H₁₄ após tratamento ácido-base, foi submetida a cromatografia em gel de Sephadex LH-20 com MeOH. Após inúmeras tentativas de purificação através de recristalização com diferentes solventes, estes procedimentos não conduziram ao isolamento de substâncias com grau de pureza satisfatório ou com quantidade suficiente para análise espectral. Posteriormente, esta fração deverá ser metilada com diazometano, e analisada através de Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM) para identificação dos componentes ácidos presentes.

b) Fração em CHCl₃ do caule

A fração em CHCl₃ (2,575 g), oriunda da partição do extrato em etanol, foi filtrada em gel de sílica (70-230 mesh) utilizando-se solventes de diferentes polaridades: C₆H₁₄-CHCl₃ 1:1 (0,55 g), CHCl₃ (0,40 g), CHCl₃-MeOH 1:1 (1,65 g) e MeOH (0,018 g). Essas subfrações foram submetidas a fracionamento cromatográfico em gel de sílica 70-230 mesh, utilizando-se C₆H₁₄ contendo proporções crescentes de AcOEt, e em Sephadex LH-20 com MeOH. Após várias tentativas de purificação por meio de recristalização com diferentes solventes e/ou lavagem a frio, não foi possível isolar substâncias com grau de pureza ou com quantidade adequada para análise espectral.

b.1) Subfração em C₆H₁₄-CHCl₃ 1:1

O material da subfração obtida com mistura de C₆H₁₄-CHCl₃ 1:1 (0,495 g) foi fracionada em gel de sílica (70-230 mesh), eluída em misturas de C₆H₁₄-AcOEt em proporções crescentes de polaridade. Coletou-se um total de 101 frações com um volume médio de aproximadamente 50 mL cada. Essas subfrações, após análise comparativa através de CCD, em diferentes sistemas de eluentes, foram reunidas. Os materiais reunidos das subfrações 53-60 (0,051 g) e 71-74 (0,043 g), foram novamente submetidos a fracionamento cromatográfico em gel de sílica 60 (<230 mesh, Fluka), utilizando-se misturas de C₆H₁₄-AcOEt em proporções crescentes de polaridade. Foram obtidos dois sólidos amorfos amarelados, codificados de **ZtCC-1** (0,025 g) e **ZtCC-2** (0,020 g), respectivamente. Estas substâncias foram armazenadas, e serão posteriormente submetidas à ensaios citotoxicidade em cultura de células para avaliação da atividade antitumoral.

b.2) Subfração em CHCl₃

O material da subfração oriunda da filtração em CHCl₃ (0,40 g) foi submetida a sucessivos fracionamentos cromatográficos em gel de sílica (70-230 mesh, utilizando-se C₆H₁₄ contendo proporções crescentes de AcOEt) e em Sephadex LH-20 com MeOH. Após inúmeras tentativas de purificação através de recristalização com diferentes solventes, estes procedimentos não conduziram ao isolamento de substâncias com grau de pureza satisfatório ou com quantidade suficiente para análise espectral.

b.3) Subfração em CHCl₃-MeOH 1:1

O material da subfração obtida da mistura em CHCl₃-MeOH 1:1 (1,595 g) foi novamente filtrado em gel de sílica (70-230 mesh) utilizando solventes de diferentes polaridades: CHCl₃ (A → 0,19 g), CHCl₃-AcOEt 1:1 (B → 0,28 g), AcOEt (C → 0,30 g), AcOEt-MeOH 1:1 (D → 0,72 g) e MeOH (E → 0,16 g). O material resultante da filtração em CHCl₃ (A → 0,19 g) foi permeado em gel (Sephadex LH-20 com MeOH). Após análise comparativa através de CCD, utilizando-se diferentes sistemas de eluentes, as subfrações que apresentaram Rfs semelhantes foram reunidas. Os materiais reunidos das subfrações 28-39 (0,011 g) e 40-104 (0,018 g), foram novamente permeados em gel (Sephadex LH-20 com MeOH) fornecendo sólidos amorfos amarelados, codificados de ZtCC-3 (0,005 g) e ZtCC-4 (0,005 g), respectivamente.

b.4) Subfração em MeOH

O material da subfração resultante da filtração em MeOH (0,018 g), em virtude da pequena quantidade obtida, não foi avaliado quanto ao grau de toxidez frente a *A. salina* e nem quanto a constituição química.

4.10.2 Isolamento dos constituintes químicos da espécie *Piper hayneanum*

a) Fração em CHCl₃ do caule

A fração em CHCl₃ (9,375 g), oriunda da partição do extrato em etanol, foi filtrada em gel de sílica (70-230 mesh) com solventes de diferentes polaridades: CHCl₃ (1,10 g), CHCl₃-AcOEt 1:1 (3,10 g), AcOEt (0,70 g) e MeOH (2,20 g). As subfrações resultantes deste processo também foram avaliadas como antimicrobiano *in vitro*, bem como quanto à toxicidade frente a *A. salina*.

O material procedente da filtração em **CHCl₃** (1,045 g), por ter sido promissor *in vitro* e possuir baixa toxicidade foi permeada em gel (Sephadex LH-20) com MeOH. O material resultante das subfrações 11-20 reunidas (0,012 g), após sucessivas lavagens a frio com MeOH resultou no isolamento de um sólido amarelado, codificado de **PhCC-1** (5 mg). Devido à dificuldade de solubilidade seus dados espectrais ainda não foram obtidos.

O material procedente da filtração em **CHCl₃-AcOEt 1:1** (5,10 g), por ter sido atóxico e eficiente antifúngico *in vitro* foi também submetido a ensaios antimicrobianos *in vivo*, conforme metodologia descrita anteriormente. Em virtude dos resultados obtidos nesses ensaios, parte deste material (3,045 g) foi submetido a fracionamento cromatográfico em gel de sílica (70-230 mesh) com misturas de C₆H₁₄-AcOEt em proporções crescente de polaridade. Coletou-se um total de 103 frações com um volume médio de aproximadamente 50 mL cada. O material resultante das subfrações reunidas 33-34 (0,29 g), após permeação em gel (Sephadex LH-20 com MeOH), resultou na coleta de 58 subfrações. Após análise comparativa por CCD, estas foram reunidas tomando como base seus Rfs. O material das subfrações 29-33 agrupadas, forneceu um sólido amorfo branco, codificado de **PhCC-2** (0,049 g).

O material procedente da filtração em **AcOEt** (0,645 g), embora tenha sido efetivo *in vitro* frente a *C. albicans* (CIM 1,0 µg/disco), apresentou uma alta toxicidade frente a *A. salina* (382,7 µg/mL). Por esta razão, este material não teve seus constituintes químicos investigados.

O material resultante da filtração em **MeOH** (2,145 g), por ter sido promissor *in vitro* frente a *C. albicans* (CIM 1,0 µg/disco) e atóxico (> 1000 µg/mL), foi permeado em gel (Sephadex LH-20 com MeOH). Após análise comparativa através de CCD, em diferentes sistemas de eluentes, as subfrações com Rfs semelhantes foram agrupadas. A subfração 14 (0,13 g), eluída com CHCl₃-MeOH (8:2), foi novamente permeada em gel (Sephadex LH-20 com MeOH) resultando em um sólido amorfo branco, codificado de **PhCC-3** (0,017 g).

b) Fração em CHCl₃ das raízes

A fração em CHCl₃ (7,6 g), oriunda da partição do extrato em etanol das raízes de *P. hayneanum*, foi filtrada em gel de sílica (70-230 mesh) com solventes de diferentes polaridades: C₆H₁₄-CHCl₃ 1:1 (1,18 g), CHCl₃ (0,55 g), CHCl₃-MeOH 1:1 (6,96 g) e MeOH (0,05 g). As subfrações resultantes deste processo também foram avaliadas como antimicrobiano *in vitro*, bem como quanto à toxicidade frente a *A. salina*. Destas, somente as subfrações em **CHCl₃** em **CHCl₃-MeOH 1:1** e em **MeOH**, apresentaram atividade

antimicrobiana. Estes materiais, após inúmeras tentativas de purificação através de sucessivos fracionamentos cromatográficos em gel de sílica e em Sephadex LH-20 com MeOH, não conduziram a purificação de substâncias em quantidade para obtenção de dados espectrais ou com grau de pureza satisfatório.

Quadro 7. Substâncias isoladas das frações em CHCl₃, promissoras nos ensaios antimicrobianos *in vitro*, do caule de *Z. tuberculosa* e *P. hayneanum*.

Espécie	Subfração	Substâncias Isoladas
<i>Z. tuberculosa</i>	Subfração em C ₆ H ₁₄ -CHCl ₃ 1:1 (CHCl ₃ /EtOH)	ZtCC-1 (25 mg)
		ZtCC-2 (20 mg)
	Subfração em CHCl ₃ -MeOH 1:1 (CHCl ₃ /EtOH)	ZtCC-3 (5 mg)
		ZtCC-4 (5 mg)
<i>P. hayneanum</i>	Subfração em CHCl ₃ (CHCl ₃ /EtOH)	PhCC-1 (5 mg)
	Subfração em CHCl ₃ -AcOEt 1:1 (CHCl ₃ /EtOH)	PhCC-2a e 2b (49 mg)
	Subfração em MeOH (CHCl ₃ /EtOH)	PhCC-3 (17 mg)

4.11 Bioautografia das Substâncias Isoladas

A avaliação do potencial antimicrobiano das substâncias isoladas foi realizada pelo método da bioautografia, por ser um método simples, rápido, confiável, e que pode ser realizado com pequenas quantidades da amostra. Esta técnica, considerada uma variação do método de difusão em ágar, combina a cromatografia em camada delgada com bioensaio *in situ* (Silva *et al.*, 2005).

Aproximadamente 3 µL de uma solução estoque de cada substância (1 mg/mL), foram aplicados com auxílio de um tubo capilar, em cromatoplasmas de gel de sílica GF₂₅₄ (1,5 x 5,0 cm). A eluição das placas foi feita com o mesmo sistema de solventes utilizado no isolamento das substâncias. Após eliminação do solvente a temperatura ambiente, os cromatogramas foram revelados com luz UV e os R_fs das substâncias calculados. Em seguida, as cromatoplasmas foram introduzidas em placas de Petri (9 cm de diâmetro), vertendo-se sobre elas 10 mL dos meios de cultivos, liquefeitos a 45 °C e inoculados com 1,5 X 10⁶ UFC/mL dos microrganismos indicadores (9.950 µL AMH + 50 µL da suspensão bacteriana ou 9.900 µL ASD + 100 µL da suspensão fúngica). Após a solidificação dos meios de cultivo, as placas foram incubadas a 35 °C/24h (bactérias) ou por 28 °C/48h (fungo). Em seguida as mesmas foram borrifadas com solução aquosa de 2,3,5-Trifenil cloreto de

tetrazólio (20 mg/mL) para revelação. Todas as placas foram submetidas a incubação por mais 1h em estufa, com temperatura adequada para cada tipo de microrganismo. Com a visualização dos halos de inibição procedeu-se a leitura e o registro dos resultados (Mazoko *et al.*, 2005; Zampini *et al.*, 2005; Cunico *et al.*, 2006 Ahmad & Aqil, 2007). Os ensaios foram feitos em triplicata, sendo que no caso dos controles positivo (garamicina) e negativo (metanol), as cromatoplasmas foram preparadas individualmente.

Os critérios adotados para leitura e interpretação dos resultados da bioautografia foram os mesmos adotados para os testes antimicrobianos *in vitro*, ou seja, zona de inibição ≥ 75 % indicativo de atividade, zona de inibição ≥ 25 % e < 75 % substância moderadamente ativa, e zona de inibição < 25 % substância considerada inativa (Cáceres *et al.*, 1998).

4.12 Procedimento Experimental Efetuado com as Espécies Vegetais Zeheria tuberculosa e Piper hayneanum

Nas Figuras 20 e 21 (p. 120-121) estão apresentados os fluxogramas com o resumo do procedimento experimental para isolamento de substâncias biologicamente ativas das espécies vegetais *Z. tuberculosa* e *P. hayneanum*. Todo o experimento foi conduzido por biomonitoramento para avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos/frações/subfrações obtidos.

4.13 Dados Físicos e Espectrométricos das Substâncias Isoladas

5,6,7,8-Tetrametoxiflavona (ZtCC-1)

Sólido amorfo amarelo.

RMN ¹H: 400 MHz, CDCl₃/CD₃OD, Tabela 9, p. 161; Figura 54, p. 163.

RMN ¹³C: 100 MHz, CDCl₃/CD₃OD, Tabela 9, p. 161; Figura 56, p. 165.

HMBC (¹H: 400; ¹³C: 100 MHz, CDCl₃/CD₃OD): Tabela 9, p. 161; Figura 58, p. 167.

PF: 113 – 114 °C

Rendimento: $\approx 0,0003\%$

5,6,7-Trimetoxiflavona (ZtCC-2)

Sólido amorfo amarelo.

RMN ¹H: 400 MHz, CDCl₃/CD₃OD, Tabela 10, p. 162; Figura 55, p. 164.

RMN ¹³C: 100 MHz, CDCl₃/CD₃OD, Tabela 10, p. 162; Figura 57, p. 166.

HMBC (¹H: 400; ¹³C: 100 MHz, CDCl₃/CD₃OD): Tabela 10, p. 162; Figura 59, p. 168.

PF: 147 – 149 °C

Rendimento: $\approx 0,0002\%$

4'-Hidroxi-5,6,7,8-tetrametoxiflavona (ZtCC-3)

Sólido amorfo branco.

RMN ¹H: 400 MHz, CDCl₃, Tabela 11, p. 171; Figura 60, p. 173.

RMN ¹³C: 100 MHz, CDCl₃, Tabela 11, p. 171; Figura 62, p. 175.

HSQC (¹H: 400; ¹³C: 100 MHz, CDCl₃): Tabela 11, p. 171; Figura 64, p. 177.

HMBC (¹H: 400; ¹³C: 100 MHz, CDCl₃): Tabela 11, p. 171; Figura 66, p. 178.

PF: 174 – 176 °C

Rendimento: ≈ 0,0005%

4'-Hidroxi-5,6,7-trimetoxiflavona (ZtCC-4)

Sólido amorfo branco.

RMN ¹H: 400 MHz, CDCl₃/CD₃OD, Tabela 12, p. 172; Figura 61, p. 174.

RMN ¹³C: 100 MHz, CDCl₃/CD₃OD, Tabela 12, p. 172; Figura 63, p. 176.

DEPT 135: 100 MHz, CDCl₃/CD₃OD, Tabela 12, p. 172; Figura 65, p. 177.

HMBC (¹H: 400; ¹³C: 100 MHz, CDCl₃/CD₃OD): Tabela 12, p. 172; Figura 67, p. 179.

PF: 189 – 193 °C

Rendimento: ≈ 0,0005%

Sitosterol e Estigmasterol (PhCC-2a e PhCC-2b)

Sólido cristalino.

RMN ¹H: 400 MHz, CDCl₃, Tabela 13, p. 181; Figura 68, p. 183.

RMN ¹³C: 100 MHz, CDCl₃, Tabela 14, p. 182; Figura 69, p. 184.

PF: 135 – 137 °C

Rendimento: ≈ 0,037%

3-O-β-D-Glicopiranosilsitosterol (PhCC-3)

Sólido cristalino amarelo.

RMN ¹H: 400 MHz, CDCl₃/CD₃OD, Tabela 15, p. 186; Figura 70, p. 187.

DEPT 135: 100 MHz, CDCl₃/CD₃OD, Tabela 15, p. 186; Figura 71, p. 188.

HSQC (¹H: 400; ¹³C: 100 MHz, CDCl₃/CD₃OD): Tabela 15, p. 186; Figura 72, p. 189.

HMBC (¹H: 400; ¹³C: 100 MHz, CDCl₃/CD₃OD): Tabela 15, p. 186; Figura 73, p. 190.

PF: > 200 °C

Rendimento: ≈ 0,008%

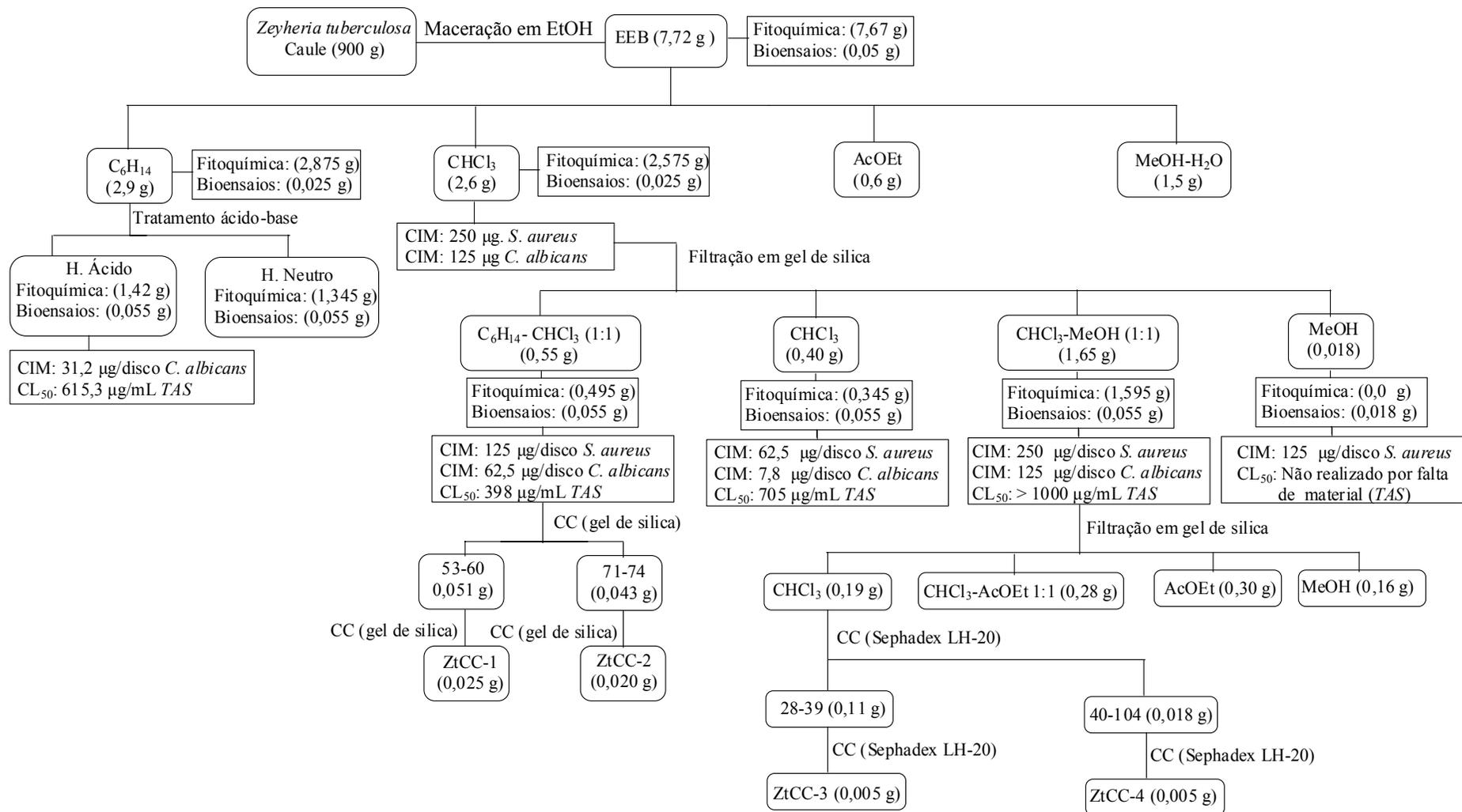


Figura 20. Esquema geral do procedimento experimental efetuado com a espécie vegetal *Z. tuberculosa*.

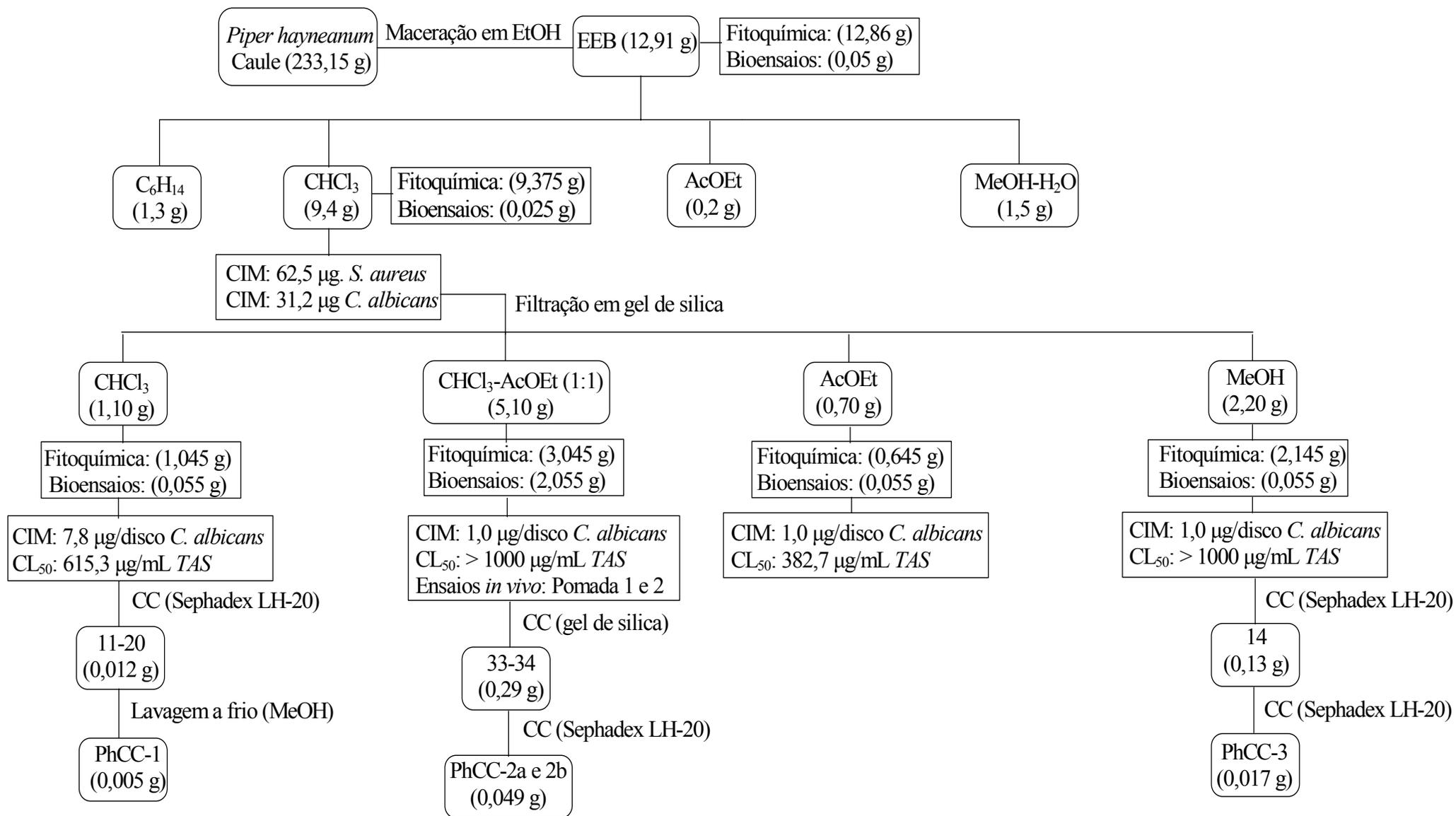


Figura 21. Esquema geral do procedimento experimental efetuado com a espécie vegetal *P. hayneanum*.

5. Resultados e Discussão

5. Resultados e Discussão

5.1 Perfil de Sensibilidade a Antimicrobianos dos Microrganismos Utilizados nos Testes

O padrão de sensibilidade das cepas de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans*, utilizadas nos ensaios antimicrobianos, foi determinado frente aos antimicrobianos utilizados rotineiramente na clínica médica pelo método de difusão de disco em ágar. Os discos com antibióticos ou antifúngicos eram distribuídos nas placas, incubadas por 24 horas (bactérias) ou 48 horas (fungo). A determinação do grau de sensibilidade microbiana levou em consideração o diâmetro do halo tomando como referência padrões universais (NCCLS, 2003; Esmerino *et al.*, 2004).

O perfil de sensibilidade antimicrobiana pode ser observado no Quadro 8 (p. 124). A amostra de *S. aureus* testada foi sensível aos antibióticos Vancomicina (30µg/disco) e Gentamicina (10 µg/disco), enquanto que a cepa de *P. aeruginosa* foi sensível somente a Ciprofloxacina (5 µg/disco) (Figura 22A e C, respectivamente, p. 123). Dentre os antifúngicos avaliados frente a *C. albicans* o Miconazol (50 µg/disco) apresentou o maior diâmetro de inibição do halo (Figura 22B, p. 123; Quadro 8, p. 124). Os resultados obtidos com os fármacos testados subsidiaram a escolha tanto dos antibióticos, quanto do antifúngico utilizados nos ensaios antimicrobianos *in vitro* e *in vivo*.

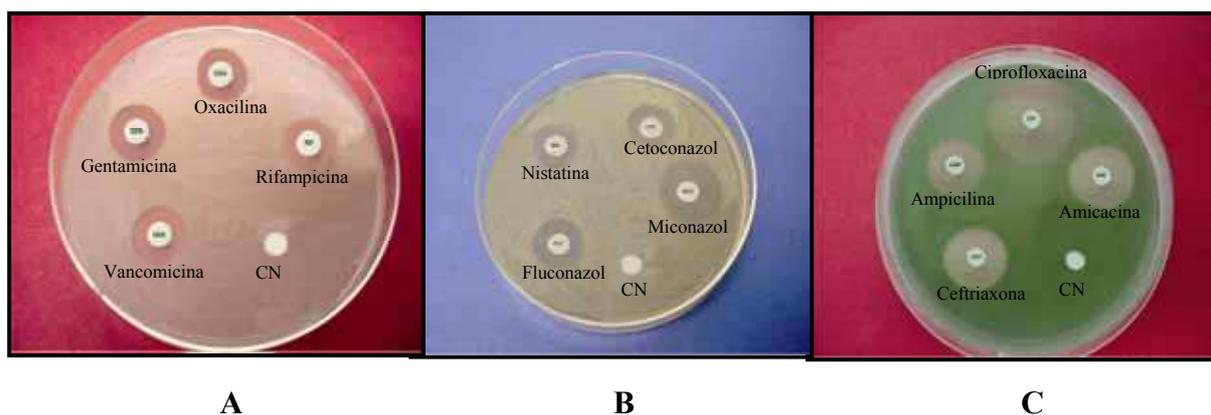


Figura 22. Zona de inibição dos antimicrobianos utilizados para avaliação do padrão de susceptibilidade do *S. aureus* (A), *C. albicans* (B) e *P. aeruginosa* a antimicrobianos. Controle Negativo (CN)

Quadro 8. Perfil de susceptibilidade dos microrganismos utilizados nos ensaios antimicrobianos.

Microrganismo	Fármaco (µg/disco)/Halo de inibição ideal/obtido (mm) ^b			
<i>Staphylococcus aureus</i>	Vancomicina 30 ≥15/15 (S)	Gentamicina 10 ≥15/15 (S)	Oxacilina 1 ≥20/14 (R)	Rifampicina 5 ≥20/13(R)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Ciprofloxacina 5 ≥21/28 (S)	Amicacina 30 ≥21/20 (SI)	Ampicilina 10 ≥18/=17 (SI)	Ceftriaxona 30 ≥21/20 (SI)
<i>Candida albicans</i>	Miconazol 50 ≥20/26 (S)	Cetoconazol 50 ≥20/17 (R)	Fluconazol 25 ≥21/18 (R)	Nistatina 100 ^a ≥17/16 (SI)

^aUI/disco; ^bNCCLS, 2003; (S)=Sensível; (SI)=Sensibilidade Intermediária; (R)=Resistente.

5.2 Avaliação Antimicrobiana *in vitro*

5.2.1 Avaliação dos extratos brutos

Os vinte e nove extratos brutos, oriundos de diferentes partes das sete espécies vegetais selecionadas (Quadro 2, p. 99), foram avaliados frente às bactérias *S. aureus* e *P. aeruginosa* e ao fungo *C. albicans*, na concentração de 1.000 µg/disco. Onze deles, provenientes das espécies *P. marginatum*, *P. hayneanum*, *S. apetala* e *Z. tuberculosa*, foram considerados ativos (inibição ≥75%) ou moderadamente ativos (inibição ≥25% e <75%), contra *S. aureus* e/ou *C. albicans*. Entre os extratos brutos ativos os maiores percentuais de inibição do crescimento dos microrganismos, quando comparados com os controles positivos, foram obtidos com os extratos em EtOH das folhas, caule e raízes de *P. hayneanum* e caule de *Z. tuberculosa* (Figuras 23 e 24, pp. 124-125; Tabela 4, p. 125).

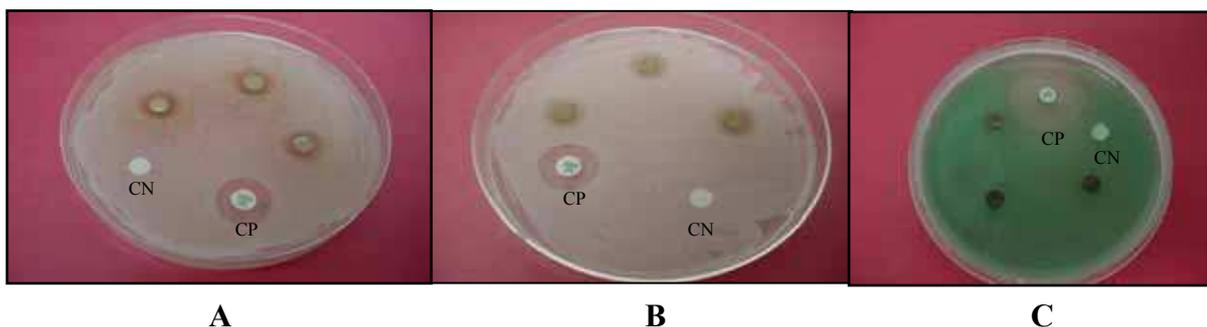


Figura 23. Zona de inibição de extratos de *P. hayneanum* (A) e *Z. tuberculosa* (B) frente a *S. aureus* e *P. aeruginosa* (C). Controle positivo para *S. aureus* (CP) – vancomicina (30 µg/disco); CP para *P. aeruginosa* - ciprofloxacina (5 µg/disco); Controle Negativo (CN).



Figura 24. Zona de inibição de extratos de *P. hayneanum* (A) e *Z. tuberculosa* (B) frente a *C. albicans*. Controle positivo (CP) – miconazol (50 UI/disco); Controle Negativo (CN).

Ensaio para avaliação da atividade bactericida, frente a *S. aureus*, com extratos de várias espécies de plantas têm apresentado respostas satisfatórias. O percentual de inibição de crescimento observado para extratos brutos em etanol frente a bactérias Gram positivas, incluindo *S. aureus*, tem variado entre 50 a 83% (Rovira *et al.*, 1999; Nascimento *et al.*, 2000). Deste modo, os resultados obtidos no presente trabalho, quando comparados com outros realizados com a mesma bactéria e padrão positivo utilizado, podem ser considerados promissores (Martinez *et al.*, 1996). Deve-se levar ainda em conta que extratos são constituídos por misturas complexas, contendo inúmeras substâncias (Andrade *et al.*, 2004). Assim, a ação antibacteriana pode ser devida à pequena quantidade de uma substância, que mesmo em meio a uma mistura, foi capaz de exercer uma atividade biológica.

Tabela 4. Resultados da atividade antimicrobiana com os extratos brutos (1000 µg/disco).

Espécies	Parte da Planta	Extrato Bruto	Microrganismos		
			<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>
Zona de inibição do crescimento (%)*					
<i>C. cynophallophora</i>	Folhas	C ₆ H ₁₄	10,0	0,0	0,0
	Caule	EtOH	10,0	0,0	0,0
	Cascas (Caule)	EtOH	20,0	0,0	0,0
	Raízes	EtOH	15,0	0,0	0,0
	Cascas (Raízes)	EtOH	15,0	0,0	0,0
<i>C. spinosa</i>	Planta inteira	C ₃ H ₆ O	13,0	0,0	0,0
	Folhas	EtOH	0,0	0,0	46,1
	Raízes	EtOH	0,0	0,0	53,8

(Continua)

Tabela 4 (Continuação)

	Caule	EtOH	0,0	0,0	34,6
<i>P. hayneanum</i>	Folhas	C ₆ H ₁₄	0,0	0,0	41,0
		EtOH	0,0	0,0	78,2
<i>P. hayneanum</i>	Raízes	EtOH	76,3	0,0	100,0
	Caule	EtOH	76,5	0,0	94,6
<i>Portulaca cf. elation</i>	Planta inteira	C ₆ H ₁₄	0,0	0,0	10,0
<i>Swatzia apetala</i>	Folhas	C ₆ H ₁₄	0,0	0,0	0,0
	Cascas (Frutos)	C ₆ H ₁₄	0,0	0,0	34,6
	Sementes	C ₆ H ₁₄	0,0	0,0	15,0
	Pericarpo (Sementes)	C ₆ H ₁₄	0,0	0,0	10,0
	Cascas (Caule)	EtOH	0,0	0,0	45,0
	Caule	EtOH	0,0	0,0	39,6
<i>Z. tuberculosa</i>	Caule	EtOH	68,4	0,0	69,5

* O cálculo do percentual de inibição foi efetuado de acordo com a fórmula do item 4.7.7 (p. 106)

As propriedades antifúngicas de extratos de plantas têm sido cada vez mais investigadas, em decorrência da resistência desenvolvida a uma grande parte dos fármacos disponíveis para tratamento de pacientes com infecções oportunistas. Nesse sentido, Baba-Mouss e cols. (1999) avaliaram o potencial fungicida de extratos de sete espécies vegetais, pertencentes à família Combretaceae usadas na medicina popular da África contra dermatoses causadas por fungos (*C. albicans*, *Microsporium gypseum* e *Epidermophyton floccosum*, *Trichophyton menthagrophytes* e *runrum*). Os resultados mostraram que todas as espécies possuíam forte atividade fungicida, podendo ser usada no tratamento das dermatofitoses e candidíases.

De acordo com Chuang e cols. (2007), o alto potencial fungicida encontrado em extratos de *Moringa oleifera* para o tratamento das doenças da pele pode eleger este vegetal à condição de fornecedor de matéria prima para o desenvolvimento de agentes terapêuticos dermatológicos que têm como agente etiológico fungo nas formas de leveduras e/ou micelial.

Conforme observado na Tabela 4 (p. 125), todos os extratos brutos submetidos a ensaios frente à *P. aeruginosa* foram inativos (halo de inibição de 0,0 mm) (Figura 23C, p. 124). Este resultado não foi de todo inesperado uma vez que, a *P. aeruginosa* é tipicamente

resistente a maioria dos antibióticos de uso corrente, sendo seu tratamento um desafio para os profissionais de saúde. A redução ou a ausência de efeito antibacteriano de extratos vegetais frente a *P. aeruginosa* tem sido também observada por outros autores (Lentz *et al.*, 1998, Fennell *et al.*, 2004). De modo geral extratos vegetais apresentam maior atividade contra bactérias Gram-positivas que contra Gram-negativas. Isto é devido, possivelmente à estrutura de sua parede celular, que possui uma membrana externa que funciona como uma barreira de permeabilidade a penetração de substâncias (Murray *et al.*, 2004; Fennell *et al.*, 2004).

5.2.2 Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos extratos brutos

Os 11 extratos brutos que foram considerados ativos ou moderadamente ativos na concentração de 1.000 µg/disco nos ensaios antimicrobianos preliminares, tiveram a CIM determinada. Segundo critérios previamente estabelecidos no item 4.7.7 (p. 106), para *S. aureus* a CIM variou de 250 a 450 µg/disco, sendo, portanto, considerados ativos; enquanto que para *C. albicans* a variação foi de 250 a 750 µg/disco, dos quais somente quatro foram ativos (Figura 25, p. 127) e os demais moderadamente ativos (Figura 26, p. 128).

De um modo geral, a maioria dos relatos com os melhores resultados de CIM para extratos brutos está entre 125 a 600 µg/disco (Melchor *et al.*, 2001; Andrade *et al.*, 2004). Com base neste indicativo, é possível sugerir que três dos extratos em etanol de *P. hayneanum* (folhas, raízes e caule) e um de *Z. tuberculosa* (caule) podem ser considerados promissores.

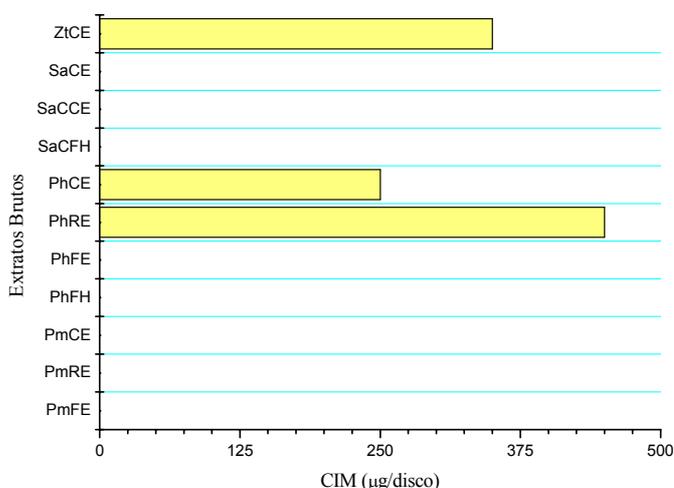


Figura 25. Concentração Inibitória Mínima dos extratos brutos frente à *S. aureus*.

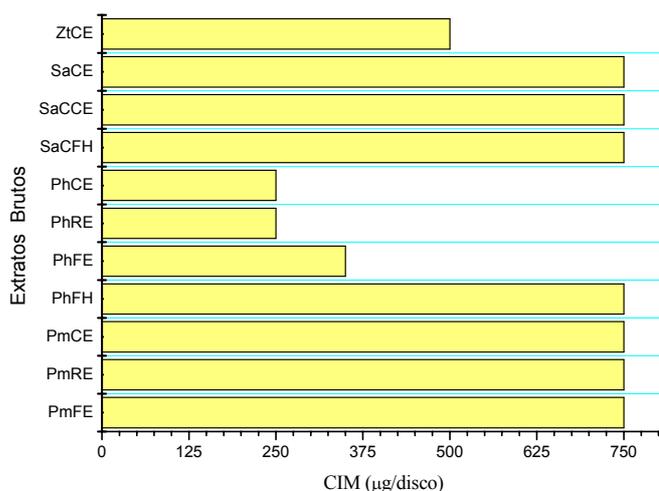


Figura 26. Concentração Inibitória Mínima dos extratos brutos frente à *C. albicans*.

5.2.3 Avaliação das frações oriundas das partições

Considerando que extratos brutos são constituídos de misturas complexas de substâncias e pigmentos, podendo causar antagonismo, conforme descrito por Andrade e cols. (2004), todas as 40 frações oriundas da partição dos 11 extratos foram submetidas a ensaios com os três microrganismos, na concentração de 500 µg/disco. Contudo, os resultados não diferiram dos obtidos para os respectivos extratos brutos. Portanto, deste ponto em diante as amostras foram testadas somente contra *S. aureus* e *C. albicans* (Figura 27A e B, respectivamente, p. 129).

A avaliação frente à *P. aeruginosa* foi repetida nesta etapa para se verificar com maior precisão, a ausência de atividade em amostras mais elaboradas contra uma bactéria Gram-negativa. Este procedimento tomou como referência o mencionado por Andrade e cols. (2004) ao descreverem que as espécies vegetais por eles estudadas sob a forma de fração apresentaram percentuais de inibição maiores que as dos extratos brutos. No entanto, todas as frações submetidas a ensaios frente à *P. aeruginosa*, quando comparados com o controle positivo foram considerados inativos (Tabela 5, p. 129; Figura 27C, p. 129). Frente a estes resultados, esta cepa foi descartada para as fases posteriores.

Os onze extratos brutos considerados ativos (CIM 250 a 750 µg/disco) foram particionados com MeOH-H₂O e solventes de diferentes polaridades (C₆H₁₄, CHCl₃, AcOEt). As quarenta frações resultantes foram submetidas à avaliação frente às bactérias *S. aureus*, *P. aeruginosa* e ao fungo *C. albicans*, na concentração de 500 µg/disco. Deste total,

somente cinco delas (*P. hayneanum* e *Z. tuberculosa*), foram consideradas ativas ou moderadamente ativas.

Entre as frações ativas contra *S. aureus* e/ou *C. albicans* (Tabela 5, p. 129; Figura 27-28, pp. 129-130), os melhores resultados foram obtidos com aquelas em C₆H₁₄, CHCl₃ ou em AcOEt (caule e raízes de *P. hayneanum* e caule de *Z. tuberculosa*).

Tabela 5. Resultados da atividade antimicrobiana com as partições (500 µg/disco).

Espécies	Parte da Planta	Fração	Microrganismos		
			<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>
Zona de inibição do crescimento (%)*					
<i>P. hayneanum</i>	Caule	CHCl ₃	84,0	0,0	76,0
	Raízes	CHCl ₃	80,0	0,0	78,0
		AcOEt	78,0	0,0	76,0
<i>Z. tuberculosa</i>	Caule	C ₆ H ₁₄	76,0	0,0	76,0
		CHCl ₃	76,0	0,0	76,0

* O cálculo do percentual de inibição foi efetuado de acordo com a fórmula do item 4.7.7. (p. 106)



A

B

C

Figura 27. Zona de inibição de frações frente a *S. aureus* (A-B): *P. hayneanum* (A), *Z. tuberculosa* (B) e do controle positivo (vancomicina 30 µg/disco), bem como frente a *P. aeruginosa* (C) e do controle positivo (ciprofloxacina 5 µg/disco).

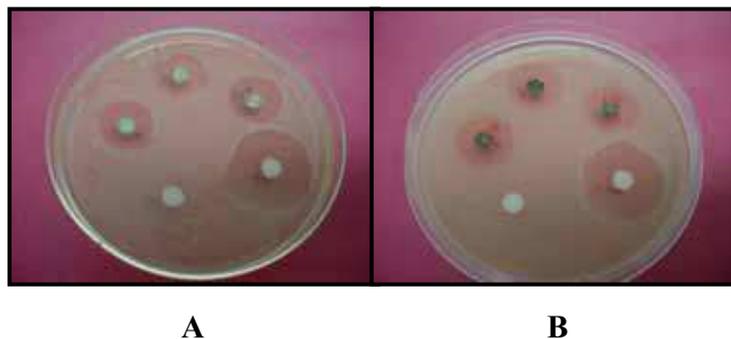


Figura 28. Zona de inibição de frações frente a *C. albicans* (A-B): *P. hayneanum* (A), *Z. tuberculosa* (B) e do controle positivo (miconazol 50 µg/disco).

Serafin e cols. (2007) ao investigarem o potencial antimicrobiano da *Plinia glomerata* (Myrtaceae) observaram que as frações mais polares apresentaram resultados promissores contra bactérias e as menos polares contra fungos. Eles atribuíram esta atividade à presença de substâncias fenólicas, que segundo a literatura, possuem capacidade de desorganizar as matrizes protéicas extracelulares da membrana bacteriana, provocando sua morte. Por outro lado, Volpato e cols. (2001) ao estudarem a atividade antibacteriana da *Calendula officinalis* (Asteraceae) constataram que o princípio ativo responsável pela ação bactericida frente a *S. aureus* encontrava-se nas frações em C_6H_{14} , e CH_2Cl_2 .

No presente estudo não foi observado, até a partição, influência alguma da polaridade do solvente sobre a atividade bactericida. Entretanto, o que se constatou, referendado por Andrade e cols. (2004), diz respeito ao aumento do percentual do halo de inibição em frações oriundas de partição, em relação aos extratos brutos, mais especificamente, na espécie vegetal *P. hayneanum*.

Estudo da atividade antimicrobiana com frações da espécie vegetal *Mikania ianuginosa* (Asteraceae) desenvolvido por Silva e cols. (2002) se assemelham aos nossos. Dentre as frações avaliadas por estes autores, somente as frações em C_6H_{14} , CH_2Cl_2 e em AcOEt apresentaram forte potencial bactericida contra *S. aureus*, sendo todas igualmente inativas contra a *P. aeruginosa*.

A atividade antifúngica das frações em C_6H_{14} , $CHCl_3$ e em AcOEt provenientes da partição de extratos brutos da *Alchornea glandulosa* (Euphorbiaceae) foi pesquisada por Conegero e cols. (2003) que constataram o potencial fungicida desta espécie vegetal. A otimização da atividade antifúngica em frações também foi descrita por Passos e cols. (2002) quando estudaram as propriedades antifúngicas das folhas de *Caryocar brasiliensis* (Caryocaraceae) e detectaram que a fração com maior potencial fungicida foi AcOEt. Nesse

sentido, também foi observado no presente estudo que as frações em C₆H₁₄, CHCl₃ e AcOEt foram as que apresentaram bioatividade antifúngica.

5.2.4 Concentração Inibitória Mínima (CIM) das frações oriundas das partições

As cinco frações consideradas ativas ou moderadamente ativas, oriundas de partição, tiveram a CIM determinada. Deste total, duas das raízes de *P. hayneanum* (CHCl₃ e AcOEt) e duas do caule de *Z. tuberculosa* (C₆H₁₄ e CHCl₃) mostraram potencial contra o *S. aureus* com CIM que variou de 62,5 a 250 µg/disco (Figuras 29-30, pp. 131-132). A fração CHCl₃ do caule da *P. hayneanum* teve a CIM acima de 300 µg/disco, sendo, portanto, inativa para esta bactéria. Para *C. albicans* a variação da CIM foi de 31,2 a 125 µg/disco, em todas as cinco frações consideradas ativas ou moderadamente ativas (Figuras 31-33, pp.133-134).

As quatro frações que apresentaram potencial antibacteriano frente à *S. aureus* foram avaliadas utilizando a equação de regressão, para verificar a associação existente entre as oito concentrações testadas para a CIM e os diâmetros dos halos obtidos. Os resultados mostraram que houve uma associação considerada muito alta entre a dose e a resposta, revelada pelo fator de determinação da equação (R²) que variou entre 0,80 a 0,93 (p < 0,05).

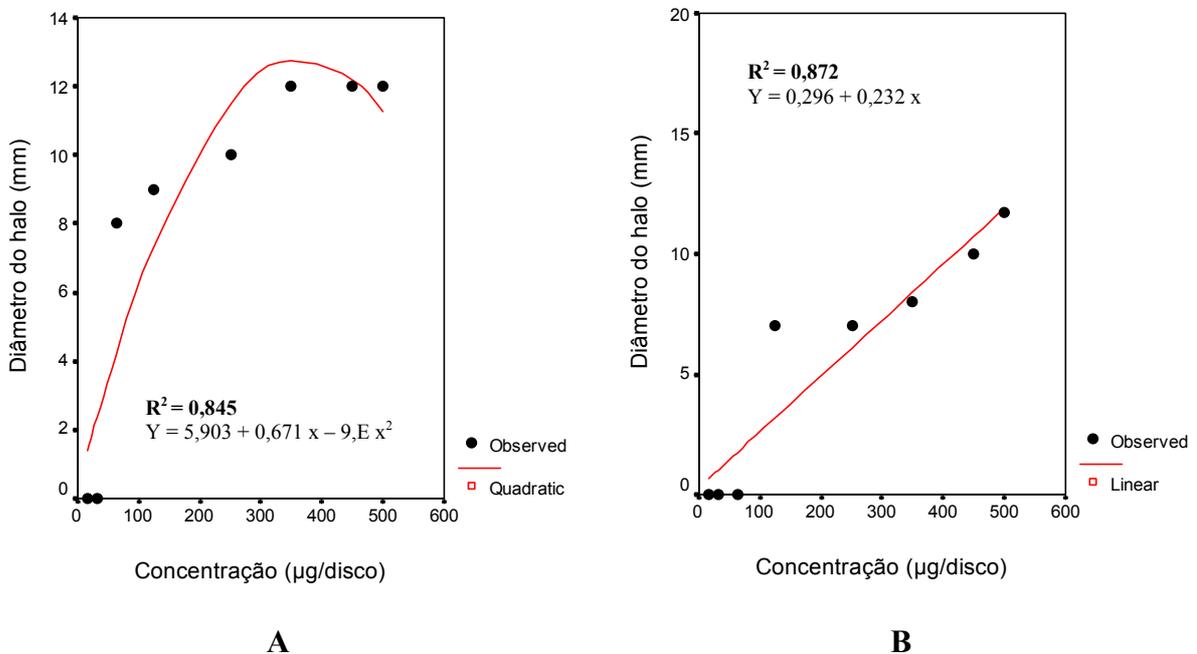


Figura 29. Curva de inibição do crescimento de *S. aureus* frente às frações em CHCl₃ (A) e AcOEt (B) das raízes de *P. hayneanum*.

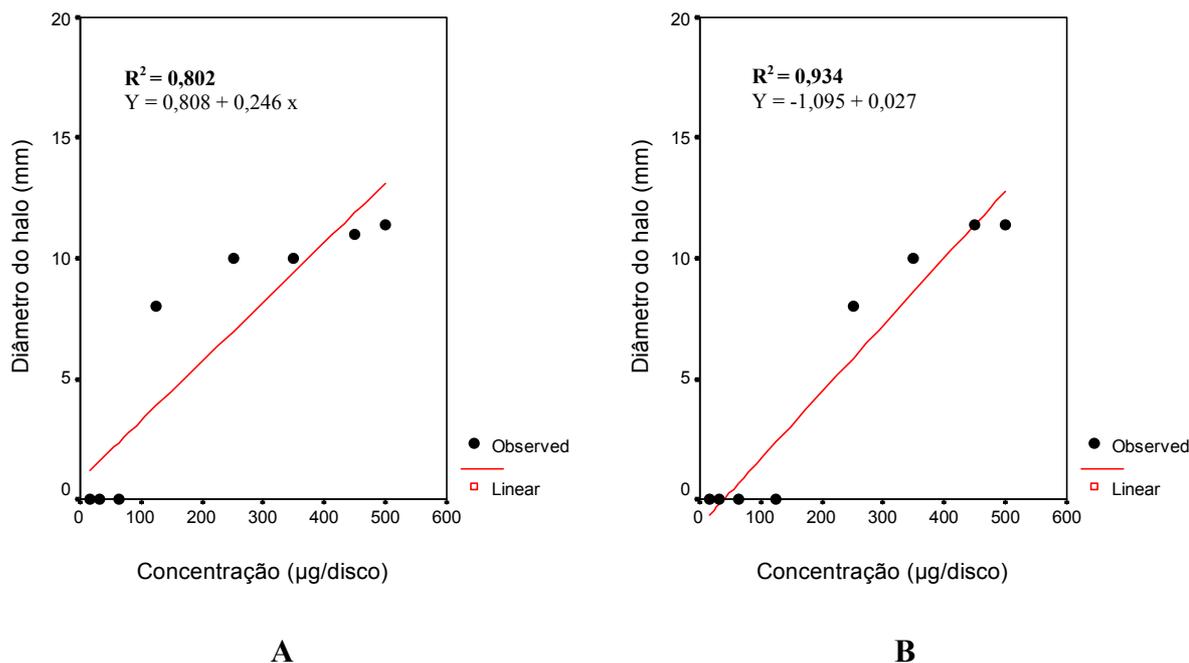


Figura 30. Curva de inibição do crescimento de *S. aureus* frente às frações em C₆H₁₄ (A) e em CHCl₃ (B) do caule de *Z. tuberculosa*.

Todas as equações de regressão linear se ajustaram bem às análises realizadas, com exceção da realizada para a fração CHCl₃ das raízes de *P. hayneanum* (Figura 29A, p. 131), que se adequou melhor à equação de regressão quadrática, para explicação matematicamente o fenômeno biológico estudado.

A CIM das frações em CHCl₃ e em AcEOt das raízes *P. hayneanum*, foram 62,5 µg/disco e 125 µg/disco, sendo consideradas ativa e moderadamente ativa, respectivamente (Figura 29A e B, p. 131), diâmetro do halo de 8 e 7 mm). Enquanto as frações C₆H₁₄ e CHCl₃, provenientes da *Z. tuberculosa*, foram moderadamente ativas, com CIM de, respectivamente, 125 µg/disco 250 µg/disco (Figura 30A e B, p. 131, diâmetro do halo de 8 mm, para ambas).

Nepomuceno e cols. (2003) testaram as frações oriundas do extrato em CH₂Cl₂/MeOH (1:1) do caule de *Tovomita* spp. (Guttiferae) frente a três bactérias, dentre elas a *S. aureus* (CIM de 460 µg/disco), que foi considerada significativamente ativa. As frações em C₆H₁₄ e CH₂Cl₂ da *Acmela brasiliensis* (Asteraceae), estudadas por Sartori (2005) demonstraram atividade antibacteriana contra *S. aureus* (CIM entre 250 e 1000 µg/mL). Esses dados quando comparados com os resultados da presente pesquisa sugerem que as frações ativas ou moderadamente ativas apresentam alto potencial bactericida.

As cinco frações ativas ou moderadamente ativas apresentaram potencial antifúngico frente à *C. albicans*, e foram também submetidas à análise estatística de regressão para verificar a correlação existente entre diâmetros dos halos obtidos e concentrações testadas. Observou-se correlação positiva alta entre as variáveis, evidenciada pelo fator de determinação da equação (R^2), que apresentou valores entre 0,79 a 0,91 ($p < 0,05$) (Figuras 31-33, pp. 133-134). A CIM das frações CHCl_3 e AcOEt das raízes de *P. hayneanum* foram, 62,5 $\mu\text{g}/\text{disco}$ e 125 $\mu\text{g}/\text{disco}$, sendo portanto consideradas ativa e moderadamente ativa, respectivamente (Figura 31 A e B, p. 133, diâmetro do halo de 8 mm, para ambas). Na Figura 32 (p. 133) observa-se a forte atividade das frações em CHCl_3 (A) do caule de *P. hayneanum* e em C_6H_{14} (B) do caule da *Z. tuberculosa* com CIM de 31,2 e 62,5 $\mu\text{g}/\text{disco}$ e com diâmetro de inibição do halo de 8 e 10 mm, respectivamente. A Figura 33 (p. 134) representa a equação da CIM (125 $\mu\text{g}/\text{disco}$ e diâmetro do halo de 8 mm) relativa à fração em CHCl_3 , do caule de *Z. tuberculosa*.

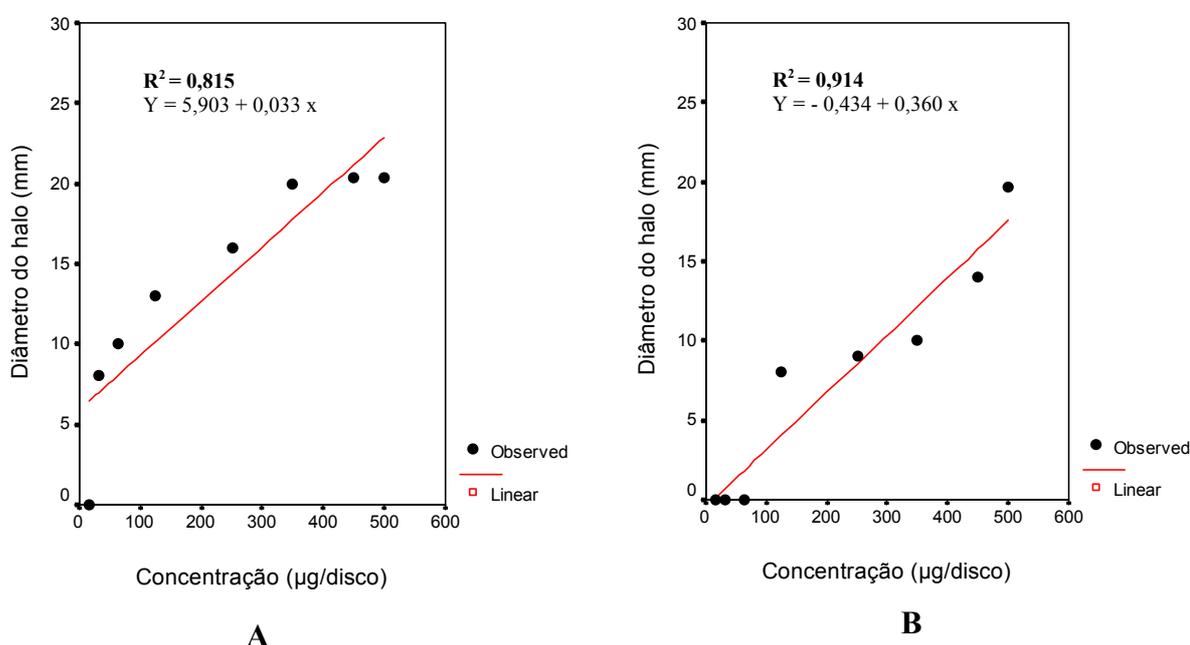


Figura 31. Curva de inibição do crescimento de *C. albicans* frente às frações em CHCl_3 (A) e em AcOEt (B) das raízes de *P. hayneanum*.

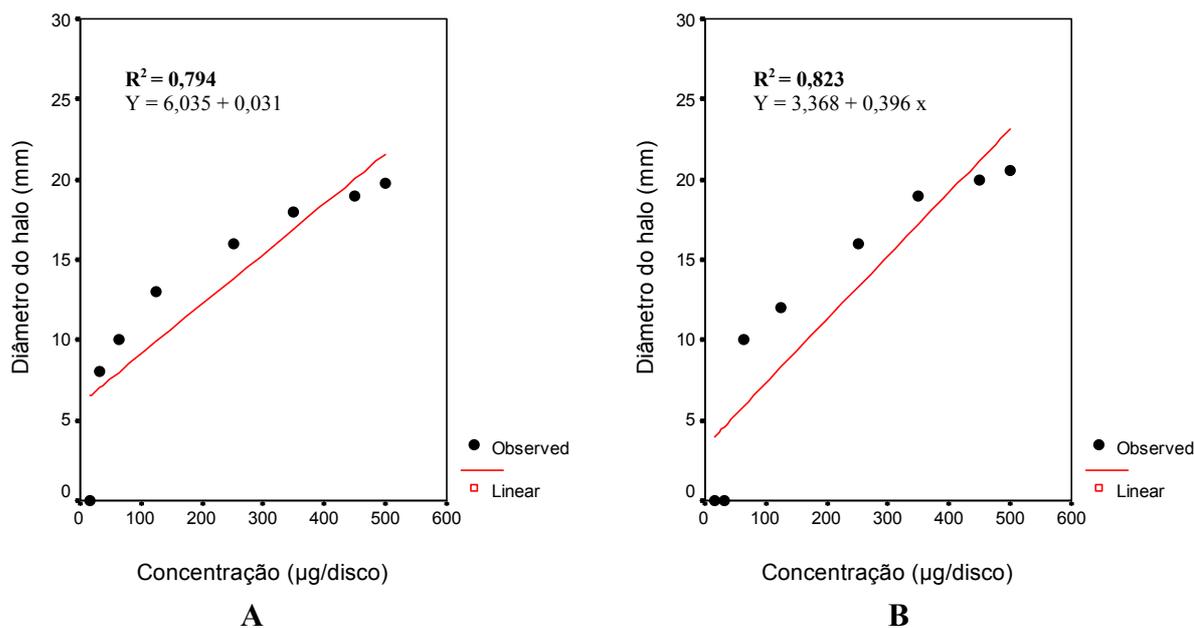


Figura 32. Curva de inibição do crescimento de *C. albicans* frente às frações em CHCl_3 (A) do caule de *P. hayneanum* e em C_6H_{14} (B) do caule da *Z. tuberculosa*.

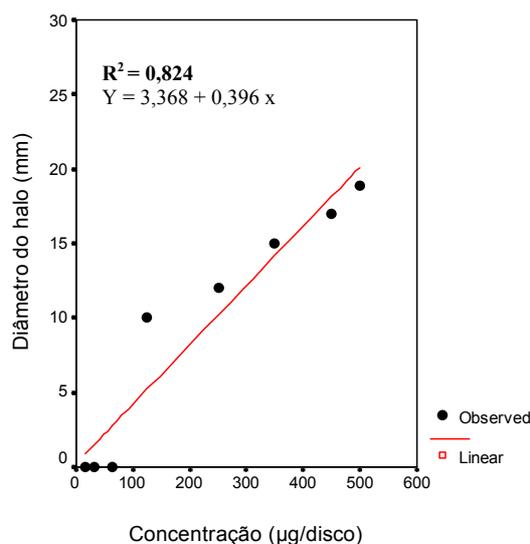


Figura 33. Curva de inibição do crescimento de *C. albicans* frente à fração em CHCl_3 do caule de *Z. tuberculosa*.

O potencial antifúngico das folhas e frutos da espécie *Eugenia umbelliflora* (Myrtaceae) foi evidenciado nas frações em CH_2Cl_2 e em AcOET (Machado, 2005). As frações em C_6H_{14} e em CHCl_3 das folhas da *Piper regnellii* (Piperaceae), uma planta utilizada no Brasil para tratar doenças infecciosas, foram testadas por Pessini *et al.*, (2005) para avaliação contra a *C. albicans*. Estes autores constataram o potencial antifúngico desta espécie vegetal com uma CIM de 125 $\mu\text{g/mL}$. No entanto, estes dados, assim como os

obtidos no presente trabalho, são inconclusivos com relação a influência da polaridade na atividade antifúngica.

5.2.5 Avaliação das subfrações oriundas das filtrações e tratamento ácido-base

As cinco frações consideradas ativas ou moderadamente ativas (CIM 31,2 a 250 µg/disco) foram filtradas em sílica gel (70-230 mesh) utilizando-se sistemas de solventes de polaridade crescente, originando 16 subfrações (Quadro 5, p. 102). Estas subfrações e uma proveniente de tratamento ácido-base foram avaliadas nas concentrações de 1,0 a 250 µg/disco, para determinação da CIM frente à *S. aureus* e a *C. albicans*. Destas, segundo os critérios estabelecidos no item 4.7.7 (p. 106), 11 apresentaram ação inibitória sobre o crescimento de pelo menos um dos microrganismos, e foram posteriormente avaliadas quanto à toxicidade (Tabela 6, p. 141). As subfrações ativas para os dois microrganismos foram das raízes de *P. hayneanum*, CHCl₃ e em CHCl₃-MeOH (1:1); e caule de *Z. tuberculosa*, C₆H₁₄-CHCl₃ (1:1), CHCl₃ e CHCl₃-MeOH (1:1) (Figuras 34-38, pp. 135-137).

A CIM da subfração em CHCl₃ das raízes de *P. hayneanum* foi de 31,2 µg/disco para *S. aureus*, e de 3,9 µg/disco para *C. albicans*, com diâmetro do halo de 7 e 10 mm respectivamente. Esta atividade antimicrobiana mostrou uma alta correlação dose/efeito ($p < 0,05$) (Figura 34A e B, p. 135). A subfração em CHCl₃-MeOH (1:1), desta mesma espécie vegetal, apresentou CIM de 31,2 µg/disco para *S. aureus* e de 1 µg/disco para *C. albicans*, com forte correlação entre a dose e o diâmetro do halo de inibição (Figura 35A e B, p. 136).

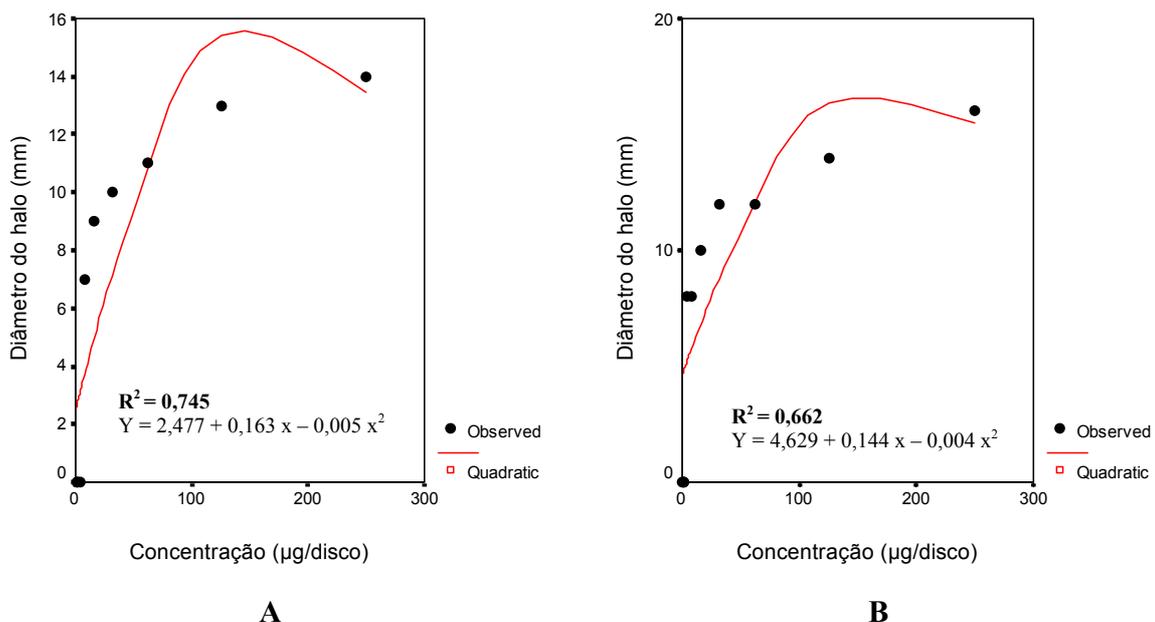


Figura 34. Curva de inibição do crescimento de *S. aureus* (A) e *C. albicans* (B) frente à subfração em CHCl₃ das raízes de *P. hayneanum*.

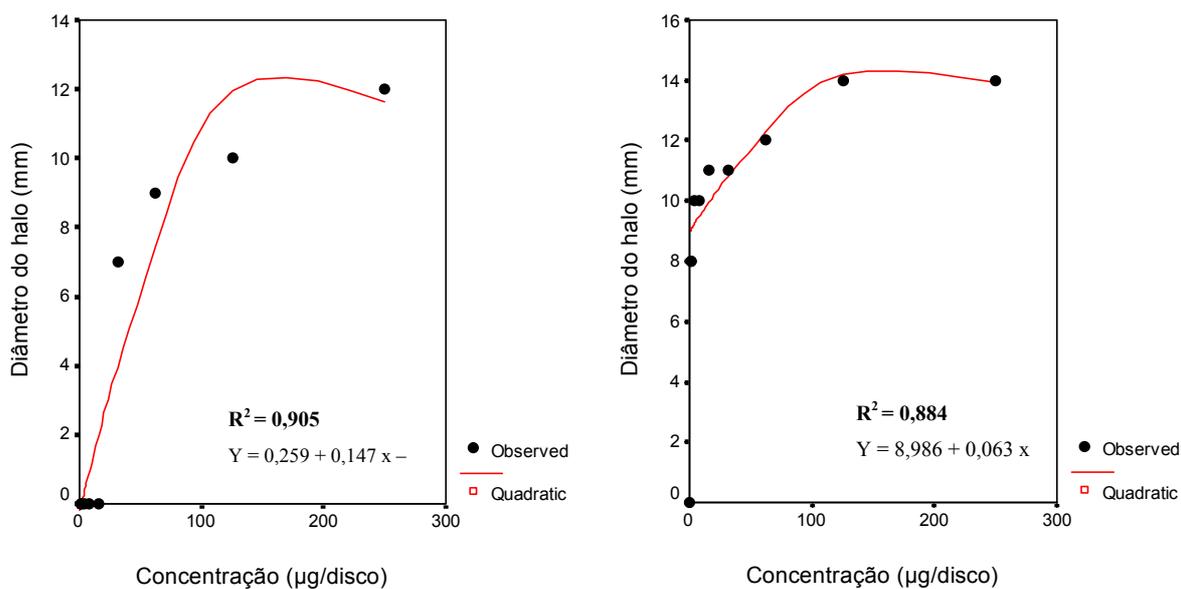


Figura 35. Curva de inibição do crescimento de *S. aureus* (A) e *C. albicans* (B) frente a subfração CHCl₃-MeOH (1:1) das raízes de *P. hayneanum*.

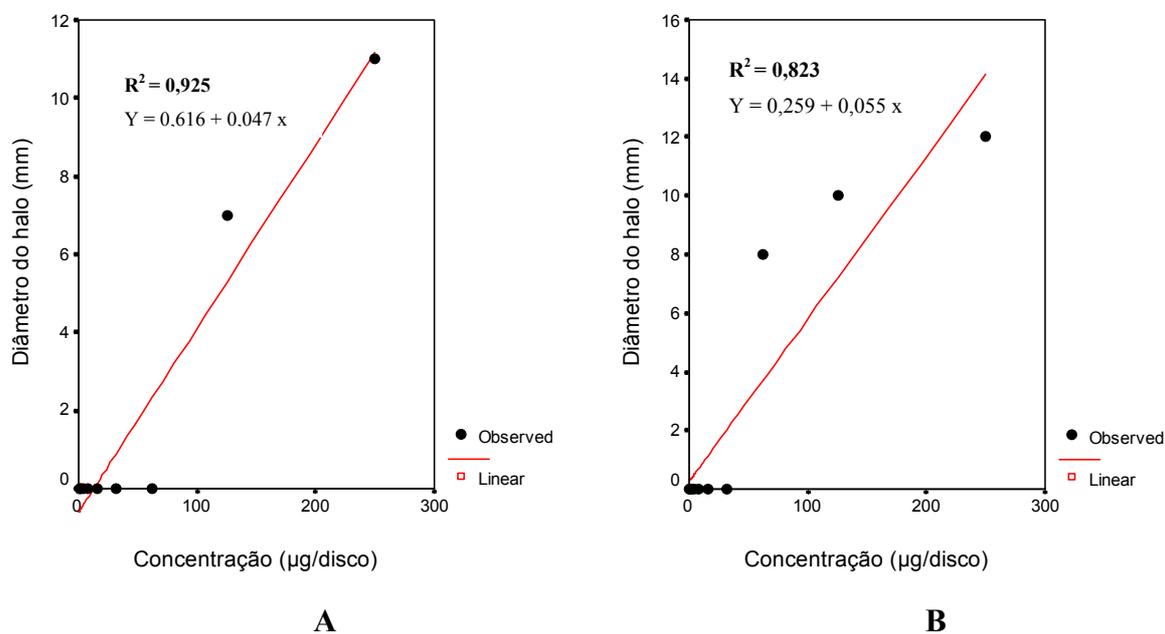


Figura 36. Curva de inibição do crescimento de *S. aureus* (A) e *C. albicans* (B) frente a subfração em C₆H₁₄-CHCl₃ (1:1) do caule de *Z. tuberculosa*.

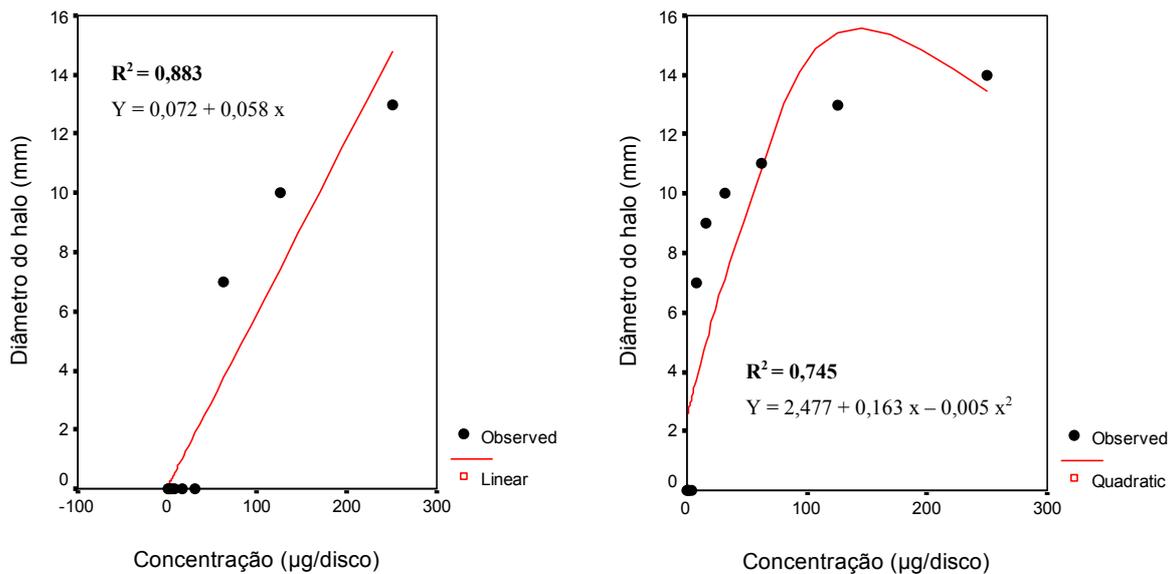


Figura 37. Curva de inibição do crescimento de *S. aureus* (A) e *C. albicans* (B) frente a subfração em CHCl_3 do caule de *Z. tuberculosa*.

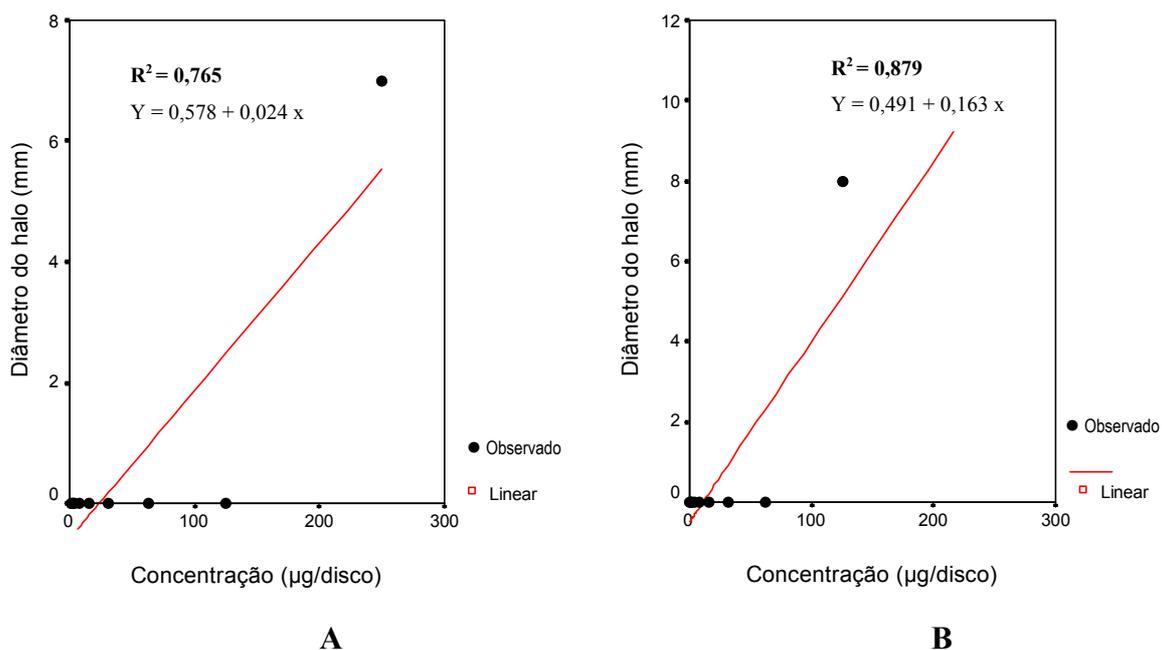


Figura 38. Curva de inibição do crescimento de *S. aureus* (A) e *C. albicans* (B) frente à subfração em CHCl_3 -MeOH (1:1) do caule de *Z. tuberculosa*.

As subfrações testadas oriundas do caule de *Z. tuberculosa*, mostraram forte correlação entre halo e dose ($R^2 \geq 0,74$, $p < 0,05$) (Figuras 36-38, pp.136-137). Das subfrações ativas contra os dois microrganismos: $\text{C}_6\text{H}_{14}\text{-CHCl}_3$ (1:1) (CIM 125 $\mu\text{g}/\text{disco}/S. aureus$ e 62,5 $\mu\text{g}/\text{disco}/C. albicans$), CHCl_3 (CIM 62,5 $\mu\text{g}/\text{disco}/S. aureus$ e 7,8 $\mu\text{g}/\text{disco}/C. albicans$) e $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (1:1) (CIM 250 $\mu\text{g}/\text{disco}/S. aureus$ e 125 $\mu\text{g}/\text{disco}/C. albicans$), as menores

valores de CIM foram para a *C. albicans*, indicando que a atividade fungicida *in vitro* se sobrepôs à bactericida.

Atividade antimicrobiana, bactericida e/ou fungicida, já foi relatada para outras espécies do gênero *Piper* (Setzer *et al.*, 1999; Shitut *et al.*, 1999). No entanto, embora espécies vegetais da família Bignoniaceae tenham demonstrado potencial antimicrobiano, esta é a primeira descrição deste tipo de atividade biológica no gênero *Zeyheria* (Eyong *et al.*, 2006; Hashem *et al.*, 2007).

O potencial antimicrobiano de substâncias extraídas de plantas tem sido confirmado cientificamente por grupos de pesquisadores de diversas regiões do mundo. A atividade biológica de *Schinus terebenthifolius* Raddi (Anacardiaceae) foi investigada por Lima e cols. (2004), que constataram amplo espectro de ação antimicrobiana desta espécie vegetal, incluindo bactérias Gram positivas, Gram negativas e fungos, dentre eles, o *S. aureus* e a *C. albicans*. Nogueira e cols. (2008), ao estudarem a atividade antimicrobiana *in vitro* de *Aleolanthus suaveolens* (Labiatae), *Caryophyllus aromaticus* (Myrtaceae), *Cymbopogon citratus* (Poaceae), *Matricaria chamomila* (Asteraceae), *Pithecellobium avaremotemo* (Leguminosae), *Plectranthus amboinicus* (Lamiaceae) e *Ruta graveolens* (Rutaceae) sobre agentes etiológicos em casos clínicos de otite externa, nos quais *S. aureus* e *C. albicans* foram encontrados, constataram que entre todas as espécies de maior potencial antimicrobiano foram *C. aromaticus* e *M. chamomila*.

Os resultados obtidos no presente trabalho indicam que uma mesma subfração pode fornecer agentes terapêuticos para tratamento simultâneo de infecções provocadas por *S. aureus* e *C. albicans*. Essas infecções são frequentemente encontradas em pacientes imunodeprimidos, o que torna importante a identificação de antimicrobianos polivalentes para evitar sobrecarga de medicamentos atualmente utilizados contra agentes patógenos oportunistas.

As Figuras 39-41 (pp. 139-140) apresentam as equações e curvas de regressão resultante do teste de inibição do crescimento, para as subfrações que demonstraram atividade somente para *C. albicans*. A Figura 39 (p. 139) mostra o resultado das subfrações de *P. hayneanum* em MeOH das raízes (CIM de 1 µg/disco com o diâmetro do halo = 7 mm) e em CHCl₃ do caule (CIM de 7,8 µg/disco com diâmetro do halo = 8 mm). Na Figura 40 (p. 139) estão representadas as curvas de regressão das subfrações do caule de *P. hayneanum* em CHCl₃/AcOEt (1:1) com CIM de 1 µg/disco (diâmetro do halo = 8 mm) e AcOEt cuja CIM foi igual a 1 µg/disco (diâmetro do halo = 7 mm). As curvas de inibição do crescimento das subfrações em MeOH do caule de *P. hayneanum* (CIM de 1 µg/disco com diâmetro do halo =

8 mm) e ácida em C_6H_{14} do caule de *Z. tuberculosa* (CIM de 31,2 $\mu\text{g}/\text{disco}$ com diâmetro do halo = 7 mm), estão plotadas na Figura 41 (p. 140). O conjunto de dados destas subfrações, apresentou coeficiente de determinação entre 0,63 e 0,92, indicando um grau de correlação alto ou muito alto.

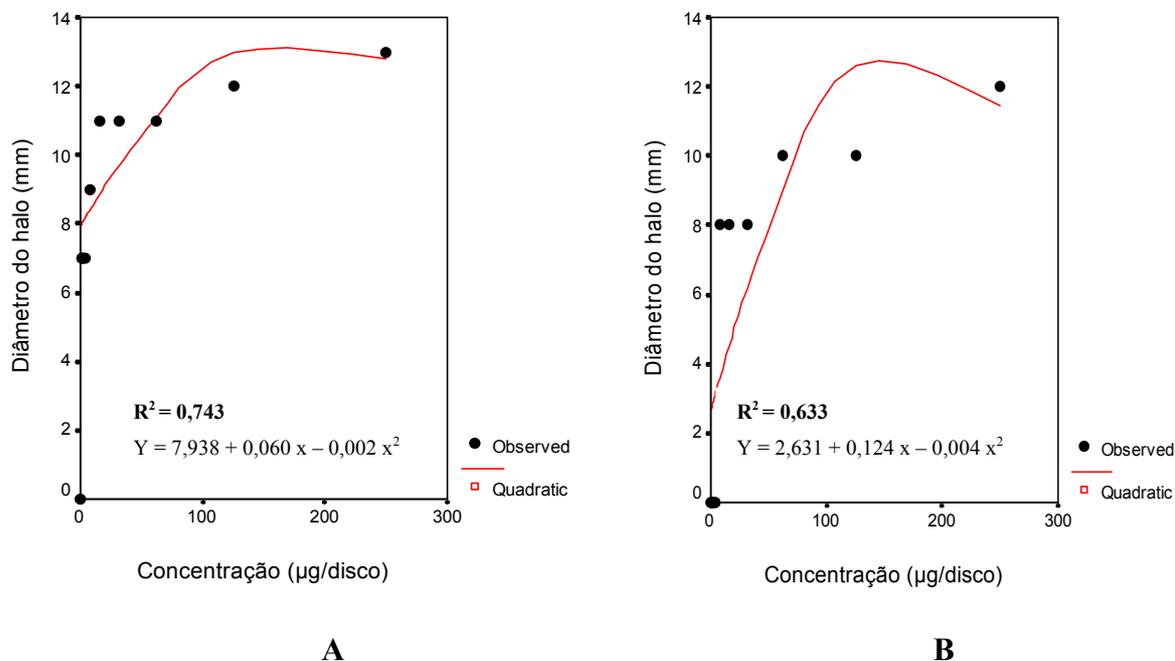


Figura 39. Curva de inibição do crescimento de *C. albicans* frente as subfrações em MeOH (A) das raízes e CHCl_3 (B) do caule de *P. hayneanum*.

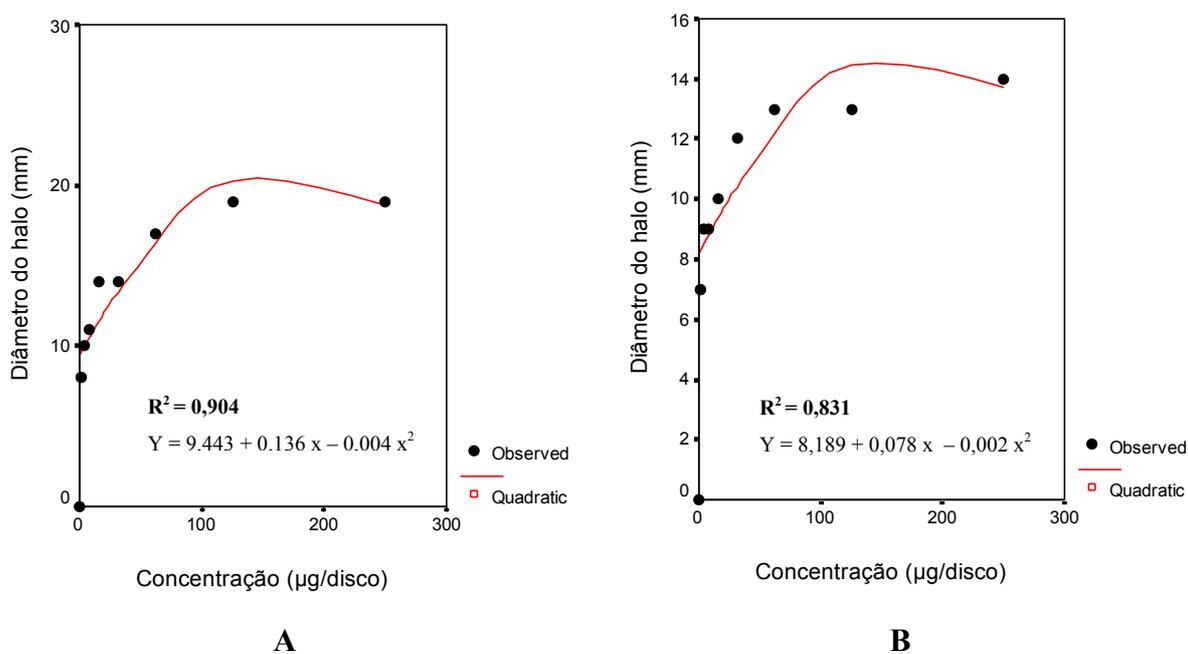


Figura 40. Curva de inibição do crescimento de *C. albicans* (B) frente as subfrações CHCl_3 -AcOEt (1:1) (A) e AcOEt (B) do caule de *P. hayneanum*.

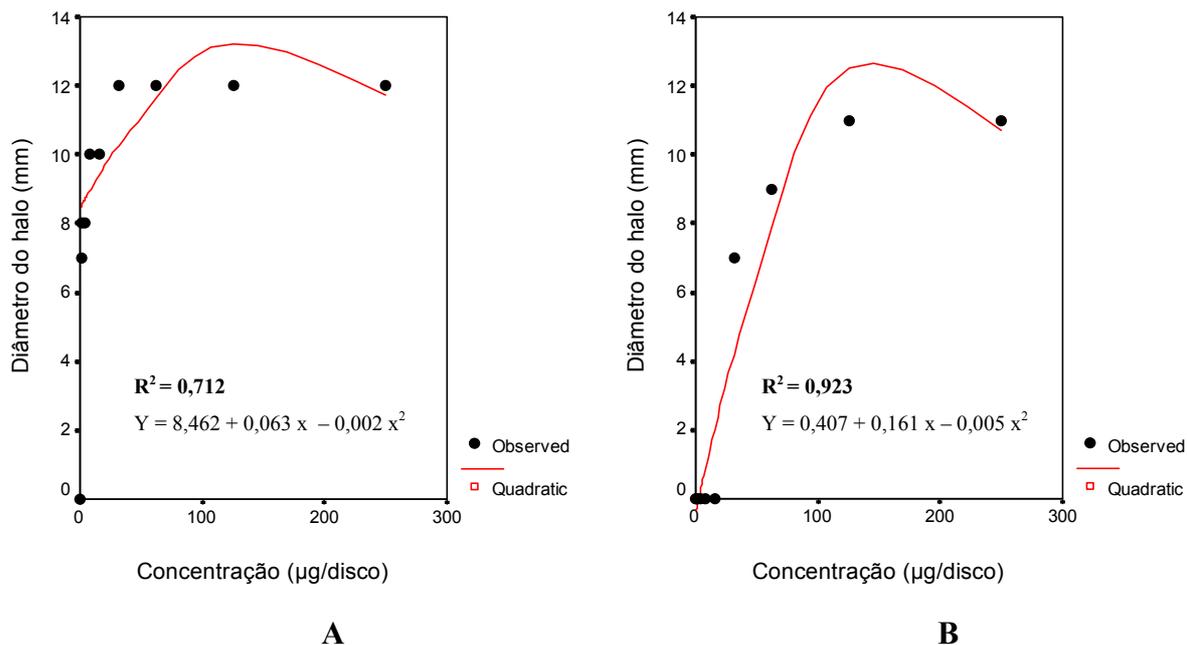


Figura 41. Curva de inibição do crescimento de *C. albicans* (B) frente às subfrações MeOH do caule de *P. hayneanum* (A) e ácida em C₆H₁₄ do caule de *Z. tuberculosa*.

Stefanello e cols. (2006), investigando a atividade antifúngica das cascas do caule da *Gochnatia polymorpha* ssp (Asteraceae) observaram que o extrato em CH₂Cl₂ inibiu o crescimento da *C. albicans* em maior proporção que os demais, concluindo que esta atividade parece estar relacionada à presença dos terpenos isolados nesta espécie vegetal.

Pretto (2005), ao investigar a atividade antifúngica de nove diferentes plantas da flora catarinense: *Abuta selloana* (Menispermaceae), *Callophylum brasiliense* (Clusiaceae), *Coussapoa schottii* (Moraceae), *Ipomoea pe-caprae* (Convolvulaceae), *Psychotria* spp. (Rubiaceae), *Quina* spp. (Quiinaceae), *Sloena* spp. (Elaeocarpaceae), *Aiantum cuneatum* (Polypodeaceae) e *Iris xiphium* (Iridaceae), observou que nenhuma destas espécies vegetais em forma de extrato, fração ou substância pura apresentou atividade antifúngica. O autor atribuiu a ausência de atividade sobre a *C. albicans* ao antagonismo entre os componentes do extrato, à fatores inerentes às propriedades de seus constituintes químicos possivelmente desprovidos da capacidade de romper a cadeia peptídica presente na membrana citoplasmática, ou à impermeabilidade da parede celular fúngica aos constituintes das espécies vegetais testadas.

Considerando a resistência das leveduras pertencentes ao gênero *Candida*, frente aos antifúngicos atualmente utilizados, a pesquisa de novos compostos antifúngicos de origem vegetal reveste-se de relevância. A existência de atividade fungicida em espécies vegetais,

aponta uma real possibilidade de sua aplicação no tratamento de doenças infecciosas de origem fúngica (Lima *et al.*, 2006).

5.3 Toxicidade Frente à *Artemia salina* (TAS)

As 11 subfrações ativas nos ensaios antimicrobianos *in vitro* foram avaliadas quanto à toxicidade por meio do Teste de Toxicidade frente à *Artemia salina* (Tabela 6, p. 141).

Tabela 6. Subfrações de *P. hayneanum* e de *Z. tuberculosa* submetidas ao Teste de Toxicidade frente à *A. Salina*.

Espécie - Parte da Planta Fração (Extrato)	Subfração	Mortalidade de (%) ^a	CL ₅₀ (µg/mL)	IC ₉₅ (µg/mL)	Grau de toxicidade
<i>P. hayneanum</i>-Caule	CHCl ₃	32,0	615,3	501-731	Baixo
Filtração da fração CHCl ₃ (EtOH)	CHCl ₃ -AcOEt 1:1	0,0	> 1000	0,0	Atóxico
	AcOEt	42,8	382,7	284-494	Alto
	MeOH	0,0	> 1000	0,0	Atóxico
<i>P. hayneanum</i>-Raízes	CHCl ₃	31,0	861,9	638-998	Baixo
Filtração da fração CHCl ₃ (EtOH)	CHCl ₃ -MeOH 1:1	0,0	> 1000	0,0	Atóxico
	MeOH	0,0	> 1000	0,0	Atóxico
<i>Z. tuberculosa</i> Caule					
Tratamento ácido-base C ₆ H ₁₄ (EtOH)	C ₆ H ₁₄ Ácida	77,1	29,5	24 - 35	Alto
Filtração da fração CHCl ₃ (EtOH)	C ₆ H ₁₄ -CHCl ₃ 1:1	45,4	398,0	299-560	Alto
	CHCl ₃	31,4	705,0	422-868	Baixo
	CHCl ₃ -MeOH 1:1	0,0	> 1000	0,0	Atóxico
H ₂ O do mar - 1% DMSO	Controle negativo	0,0	0,0	0,0	Atóxico
H ₂ O do mar - 1% Timol	Controle positivo	100	2,9 ^b	2,3-3,3 ^b	Tóxico

^aOs valores correspondem às médias da triplicata

^bEllis & Baxendale, 1997

O objetivo fundamental de estudos de citotoxicidade é o de se conhecer os aspectos de morbi-mortalidade de um agente químico sobre um organismo, representado por manifestações clínicas e/ou alterações laboratoriais (Larini, 1997). Parra e cols. (2001), em seu trabalho sobre métodos de investigação da toxicidade de extratos de plantas, comprovou que o método de *TAS* é tão eficaz quanto o da citotoxicidade aguda em ratos, enfatizando sua importância como um indicador para a condução de experimentos clínicos.

A atividade artemicida do timol, utilizado como controle positivo do *TAS*, encontra-se na sua capacidade de romper a membrana citoplasmática e conseqüentemente levar as larvas de *A. salina* à morte por desidratação (Ellis & Baxendale, 1997).

No presente estudo os resultados de *TAS* revelaram que cinco (45,4%) das subfrações: CHCl₃-AcOEt 1:1 (caule), CHCl₃-MeOH 1:1 (raízes) e MeOH (caule e raízes) da *P. hayneanum*, e CHCl₃-MeOH 1:1 de *Z. tuberculosa*, provenientes da fração em CHCl₃ oriunda da partição do extrato em EtOH foram atóxicas, com CL₅₀ > 1000 µg/mL. A ausência de toxicidade destas frações identificada nos ensaios preliminares (percentual de mortalidade ≤30%), dispensou a realização do ensaio quantitativo, e conseqüentemente a determinação CL₅₀. Esses dados demonstram a ausência de toxidez, indispensável para uso seguro, elegendo essas subfrações à condição de promissoras, com potencial antimicrobiano livre de efeitos adversos. As seis demais subfrações (54,6%) foram submetidas ao teste quantitativo para cálculo dos valores de CL₅₀. Três destas subfrações (27,3%) oriundas da fração CHCl₃ da partição do extrato em EtOH mostraram baixa toxicidade: as subfrações provenientes de *P. hayneanum* em CHCl₃ (caule), cuja CL₅₀ foi igual a 615,3 µg/mL e CHCl₃ (raízes), com CL₅₀ de 861,9 µg/mL e a subfração oriunda de *Z. tuberculosa* em CHCl₃ (caule), com CL₅₀ 705,0 µg/mL (Tabela 6, p. 141). Enquanto as outras três (27,3%), também, oriundas do mesmo extrato, revelaram alta toxidez, a saber: AcOEt (caule), CL₅₀ 382,7 µg/mL de *P. hayneanum*, e as subfrações do caule de *Z. tuberculosa* ácida em C₆H₁₄, CL₅₀ 29,5 µg/mL e em C₆H₁₄-CHCl₃ 1:1, com CL₅₀ 398,0 µg/mL (Tabela 6, p. 141).

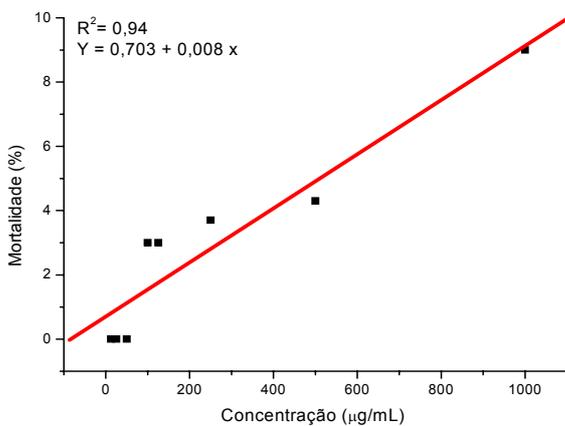
Extratos e substâncias puras provenientes de espécies vegetais que apresentam CL₅₀<500 µg/mL são consideradas tóxicas, mas podem ser avaliadas quanto ao seu potencial antitumoral, inseticida, pesticida, ou mesmo cercaricida para o combate da forma infectante do *Schistosoma mansoni*, entre outras ações biológicas que dependam de citotoxicidade (McLaughlin, 1991; Solis *et al*, 1992). Estudos realizados no Instituto Nacional do Câncer, nos Estados Unidos da América, correlacionam alta toxicidade para *Artemia*, ou seja baixas

concentrações de CL₅₀, com inibição significativa do crescimento *in vitro* de linhagens de células provenientes de tumores sólidos (Anderson *et al.*, 1991).

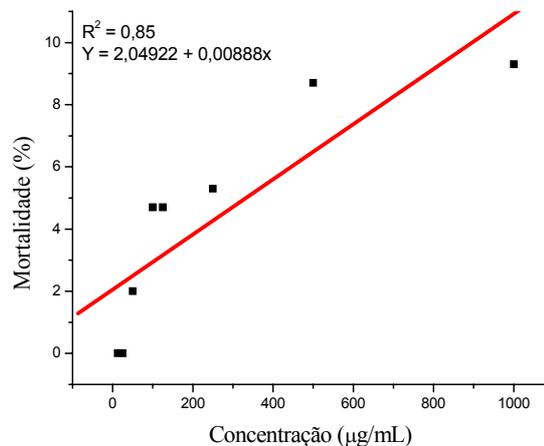
O desempenho das subfrações frente ao teste de *TAS* evidenciou que aquelas provenientes de frações em C₆H₁₄, apresentaram alta toxicidade. Na subfração ácida em C₆H₁₄ o grau de toxicidade foi ainda maior, com CL₅₀ consideravelmente mais baixa (29,5 µg/mL). Isto se deve possivelmente ao grau de acidez da mesma, o que pode ser um dos fatores responsáveis pela sua boa atividade antimicrobiana. Resultados semelhantes foram obtidos por Brandão e cols. (2002) que relataram a alta toxidez dos ácidos caurenóico (CL₅₀ 15,9 µg/mL) e grandiflorênico (CL₅₀ 25,2 µg/mL) da fração em CH₂Cl₂ de *Wedelia paludosa* (Asteraceae).

As subfrações em CHCl₃ apresentaram uma toxicidade baixa, que desaparecia quando a fração era filtrada em CHCl₃-MeOH. Todas as subfrações em MeOH mostraram-se atóxicas. Estes resultados se assemelham aos relatados por Siqueira e cols. (2001), na qual a atividade tóxica da espécie vegetal por eles estudada se concentrou na fração menos polar. Ruiz e cols. (2005) estudaram a atividade moluscicida em espécies do gênero *Eleocharis* (Cyperaceae) e também constataram que extratos em MeOH e EtOH-H₂O foram atóxicos (CL₅₀ > 1000 µg/mL), enquanto extratos em C₆H₁₄ foram tóxicos (CL₅₀ = 476,0 µg/mL). Noldin e cols. (2003) também relataram que as frações menos polares (C₆H₁₄), em diferentes concentrações (0,5 a 2 mg/mL) causaram mortalidade significativa da *A. salina in vitro*. Por outro lado, Silva e cols. (2004), ao testarem a atividade larvicida da *Magonia pubescens* (Sapindaceae) em frações em CH₂Cl₂/MeOH (6:4) e (4:6) e em MeOH, detectaram maior toxidez na fração em MeOH, rica em taninos. Sukumar e cols. (1991) descrevem que a bioatividade de extratos vegetais depende da solubilidade do material ao solvente utilizado durante a extração e/ou purificação do mesmo, ou seja, tanto do grau de incorporação do solvente pelo material no processo de separação, quanto da natureza dos constituintes responsáveis pela atividade. A toxicidade para larvas de *Artemia* independe da polaridade dos solventes utilizados para extração ou purificação do material vegetal, estando possivelmente relacionada às características químicas das substâncias presentes nos extratos, frações ou subfrações.

As subfrações que tiveram os valores de CL₅₀ calculados mostraram correlação positiva significativa entre as concentrações testadas e os percentuais de mortalidade obtidos, com o fator de determinação da equação (R²) variando de 0,76 a 1 (p < 0,05) (Figuras 42-44, pp. 144-145).

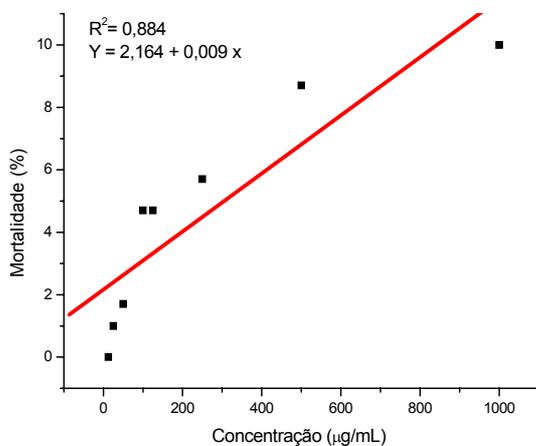


A

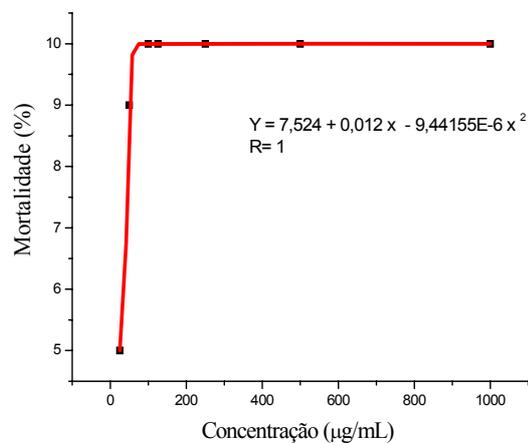


B

Figura 42. Mortalidade da *A. salina* em função das concentrações das subfrações CHCl_3 (A) e AcOEt (B) do caule de *P. hayneanum*.



A



B

Figura 43. Mortalidade da *A. salina* em função das concentrações das subfrações em CHCl_3 (A) das raízes de *P. hayneanum* e ácida em C_6H_{14} (B) do caule de *Z. tuberculosa*.

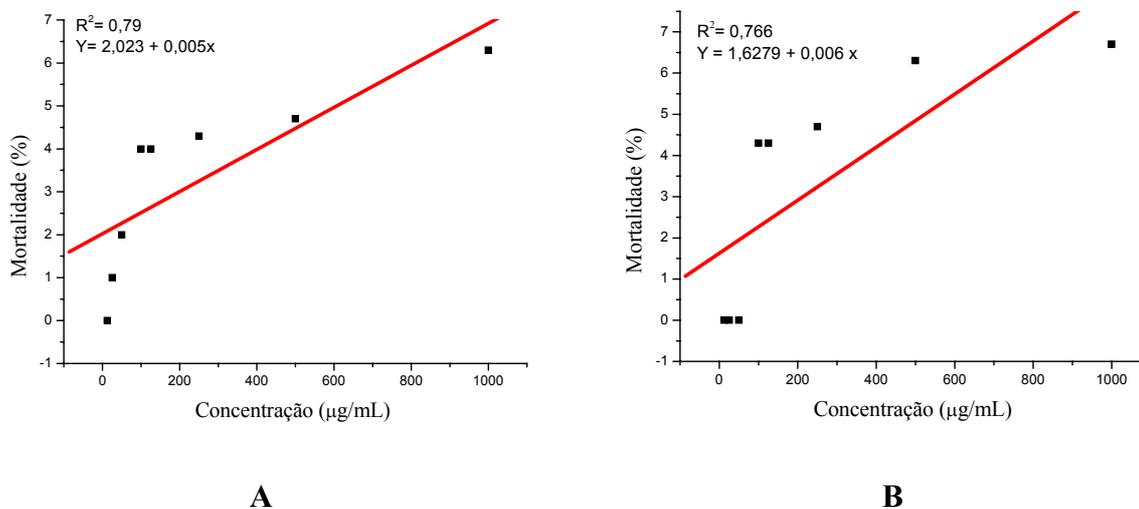


Figura 44. Mortalidade da *A. salina* em função das concentrações das subfrações $C_6H_{14}-CHCl_3$ (A) e em $CHCl_3$ (B) do caule de *Z. tuberculosa*.

Alguns estudos correlacionam a letalidade de *A. salina* em maior ou menor escala a certos grupos de substâncias ou ainda à posição de seus substituintes. Nessa perspectiva, David e cols. (2001) atribuíram à lignana α -peltatina de *Eriope blanchetii* (Lamiaceae) a atividade antitumoral ($CL_{50} = 10 \mu\text{g/mL}$), enquanto os triterpenos pentacíclicos do mesmo extrato tiveram $CL_{50} > 1000 \mu\text{g/mL}$. Estes autores também avaliaram a substância ativa após acetilação e observaram que o grupo OH em C-4' era o responsável pela citotoxicidade, uma vez que o derivado acetilado apresentou $CL_{50} > 1000 \mu\text{g/mL}$. A mesma observação foi descrita por Campos (2006) ao estudar a toxidez de extratos, frações e substâncias da *P. solmsianum*, dentre eles a neolignana conocarpano ($CL_{50} 2,9 \mu\text{g/mL}$) que ao ser acetilada apresentou $CL_{50} > 1000 \mu\text{g/mL}$. Por sua vez, Kumarasamy e cols. (2004) isolaram quatro flavonas (*Alliaria*, Brassicaceae) com ação antimicrobiana e as submetteram ao TAS. Estas se mostraram atóxicas ($CL_{50} > 1000 \mu\text{g/mL}$). Também foram atóxicos os flavonóides 2''-(4''''-hidroxibenzoil)-isorientina, orientina, isorientina, isoquercetrina e circiliola (Shoeb *et al.*, 2007), e os alcalóides oxobuxifolina e a lanuginosida ($CL_{50} 10,4$ e $27,6 \mu\text{g/mL}$, respectivamente), polialtina e oliveridina ($CL_{50} > 1000 \mu\text{g/mL}$), o flavonóide hispidulina ($CL_{50} 468 \mu\text{g/mL}$) (Siqueira *et al.* 2001; Moreira *et al.*, 2003).

No gênero *Zeyheria* não foi encontrado registro de avaliação de toxicidade frente à *A. salina*. No entanto, em espécies da mesma família os resultados encontrados são discordantes. Dolabela (1987) relatou alta toxicidade no extrato hidroalcoólico de *Tabebuia*

aurea (Bignoniaceae) (CL50 12µg/mL), enquanto Alves e cols. (2000) descreveram ausência de toxicidade do extrato aquoso de *T. ocracea* (Bignoniaceae) (CL50 >4.000 µg/mL).

5.4 Avaliação Antimicrobiana *in vivo*

A seguir estão descritos os resultados das avaliações macroscópica, microbiológica e histopatológica, das lesões cutâneas infectadas com *S. aureus* ou com *C. albicans*. Em cada experimento os animais dos grupos controle negativos (não tratados) receberam somente a pomada preparada com base não iônica, os grupos testes foram tratados com a **Pomada 1** (subfração CHCl₃-MeOH 1:1 de raízes/*P. hayneanum*), ou com a **Pomada 2** (CHCl₃-AcOEt 1:1 do caule/*P. hayneanum*), e os ratos dos grupos controles positivo receberam garamicina (grupo infectado com *S. aureus*) ou miconazol (grupo infectado com *C. albicans*).

5.4.1 Avaliação macroscópica - observação clínica das lesões

A avaliação macroscópica foi realizada com base no monitoramento do peso, temperatura corpórea, retração do diâmetro da lesão, tecido de granulação, inflamação, necrose e cor da lesão (Figuras 45-50, pp. 147-152).

Houve oscilação ponderal nos quatro grupos tanto no experimento com *S. aureus* quanto no experimento com a *C. albicans* (Figura 45, p. 147). A Figura 45A (p. 147) mostra que a perda ponderal dos animais infectados com *S. aureus* ocorreu em três dos quatro grupos, sendo, a partir do 6º DPO, estatisticamente maior no grupo controle não tratado ($p < 0,05$). Quanto à perda ponderal dos ratos infectados com a *C. albicans* (Figura 45B, p. 147) foi observado que esta ocorreu nos quatro grupos, sendo mais acentuada no controle não tratado a partir do 6º DPO ($p < 0,05$).

Em ambos os experimentos, o grupo controle negativo foi quem apresentou significativamente uma maior perda ponderal. Os ratos tratados com as pomadas teste, se comportaram de maneira semelhante aos grupos tratados com os antimicrobianos padrões utilizados rotineiramente para tratamento de feridas do sistema tegumentar, sendo as diferenças estatisticamente significantes.

A perda de peso é uma das variáveis mais encontradas em pacientes com feridas crônicas levando-os a quadros de desnutrição, em decorrência da quantidade de exudato liberado ($\pm 5,6$ g de proteína) por uma ferida em um período de 24 horas (Steinberg *et al.*, 1996). Dealey (2001) afirma que a desnutrição é um estado patológico resultante da

deficiência de um ou mais nutrientes essenciais, principalmente, as proteínas e os carboidratos, que são os nutrientes usados em maiores quantidades no processo de cicatrização. Da mesma forma, Cândido (2001) também relata que a deficiência nutricional interfere em todas as fases da cicatrização, e que a hipoproteïnemia diminui a resposta imunológica, a síntese de colágeno e a função fagocitária. Portanto, a dinâmica do processo cicatricial envolve o metabolismo de vários nutrientes.

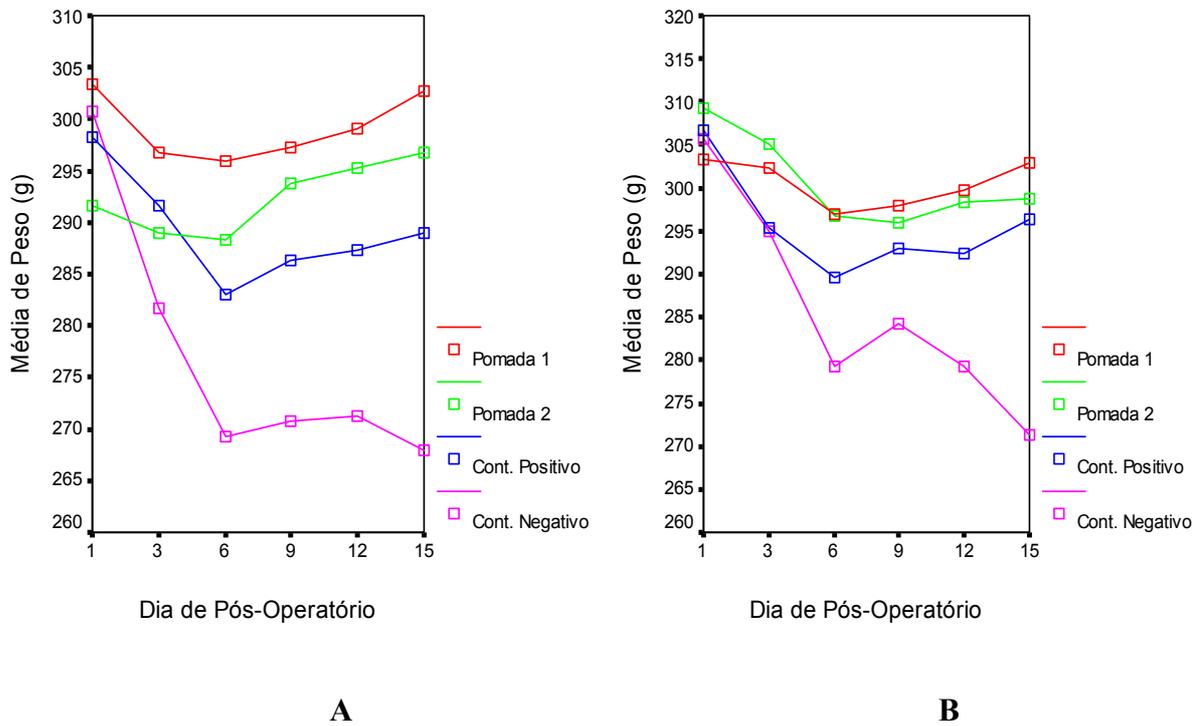


Figura 45. Curva do peso corpóreo dos animais infectados com *S. aureus* (A) e *C. albicans* (B) e submetidos a diferentes tratamentos.

A Figura 46 (p. 148) mostra a cinética da temperatura basal dos animais infectados durante o experimento. No primeiro dia de pós operatório (DPO) a temperatura variou entre 36,1 a 36,3 °C. Do 3° ao 6° DPO, os animais do grupo controle negativo infectados com *Candida* e no 6° DPO os ratos do grupo não tratado e infectado com *S. aureus*, apresentaram elevação da temperatura acima de 37,2 °C, sugestivo de processo inflamatório. No entanto, os níveis térmicos corpóreos nos grupos experimentais (Pomada 1 e Pomada 2) e controle positivos permaneceram dentro dos parâmetros da normalidade. A partir do 9° dia do experimento todos os animais apresentaram temperatura entre 36,2 a 37 °C. A aferição da temperatura foi realizada por via retal (Figura 47A, p. 149).

A temperatura normal varia de 36 a 37 °C, considerada como um sinal vital que reflete alterações da função corporal e sua regulação, exercendo o papel homeostático, para

manter a uniformidade ou estabilidade do corpo dentro dos limites fisiológicos. O estado febril que variou entre 37,2 a 37,8 °C é definido como uma elevação da temperatura correspondente ao início de uma resposta de proteção do organismo perante a infecção e a lesão. A temperatura corporal elevada estimula os mecanismos de defesa do organismo, porém pode ocasionar mal-estar ao seu portador (Simões & Martino, 2007).

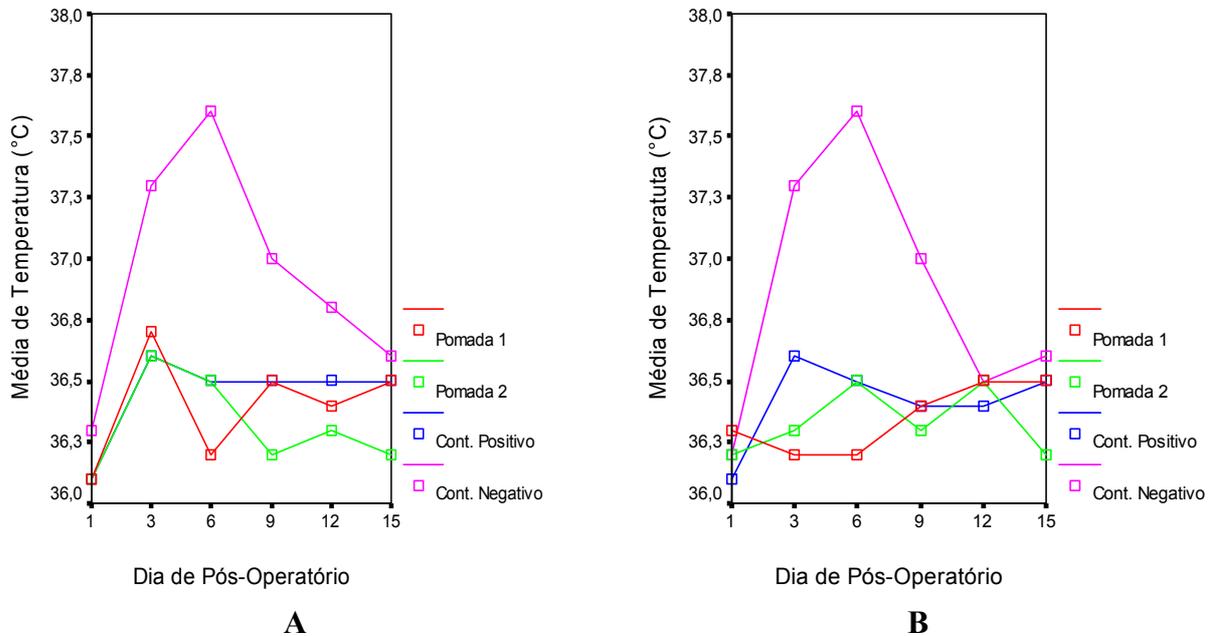


Figura 46. Curva da temperatura corpórea dos animais infectados com *S. aureus* (A) e *C. albicans* (B) e submetidos a diferentes tratamentos.

No dia da cirurgia todos os ratos apresentavam uma ferida com diâmetro de 6 mm (Figuras 47-48, pp. 149-150). A cada 72 horas a mensuração das feridas cutâneas era realizada para monitoramento das lesões (Figura 47B, p. 149). No experimento com *S. aureus*, a cinética da redução do tamanho das lesões dos ratos tratados com as pomadas 1 ou 2 foi comparável à observada nos animais tratados com garamicina ($p > 0,05$). No grupo controle não tratado o processo foi mais lento (Figura 48A, p. 150). O mesmo resultado foi observado no experimento com a *C. albicans* (Figura 48B, p. 150). Em ambos os experimentos, no último dia de observação as bordas das feridas dos grupos tratados estavam contraídas, enquanto ainda se observava lesão mensurável nos ratos do grupo controle negativo. Portanto, tanto a pomada 1 quanto a pomada 2, foram capazes de reduzir significativamente o tempo de cicatrização das feridas infectadas, em relação aos controles não tratados ($p < 0,05$).

Propriedades cicatrizantes já foram relatadas para outras espécies vegetais. Semenoff Segundo e cols. (2007) descreveram cicatrização de feridas pelo uso da geléia de *Aloe vera*

(Liliaceae) associada com a própolis em experimentos com ratos. O estudo das propriedades cicatrizantes de ferimentos cutâneos *in vivo* do extrato bruto da *Hamelia patens* (Rubiaceae) demonstrou que esta espécie vegetal tem a capacidade de promover a contração das bordas da ferida reduzindo o tempo de cicatrização de forma significativa em relação ao controle. (Gomez-Beloz *et al.*, 2003).

Os sinais macroscópicos da reação inflamatória, representados por hiperemia, edema e presença de exsudato foram observados em todos os animais até o 3º DPO. A partir do 6º até o 12º DPO, somente os animais não tratados apresentavam características flogísticas de inflamação.

A inflamação compreende a primeira fase do processo de regeneração tecidual, com participação de células do sistema imunitário. No entanto, esta fase pode ser prolongada em decorrência de diferentes fatores entre eles contaminação da ferida por patógenos. Tratamentos que favoreçam a expulsão ou morte do corpo estranho podem abreviar o processo, acelerando a cura da lesão (Vasconcelos *et al.*, 2007). As pomadas preparadas com subfrações da espécie vegetal *P. hayneanum* 1 e 2 foram tão eficazes quanto o antibiótico (garamicina) e o antifúngico (miconazol), na contenção do processo inflamatório, devido, provavelmente a sua ação antimicrobiana sobre as feridas.

Ainda macroscopicamente, no que se refere à ocorrência de tecido de granulação, foi observado que as lesões de todos os animais, independente do tratamento ou agente etiológico contaminante, obedeceram à mesma seqüência de eventos tempo-dependentes até o 3º DPO. Até este dia nenhum animal apresentava sinais de tecido de granulação, que apareceu a partir do 6º DPO, nos animais tratados (controles positivos e testes). Nos grupos controles negativos, a granulação somente foi observada macroscopicamente a partir do 12º DPO nos animais infectados pelo *S aureus*. No 15º DPO a granulação estava presente em todos os animais tratados ou não.



Figura 47. Aferição: Temperatura dos animais (A) e diâmetro da lesão (B).

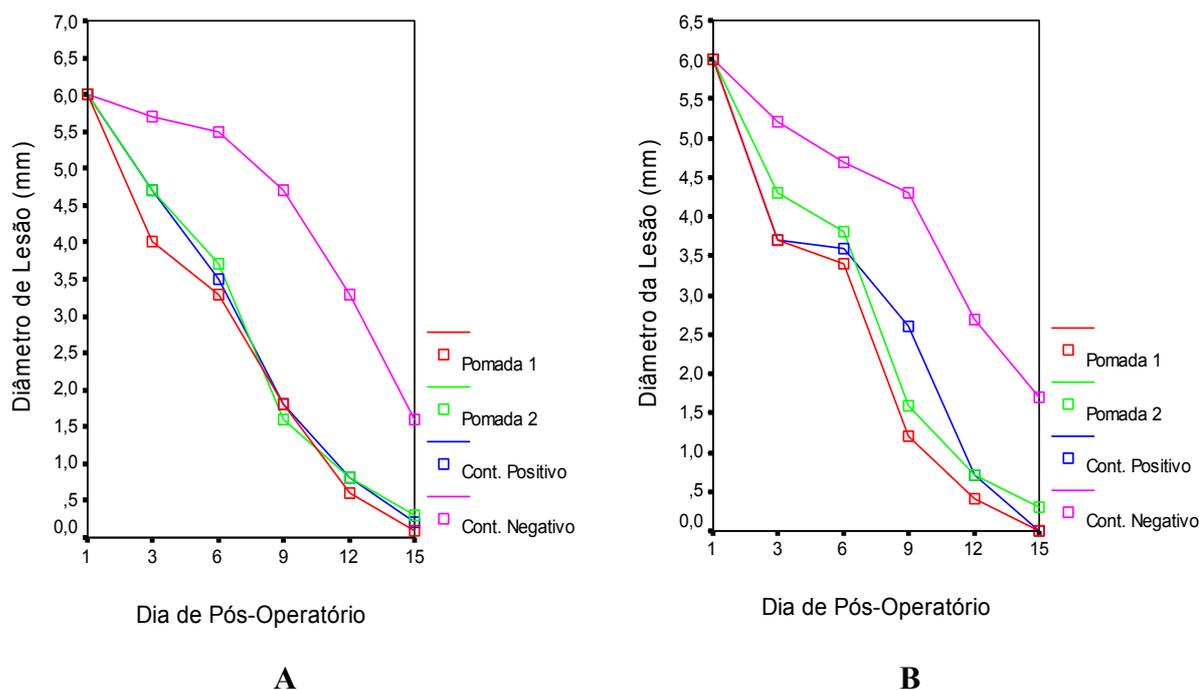


Figura 48. Cinética da cicatrização das lesões dos animais infectados com *S aureus* (A) ou *C. albicans* (B) e submetidos a diferentes tratamentos.

Experimentos realizados com emulsão de Policaju, um produto comercial que tem como matéria prima a espécie vegetal *Anacardium occidentale* (Anacardiaceae) constatou a eficácia deste produto, no tratamento de feridas intencionais em camundongos. Este fitoterápico favoreceu o aparecimento de tecido de granulação fibrovascular em relação aos grupos controles a partir do 6º DPO (Schirato *et al.*, 2006).

Tecido necrótico foi observado somente nos grupos controles negativos, enquanto que nos grupos experimentais e controles positivos a necrose não se manifestou. No experimento com *S aureus* observou-se pontos necróticos em 67% dos animais não tratados no 6º DPO e em 33% dos ratos no 9º DPO. Com relação à *C. albicans* a necrose se apresentou com maior intensidade em 67% dos animais no 6º DPO, e em 100% dos controles negativos no 9º e 12º DPO.

A necrose tecidual é a uma complicação muito freqüente nas infecções, e é atribuída a dificuldade ou diminuição do fluxo sanguíneo, decorrente de distúrbios microvasculares, alterações metabólicas, liberação de prostaglandinas I-2 e de radicais livres. Sua ocorrência retarda todo o processo de reestruturação e modelagem celular, deixando a ferida com uma cicatriz espessa e protuberante (Brito *et al.*, 2001).

Conforme mostra a Figura 49 (p. 151) as cores das lesões observadas durante todo o experimento foram: vermelho, marrom, amarelo e rosa.

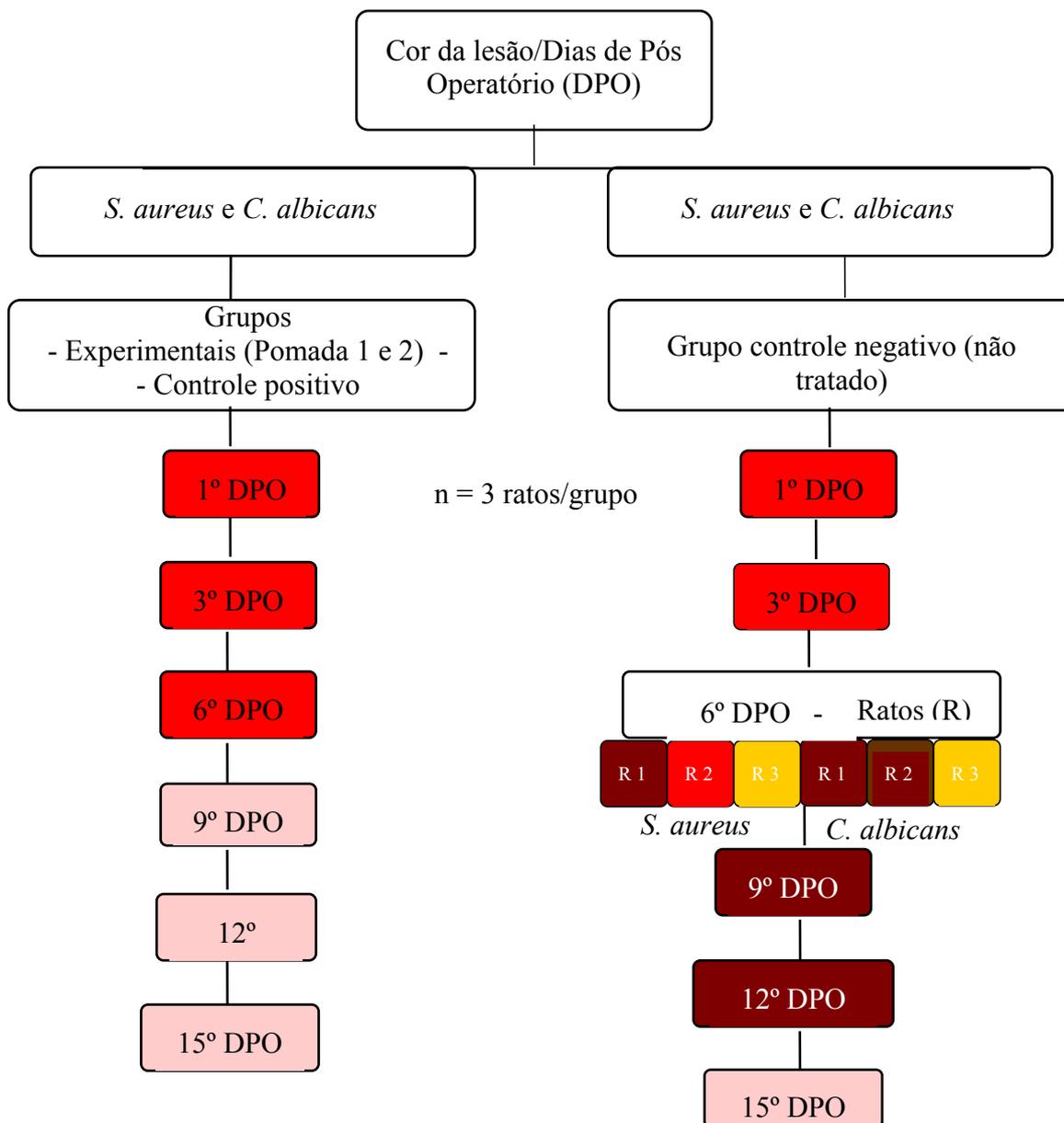


Figura 49. Cores apresentadas pelas lesões infectadas dos animais segundo agente etiológico e DPO.

O aspecto da lesão, com relação à cor, reflete clinicamente o desenvolvimento do processo de cicatrização. Todos os animais dos grupos experimentais (pomadas 1 e 2) e controle positivo não apresentaram alteração de cor no leito da lesão, inicialmente vermelha e a partir do 9º dia coloração rosa, indicando que a infecção foi controlada (Figura 50, p. 152). No entanto, os animais dos grupos controle negativos tiveram lesões de coloração marrom, o que indica a presença de uma possível necrose. Além disso, um dos ratos do controle negativo apresentou exsudato purulento na ferida no 6º DPO. Vale destacar que a cor marrom da lesão, comumente presente em lesões infectadas com bactérias, foi também observada nos animais do grupo controle negativo infectados com *C. albicans*. Apesar de incomum, esta

observação pode ser explicada pela alta virulência do fungo que, possivelmente, encontrou um ambiente propício para a formação de hifas, dificultando a resposta imunológica celular conduzindo os tecidos afetados a uma oxigenação inadequada e posterior necrose (Midgley *et al.*, 1998).

O baixo aporte sanguíneo em uma lesão dificulta a cicatrização uma vez que é por seu intermédio que as células são oxigenadas. Dados da literatura mostram que a hipóxia prolongada pode produzir mudanças irreversíveis nos tecidos, inibir todo o processo de regeneração das lesões e aumentar a susceptibilidade a infecções (Yaguishita, 2007).

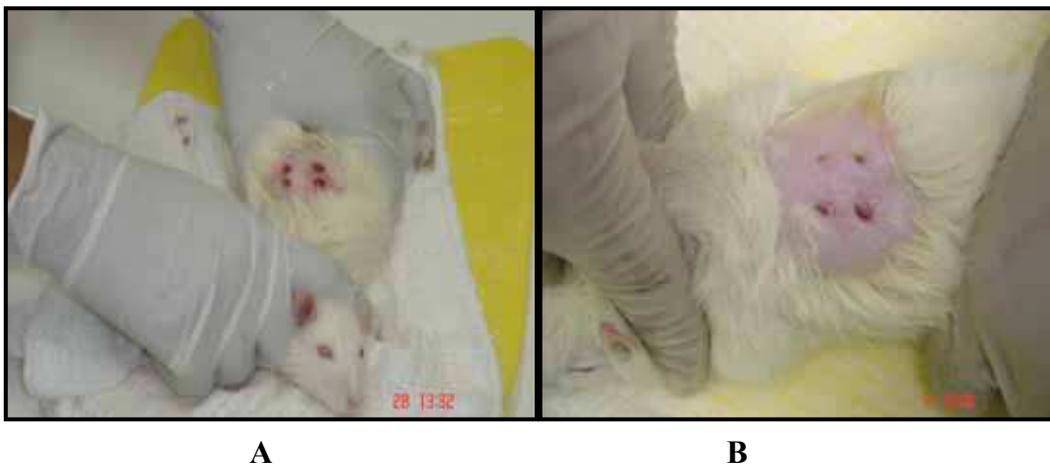


Figura 50. Aspecto das lesões infectadas com os microrganismos. Vermelho (A) e Rosa (B).

5.4.2 Análise microbiológica das feridas

O monitoramento do crescimento microbiano nas lesões foi realizado no 3º, 9º e 15º DPO (Anexo II, p.253). A coleta era feita antes da realização dos curativos com *swab* estéril adaptado a um meio de cultivo para transporte. As amostras eram semeadas no mesmo dia da coleta e as placas incubadas em estufa microbiológica por 24 horas (*S.aureus*) ou 48 horas (*C. albicans*). No 3º DPO, todos os cultivos foram positivos, o que confirma a contaminação de todas as lesões. No 9º DPO somente no grupo sem tratamento (controle negativo) houve crescimento das bactérias ou dos fungos, estando a infecção controlada nos demais grupos. Finalmente, no 15º DPO não houve crescimento de microrganismo algum em todos os animais. O controle da infecção por meio da avaliação microbiológica é um parâmetro que deve ser atingido na rotina dos profissionais que se dispõem a tratar portadores de feridas (Cândido, 2001).

5.4.3 Análise histopatológica das feridas

A análise histopatológica foi realizada tomando como referência o grau de epitelização, a intensidade e o tipo de célula predominante da reação inflamatória, presença e grau de rede de fibrina e tecido de granulação/neovascularização, e formação de fibras colágenas (Anexo III, p. 254). Os dados coletados foram transformados em escores (Tabelas 7 e 8, p. 153) e quantificados (item 4.8.2, Tabela 3, p.112). As médias obtidas foram submetidas a análise de variância e comparados pelo teste de Tukey, observando-se diferença significativa ($p < 0,05$) entre os ratos tratados (pomada 1, pomada 2 e controle positivo) e o controle negativo (Tabelas 7 e 8, p. 153). Portanto, as pomadas preparadas com subfrações da *P. hayneanum* contribuíram para acelerar o tempo de cicatrização e melhorar a evolução histológica das feridas infectadas dos animais tratados.

Tabela 7. Escores do estudo histopatológico das feridas infectadas pelo *S. aureus*.

Dias de Pós Operatório	Escore			
	Pomada 1	Pomada 2	Controle positivo	Controle negativo
3°	41,0	37,0	42,0	26,0
9°	40,0	39,0	41,0	32,0
15°	45,0	44,0	45,0	35,0
Média/Desvio Padrão	42,0 ± 2,6	40,0 ± 3,6	42,7 ± 2,1	31,0 ± 4,6*

* $p < 0,05$

Tabela 8. Escores do estudo histopatológico das feridas infectadas pela *C. albicans*.

Dias de Pós Operatório	Escore			
	Pomada 1	Pomada 2	Controle positivo	Controle negativo
3°	39,0	40,0	42,0	28,0
9°	40,0	41,0	41,0	31,0
15°	43,0	44,0	45,0	34,0
Média/Desvio Padrão	40,7 ± 2,1	41,7 ± 2,1	42,7 ± 2,1	31,0 ± 3,0*

* $p < 0,05$

O estudo histopatológico no 3° DPO para ambos os microrganismos constatou que todas as feridas apresentaram: ausência de epitelização, tecido de granulação e neovascularização, e presença intensa da rede de fibrina (Figura 51, p. 154). Reação inflamatória de intensidade discreta ou moderada foi observada nos grupos experimentais (pomadas 1 e 2) e controle positivo e de forma intensa no controle negativo. O tipo da reação

inflamatória foi agudo, com predominância de neutrófilos em todas as amostras histológicas. Comparando-se o estudo clínico macroscópico com o histopatológico pode-se constatar que os dados são concordantes. Maia e cols. (2006) ao estudarem a cicatrização de suturas na bexiga urinária de ratos com extrato bruto de *Jatropha gossypifolia* L. (Euphorbiaceae) no mesmo período de pós-operatório também obtiveram resultados que corroboram com os do presente estudo.

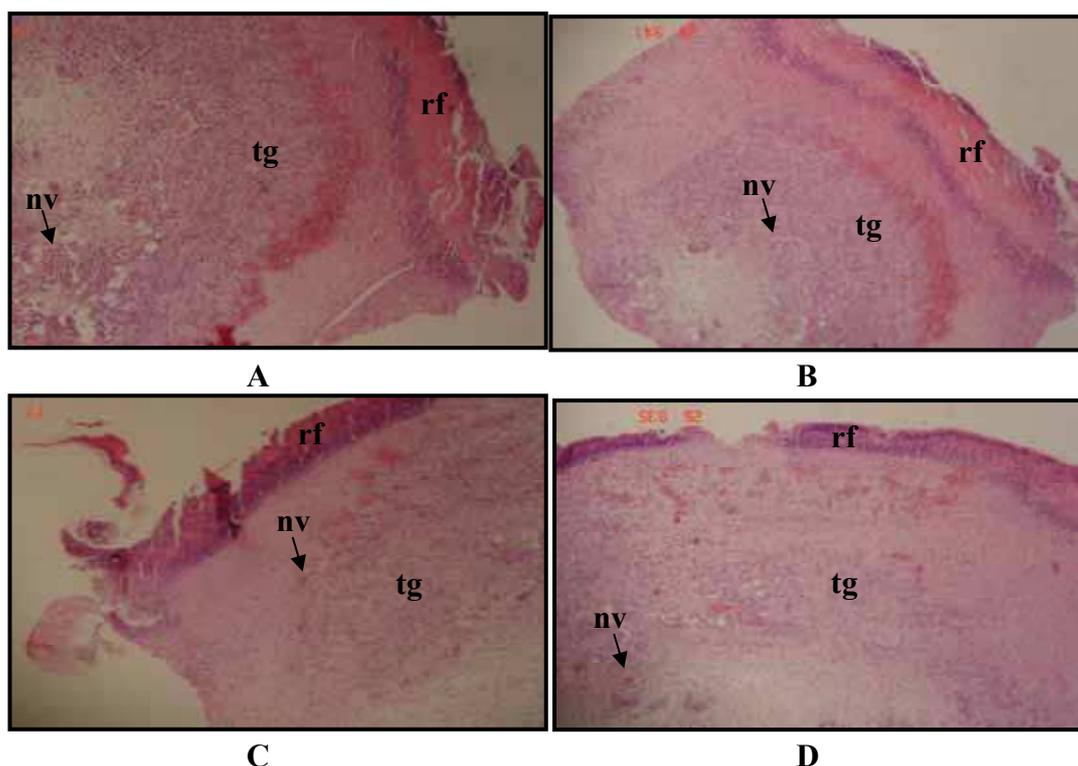


Figura 51. Cortes histológicos das lesões no 3º DPO: ausência de epitelização, tecido de granulação (tg), neovascularização (nv), rede de fibrina (rf). Pomada 1 (A), Pomada 2 (B), controle positivo (C), controle negativo (D). (HE, 100X).

No 9º DPO observou-se epitelização, tecido de granulação e neovascularização entre moderada e intensa nas lesões dos ratos dos grupos experimentais (Pomada 1 e 2) e controle positivo, e entre ausente ou discreta no controle negativo (Figura 52 p. 155).

Quanto à rede de fibrina foi constatado que ela esteve ausente ou de forma discreta nos grupos tratados e moderada a intensa no controle não tratado. Intensa reação inflamatória aguda foi observada somente observada no controle negativo. Os dados da avaliação macroscópica forneceram essas mesmas informações, confirmando os resultados que indicam que a espécie vegetal *P. hayneanum* apresenta propriedades terapêuticas contra os microorganismos estudados.

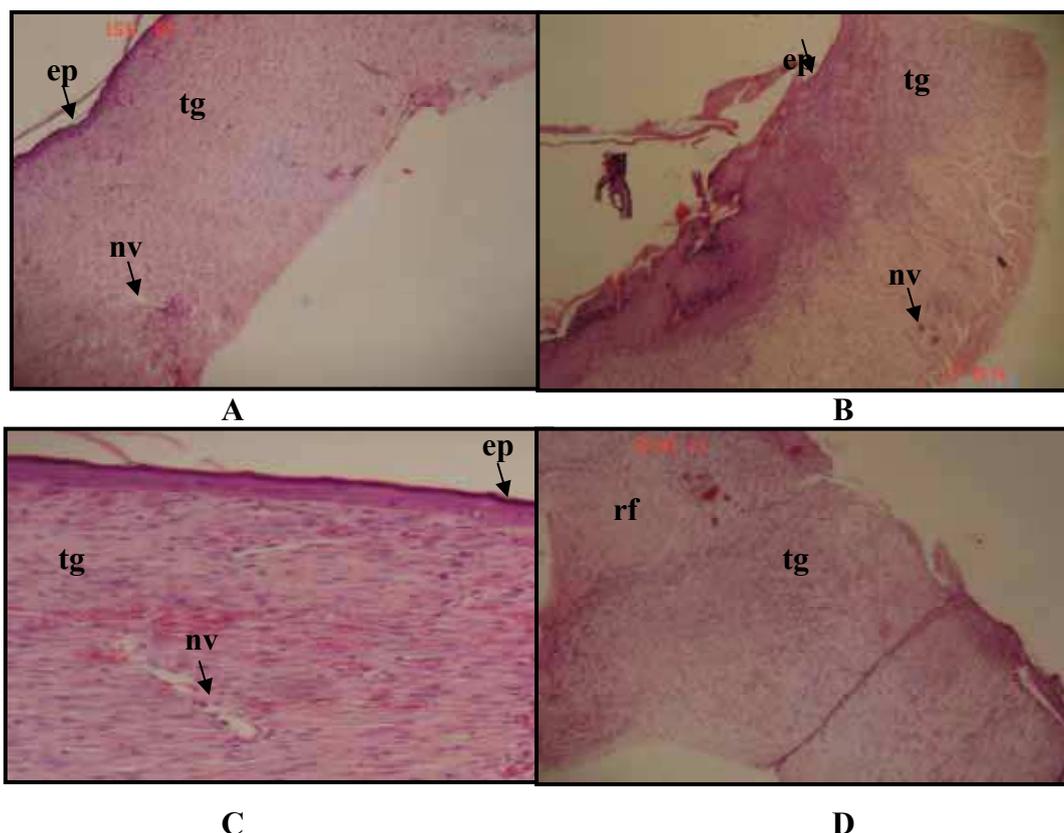


Figura 52. Cortes histológicos das lesões no 9º DPO: epitelização (ep), tecido de granulação (tg), neovascularização (nv), rede de fibrina (rf). Pomada 1 (A), Pomada 2 (B), controle positivo (C), controle negativo (D). (HE, 100X).

Avaliação histopatológica do efeito do tratamento de feridas com própolis e mel, em torno do 7º DPO, mostrou proliferação de capilares neoformados, tecido de granulação com discreto infiltrado de células mononucleares e fibroblastos, presença de fibras colágenas e leve inflamação (Rahal *et al.*, 2003). Estas características são semelhantes às obtidas no presente trabalho.

No último dia de avaliação (15º DPO), observou-se: completa epitelização com queratina em evolução nas feridas dos ratos tratados, e discreta no controle negativo; tecido de granulação e neovascularização discretos nos animais dos grupos experimentais e controle positivo, e moderada no controle negativo; e rede de fibrina ausente nos animais tratados e discreta no controle negativo (Figura 53, p. 156). Um infiltrado inflamatório mínimo foi visualizado nas feridas dos animais do controle negativo. Fibras colágenas estavam presentes em todas as feridas. A análise macroscópica revelou resultados similares com relação à presença de tecido de granulação e neovascularização, no entanto, a inflamação ainda que

não tenha sido visualizada macroscopicamente, foi detectada microscopicamente no grupo controle negativo.

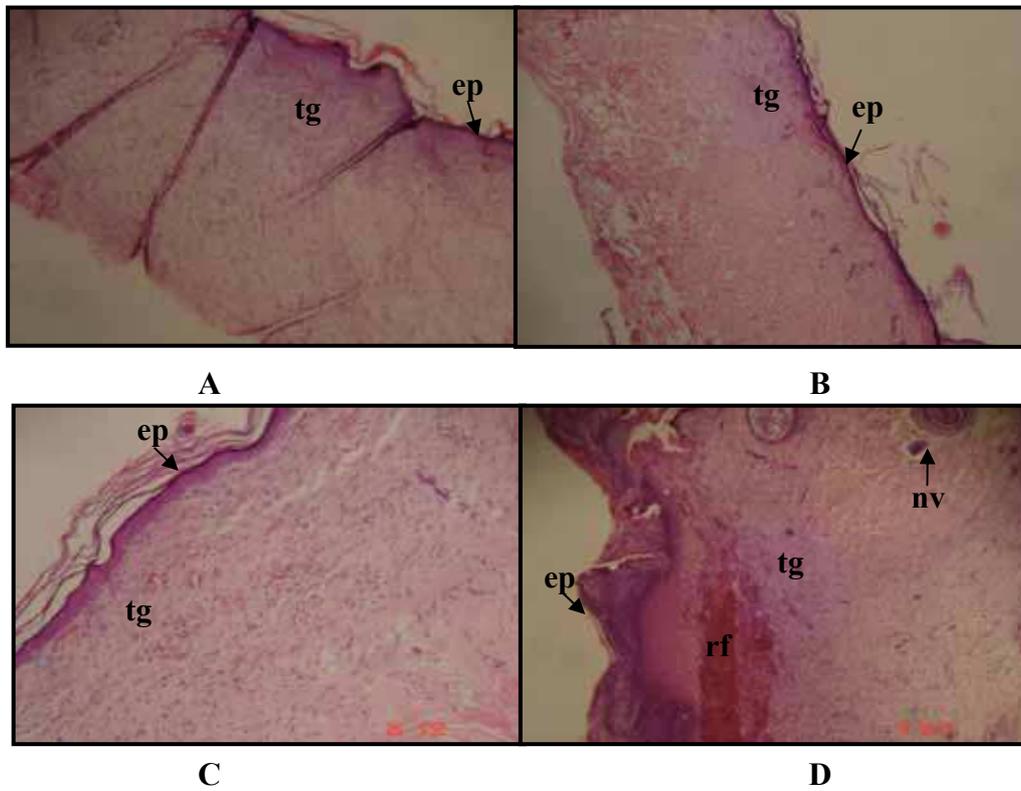
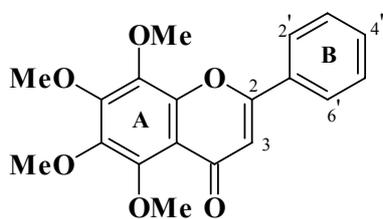


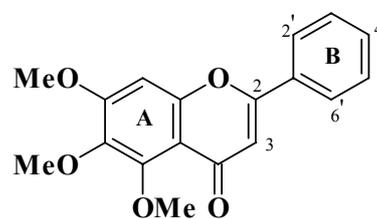
Figura 53. Cortes histológicos das lesões no 15º DPO: epitelização (ep), tecido de granulação (tg), neovascularização (nv), rede de fibrina (rf). Pomada 1 (A), Pomada 2 (B), controle positivo (C), controle negativo (D). (HE, 100X).

5.5 Identificação Estrutural das Substâncias Isoladas

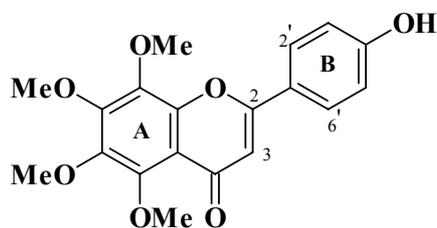
Neste trabalho, a investigação fitoquímica envolvendo as frações em CHCl_3 do caule de *Z. tuberculosa*, bem como do caule e das raízes de *P. hayneanum*, foi monitorada pelos ensaios antimicrobianos *in vitro* e *in vivo* e de toxicidade frente à *A. salina*. Este estudo conduziu ao isolamento de sete substâncias, denominadas pelas letras referentes ao nome e parte da planta, solventes utilizados no procedimento das partições e ordenamento de polaridade de isolamento, conforme exemplo a seguir: **ZtCC-1** (**Zt** = *Zeyheria tuberculosa*, **C** = caule, **C** = CHCl_3). A identificação estrutural dessas substâncias foi efetuada com base na análise de dados de RMN e pela comparação com dados da literatura.



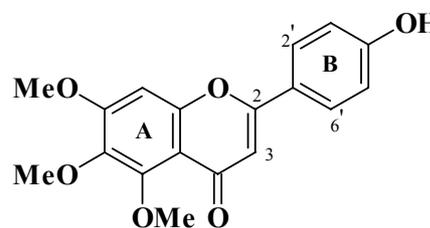
ZtCC-1



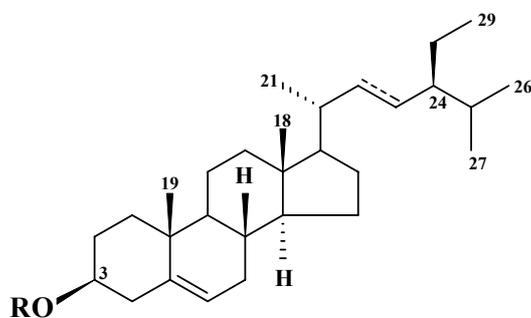
ZtCC-2



ZtCC-3



ZtCC-4



PhCC-2a R = H,

PhCC-2b R = H, Δ^{22}

PhCC-3 R = β -D-Glc

5.5.1 Identificação estrutural dos constituintes químicos da espécie *Z. tuberculosa*

5.5.1.1 Identificação estrutural das substâncias codificadas de **ZtCC-1** e **ZtCC-2**

As substâncias codificadas de **ZtCC-1** e **ZtCC-2** foram identificadas como sendo duas flavonas com base na análise dos dados obtidos dos respectivos espectros de RMN, bem como pela comparação com os dados dos compostos correspondentes descritos na literatura.

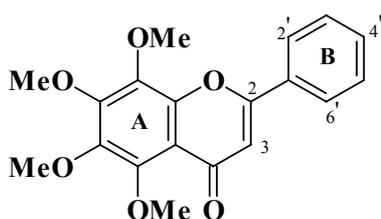
Os respectivos espectros de RMN ^1H a 400 MHz de ambas (Figuras 54-55, pp. 163-164; Tabela 9-10, pp. 161-162) revelaram a presença de sinais cujos valores de deslocamentos químicos e multiplicidades estão condizentes com a presença de esqueletos de flavonas com o anel A dos tipos 5,6,7,8-tetrassubstituído [**ZtCC-1**: δ 6,71 (s, H-3)] e 5,6,7-trissubstituído [**ZtCC-2**: δ 6,68 (s, H-8) e δ 6,90 (s, H-3)]. Adicionalmente, foram observados sinais múltiplos para o anel B de ambas, integrados para dois e três hidrogênios, coerentes com a presença de anéis aromáticos não substituídos [**ZtCC-1**: δ 7,95 (m, 2H, H-2' e H-6') e δ 7,54 (m, 3H, H-3', H-4' e H-5'); **ZtCC-2**: δ 7,91 (m, 2H, H-2' e H-6') e δ 7,52 (m, 3H, H-3', H-4' e H-5')], além de sinais para quatro e três grupos metoxilas para **ZtCC-1** e **ZtCC-2**, respectivamente.

Na análise dos respectivos espectros de RMN ^{13}C a 100 MHz de ambas (Figuras 56-57, pp. 165-166; Tabelas 9-10, pp. 161-162) foi possível reconhecer para **ZtCC-1** um total de 19 átomos de carbono (nove não hidrogenados, seis monohidrogenados e quatro triidrogenados) e de 18 para **ZtCC-2** (nove não hidrogenados, seis monohidrogenados e três triidrogenados). Dentre esses carbonos, foram identificados valores de deslocamentos químicos referentes a um carbono monohidrogenado [**ZtCC-1**: δ 107,58 (CH, C-3) e **ZtCC-2**: δ 108,07 (CH, C-3)], grupo carbonila conjugado [**ZtCC-1**: δ 178,47 (C) e **ZtCC-2**: δ 178,59 (C)] e para quatro e três grupos metoxilas (**ZtCC-1**: δ 62,20; δ 62,15; δ 61,81 e δ 61,68; **ZtCC-2**: δ 62,38, δ 61,77, δ 56,66). Estas informações, associadas à presença de sinais atribuídos ao C-2 e ao C-3 sugeriram para ambas a estrutura de flavonas [**ZtCC-1**: δ 162,16 (C, C-2) e δ 107,58 (CH, C-3) e **ZtCC-2**: δ 162,41 (C, C-2) e δ 108,07 (CH, C-3)].

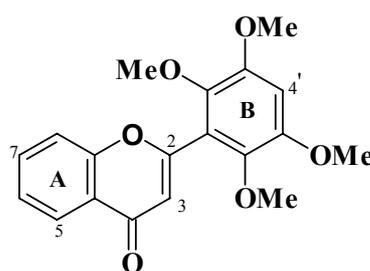
As correlações observadas no mapa de contorno do espectro HMBC de **ZtCC-1** (Figura 59, p. 160), principalmente entre o sinal em δ 6,71 (H-3) com os sinais dos carbonos em δ 162,16 (C-2), δ 178,47 (C-4), δ 114,59 (C-10) e δ 131,26 (C-1'); δ 7,93 m (H-2' e H-6') com δ 162,16 (C-2) e δ 131,90 (C-4') e demais correlações (Tabela 11, p. 154), além de permitir uma atribuição inequívoca dos hidrogênios e carbonos da molécula de **ZtCC-1**, permitiram também propor a estrutura da **5,6,7,8-Tetrametoxiflavona** para **ZtCC-1**.

A comparação dos dados espectrais obtidos com os descritos na literatura para o composto correspondente (Agrawal *et al.*, 1989), bem como com dados da *Psethyretina* (Tabela 11, p. 154), na qual os grupos metoxilas encontram-se nas posições 2',3',5' e 6' e o C-4' absorve em δ 112,9 e a desproteção observada para os carbonos dos grupos metoxilas, permitiram confirmar esta proposta estrutural.

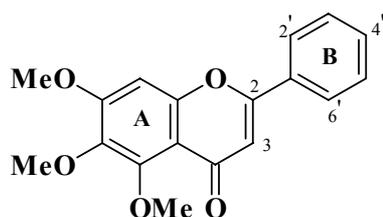
A análise conjunta dos dados espectrais até então discutidos permitiram propor para a substância codificada de **ZtCC-2** quatro possibilidades estruturais (A-C):



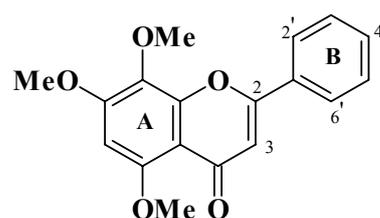
5,6,7,8-Tetrametoxiflavona = ZtCC-1



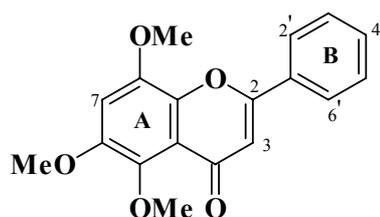
Psethyretina



5,6,7-Trimetoxiflavona (A)



5,7,8-Trimetoxiflavona (B)



5,6,8-Trimetoxiflavona (C)

A comparação dos valores de deslocamentos químicos atribuídos ao C-6 (δ 93,9) da **5,7,8-Trimetoxiflavona (B)**, e ao C-7 (δ 118,5) da **5,6,8-Trimetoxiflavona (C)** permitiram inferir os grupos metoxilas de **ZtCC-2** em C-5, C-6 e C-7, possibilidade estrutural **A**, visto que o C-8 absorve em δ 96,88. Além disso, os valores de deslocamentos químicos atribuídos a dois dos grupos metoxilas nos compostos **B** e **C**, no qual dois desses grupos são protegidos (Tabela 12, p. 155), permitiram descartar estas duas possibilidades estruturais.

As correlações observadas no mapa de contorno do espectro HMBC (Figuras 58-59, pp. 167-168), especialmente entre o sinal do H-3 (δ 6,68) com os sinais dos carbonos atribuídos ao C-2 (δ 162,41), C-4 (δ 178,59), C-10 (δ 112,81) e C-1' (δ 131,53), do H-2' (δ 7,52) com os sinais em δ 162,41 (C-2) e em δ 131,90 (C-4'), bem como do H-3' (δ 7,54) com os sinais em δ 131,53 (C-1'), δ 131,96 (C-4') e δ 129,38 (C-5') e do H-4' (δ 7,52) com os sinais em δ 131,53 (C-1'), δ 129,38 (C-5') δ 129,24 (C-6'), além de permitir uma atribuição inequívoca dos sinais dos hidrogênios e carbonos da molécula, permitiram também sugerir para **ZtCC-2** a estrutura da **5,6,7-Trimetoxiflavona**, possibilidade estrutural A.

A comparação com dados do composto correspondente descritos na literatura (Tabela 10, p. 162) permitiu confirmar esta proposta estrutural. Esta substância foi isolada anteriormente por Kutney & Hanssen (1971) no extrato em EtOH das folhas da mesma espécie.

As substâncias **ZtCC-1** e **ZtCC-2** foram isoladas da sub-fração C₆H₁₄-CHCl₃ 1:1, oriunda do fracionamento em gel de sílica do extrato em CHCl₃ do caule de *Z. tuberculosa*. Embora esta sub-fração tenha apresentado alta toxicidez (398,0 μ g/mL), foi promissora nos ensaios antimicrobianos *in vitro* [CIM 125 μ g/disco (*S. aureus*) e CIM 62,5 μ g/disco (*C. albicans*)]. Estas substâncias foram isoladas anteriormente por Kutney & Hanssen (1971) no extrato em EtOH das folhas da mesma espécie.

Tabela 9. Dados de RMN (^1H : 400; ^{13}C : 100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$, δ , Hz) da substância codificada de **ZtCC-1** em comparação com dados descritos na literatura e do modelo *Psethyretina* (Agrawal *et al.*, 1989).

<i>Posição</i>	ZtCC-1			5,6,7,8-Tetrametoxiflavona		Psethyretina
	δ_{C}	δ_{H}	HMBC	δ_{C}^*	δ_{H}^{**}	δ_{C}
C						
2	162,16			160,1		159,9
4	178,47			175,6		176,3
5	148,30			143,7		125,1
6	144,30			137,5		124,6
7	152,01			150,2		133,6
8	138,27			137,5		117,9
9	148,06			147,0		145,9
10	114,59			113,2		122,9
1'	131,26			130,9		102,2
CH						
3	107,58	6,71 s	C-2; C-4; C-10; C-1'	107,3	6,70 s	113,3
2'6'	126,20	7,95 m	C-2; C-4'	125,6	7,94 m	139,7
3'	129,24	7,54 m	C-1'; C-4'; C-5'	128,7	7,54 m	148,5
4'	131,90	7,54 m	C-1'; C-5'; C-6'	130,9	7,54 m	112,9
5'	129,24	7,54 m	C-1'; C-4'; C-6'	128,7	7,54 m	140,5
CH₃						
MeO-5	61,68	3,92 s	C-5	61,4	3,94 s	
MeO-6	61,81	3,94 s	C-6	61,4	3,95 s	
MeO-7	62,20	4,12 s	C-7	61,4	4,12 s	
MeO-8	62,15	4,04 s	C-8	61,4	4,04 s	

*Agrawal *et al.*, 1989; **Bohlmann *et al.*, 1978.

Tabela 10. Comparação dos dados de RMN de **ZtCC-2** (^1H : 400 MHz; ^{13}C : 100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$, δ) com os dos modelos **5,6,7-Trimetoxiflavona** (A) (Agrawal, 1989; Tomás-Barberán, 1988), **5,7,8-Trimetoxiflavona** (B) e **5,6,8-Trimetoxiflavona** (C) (Agrawal *et al.*, 1989).

<i>Posição</i>	ZtCC-2		5,6,7-Trimetoxiflavona (A)		B	C
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{C}
C						
2	162,41		162,0		159,2	159,9
4	178,59		177,0		175,5	176,3
5	147,81		152,5		150,8	144,9
6	140,79		140,4		93,9	139,9
7	158,66		157,7		156,1	118,5
8	96,88	6,68 s	96,3	6,69 s	130,0	149,0
9	155,16		154,5		155,3	138,4
10	112,81		112,9		107,4	103,3
1'	131,53		131,4		130,0	130,8
CH						
3	108,07	6,90 s	108,3	6,82 s	108,0	106,9
2'	126,43	7,91 m	125,9	7,87 m	125,4	125,6
3'	129,38	7,52 m	128,9	7,50 m	128,7	128,8
4'	131,96	7,52 m	131,2	7,50 m	130,9	131,2
5'	129,38	7,52 m	128,9	7,50 m	128,7	128,8
6'	126,43	7,91 m	125,9	7,87 m	125,4	125,6
CH₃						
MeO-5	62,38	3,97 s	56,1	3,99 s	56,1	56,1
MeO-6	61,77	3,91 s	60,3	3,91 s	56,1	56,1
MeO-7	56,66	4,00 s	61,3	3,99 s	60,6	60,6

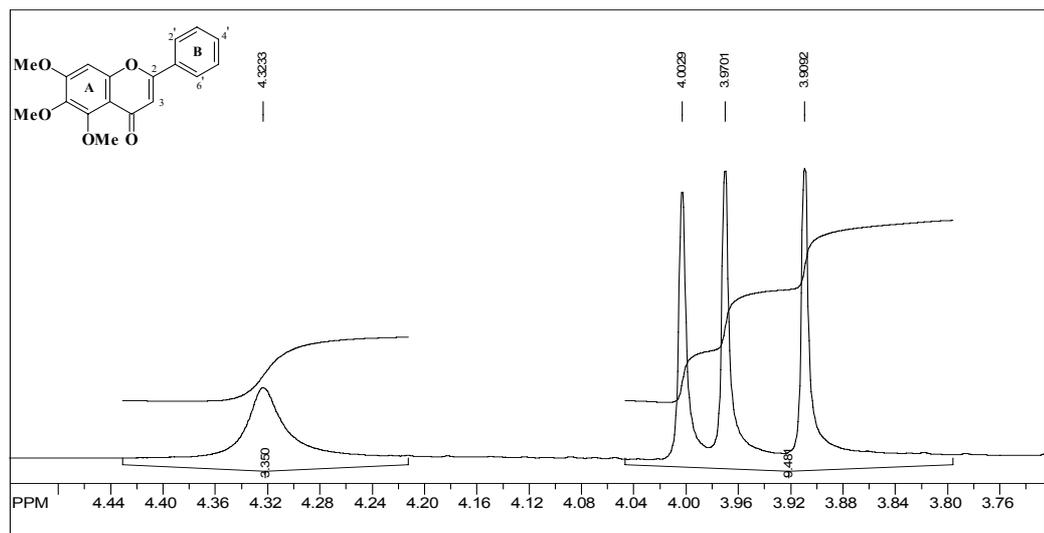
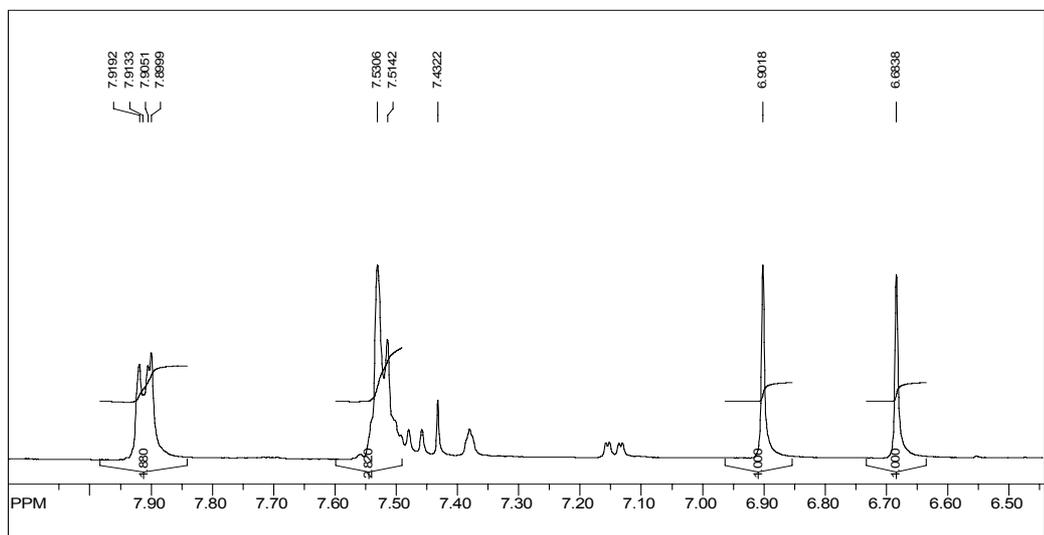
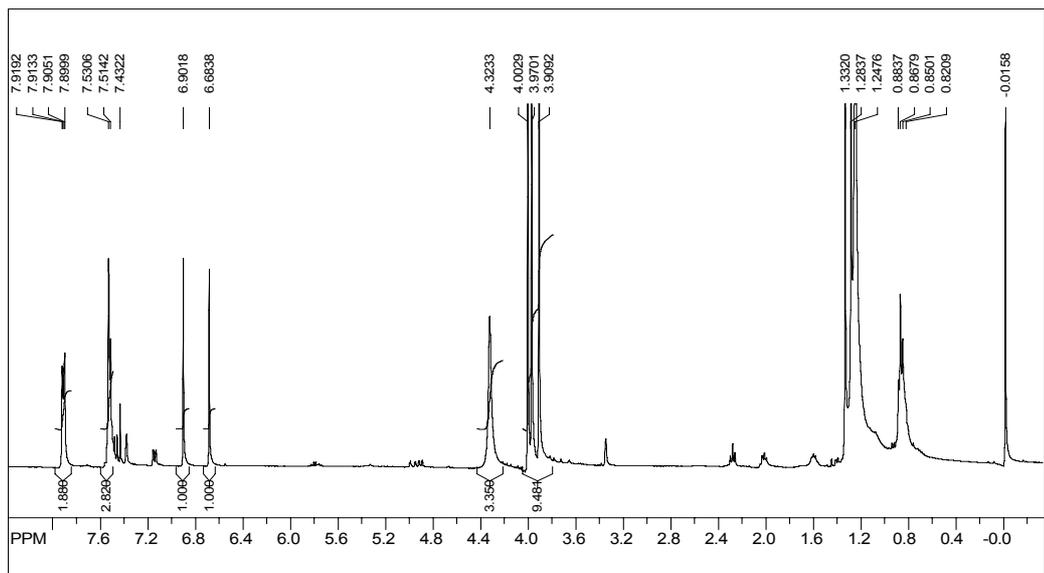


Figura 55. Espectros de RMN ^1H (400 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância **ZtCC-2**.

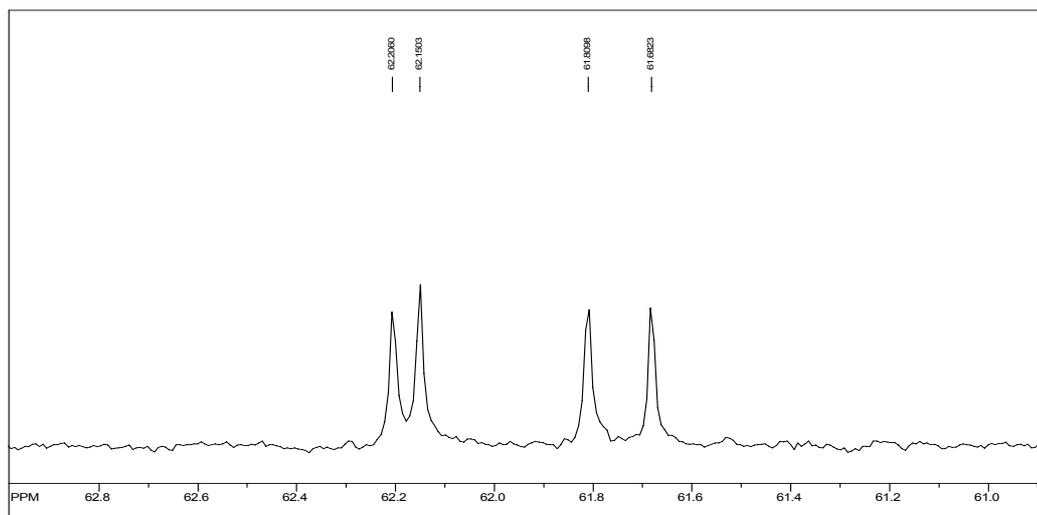
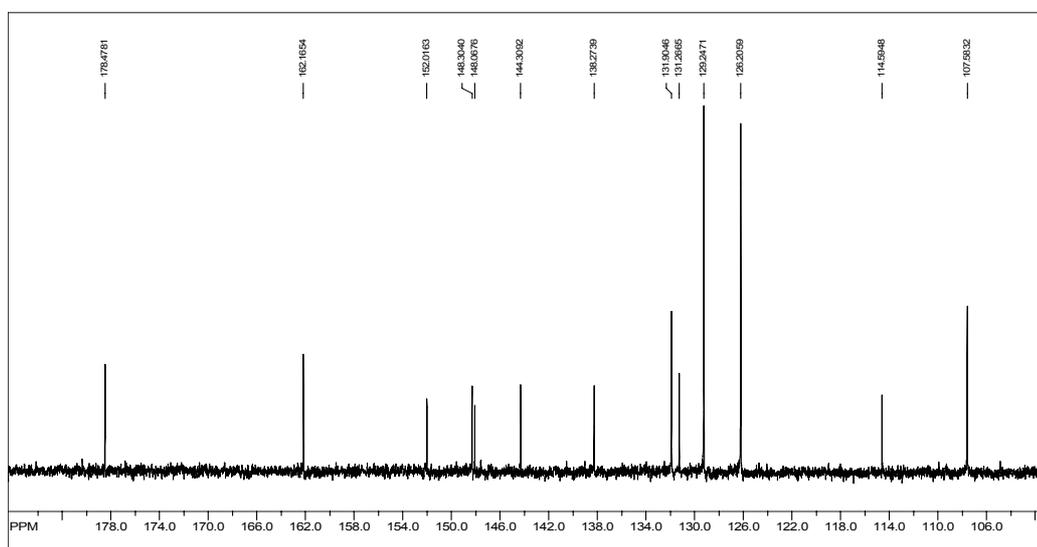
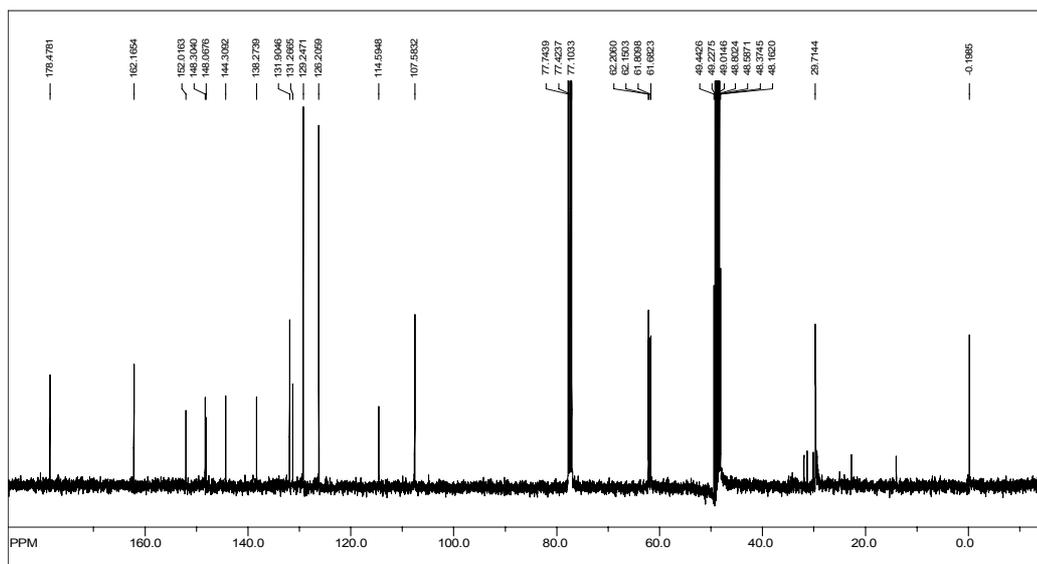


Figura 56. Espectros de RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância ZtCC-1.

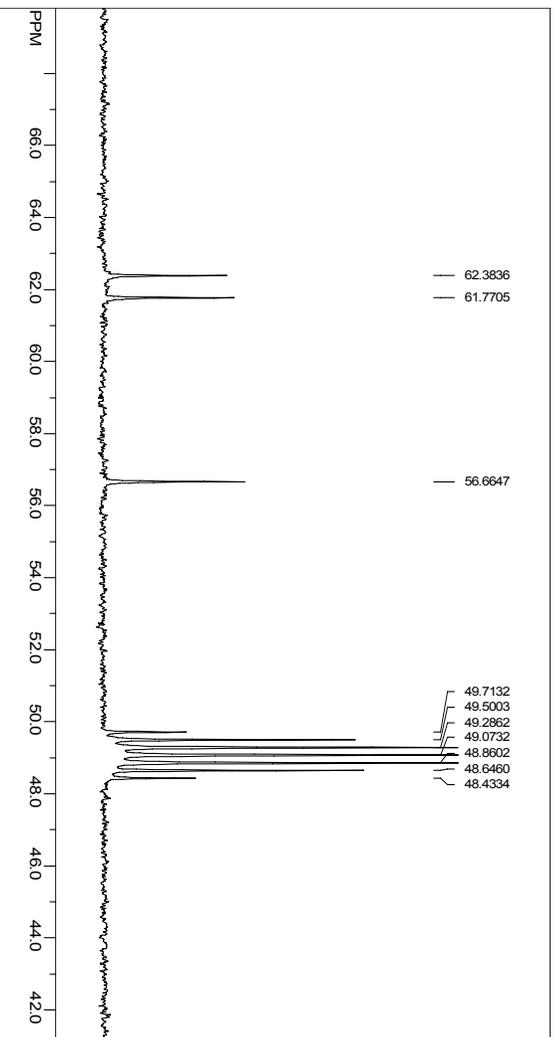
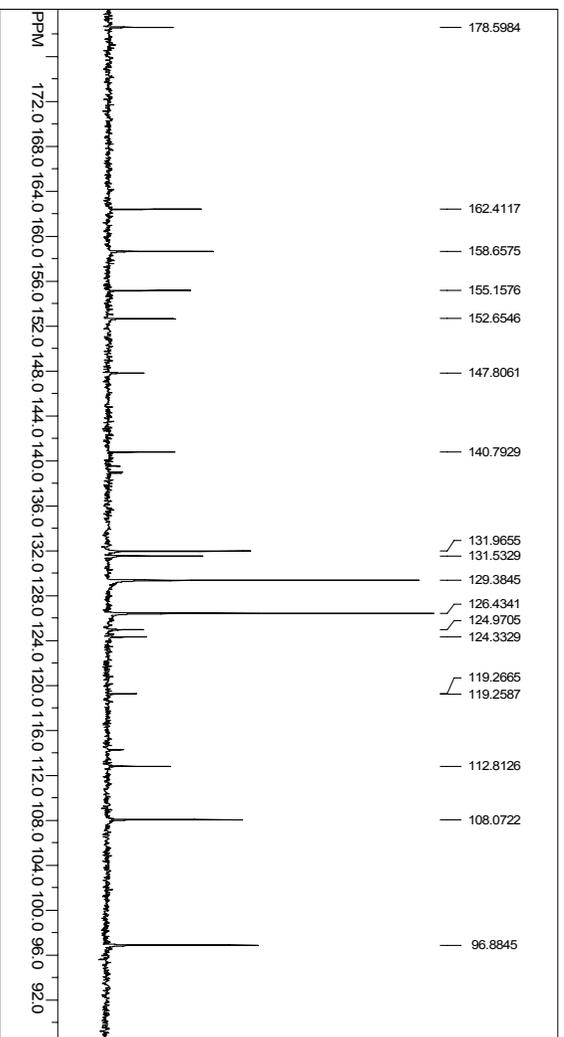
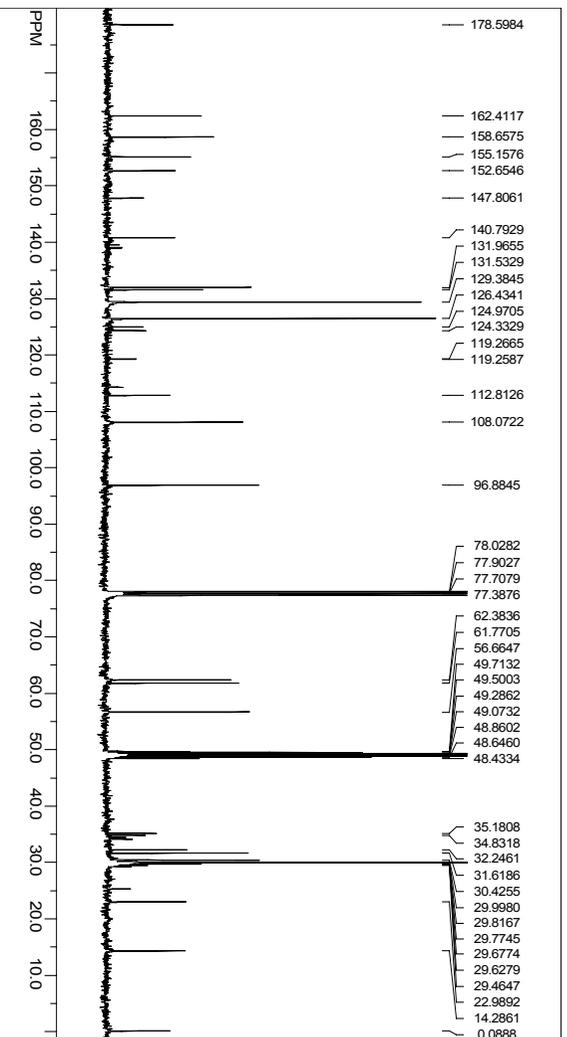


Figura 57. Espectros de RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância ZfCC-2.

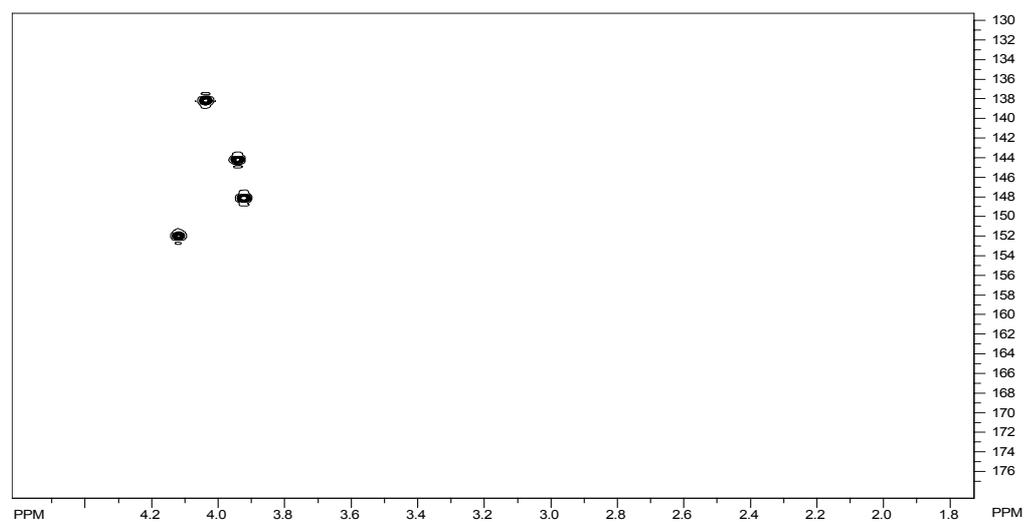
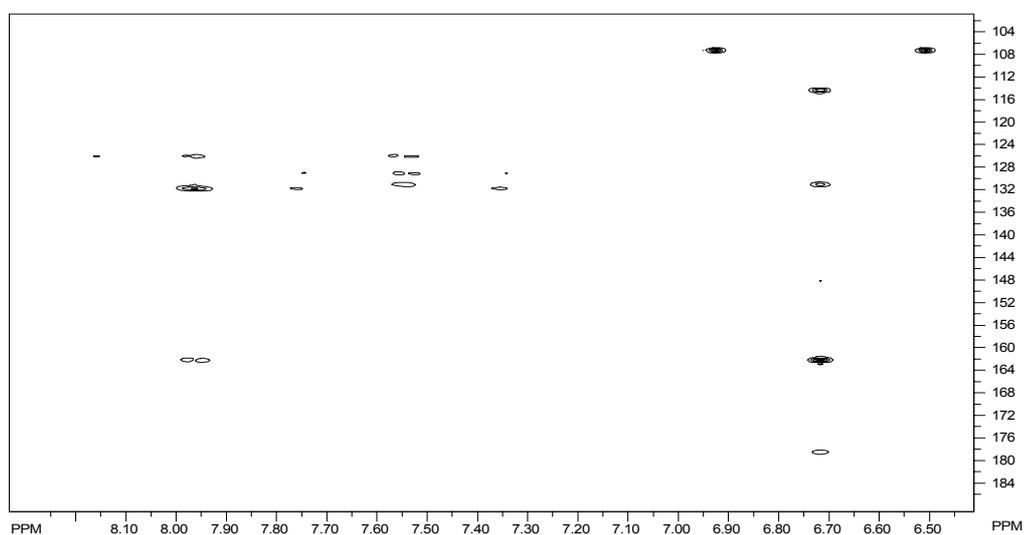
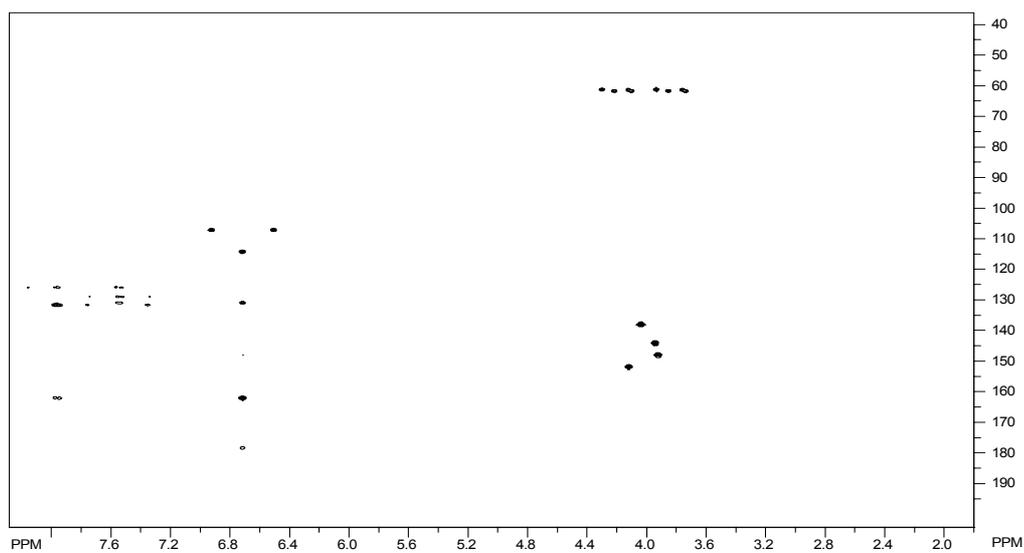


Figura 58. Espectro HMBC (^1H : 400; ^{13}C : 100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância **ZtCC-1**.

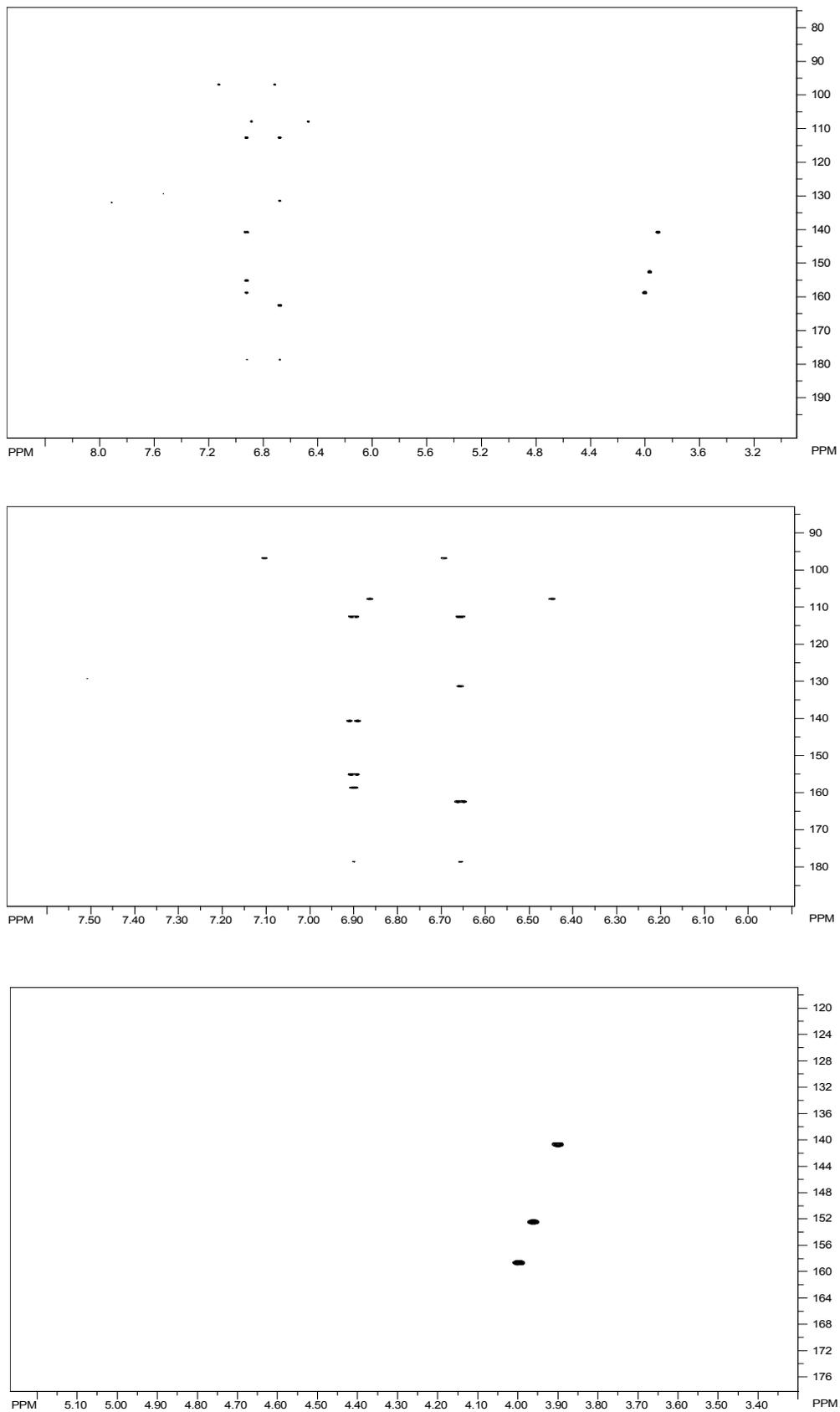


Figura 59. Espectro HMBC (¹H: 400; ¹³C: 100 MHz, CDCl₃/CD₃OD) da substância **ZtCC-2**

5.5.1.2 Identificação estrutural das substâncias codificadas de **ZtCC-3** e **ZtCC-4**

As substâncias codificadas de **ZtCC-3** e **ZtCC-4** foram identificadas como sendo duas flavonas com base na análise dos dados dos seus respectivos espectros de RMN, incluindo técnicas bidimensionais (HSQC e HMBC), bem como pela comparação com dados da literatura.

Os respectivos espectros de RMN ^1H de ambas (Figuras 60-61 (pp. 173-174)) evidenciaram sinais cujos valores de deslocamentos químicos, multiplicidades e constantes de acoplamento estão compatíveis com esqueletos de flavonas substituídos nos anéis A nas posições 5, 6, 7 e 8 em **ZtCC-3** [δ 6,78 (s, H-3)] e 5, 6 e 7 em **ZtCC-4** [δ 6,72 (s, H-8) e δ 6,43 (s, H-3)] e anéis B dos tipos 1,4-dissubstituídos [**ZtCC-3**: δ 7,84 (*d*, $J = 8,2$ Hz), δ 7,05 (*d*, $J = 8,2$ Hz); **ZtCC-4**: δ 7,66 (*d*, $J = 8,8$ Hz), δ 6,81 (*d*, $J = 8,8$ Hz)], além de sinais para quatro grupos metoxílicos em **ZtCC-3** e de três grupos metoxílicos em **ZtCC-4** (Tabelas 11-12, pp. 171-172).

A análise dos respectivos espectros de RMN ^{13}C (Figuras 62-63, pp. 175-176), auxiliados pelos espectros HSQC (**ZtCC-3**, Figura 64, p. 177) e DEPT (**ZtCC-4**, Figura 65, p. 177) foi possível reconhecer valores de deslocamentos químicos para flavonas tetrassubstituída [**ZtCC-3**: δ 105,89 (CH, C-3)] e trissubstituída no anel A [**ZtCC-4**: δ 96,33 (CH, C-8) e δ 105,80 (CH, C-3)], anéis do tipo 1,4-dissubstituídos [**ZtCC-3**: δ 128,25 (CH, C-2' e C-6') e δ 116,51 (CH, C-3' e C-5'); **ZtCC-4**: δ 127,83 (CH, C-2' e C-6') e δ 115,79 (CH, C-3' e C-5')], além de sinais para quatro em **ZtCC-3** (Tabela 11, p. 171) e três em **ZtCC-4** grupos metoxilas (Tabela 12, p. 172).

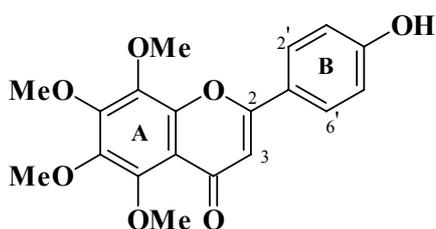
A desproteção observada nos respectivos espectros de RMN ^{13}C nos valores de deslocamentos químicos dos grupos metoxilas (**ZtCC-3**: δ 62,35; δ 62,14; δ 61,86 e δ 61,75 e **ZtCC-4**: δ 61,86; δ 61,26 e δ 56,10), associada desproteção do C-3' e C-5' [**ZtCC-3**: δ 116,51 (2 x CH) e **ZtCC-4**: δ 115,79 (2 x CH)] quando comparados com compostos contendo 4'-metoxi, permitiram sugerir anéis A do tipo 5,6,7,8-tetrametoxilado para **ZtCC-3** e 5,6,7-trimetoxilado para **ZtCC-4**.

Esta informações, juntamente com as correlações observadas nos mapas de contorno dos respectivos espectros HSQC (Figura 65, p. 170) e HMBC de **ZtCC-3** (Figura 66, p. 178; Tabela 11, p. 171) e HMBC de **ZtCC-4** (Figura 67, p. 179; Tabela 12, p. 172), bem como a comparação com dados dos compostos correspondentes e de modelos descritos na literatura (Tabelas 11-12, pp. 171-172) permitiram propor para **ZtCC-3** e **ZtCC-4**, respectivamente, as

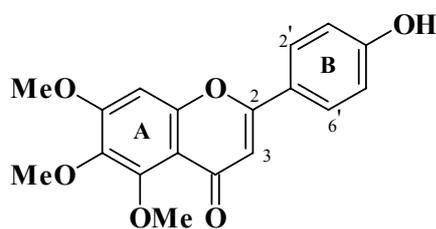
estruturas da *4'-Hidroxi-5,6,7,8-tetrametoxiflavona* e *4'-Hidroxi-5,6,7-trimetoxiflavona*.

Estas substâncias foram isoladas da sub-fração CHCl₃-MeOH 1:1, oriunda do fracionamento em gel de sílica do extrato em CHCl₃ do caule de *Z. tuberculosa*, que se apresentou promissora nos ensaios antimicrobianos *in vitro* [CIM 250 µg/disco (*S. aureus*) e 125 µg/disco (*C. albicans*)] e atóxica (> 1000 µg/mL) frente ao Teste da *Artemia salina* (TAS).

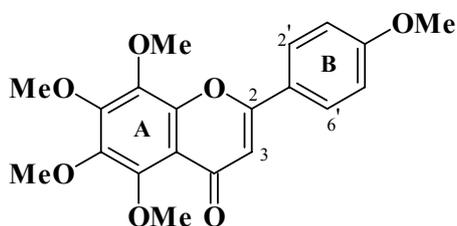
Neste trabalho relata-se pela primeira vez a ocorrência destas duas substâncias no gênero *Zeyheria* (Bignoniaceae).



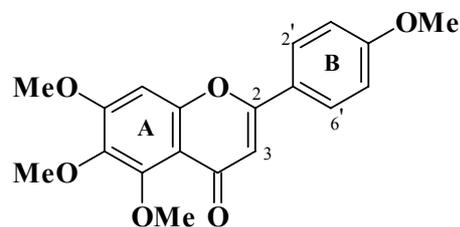
ZtCC-3



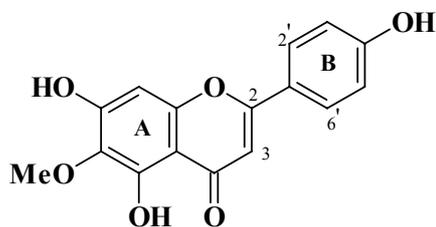
ZtCC-4



Tangeritina



4',5,6,7-Tetrametoxiflavona (TMe)



4',5,7-Trihidroxi-6-metoxiflavona (THm)

Tabela 11. Dados de RMN (^1H : 400 MHz; ^{13}C : 100 MHz, CDCl_3 , δ , Hz) da substância codificada de **ZtCC-3** e comparação com dados da literatura (200 MHz, CDCl_3) e do modelo *Tangeritina* (DMSO-d_6 , Horie *et al.*, 1998).

Posição	ZtCC-3*			ZtCC-3	Tangeritina	
	δ_{C}	$\delta_{\text{H}}/\text{HSQC}$	HMBC	δ_{C} ^a	δ_{H} ^b	δ_{C}
C						
2	161,50			161,4		160,3
4	176,30			176,3		175,7
5	147,13			144,1		147,4
6	144,10			138,4		143,5
7	151,36			151,4		150,9
8	138,0			134,4		137,7
9	148,13			148,1		147,1
10	114,0			116,7		114,2
1'	121,61			122,0		123,0
4'	161,40			161,4		161,9
CH						
3	105,89	6,78 s	C-2; C-4; C-10; C-1'	106,0	6,62 s	106,0
2',6'	128,25	7,84 (<i>d</i> , <i>J</i> = 8,2)	C-2; C-4'	128,5	7,82 (<i>d</i> , <i>J</i> = 9,0)	127,7
3',5'	116,51	7,05 (<i>d</i> , <i>J</i> = 8,2)	C-1'; C-4'	114,9	7,05 (<i>d</i> , <i>J</i> = 9,0)	114,6
CH₃						
MeO-5	61,75	3,97 s			3,93 s	61,8
MeO-6	61,86	3,97 s	C-6		3,94 s	61,3
MeO-7	62,35	3,98 s			4,02 s	61,8
MeO-8	62,14	4,02 s	C-8		4,11 s	61,4
MeO-4'	-					55,4

* Alguns dos valores de deslocamentos químicos foram atribuídos com base nas correlações observadas no mapa de contorno do espectro HMBC; ^a Agrawal, 1989; ^b Buisson *et al.*, 2007.

Tabela 12. Dados de RMN (^1H : 400 MHz; ^{13}C : 100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$, δ , Hz) da substância codificada de **ZtCC-4** e comparação com dados da literatura (DMSO- d_6 , Yen & Wu, 2004) e dos modelos **4',5,6,7-Tetrametoxiflavona** (TMe, Horie *et al.*, 1998) e **4',5,7-Trihidroxi-6-metoxiflavona** (THm, Agrawal *et al.*, 1989).

Posição	ZtCC-4			ZtCC-4 ^a	TMe	THm
	δ_{C}	δ_{H}	HMBC	δ_{H}	δ_{C}	δ_{C}
C						
2	162,51				160,2	161,8
4	178,23				175,6	181,8
5	152,05				151,6	151,8
6	139,97				139,7	111,6
7	157,89				157,4	152,1
9	154,05				153,9	158,0
10	112,0				112,0	104,9
1'	121,98				123,0	120,8
4'	160,44				161,8	161,0
CH						
3	105,80	6,43 s	C-2; C-10; C-1'	6,60 s	106,1	102,4
8	96,33	6,72 s	C-6; C-7; C-9; C-10	7,16 s	97,3	91,3
2',6'	127,83	7,66 (<i>d</i> , <i>J</i> = 8,8)	C-2; C-4'	7,88 (<i>d</i> , <i>J</i> = 8,6)	127,8	128,2
3',5'	115,79	6,81 (<i>d</i> , <i>J</i> = 8,8)		6,90 (<i>d</i> , <i>J</i> = 8,6)	114,4	115,7
CH₃						
MeO-5	61,26	3,75 s	C-5	3,75 s	61,8	
MeO-6	61,86	3,69 s	C-6	3,78 s	61,0	
MeO-7	56,10	3,79 s	C-7	3,93 s	56,4	
MeO-4'					55,5	

^aYen & Wu, 2004.

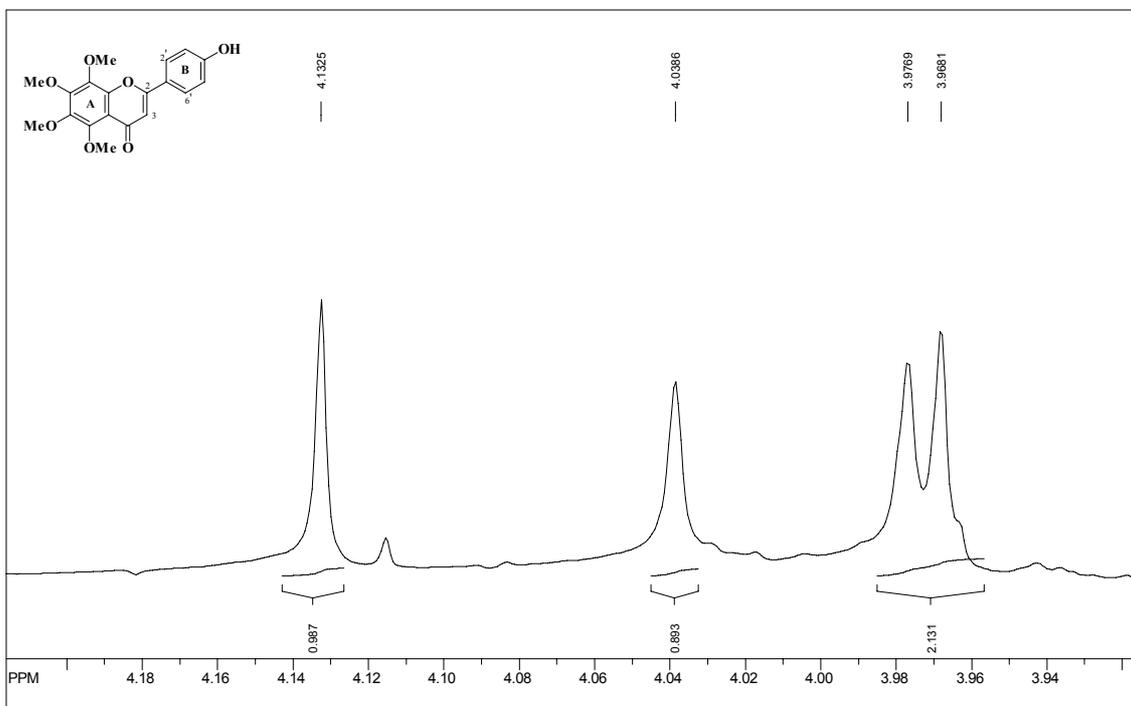
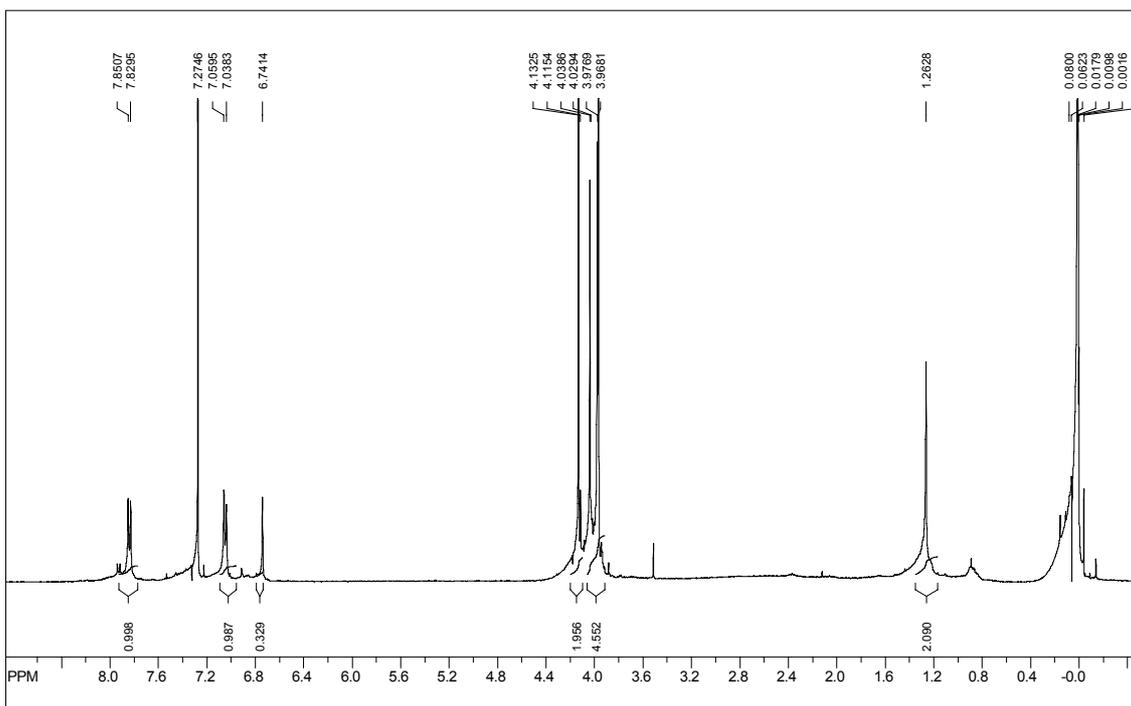


Figura 60. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) da substância **ZtCC-3**.

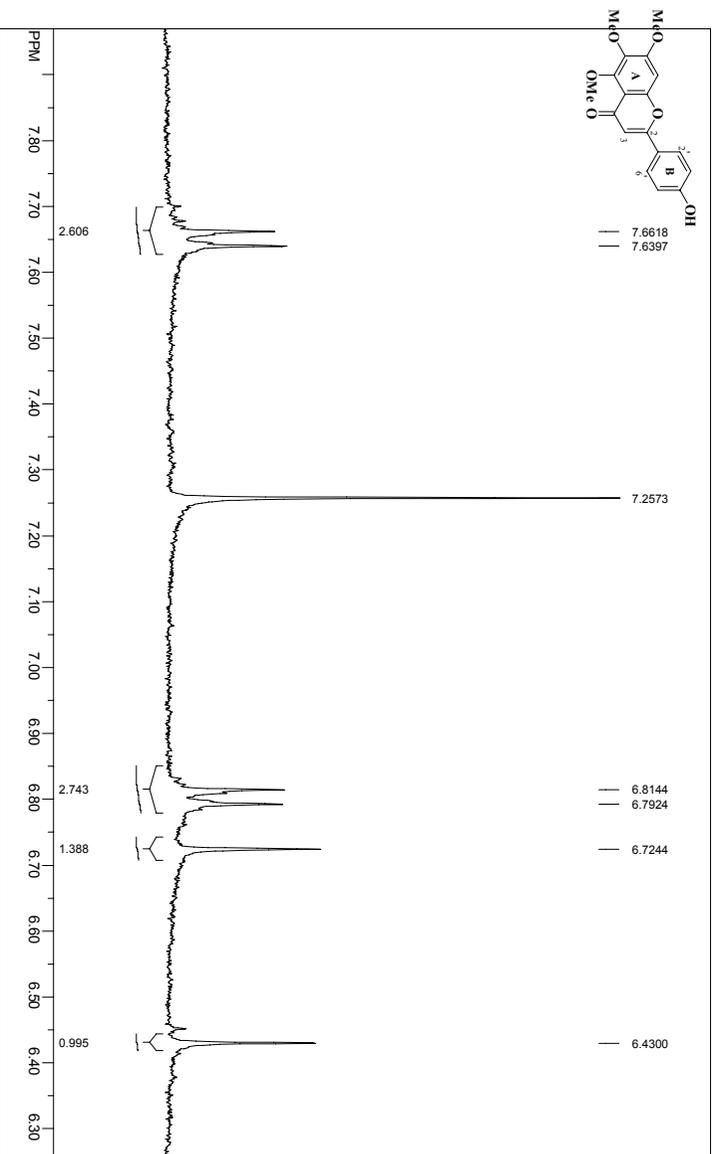
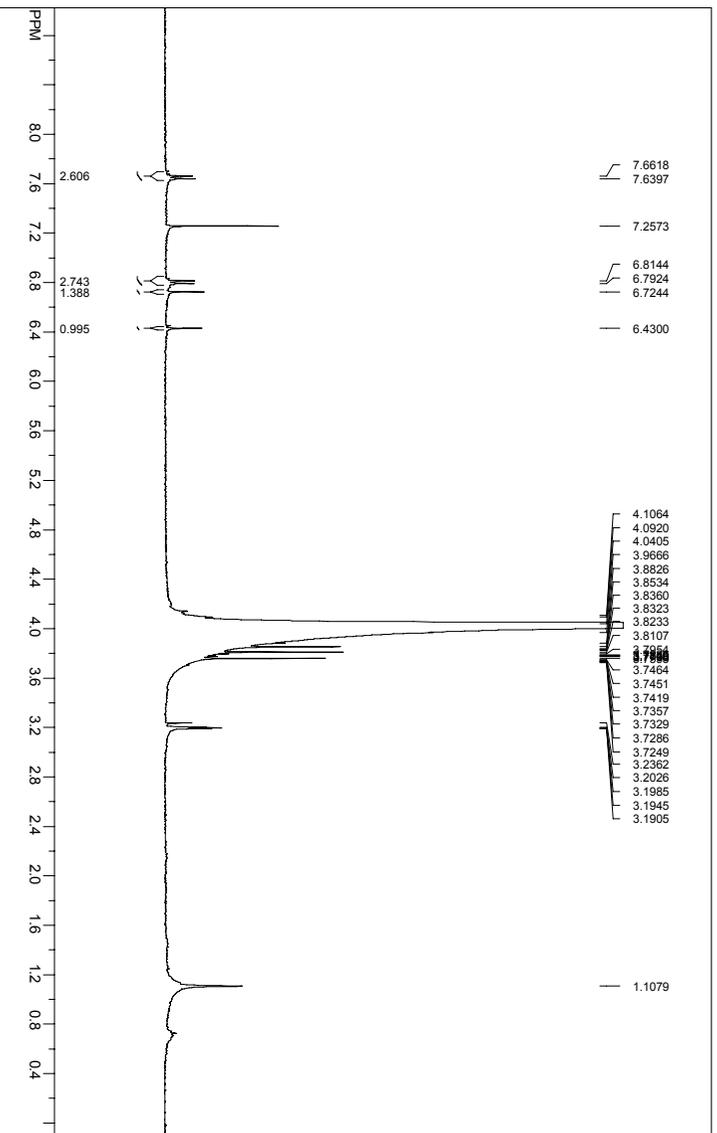
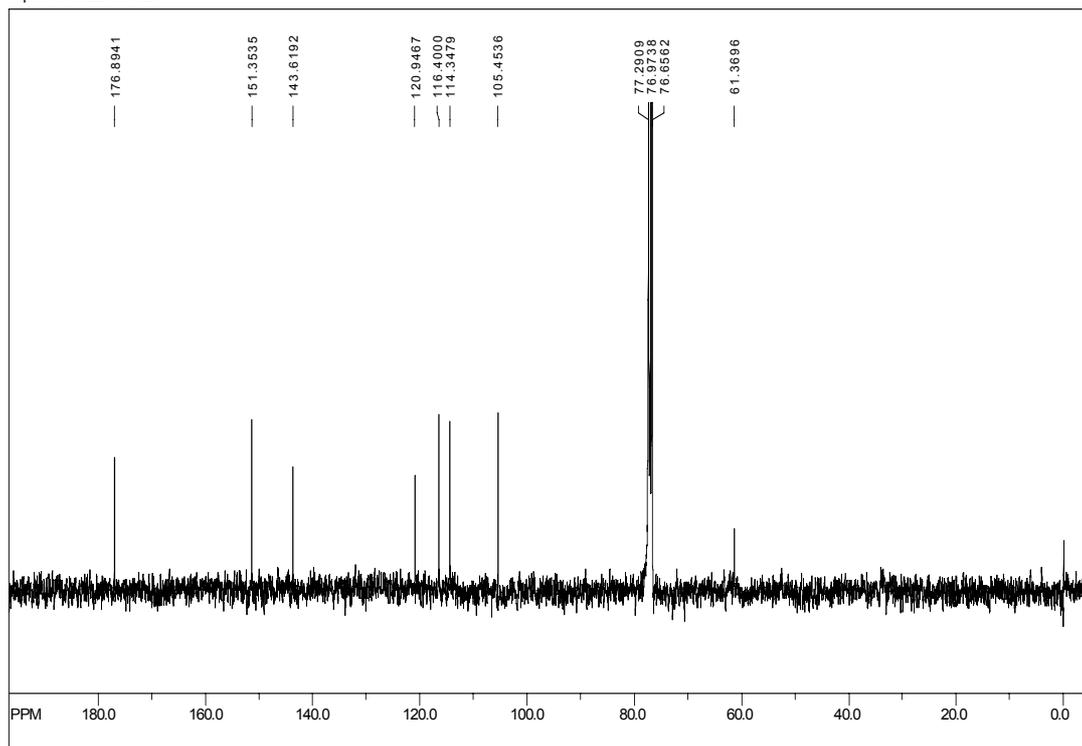


Figura 61. Espectro de RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃/CD₃OD) da substância ZICC-4.

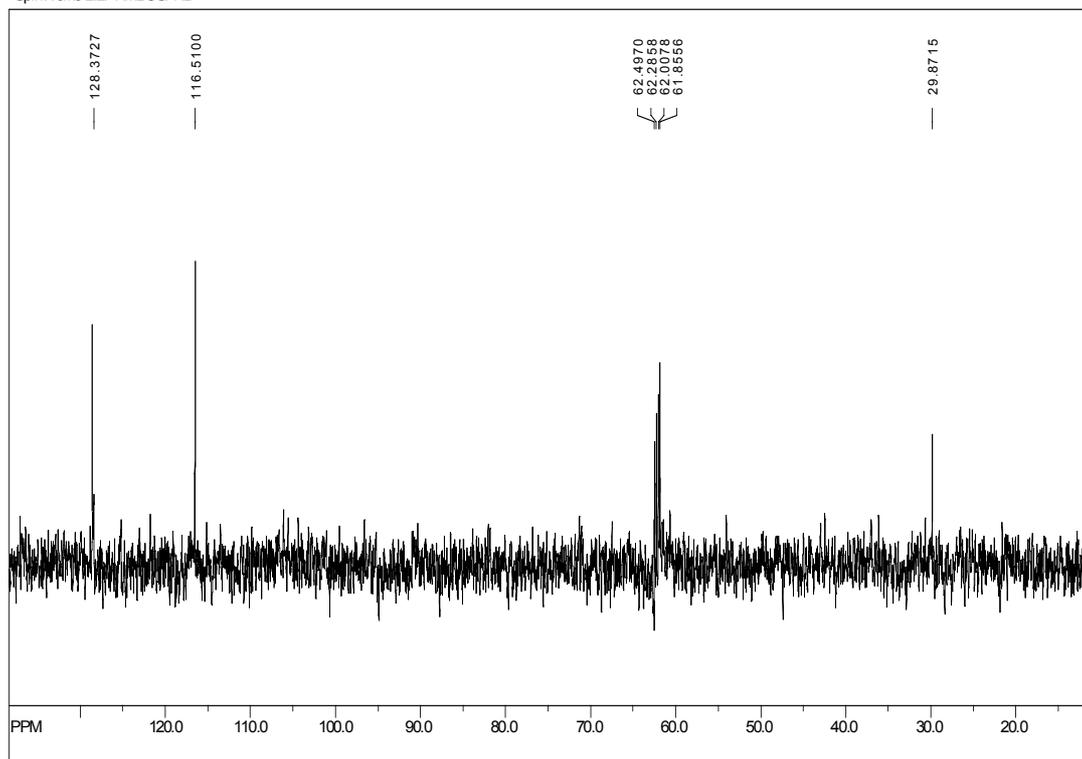
SpinWorks 2.2: LMCL-1



file: D:\l\teste 2008\Farm de Qualidade\in 2008\Fenotro de base 30 03 08\im: 25.01.07.06\1 -out -cont3D>

freq: of 0 nm: 100.630371 MHz

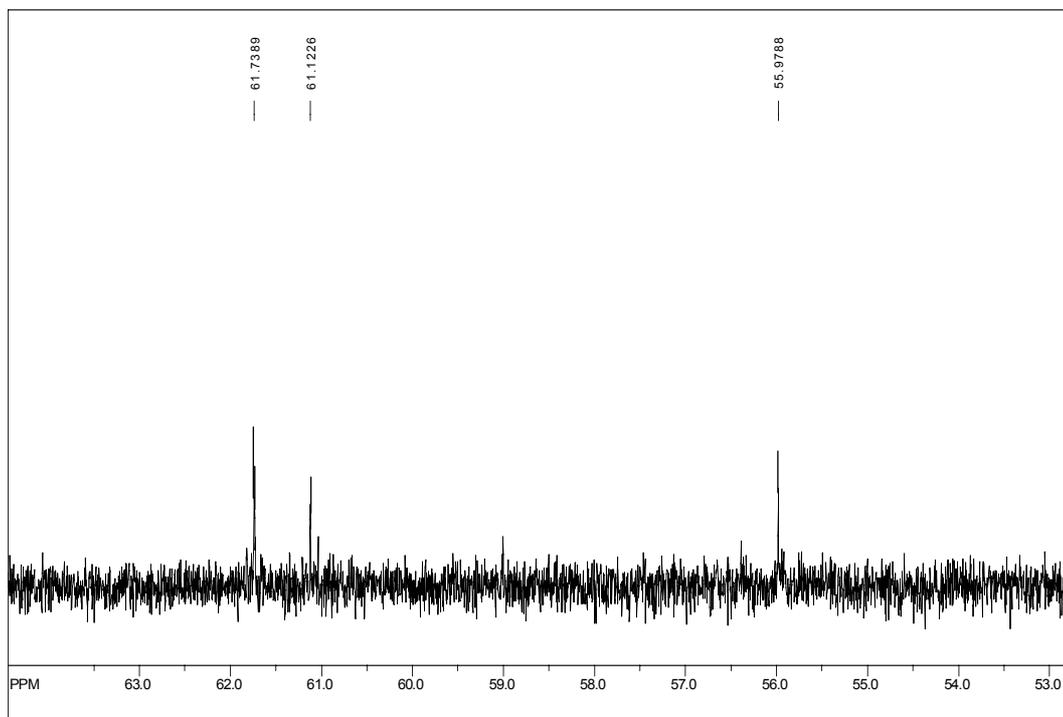
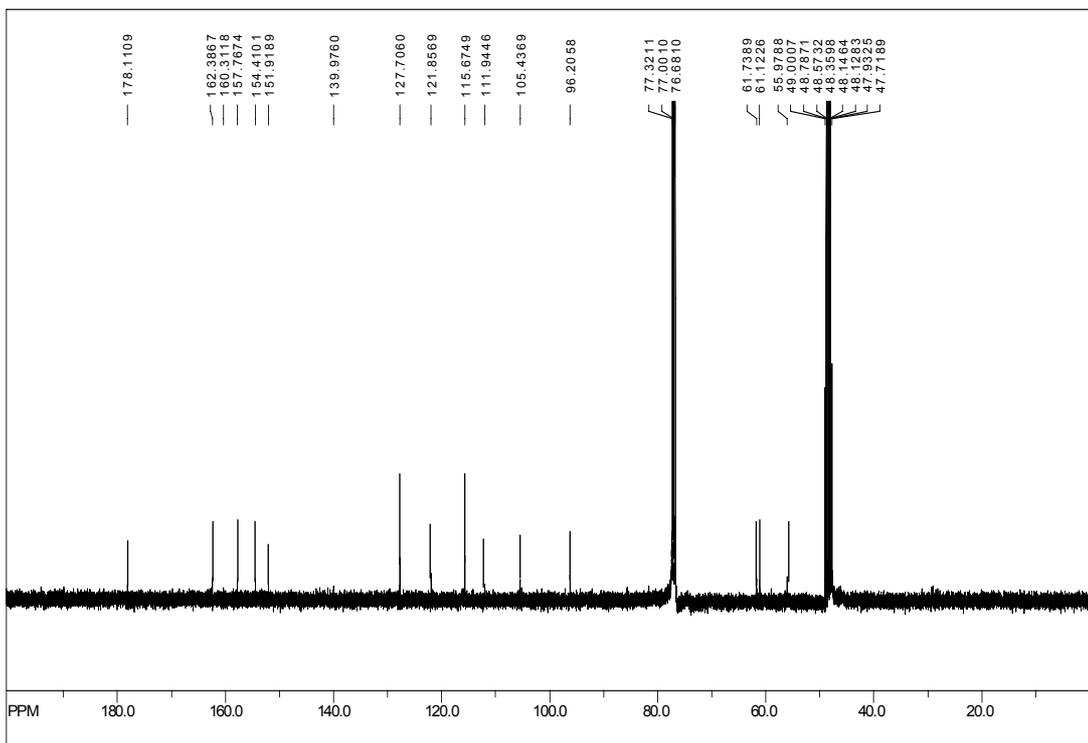
SpinWorks 2.2: TMBCC-3



file: D:\l\teste 2008\Farm de Qualidade\in 2008\Fenotro de base 30 03 08\im: 25.01.07.06\1 -out -cont15>

freq: of 0 nm: 100.630371 MHz

Figura 62. Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da substância ZtCC-3.



file: C:\Documents and Settings\Aluno\Desktop\Arquivos do PC ao lado\teste\RN\UMDL 31\mc_29.05.07\2\fid_ext: <zpp03> freq. of 0 ppm: 100.630383 MHz

Figura 63. Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância **ZtCC-4**.

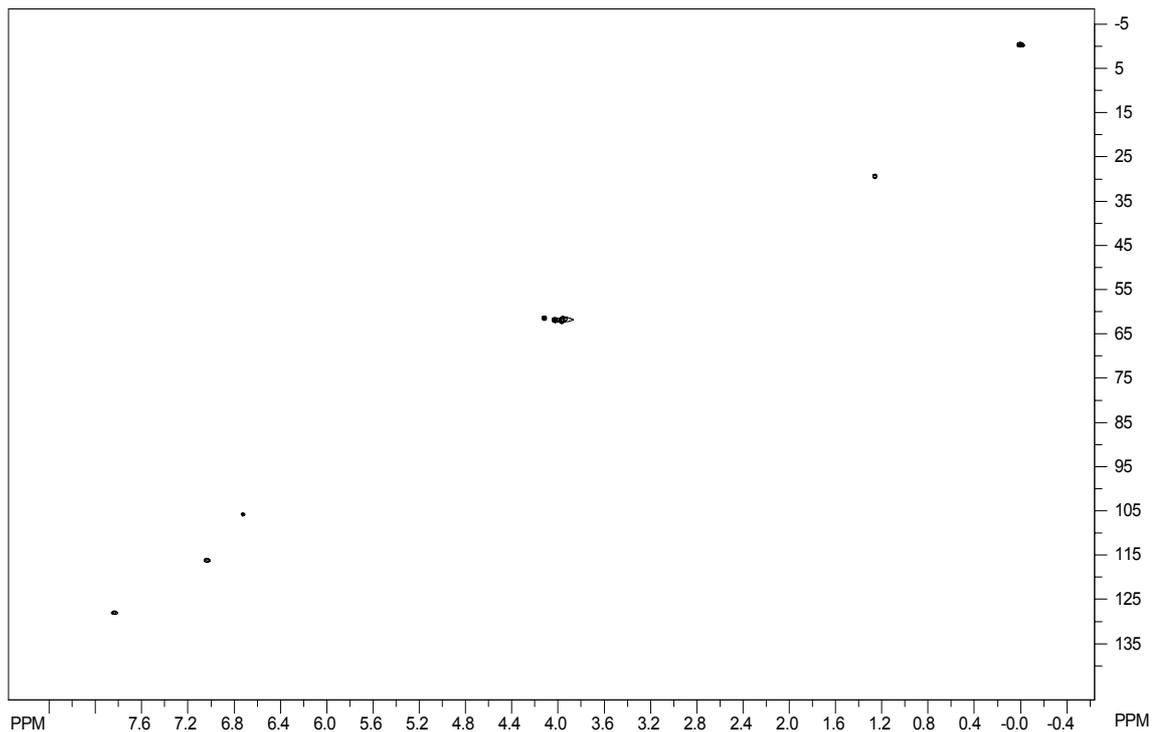


Figura 64. Espectro HSQC (^1H : 400; ^{13}C : 100 MHz, CDCl_3) da substância **ZtCC-3**.

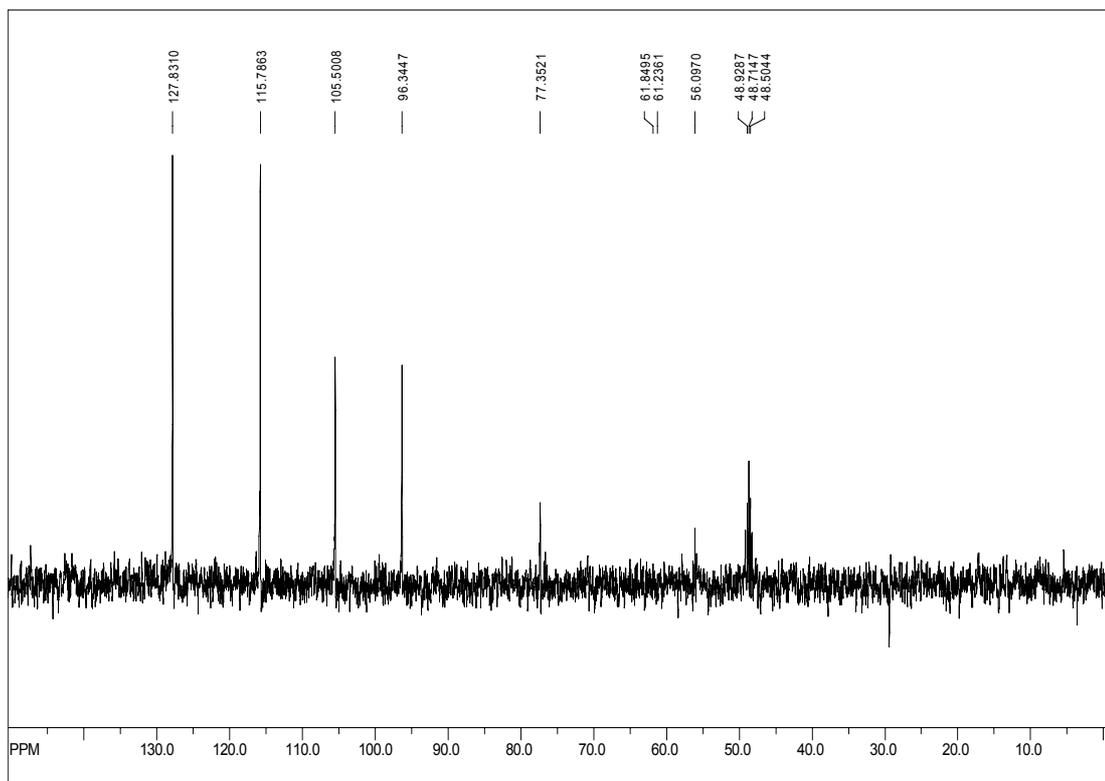


Figura 65. Espectro DEPT (100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância **ZtCC-4**.

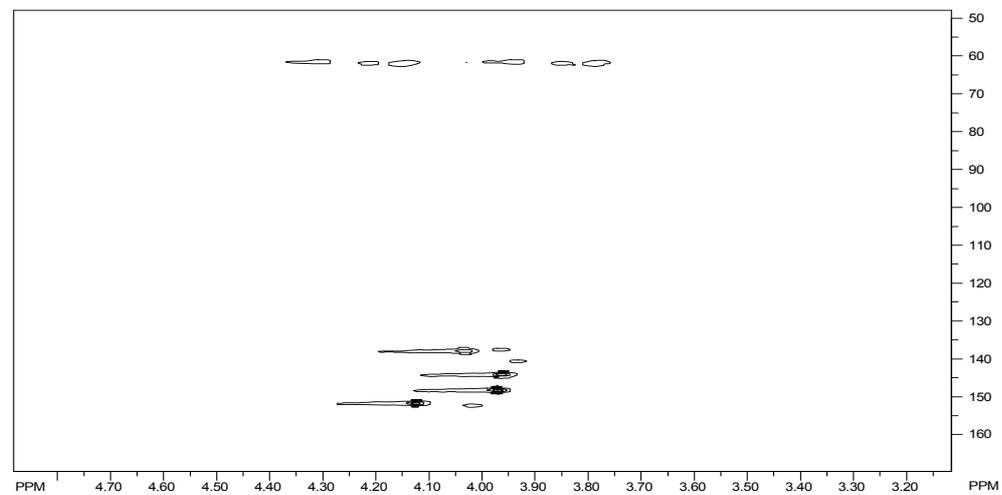
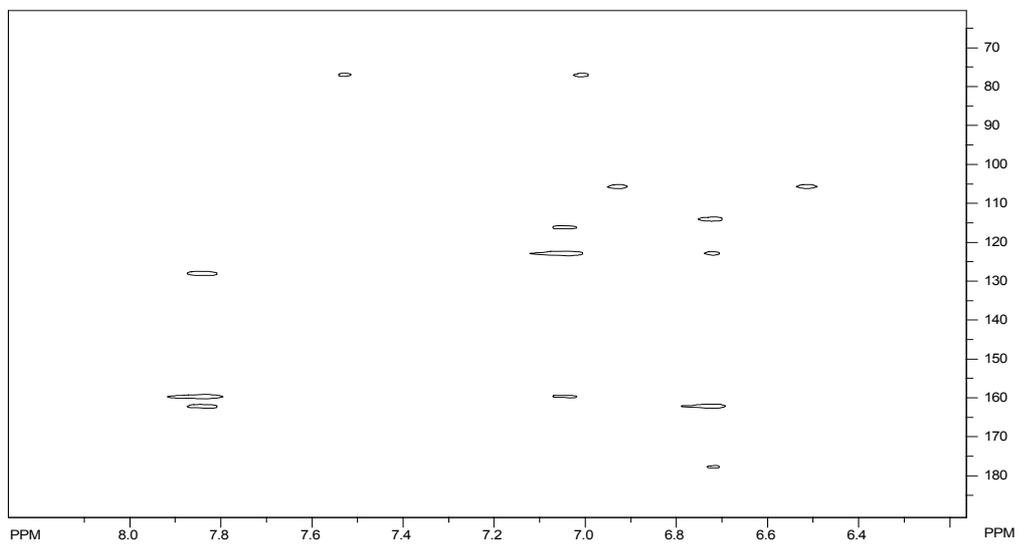
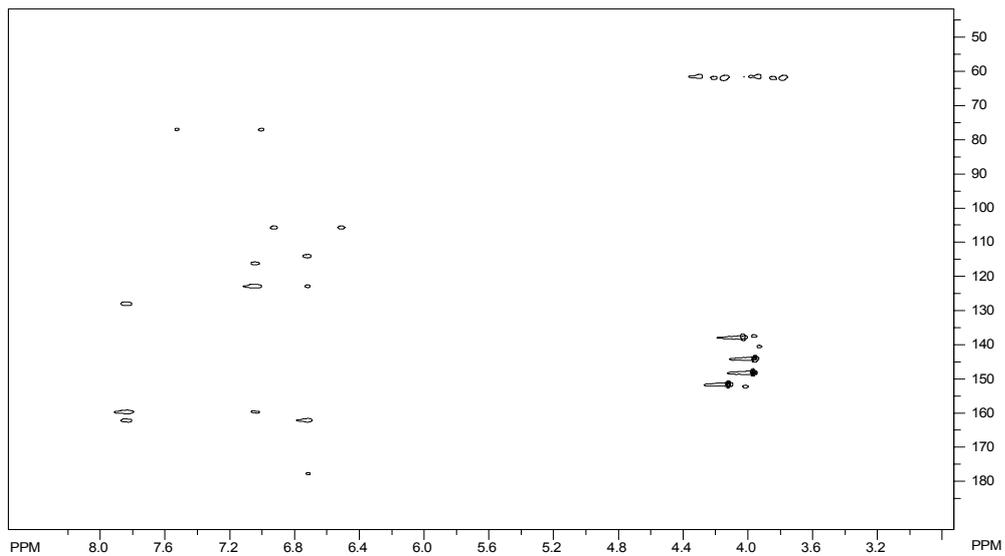


Figura 66. Espectro HMBC (^1H : 400; ^{13}C : 100 MHz, CDCl_3) da substância **ZtCC-3**.

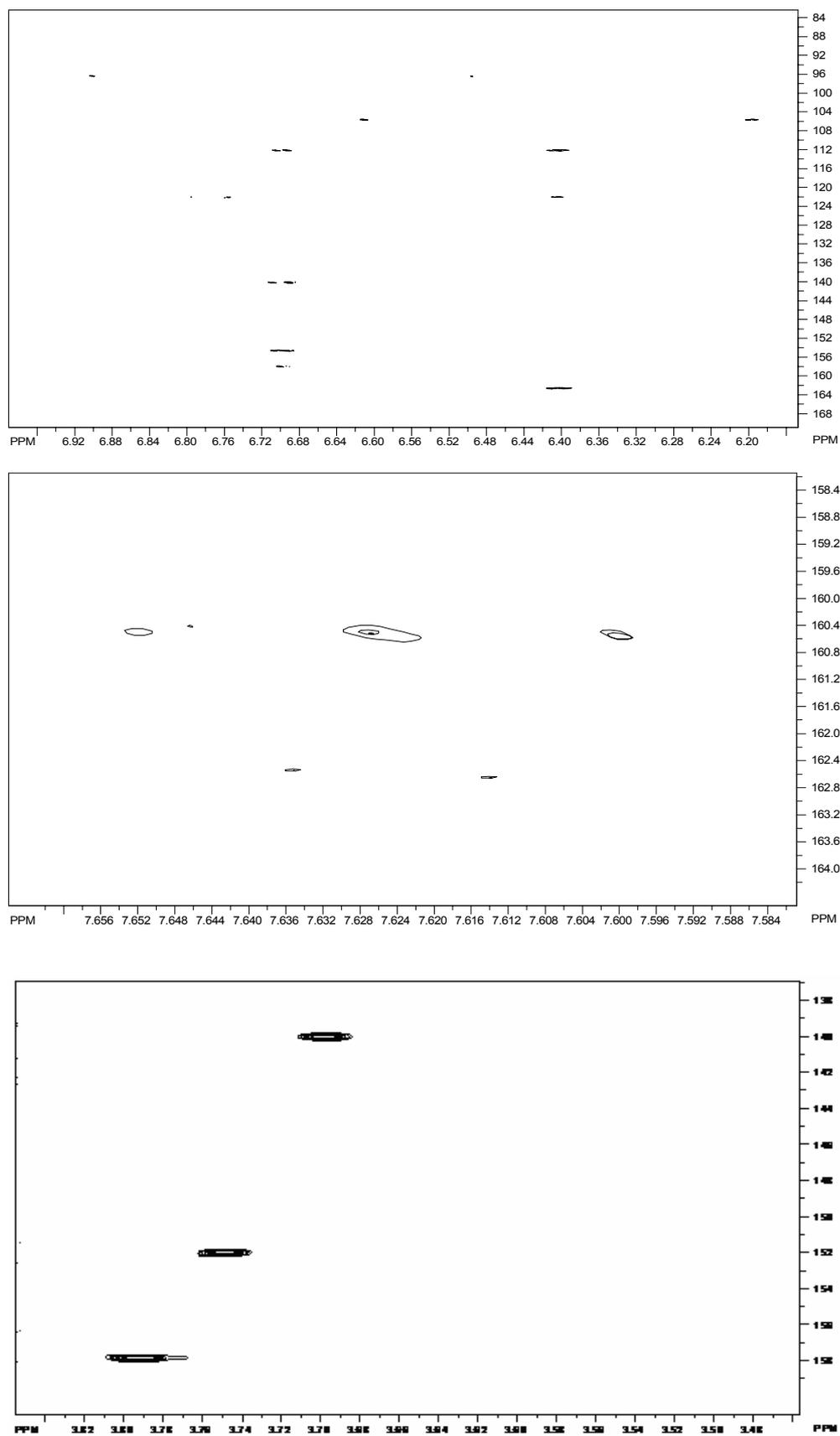


Figura 67. Espectro HMBC (¹H: 400; ¹³C: 100 MHz, CDCl₃/CD₃OD) da substância ZtCC-4.

5.5.2 Isolamento dos constituintes químicos da espécie *Piper hayneanum*

5.5.2.1 Identificação estrutural das substâncias codificadas de PhCC-2a e PhCC-2b

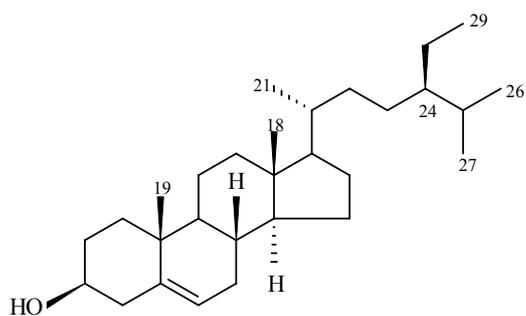
As substâncias codificadas de **PhCC-2a** e **PhCC-2b**, isoladas em mistura na proporção de cerca de 60 e 40%, respectivamente, foram identificadas como sendo fitoesteróides, com base na interpretação dos dados de RMN (Figuras 68-69, pp. 183-184).

Os dados obtidos do espectro de RMN ^1H (Tabela 13, p. 181) revelaram a presença de deslocamentos químicos cujos valores e multiplicidades dos sinais estão condizentes com a presença de hidrogênios carbinólicos [δ 3,52 (m, H-3)], hidrogênios olefínicos [**PhCC-2a** e **PhCC-2b**: δ 5,35 (sl, H-6); **PhCC-2b**: δ 5,15 (*dd*, $J = 15,2$ e $8,6$ Hz, H-22) e 5,01 (*dd*, $J = 15,2$ e $8,6$ Hz, H-23)], além de sinais para hidrogênios de grupos metilas entre δ 0,69 a δ 1,03 (Tabela 13, p. 181).

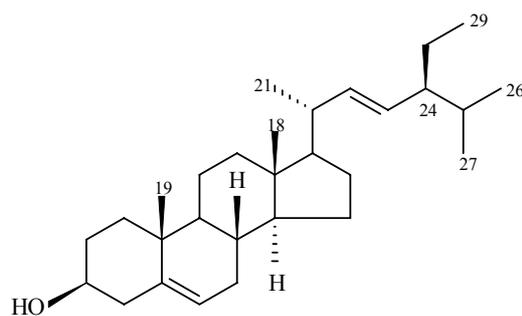
A análise dos dados obtidos do espectro de RMN ^{13}C da mistura (Tabela 14, p. 182; Figura 69, p. 184) permitiu reconhecer para **PhCC-2a** e **PhCC-2b** um total de 38 átomos de carbono. Dentre esses carbonos foi possível identificar valores de deslocamentos químicos referentes a carbonos carbinólicos [**PhCC-2a** e **PhCC-2b**: δ 71,82 (CH, C-3)], carbonos olefínicos [**PhCC-2a** e **PhCC-2b**: δ 140,74 (C, C-5) e δ 121,73 (CH, C-6); **PhCC-2b**: δ 138,34 (CH, C-22) e δ 129,26 (CH, C-23)], cuja comparação com dados descritos na literatura (Della Greca *et al.*, 1990; Forgo & Kövér, 2004) permitiram sugerir para ambas a presença de um grupo hidroxila em C-3 e de ligações duplas entre C-5 e C-6 em ambas e entre C-22 e C-23 de **PhCC-2b**.

A análise dos dados espectrais discutidos, bem como a comparação com os dos compostos correspondentes descritos na literatura (Della Greca *et al.*, 1990; Forgo & Kövér, 2004) permitiu identificar **PhCC-2a** e **PhCC-2b** como sendo os fitoesteróides conhecidos como *Sitosterol* e *Estigmasterol*, respectivamente.

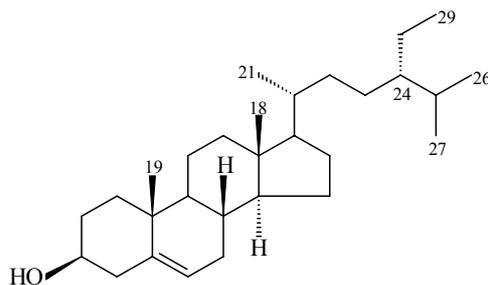
A comparação dos dados espectrais obtidos com os descritos na literatura permitiu a distinção entre o *Sitosterol* (**PhCC-2a**) e o *Clionasterol* (Wright *et al.*, 1978), uma vez que a única diferença entre ambos consiste na configuração em C-24 (Tabela 14, p. 182).



PhCC-2a



PhCC-2b



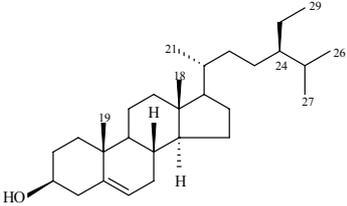
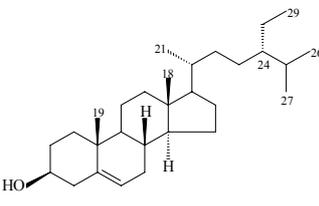
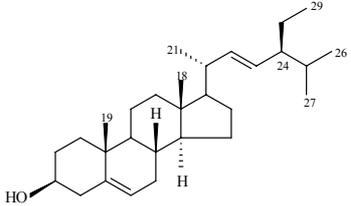
Clionasterol

Tabela 13. Dados de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3 , δ , Hz) das substâncias codificadas de **PhCC-2a** e **PhCC-2b** e comparação com dados descritos na literatura.

Hidrogênios	PhCC-2a	Sitosterol*	PhCC-2b	Estigmasterol**
H-3	3,52 m	3,52 m	3,52 m	3,51 m
H-6	5,35 m	5,35 m	5,35 m	5,34 m
Me-18	0,69 s	0,69 s	0,69 s	0,70 s
Me-19	1,03	1,01 s	1,03	1,01 s
Me-21	0,91 (<i>d</i> , $J = 6,4$)	0,92 (<i>d</i> , $J = 6,4$)	0,91 (<i>d</i> , $J = 6,4$)	1,03
H-22	-		5,15 (<i>dd</i> , $J = 8,6$ e 15,1)	5,17 (<i>dd</i> , $J = 15,2$)
H-23	-		5,01 (<i>dd</i> , $J = 8,6$ e 15,2)	5,04 (<i>dd</i> , $J = 8,6$)
Me-26	0,84-0,85 m	0,83 (<i>d</i> , $J = 6,8$)	0,84-0,85 m	0,85 (<i>d</i>)
Me-27		0,81 (<i>d</i> , $J = 6,9$)		0,80 (<i>d</i>)
Me-29		0,85 (<i>t</i> , $J = 7,8$)		0,81 (<i>t</i>)

* Della Greca *et al.* (1990); ** Forgo & Kövér (2004).

Tabela 14. Dados de RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3 , δ) das substâncias codificadas de **PhCC-2a**, **PhCC-2b** e comparação com dados da literatura do *Sitosterol*, *Estigmasterol* e *Clionasterol*.

						
		Sitosterol	Clionasterol	Estigmasterol		
Carbônio		PhCC-2a	Sitosterol*	Clionasterol**	PhCC-2b	Estigmasterol [#]
C	5	140,74	140,71	140,80	140,75	140,80
	10	36,50	36,43	36,50	36,50	36,50
	13	42,20	42,37	42,30	42,21	42,20
CH	3	71,82	71,73	71,70	71,82	72,00
	6	121,73	121,63	121,60	121,73	121,80
	8	31,88	31,81	31,90	31,89	32,20
	9	50,11	51,13	50,20	50,14	50,50
	14	56,76	56,75	56,80	56,86	57,10
	17	55,93	56,17	56,10	56,75	56,30
	20	36,14	36,07	36,10	40,51	40,40
	22	-	-	-	138,33	138,34
	23	-	-	-	129,26	129,70
	24	45,81	45,82	46,10	51,24	51,50
25	28,93	29,15	29,00	31,89	32,20	
CH₂	1	37,24	37,33	37,30	37,24	37,60
	2	31,65	31,63	31,60	29,70	31,90
	4	42,29	42,20	42,30	42,31	42,29
	7	31,88	31,96	31,90	31,89	32,10
	11	21,10	21,09	21,10	21,21	21,20
	12	39,67	39,79	39,80	39,76	40,00
	15	24,29	24,15	24,30	24,36	24,50
	16	28,93	28,25	28,30	28,93	28,90
	22	31,88	33,95	34,00	-	-
	23	25,41	26,10	26,40	-	-
28	24,36	23,13	23,10	25,41	25,40	
CH₃	18	11,98	11,84	11,90	11,86	12,20
	19	19,40	19,46	19,40	19,40	19,50
	21	18,97	18,97	18,20	21,21	21,40
	26	21,06	19,77	19,10	21,21	21,20
	27	18,90	19,21	-	19,40	19,50
	29	12,26	11,04	12,30	12,04	12,20

* Della Greca *et al.* (1990); ** Wright *et al.* (1978); [#] Forgo & Kövér (2004).

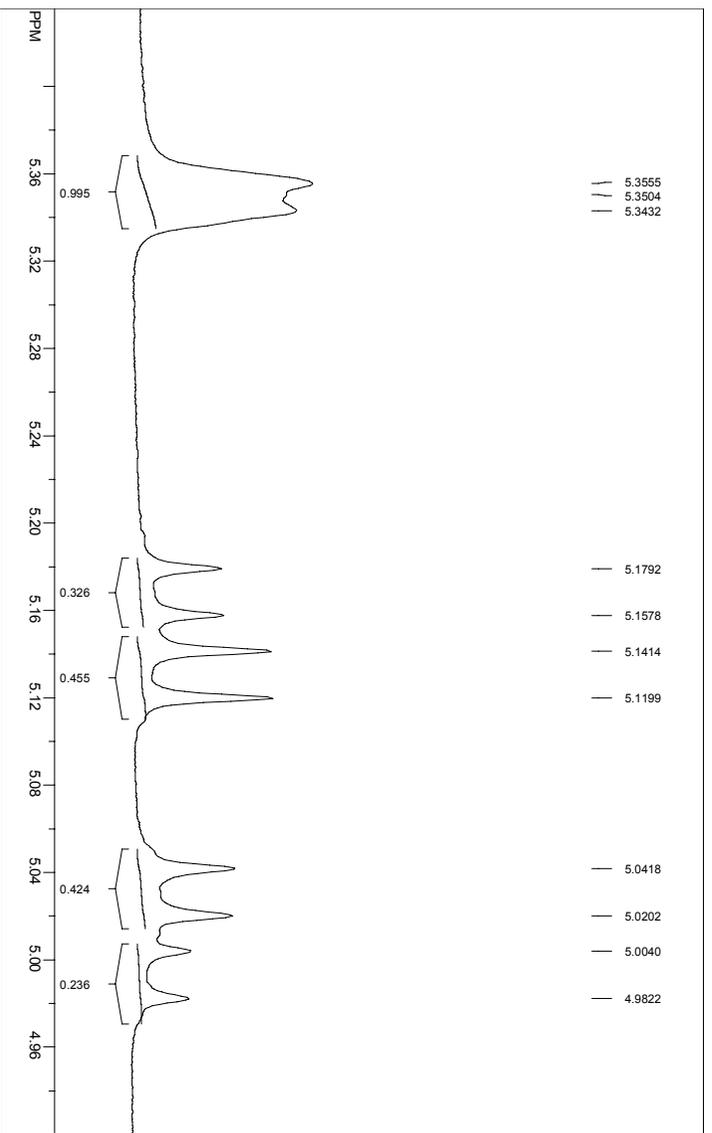
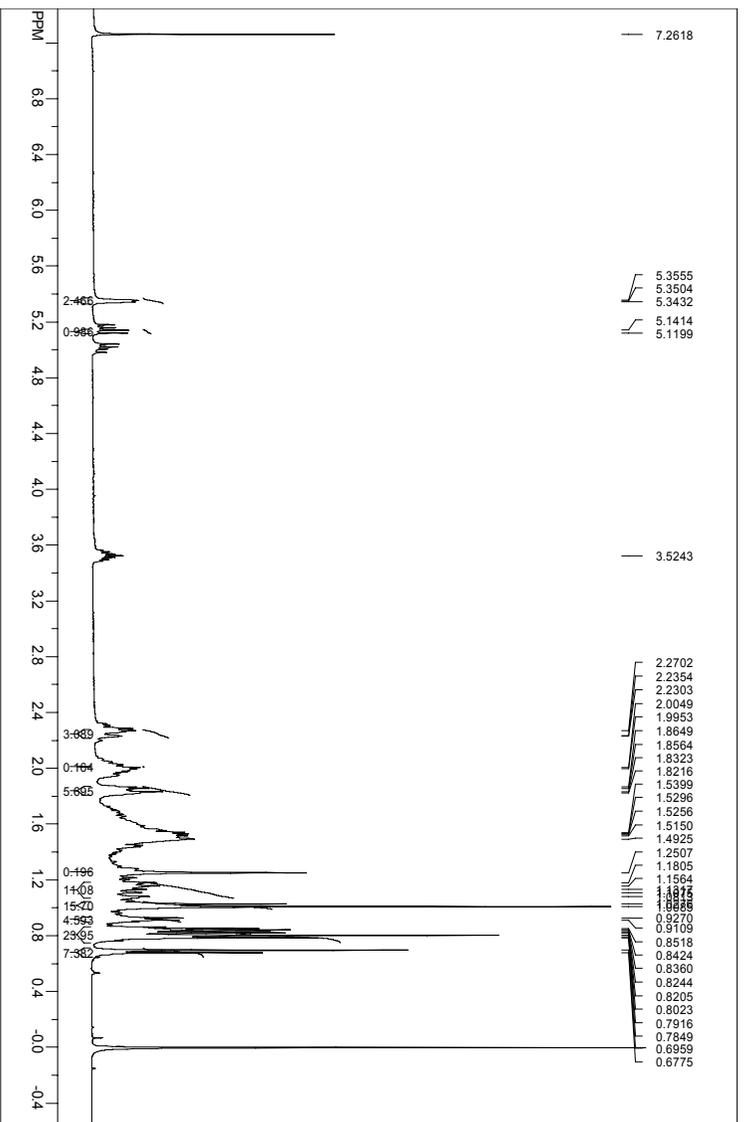


Figura 68. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) das substâncias codificadas de **PhCC-2a** e **PhCC-2b**.

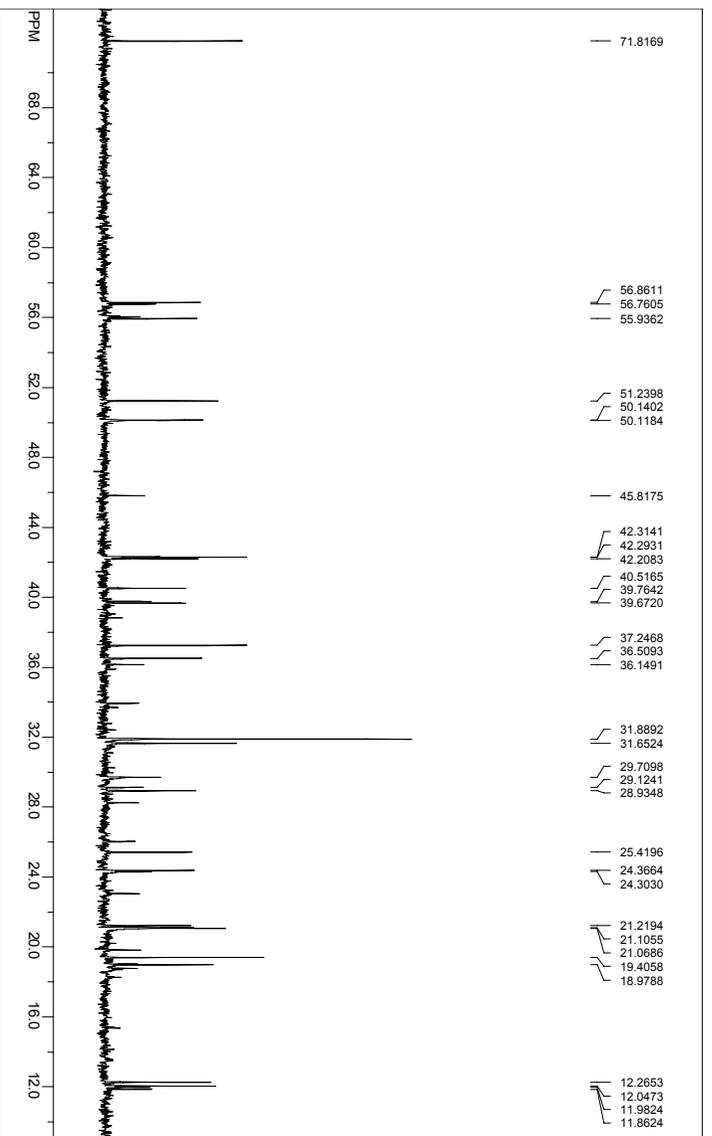
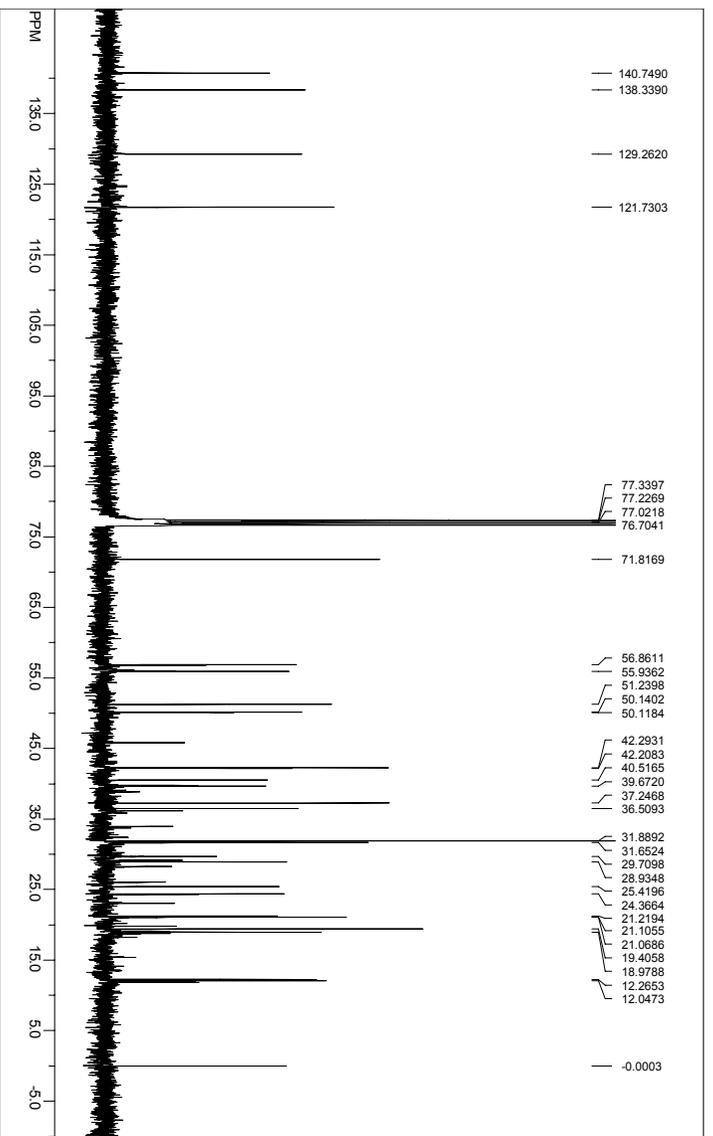


Figura 69. Espectro de RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) das substâncias codificadas de **PhCC-2a** e **PhCC-2b**.

5.5.2.2 Identificação estrutural da substância codificada de PhCC-3

A substância codificada de **PhCC-3** foi identificada como sendo um fitosteróide glicosilado, conhecido como *3-O-β-D-Glicopiranosilsterol*, com base na interpretação dos dados de RMN ^1H (Figura 71, p. 180), ^{13}C incluindo DEPT e bidimensionais (HSQC e HMBC) (Figuras 70-73, pp. 187-190) e pela comparação com dados descritos na literatura.

A análise dos dados obtidos do espectro de RMN ^1H (Tabela 15, p. 186) revelou a presença de sinais cujos valores de deslocamentos químicos e multiplicidades sugeriram a presença de hidrogênio carbinólico [δ 3,61 (m, H-3)], hidrogênio olefínico [δ 5,38 (m, H-6)], sinais compatíveis com a presença de uma unidade β -D-glicopiranosídica [δ 4,41 (*d*, $J = 7,8$ Hz, atribuído ao hidrogênio anomérico, H-1'), δ 3,29 (m, H-2'), δ 3,42 (m, H-3'), δ 3,39 (m, H-4'), δ 3,23 (m, H-5') e δ 3,86 (*d*, $J = 7,6$ Hz, H-6'a) e δ 3,73 (m, H-6'b)], além de vários sinais para grupos metilas entre δ 0,72 a δ 1,15 (Tabela 15, p. 186).

Em virtude da pouca quantidade de material, não foi possível a obtenção do espectro de RMN ^{13}C totalmente desacoplado. Entretanto, o espectro DEPT (Figura 71, p. 188; Tabela 15, p. 186), auxiliado por algumas correlações observadas no mapa de contorno do espectro HSQC (Figura 73, p. 182), permitiu reconhecer sinais cujos valores de deslocamentos químicos estão coerentes com a presença do sitosterol glicosilado, principalmente pelas correlações observadas entre o H-3 (δ 3,61 m) com o sinal atribuído ao C-3 (δ 79,45), do H-6 (δ 5,38 m) com o C-6 (δ 121,90), do H-1' [4,41 (*d*, $J = 7,8$), anomérico] com δ 101,10 (C-1'), H-2' (δ 3,29) com C-2' (δ 73,69), H-3' (δ 3,42) com C-3' (δ 76,91), H-4' (δ 3,39) com C-4' (δ 69,96), H-5' (δ 3,23) com C-5' (δ 76,55), H-6'a (δ 3,86) e H-6'b (δ 3,73) com C-6' (δ 61,61).

Estas informações, associada a análise comparativa com dados da literatura (Mizushina *et al.*, 2006), permitiram tentativamente sugerir para **PhCC-3** a estrutura do *3-O-β-D-Glicopiranosilsterol*.

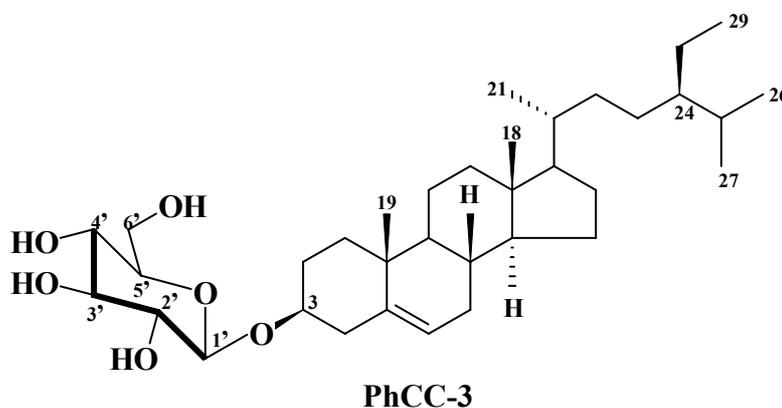


Tabela 15. Dados de RMN (^1H : 400; 13 : 100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$, δ , Hz) da substância **PhCC-3** e comparação com dados da literatura ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$; Mizushina *et al.*, 2006).

Posição	PhCC-3		3-O- β -D-Glc-Sitosterol		
	δ_{C}	δ_{H} /HSQC	δ_{H}	δ_{C}	
C	5	140,95		140,96	
	10	36,17		36,97	
	13	39,00		42,53	
CH	3	79,45	3,61 m	78,16	
	6	121,90	5,38 m	121,96	
	8	31,90		32,10	
	9	50,00		50,39	
	14			56,87	
	17			56,29	
	20	36,50		36,43	
	22	34,90		34,26	
	23	26,44		26,00	
	24	47,71		46,09	
	25	30,00		29,51	
	CH₂	1	37,83		37,52
2		29,30		30,30	
4		38,50		39,39	
7		32,00		32,22	
11		20,50		21,33	
12		40,00		39,99	
15		24,29		24,55	
16		28,58		28,58	
28		23,50		23,44	
CH₃		18	12,00	0,72 s	0,67 s
	19	19,30	1,15 s	0,95 s	19,26
	21	19,03	1,01 (<i>d</i> , <i>J</i> = 6,5)	1,00 (<i>d</i> , <i>J</i> = 6,5)	19,05
	26	20,00	0,91 (<i>d</i> , <i>J</i> = 7,1)	0,92 (<i>d</i> , <i>J</i> = 7,3)	19,46
	27	20,20	0,88 (<i>d</i> , <i>J</i> = 6,2)	0,88 (<i>d</i> , <i>J</i> = 7,0)	20,02
	29	12,26	0,78 (<i>t</i> , <i>J</i> = 6,2)	0,89 (<i>t</i> , <i>J</i> = 7,8)	12,20
	1'	101,10	4,41 (<i>d</i> , <i>J</i> = 7,8)	5,07 (<i>d</i> , <i>J</i> = 7,7)	102,62
	2'	73,69	3,29 m	4,08 (<i>brt</i> , <i>J</i> = 8,1)	75,38
	3'	76,91	3,42 m	4,31 m	78,65
	4'	69,96	3,39 m	4,31 m	71,75
	5'	76,55	3,23 m		78,55
	6'a	61,61	3,86 (<i>d</i> , <i>J</i> = 7,6)	4,58 (<i>dd</i> , <i>J</i> = 11,7)	62,88
	6'b		3,73 m	4,43 (<i>dd</i> , <i>J</i> = 11,7)	

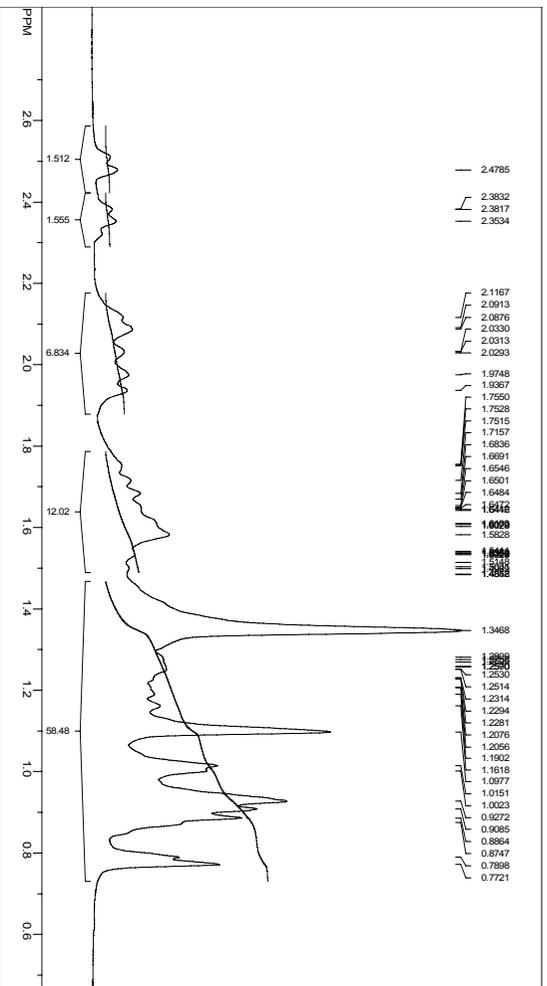
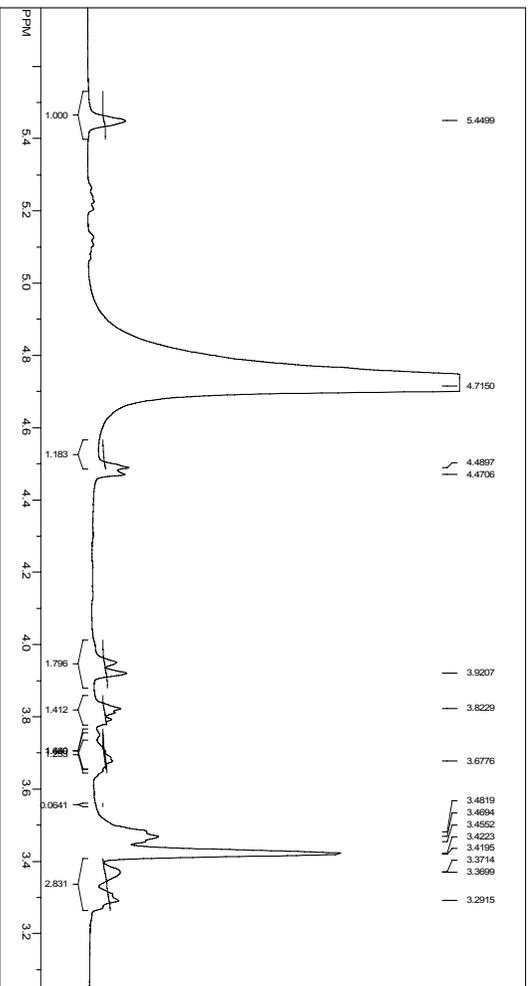
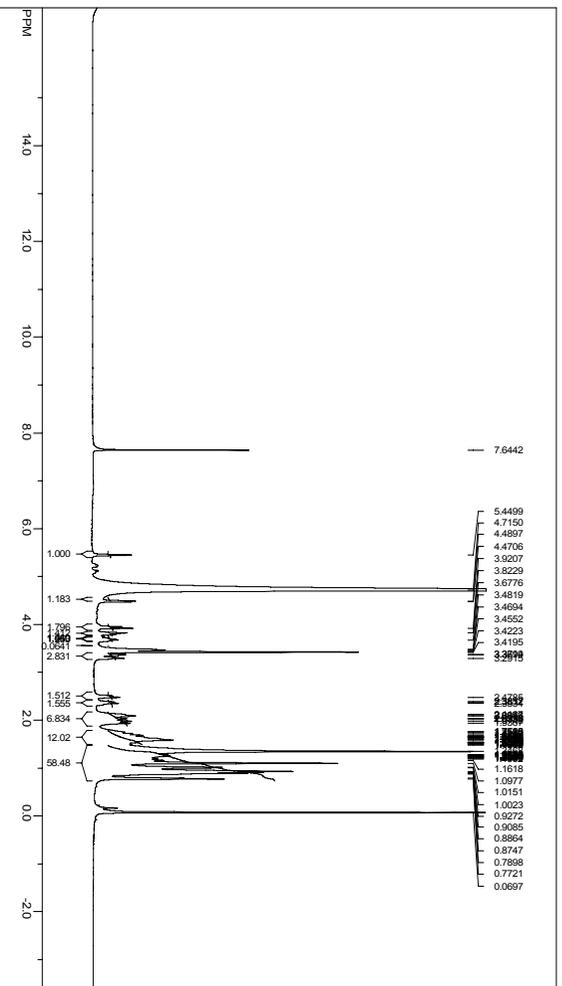


Figura 70. Espectro de RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃/CD₃OD) da substância PhCC-3.

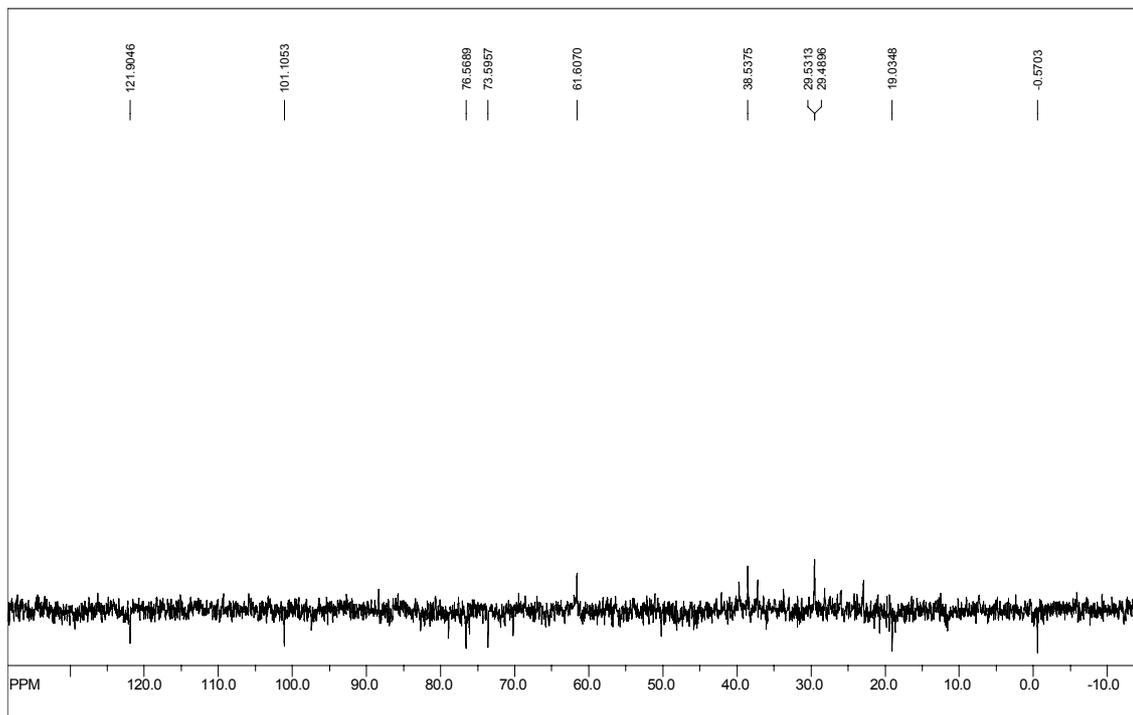


Figura 71. Espectro DEPT 135 (100 MHz, CDCl₃/CD₃OD) da substância **PhCC-3**.

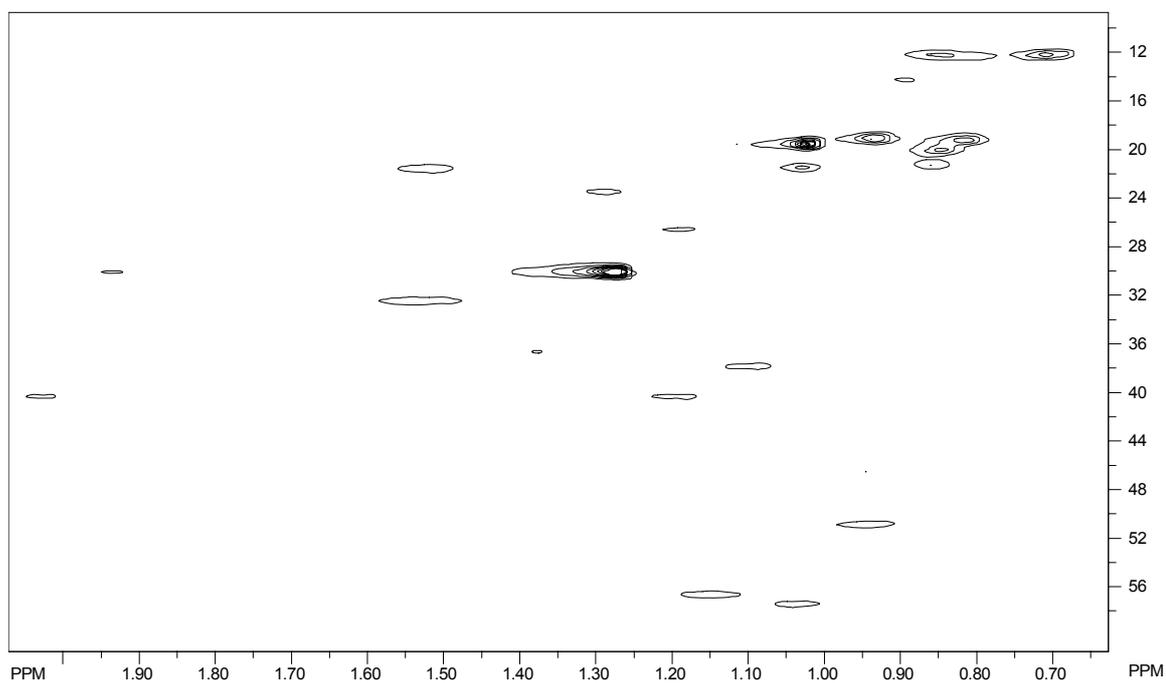
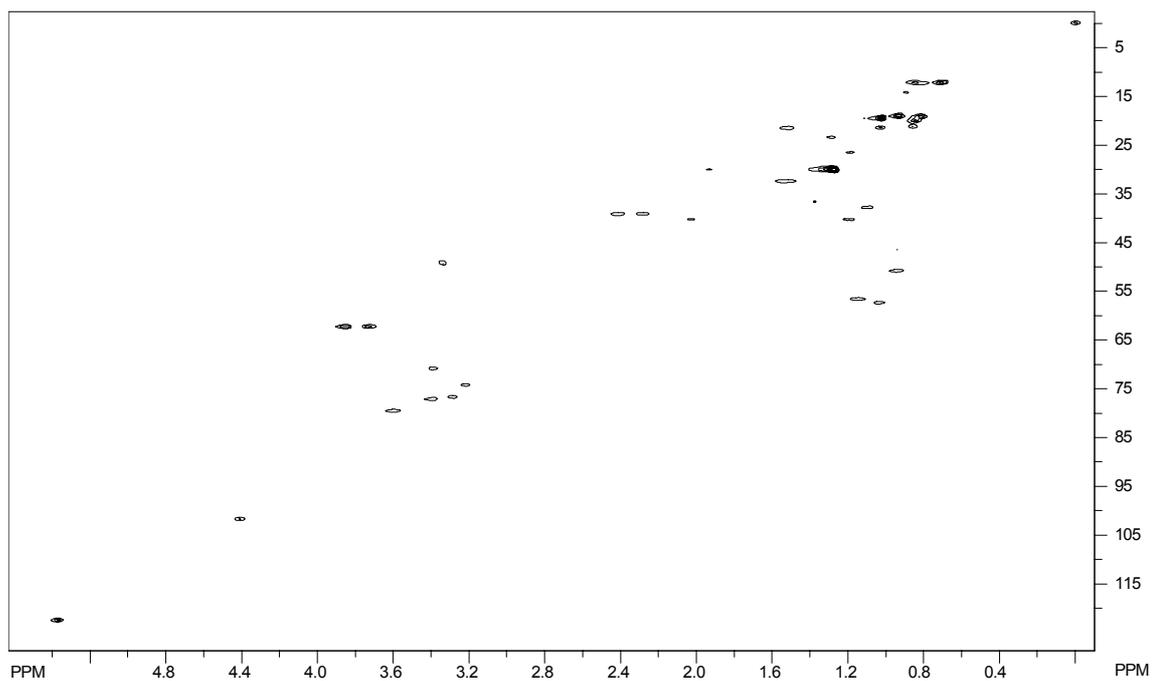


Figura 72. Espectro HSQC (^1H : 400 MHz; ^{13}C : 100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância **PhCC-3**.

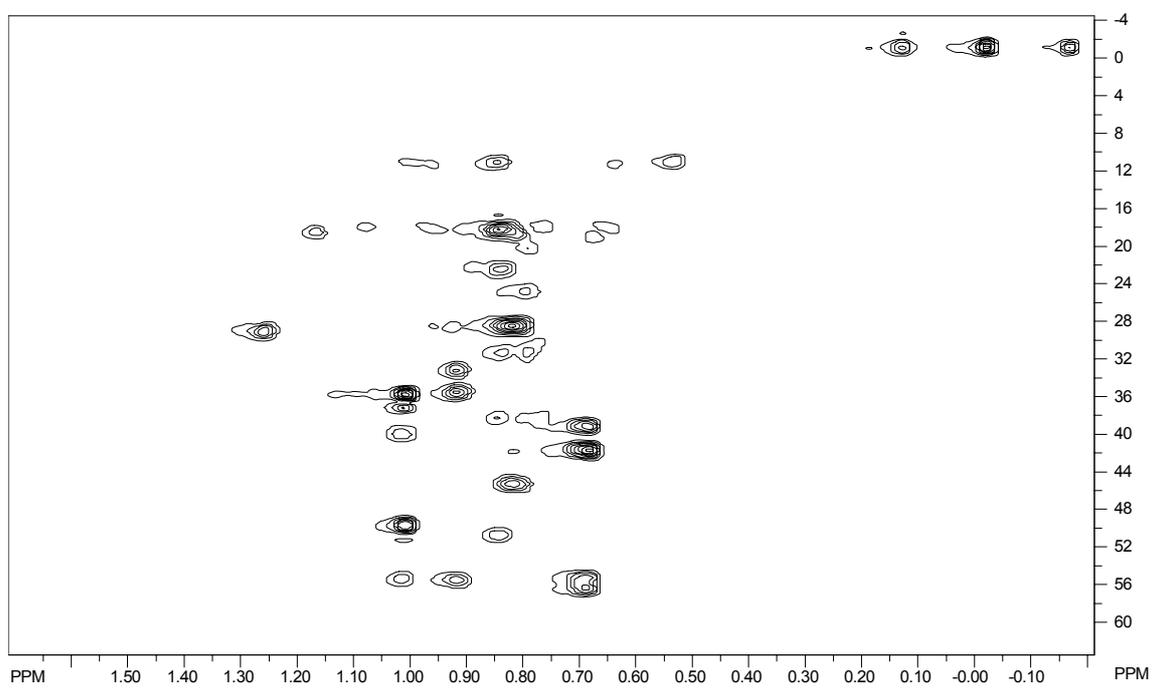
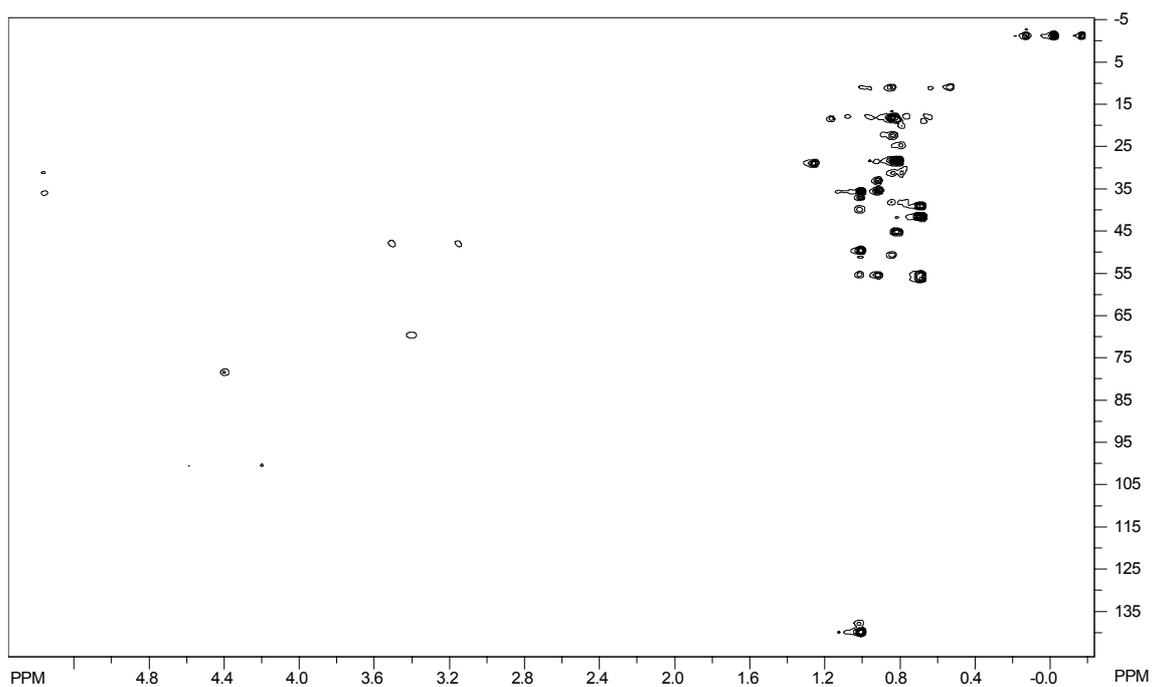


Figura 73. Espectro HMBC (^1H : 400 MHz; ^{13}C : 100 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) da substância **PhCC-3**.

5.6 Ensaios Antimicrobianos com as Substâncias Isoladas (Bioautografia)

As substâncias isoladas das subfrações que apresentaram atividade antimicrobiana (CIM < 300 µg/disco) e ausência ou baixa toxicidade, foram submetidas a bioautografia para avaliação da atividade biológica contra o *S. aureus* e a *C. albicans*. Foram testadas: quatro flavonas oriundas da fração em CHCl₃ do caule da *Z. tuberculosa* [**5,6,7,8-Tetrametoxiflavona (ZtCC-1)**, **5,6,7-Trimetoxiflavona (ZtCC-2)**, **4'-Hidroxi-5,6,7,8-tetrametoxiflavona (ZtCC-3)** e **4'-Hidroxi-5,6,7-trimetoxiflavona (ZtCC-4)**] e três esteróides procedentes das frações em CHCl₃ do caule *P. hayneanum* sendo uma mistura de **Sitosterol e Estigmasterol (PhCC-2a e 2b)** e o **3-O-β-D-Glicopiranosil-sitosterol (PhCC-3)**. Dentre estas sete substâncias a **ZtCC-1** foi considerada ativa para os dois microrganismos, a **PhCC-3** foi ativa somente para *S. aureus*, a **ZtCC-2** e a **ZtCC-3** foram moderadamente ativas frente ao *S. aureus*, e a **ZtCC-3** apresentou atividade antifúngica. As substâncias **ZtCC-4** e **PhCC-2a e 2b** não apresentaram atividade antimicrobiana (Tabela 16, p. 191; Figura 74, p. 192), apesar do **Sitosterol** e do **Estigmasterol (PhCC-2a e 2b)** terem sido isolados da subfração CHCl₃-AcOEt (1:1), que apresentou resultados satisfatórios para o tratamento de feridas infectadas em ratos. É de supor, portanto, que a subfração terá que ser novamente trabalhada para isolamento do princípio ativo responsável pela atividade *in vivo*.

Tabela 16. Resultados da atividade antimicrobiana avaliada por bioautografia das substâncias isoladas das espécies vegetais *Zeyheria tuberculosa* e *Piper hayneanum*.

Espécies	Subfração	Substância	Microrganismo*	
			<i>S. aureus</i>	<i>C. albicans</i>
			Zona de inibição do crescimento (%)*	
<i>Z. tuberculosa</i>	C ₆ H ₁₄ - CHCl ₃ 1:1	ZtCC-1	98,0	87,1
		ZtCC-2	74,0	0,0
	CHCl ₃ -MeOH 1:1	ZtCC-3	67,0	97,0
		ZtCC-4	0,0	0,0
<i>P. hayneanum</i>	CHCl ₃ -AcOEt 1:1	PhCC-2a e b	0,0	0,0
	MeOH	PhCC-3	92,0	0,0

* O cálculo do percentual de inibição foi efetuado de acordo com a fórmula do item 4.4.7. (p. 106)

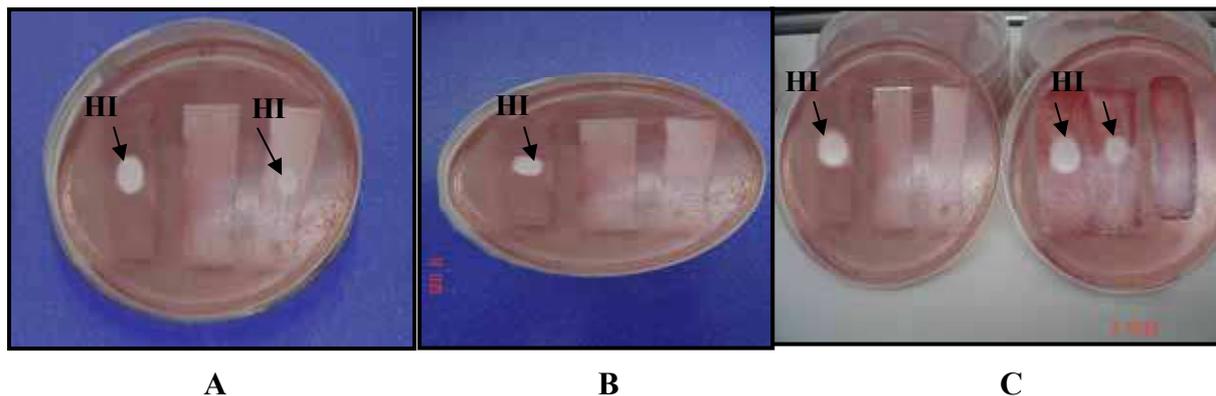


Figura 74. Halo de inibição das substâncias (HI) frente a *S. aureus* (A-B) e frente a *C. albicans* (C).

A determinação da atividade antimicrobiana pelo método da bioautografia mostrou-se mais eficaz que pelo método de difusão em Agar na avaliação do potencial microbicida dos extratos de *Tropaeolum majus* (Tropaleceae) (Zannetti *et al.*, 2003).

Para Cunico e cols. (2006) o ensaio bioautográfico serve de indicador para o particionamento de extratos vegetais, quando se quer realizar um estudo biomonitorado livre de resultados indesejáveis, uma vez que por este método se prevê antecipadamente qual das substâncias presentes em um extrato são bioativas. A bioautografia se mostrou mais eficaz que o método de difusão em Ágar na avaliação do potencial microbicida dos extratos de *Tropaeolum majus* (Tropaleceae) (Zannetti *et al.*, 2003). Vários autores tem optado por esta técnica para determinação da atividade bactericida e fungicida de extratos provenientes espécies vegetais por considerarem um ensaio rápido, econômico (Masoko *et al.*, 2005; Ahmad & Aqil, 2006).

5.7 Considerações Gerais Sobre Flavonóides e Fitoesteróides

Os flavonóides, metabólitos secundários polifenólicos, são encontrados na natureza em certas frutas, chás, vinhos, nozes, sementes, raízes, em corantes e em um grande número de vegetais. Apesar de não serem considerados como vitaminas, constituem importantes para a manutenção da saúde de grande parte dos animais herbívoros e do homem (Tamura *et al.*, 2003).

O interesse tanto da indústria quanto de pesquisadores e consumidores pelas propriedades farmacológicas e bioquímicas desta classe de compostos fenólicos, vem crescendo nos últimos anos, em virtude do potencial antioxidante na prevenção de câncer e de

doenças cardiovasculares. No entanto, a literatura tem relatado para estes compostos outras atividades biológicas, tais como antialergênico, hepatoprotetor e antiinflamatória, em especial para a baicaleína e para hispidulina (Samuelsen, 2000). Em experimentos realizados com coelhos, utilizando dieta hiperlipídica e uso paralelo do flavonóide Apigenina, demonstraram que as taxas de colesterol e triglicerídeos não sofreram aumento; enquanto que nos animais que fizeram uso somente da dieta foi observado hiperlipidemia sérica, revelando assim, o excelente potencial antioxidante deste flavonóide (Lima *et al.*, 2001).

Chkhikvishvili, & Gogiya (1995) isolaram dos frutos da *Citrus reticulata* (Rutaceae), conhecida como mandarina ou tangerina, sete flavonóides oxigenados, dentre eles a Tangeritina, com forte atividade fungicida. Estes pesquisadores atribuíram esta atividade biológica à presença dos substituintes oxigenados, uma vez que os demais flavonóides isolados sem esses substituintes não apresentaram qualquer atividade antifúngica.

Estudos *in vitro* têm demonstrado que alguns flavonóides, como a 3,7-O- α -L-Dirhamnosilquercetina e o 3,7- α -L-Dirhamnosilkaempferol, foram ativos como antifúngicos, antibacterianos e antivirais contra *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus aureus*, *Cândida albicans* e *Herpes simplex* (Özçelik *et al.*, 2006). Conforme observado, existe um grande interesse na elucidação das diversas atividades biológicas presentes nos flavonóides, possivelmente, devido sua ação inibitória sobre a peroxidação lipídica, cuja presença no organismo humano é responsável pelas doenças crônico-degenerativas, imunodepressoras e até as infecciosas.

Os fitoesteróides são encontrados em larga escala na natureza. Estes compostos em conjunto com macro e micro nutrientes são responsáveis pelo crescimento, pela defesa e pela longevidade das espécies vegetais. Foi observado, que os fitoesteróides são encontrados das sementes às raízes em todas as plantas, sendo, quantitativamente, variada a sua presença (Clifton, 2002). Eles são agentes importantes, não somente por fazerem parte das membranas biológicas ou por serem precursores da biossíntese de hormônios esteroidais, mas também pelas atividades biológicas atribuídas aos mesmos, tais como: antiinflamatória, antibacteriana, antifúngica e, mais recentemente, antitumoral em neoplasias intestinais ao nível do cólon, além de inibidor da promoção e indução de células tumorais (Ovesna *et al.*, 2004). O sitosterol, oriundo do gênero *Piper*, foi citado por Parmar e cols. (1997) como inibidor da agregação plaquetária.

Estudos vêm comprovando, cientificamente, várias atividades biológicas dessas substâncias, em especial, o β -sitosterol, que além das atividades já descritas mostrou ser efetivo

no combate às hiperlipidemias, cuja ingestão cumulativa não promove arteriosclerose e ainda facilita a síntese de HDL, a lipoproteína que promove a limpeza das veias e artérias (Cícero *et al.*, 2004; Farkas *et al.*, 2004).

Pesquisas experimentais *in vivo* com camundongos alimentados com dieta rica em fitoesteróides, principalmente o β -sitosterol e seu glicosídeo, demonstraram um aumento plasmático dos hormônios testosterona e estradiol em animais machos e fêmeas, respectivamente. Há relatos de atividades estrogênicas do β -sitosterol. Estes estudos comprovaram as atividades estrogênicas e progestogênicas desta classe de compostos (Ryokknen *et al.*, 2005).

O conhecimento das propriedades biológicas dos fitoesteróides, em especial, do β -sitosterol pode ser um indicativo para a valorização destas substâncias tão comumente encontradas nos vegetais, uma vez que isto facilita a sua utilização para a produção de novos fitofármacos.

6. Considerações Finais

6. Considerações Finais

A triagem, utilizando como parâmetro a atividade antimicrobiana, de sete espécies vegetais da flora alagoana: *Zeyheria tuberculosa* (Vell.) Bur. (Bignoniaceae), *Capparis cynophallophora* L e *C. spinosa* Jacq (Capparaceae), *Swatzia apetala* Raddi. (Papilionaceae), *Piper marginatum* e *P. hayneanum* C.DC. (Piperaceae), e *Portulaca* cf. *elation* Mart. ex. Rohrb. (Portulacaceae), permitiu identificar duas delas (*Z. tuberculosa* e *P. hayneanum*) como promissoras para obtenção de novos fitofármacos.

A partir dos resultados obtidos foi possível relacionar as seguintes considerações e conclusões:

- Extratos, frações e subfrações, provenientes das plantas *Z. tuberculosa* e *P. hayneanum* são promissores como antimicrobianos, uma vez são capazes de inibir o crescimento do *Staphylococcus aureus* e de *Candida albicans*.
- A bactéria *Pseudomonas aeruginosa* é resistente a todos os extratos provenientes das sete espécies vegetais selecionadas;
- A maioria das subfrações com perfil antimicrobiano, não apresenta toxicidade significativa, requisito indispensável para segurança de seu uso terapêutico;
- Os extratos subfracionados da espécie vegetal *P. hayneanum*, utilizados no preparo de pomadas testadas *in vivo*, são promissores para o tratamento de feridas infectadas do sistema tegumentar;
- O estudo fitoquímico efetuado com os extratos de *Z. tuberculosa* permitiu o isolamento de quatro flavonóides: *5,6,7,8-Tetrametoxiflavona* (**ZtCC-1**), *5,6,7-Trimetoxiflavona* (**ZtCC-2**), *4'-Hidroxi-5,6,7,8-tetrametoxiflavona* (**ZtCC-3**) e *4'-Hidroxi-5,6,7-trimetoxiflavona* (**ZtCC-4**); dos quais, os dois últimos estão sendo descritos pela primeira vez no gênero;
- O estudo fitoquímico efetuado com os extratos de *P. hayneanum* permitiu o isolamento de três fitoesteróides: *Sitosterol*, *Estigmasterol* (**PhCC-2a e 2b**) e *Sitosterol glicosilado* (**PhCC-3**);

- As substâncias isoladas nas duas espécies fazem parte do perfil fitoquímico esperado para os gêneros, especialmente pela presença de flavonóides (*Z. tuberculosa*) e fitoesteróides (*P. hayneanum*);
- Dois dos flavonóides isolados no presente trabalho (*4'-Hidroxi-5,6,7,8-tetrametoxiflavona* e *4'-Hidroxi-5,6,7-trimetoxiflavona*) estão sendo relatados pela primeira vez no gênero *Zeyheria*. Assim sendo, o isolamento dessas substâncias irá servir para ampliar o conhecimento químico deste gênero;
- Os resultados obtidos neste estudo são promissores, e estimulam sua continuidade, na perspectiva de que se possa isolar e caracterizar compostos com atividade antimicrobiana, que sirvam no futuro como fonte para preparo de um novo fitofármaco.

7. Referências Bibliográficas

7. Referências Bibliográficas

- Abila, B., Richens, A., Davies, J.A. (1993) Anticonvulsant effects of extracts of the West African black pepper, *Piper guineense*. *J. Ethnopharmacol.*, **39**, 113-117.
- Abraham, S., Cherian, V.D. (1978) Studies on cellular damage by extracts of betel leaves used for chewing. *Cytologia*, **43**, 203.
- Abraham, Z., Bhakuni, S.D., Garg, H.S., Goel, A.K., Mehrotra, B.N., Patnaik, G.K., (1986) Screening of Indian plants for biological activity. Part XII. *Indian J. Exp. Biol.*, **24**, 48-68.
- Abraham, S., John, A.T. (1989) Clastogenic effects produced by *Black pepper* in mitotic cells of *Vicia faba*. *Mutat Res*, **224**, 281-285.
- Achenbach, H., Calle, A.J., Maussa, D. D., Poveda, C.N. (1984) Phytochemical study on *Piper aduncum* L. *Rev. Mex. Cienc. Farm.*, **14**, 2-3.
- Adhikary, P., Banerji, J., Chowdhury, D., Das, A.K., Deb, C.C., Mukherjee, S.R., Chatterjee, A. (1989) Antifertility effect of *Piper betle* Linn. extract on ovary and testis of albino rats. *India J. Exp Biol.*, **27**, 868-870.
- Agarez, F.V., Pereira, C., Rizzino, C.M. (1994) Botânica Angiospermae. 2. ed. Rio de Janeiro: Ed. Âmbito Cultural, 242p.
- Agrawal, P.K., Bansal, M.C., Porter, L.J., Foo, L.Y. (1989) *Em Carbon-13 NMR of Flavonoids-Studies in Organic Chemistry*. Elsevier Science Publishers: Amsterdam, **39**, 201p.
- Agrawal, A.K., Tripathi, D.M., Sahai, R., Gupta, N., Saxena, R.P., Puri, A., Singh, M., Misra, R.N., Dubey, C.B., Saxena, K.C., (1997) Management of giardiasis by a herbal drug 'pippali rasayana': a clinical study. *J. Ethnopharmacol.*, **56**, 233-236.
- Agrawal, A.K., Rao, C.V., Sairam, K., Joshi, V.K., Goel, R.K. (2000) Effect of *Piper longum* Linn, *Zingiber officinalis* Linn and *Ferule species* on gastric ulceration and secretion in rats. *Indian J. Exp. Biol.*, **38**, 994-998.
- Ahmad, F.B., Holdsworth, D.K. (1994) Medicinal plants of Sabah, Malaysia, Part II. The *Muruts*. *Int. J. Pharmacog.*, **32**, 378-383.
- Ahmad, I., Aqil, F. (2007) In vitro efficacy of bioactive extracts of 15 medicinal plants against ES β L-producing multidrug-resistant enteric bacteria. *Microbiological Research*, **38**, 717-719.
- Akah, P.A., Gamaniel, K.S., Samson, A., Wambebe, C.O. (1997) Evaluation of Nigerian traditional Medicine: effects of *gakani*, a herbal anti-asthmatic drug. *J. Ethnopharmacol.*, **55**, 87-92.
- Akendengue, B. (1992) Medicinal plants used by the Fang traditional Healers in Equatorial Guinea. *J. Ethnopharmacol.*, **37**, 165-173.

Akendengue, B., Louis, A.M. (1994) Medicinal plants used by the Masango people in Gabon.

J. Ethnopharmacol., **41**, 193-200.

Alam, M.M., Siddiqui, M.B., Husain, W. (1990) Treatment of diabetes through herbal drugs in rural India. *Fitoterapia*, **61**, 240-242.

Alam, M.K. (1992) Medical ethnobotany of the Marma Tribe of Bangladesh. *Econ. Bot.*, **46**, 330-335.

Albiero, A.L.M., Souza, L.A., Mourão, K.S.M., Almeida, O.J.G., Lopes, W.A.L. (2005) Morfo-anatomia do caule e da folha de *Piper gaudichaudianum* Kuntze (Piperaceae). *Acta Farm. Bonaerense*, **24**, 550-554.

Alkofahi, A., Rupprecht, J.K., Anderson, J.E. McLaughlin, J.L., Mikolajczak, K. L., Scott, B.A. (1989) Search for new pesticides from higher plants. In: J.T. Arnason, B.J.R. Philogene, P. Morand (eds.). *Insecticides of plant origin*. Washington: Amer. Chem. Soc., 25-43p.

Alkofahi, A., Atta, A.H. (1999) Pharmacological screening of the anti-ulcerogenic effects of some Jordanian medicinal plants in rats. *J. Ethnopharmacol.*, **67**, 341-345.

Ali, S.M., Mehta, R.K. (1970) Preliminary pharmacological and anthelmintic studies of the essential oil of *Piper betle*. *Indian J Pharmacy*, **32**, 132-133.

Ali, M.A., Mikage, M., Kiuchi, F., Tsuda, Y., Kondo, K., (1991) Screening of crude drugs used in Bangladesh for nematocidal activity on the larva of *Toxocara canis*. *Hoyakugaku Zasshi*, **45**, 206-214.

Aligiannis, N., Kalpoutzakis, E., Mitaku, S., Chinou, I. B. (2001) Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species. *J. Agr. Food Chem.*, **49**, 4168-4170.

Alves, T.M.A., Silva, A.F. M.B., Grandi, T.S.M., Smânia, E.F.A., Smânia Júnior, A., Zani, C. L. (2000) Biological Screening of Brazilian Medicinal Plants. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, **95**, 367-373.

Amico, A. (1972) *Piante medicinali*. Bari, Italy: Adriantica Editrice, 93p.

Ampofo, O. (1977) Plants that Heal. *World Health*, **1**, 26-30

Amorim, G.Z., Flores, C.A., Gomes, B.E., Marques, A.D., Cordeiro, R.S.B., (1988) Screening for antimalarial activity in the genus *Pothomorphe*. *J. Ethnopharmacol.*, **24**, 101-106.

Anderson, E.F. (1986) Ethnobotany of hill tribes of northern Thailand. II. Lahu medicinal plants. *Econ. Bot.*, **40**, 442-450.

Anderson, J.E., Goetz, C.M., McLaughlin, J.L., Suffness, M. (1991) A blind comparison of simple bench-top bioassays and human tumour cell cytotoxicities as antitumor prescreens. . *Phytochem. Analysis*, **2**, 107-111

Andrade, K.K., Kone, M., Terreaux, C., Traore, D., Hostettmann, K., Dosso, M. (2004) Evaluation of the antimicrobial potential of medicinal plants from the Ivory Coast. *Phytother. Res.*, **16**, 497–502.

Andreazza, R.C.S. (2000) Análise botânica, química e microbiológica de *Salviaaliciae* EP. Santos, *S. lachnostachys* Benth, *S. microphylla* Kunth, *S. officinalis* L (Lamiaceae). Curitiba: *Dissertação* (Mestrado em Botânica), Universidade Federal do Paraná, 127p.

Anis, M., Iqbal, M. (1986) Antipyretic utility of some Indian plants in traditional medicine. *Fitoterapia*, **57**, 52-55.

Annamalai, A.R., Navalani, R. (1990) Effects of 'trikatu' and its individual components and piperine on gastro intestinal tracts:trikatu-a bioavailable enhancer. *Indian Drugs*, **27**, 595-604

Anon. (1931) *The herbalist*. Indian: Hammond Book Company, 400pp.

Anon. (1976) Unpublished data nacional cancer. *Nat. Cancer Central Files*, USA.

Anon. (1978) Antifertility studies on plants. *Indian Counc. Med.*, 63-64.

Apisariyakul, A. (1984a) Investigation of fractions isolated from thai medicinal plants affecting on isolated rat ileum. *Abstr. 10th Conference of Science and Technology Thailand*, 450-451.

Apisariyakul, A., Anantasarn, V (1984b) A pharmacological study of the thai medical plants used as cathartics and antispasmodics. *Abstr. 10th Conference of Science and Technology Thailand*, 452-453.

Araujo, C.F.R., Filho, Z.A.S., Greca, F.H., Guerreiro, M.H.C.P.M., Leite, A.L., Mansur, A.E. C., Kantor, D.C., Nassif, A.E. (1998) Efeitos do Agarol e do Triacilglicerol sobre a cicatrização de pele. Estudo experimental em ratos. *Acta Cir. Bras.*, **13**, 1-11.

Araújo, T., Schachner, L. (2006) Erupções vesicopustulosas benignas no neonato. *An. Bras. Dermatol.*, **4**, 359-366.

Araújo, M., Vieira, I.J.C., Braz-Filho, R., Mathias, L. (2007) Estudo Fitoquímico do Extrato Hexânico da Madeira de *Swartzia apetala* var. *glabra*. *Anais da 30ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química - Sociedade Brasileira de Química (SBQ)*, Aguas de Lindóia, São Paulo.

Arisawa, M. (1994) Cell growth inhibition of KB Cells by plant extracts. *Natural Med.* **48**, 338-347.

Arnou, P.M., Flaherty, J.P. (1996) Nonfermentative Gram-negative bacilli. In: C. Glenn Mayhall *Hospital Epidemiology and Infection Control*. Galvestone: Williams & Wilkins, 387p. 1996.

Arnold, H.J., Gulumian, M. (1984) Pharmacopoeia of traditional Medicine in Venda. *J. Ethnopharmacol.*, **12**, 35-74.

Arseculeratne, S.N., Gunatilaka, A.A.L., Panabokke, R.G. (1985) Studies on medicinal plants of Sri Lanka. Part 14: Toxicity of some traditional medicinal herbs. *J. Ethnopharmacol.*, **13**, 323-335.

Aruna, K., Sivaramakrishnan, V.M. (1992) Anticarcinogenic effects of some Indian plant products. *Food Chem. Toxicol.*, **30**, 953-956.

Asensi, M.D., Moraes, de B.A., Cravo, C.A.N., Loureiro, M.M. (2000) Epidemiological analysis of bacterial strains involved in hospital infection in a university hospital from Brazil. *Rev. Inst. Méd. Trop.*, **42**, 201-207.

Asprey, G.F., Thornton, P. (1955) Medicinal plants of Jamaica IV. *West Indian Med. J.*, **4**, 145-165.

Atal, C.K., Zutshi, U., Chandhoke, N. (1980) Role of trikatu-three acrids of ayurveda, in the enhancement of drug bioavailability. *Indian J. Pharmacol.*, **12**, 60.

Atique, A. Iqbal, M., House, A.K.M. (1985) Use of *Annona squamosa* and *Piper nigrum* against diabetes. *Fitoterapia*, **56**, 190-193.

Avella, E., Diaz, P.P., De Diaz, M.P. (1994) Constituents from *Piper divaricatum*. *Planta Med.*, **60**, 195.

Ayensu, E.S. (1978) *Medicinal plants of the West Indies*. Washington: Smithsonian Institution Office of Biological Conservat., 110p.

Azuine, M.A., Amonkar, A.J., Bhide, S.V. (1991) Chemopreventive efficacy of *betel* leaf extract and its constituents on 7,12-dimethylbez(a) anthracene induced carcinogenesis and their effect on drug de toxification system in mouse skin. *Indian J. Exp. Biol.* **29**, 346-351.

Azuine, M.A., Bhide, S.V. (1992) Protective single/combined treatment with *betel* leaf and turmeric against methyl (acetoxymethyl) nitrosamine-induced hamster oral carcinogenesis. *Int. J. Cancer*, **51**, 412-415.

Baba-Moussa, F., Akpagana, K., Bouchet, P. (1999) Antifungal activities of seven West African Combretaceae used in traditional medicine. *Ethnopharmacol.*, **66**, 335-338.

Babu, P.S., Srinivasan, K. (1993) Influence of dietary spices on adrenal steroidogenesis in rats. *Nutr. Res.*, **13**, 435-444.

Basu, M.N. (1939) Bunas of Bengal. *J. Dept. Lett. Calcutta Univ.*, **32**, 44.

Backhauss, C., Krieglstein, J. (1992) Neuroprotective activity of kava extract (*Piper methysticum*) and its methysticin constituents in vivo and in vitro. *Pharmacol. Cereb. Ischemia*, **4**, 501-507.

Backhauss, C., Krieglstein, J. (1995) Extract of kava (*Piper methysticum*) and its methysticin constituents protect brain tissue against ischemic damage in rodents. *Eur. J. Pharmacol.*, **215**, 265-269.

Bagwe, A.N., Ganu, U.K., Gokhale, S.V., Bhisey, R.A. (1990) Evaluation of the mutagenicity of 'Pan Masala'. A chewing substitute widely used in India. *Mutat. Res.*, **241**, 349-354.

Bajpai, A., Ojha, J.K., Sant, H.R. (1995) Medicobotany of the Varanasi District. *Int. J. Pharmacog.*, **33**, 172-176.

Banerjee, S.P., Dandiya, P.C., (1967) Studies on indigenous drugs used in uterine disorders. pharmacological actions of the extract of the fruits of *Piper aurantiacum* and an attempt for the identification of its oxytocic principles. *Indian J. Physiol. Pharmacol.*, **11**, 139-146.

Banerji, J., Dhara, K.P. (1974) Lignan and amides from *Piper sylvaticum*. *Phytochemistry*, **13**, 2327.

Banerji, A., Das, R.M. (1977) Constituents of *Piper sylvaticum*. *Indian J. Chem.*, **15b**, 495.

Bao, Z.T., Wu, E. (1992) Effects of unsaponifiable matter of the Piper longum oil on cholesterol biosynthesis in experimental hypercholesterolemic mice. *Chung Ts'ao Yao*, **23**, 197-199.

Bara, M.T.F., Vanetti, M.C.D. (1995) Antimicrobial effect of spices on the growth of *Yersinia enterocolitica*. *J. Herbs Spices Med. Plants*, **3**, 51-58.

Barakat, A.A., Fahmy, H.S.M., Kandil, M.A., Ebrahim, N.M.M. (1985) Toxicity of the extracts of black pepper, cumin, fennel, chamomile and lupin against *Drosophila melanogaster*, *Ceratitis capitata* and *Spodoptera littoralis*. *Indian J. Agr. Sci.*, **55**, 116-120.

Barrett, B. (1994) Medicinal plants of Nicaragua's Atlantic Coast. *Econ. Bot.*, **48**, 8-20.

Bauer A.W., Kirby, E., Sherris E.M., Turk M. (1966) Antibiotic by standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*, **45**, 493-496.

Baum, S.S., Hill, R., Rommelspacher, H. (1998) Effect of kava extract and individual kavapyrones on neurotransmitter levels in the nucleus accumbens of rats. *Prog. Neuro Psychopharmacol Biol. Psychiat.*, **22**, 1105-1120.

Bellakhdar, J., Claisse, R. Fleurentin, J., Younos, C. (1991) Repertory of standard herbal drugs in the Moroccan pharmacopoea. *J. Ethnopharmacol.*, **35**, 123-143.

Belkin, M., Fitzgerald, D.B., Felix, M.D., (1952) Tumor-damaging capacity of plant materials II. Plants used as diuretics. *J. Nat Cancer Inst.*, **13**, 741-744.

Benítez, N.P., Valois, H. (2004) Ethnobotany of four black communities of the municipality of Quibdo, Choco-Colombia. *Lyonia*, **7**, 62-69.

Bhakuni, D.S., Dhar, M.L., Dhar, M.M., Dhawan, B.N., Gupta, B., Srimali, R.C. (1971) Screening of Indian plants for biological activity. Part III. *Indian J. Exp. Biol.*, **9**, 91.

Bhakuni, D.S., Goel, A.K., Jain, S., Mehrotra, B.N., Patnaik, G.K., Prakash, V. (1988) Screening of Indian plants for biological activity: Part XIII. *Indian J. Exp. Biol.*, **26**, 883-904

Bhat, R.B., Eterjere, E.O., Oladipo, V.T. (1990) Ethnobotanical studies from Central Nigeria. *Econ. Bot.*, **44**, 382-390.

Bhate, H., Gerster, G., Gracza, E. (1989) Orale pramedikation mit zubereitungen aus *Piper methysticum* bei opeativen eingriffen in epiduralanasthesie. *Erfahrungsheilkunde*, **6**, 339-345

Bhate, H., Gerster, G. (1992) Behandlung mit phytotransquilizern vor der narkose. *Therapeutikon*, **6**, 214-222.

Bhattarai, N.K. (1992) Folk anthelmintic drugs of central Nepal. *Int. J. Pharmacog.*, **30**, 145-150.

Bhide, S.V., Zariwala, M.B.A., Amonkar, A. J., Azuine, M.A. (1991) Chemopreventive efficacy of a *betal* leaf extract against benzo[a]pyrene-induced forestomach tumors in mice. *J. Ethnopharmacol.*, **34**, 207-213.

Bhide, S.V., Magnus, D., Azuine, A., Lahiri, M., Telang, N.T. (1994) Chemoprevention of mammary tumor virus-induced and chemical carcinogen-induced rodent mammary tumors by natural plant products. *Breast Cancer Res. Treat.*, **30**, 233-242.

BVS (Biblioteca Virtual em Saúde). Ministério da Saúde (MS). Disponível em URL: <http://www.bvsm.gov.br>. Acessado: em 03 de fevereiro de 2008.

Bioka, D., Abena, A. (1990) Psychopharmacological profile of *Piper umbellatum* aqueous extract. *L'Encephale*, **16**, 205-208.

Bisquerria, R. Sarriera, J.C., Martinez, F. (2004) *Introdução a Estatística: enfoque informático com o pacote estatístico SPSS*. Porto Alegre: Artmed, 253p.

Bisset, N.G., Mazars, G. (1984) Arrow poisons in South Asia part 1. Arrow poisons in Ancient India. *J. Ethnopharmacol.*, **12**, 1-24.

Boerner, R.J. (2001) Kava kava in the treatment of generalized anxiety disorder, simple phobia and specific social phobia. *Phytother. Res.*, **15**, 646-647.

Boerner, R.J., Sommer, H., Berger, W., Kuhn, U., Schmidt, U., Mannel, M. (2003) Kava-kava extract LI 150 is as effective as opipramol and buspirone in generalised anxiety disorder an 8-week randomized, double-blind multi-centre clinical trial in 129 out-patients. *Phytomedicine Suppl.*, **10**, 38-49.

Boerner, R.J., Klement, S. (2004) Attenuation of neuroleptic-induced extrapyramidal side effects by kava special extract WS 1490. *Wien Med. Wochenschr*, **154**, 508-510.

Bohlmann, F., Zdero, C., Ziesche, J. (1978) Neue flavone und phloroglucin-derivate aus *helichrysum herbaceum* und *helichrysum chrysargyrum*. *Phytochemistry*, **18**, 1375-1378.

Bouquet, A., Debray, M. (1974) Medicinal plants of the Ivory Coast. *Trav Doc Orstom*, **32**, 1.

- Braga, P.C., Alfieri, M., Culici, M., Dal Sasso, M. (2007) Inhibitory activity of thymol against the formation and viability of *Candida albicans* hyphae. *Mycoses*, **50**, 502-506.
- Brandão, M.G.L., Grandi, T.S.M., Rocha, E.M.M., Sawyer, D.R., Krettli, A.U. (1992) Survey of medicinal plants used as antimalarials in the Amazon. *J. Ethnopharmacol.*, **36**, 175-182.
- Brandão, G.C., Braga, F.C., Batista, R., Oliveira, A.B. (2002) Toxicidade em *Artemia salina* no extrato hidrometanólico e frações de *Wedelia paludosa* D.C. *Resumos da XI Semana de Iniciação Científica*. Universidade Federal de Minas Gerais. BH/MG.
- Braz-Filho, R., Vega, M.R.G., Vieira, I.J.C., Schripsema, J., Mathias, L. (2002) Constituintes químicos e avaliação do potencial antifúngico de *Swartzia apetala* Raddi. *Resumos do XVII Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil*. Cuiabá/MT. p. 34.
- Bresolin, T.M.B., Cechinel-Filho, V. (2003) *Ciências Farmacêuticas: contribuição ao desenvolvimento de novos fármacos e medicamentos*. Itajaí: Univali, 239p.
- Brooker, S.G., Cambie, R.C., Cooper, R.C. (1989) Economic native plants of New Zealand. *Econ. Bot.*, **43**, 79-106.
- Brito, N.M.B., Dias, C.S., Picanço junior, O.M., Dias, F.S., Silveira, E.L., Carvalho, R.A. (2001) Efeito da pentoxifilina na viabilidade de retalhos miocutâneos em camundongos. *Rev. Med. PUCRS*, **11**, 338-342.
- Browner, C.H. (1985) Plants used for reproductive health in Oaxaca, Mexico. *Econ. Bot.*, **39**, 482-504.
- Buckley, J.P., Furguele, A.R., O'hara, M.J. (1967) Pharmacology of kava. *Psychoactive Drugs*, **1645**, 141-151.
- Buisson, D., Quintin, J., Lewin, G. (2007) Biotransformation of polymethoxylated flavonoids: access to their 4'-*O*-Demethylated metabolites. *J. Nat. Prod.*, **70**, 1035-1038.
- Burkill, I.H. (1966) *Dictionary of the economic products of the Malay Peninsula*. Ministry of Agriculture and Cooperatives. Malaysia: Kuala Lumpur., v. II, 101p.
- Caceres, A., Giron, L.M., Alvarado, S.R., Torres, M.F. (1987) Screening of antimicrobial activity of plants popularly used in Guatemala for the treatment of dermatomucosal diseases. *J. Ethnopharmacol.*, **20**, 223-237.
- Caceres, A., Menendez, H., Mendez, E., Cohobon, E., Samayao, B.E., Jauregui, E., Peralta, E., Carrillo, G. (1995) Antigonorrhoeal activity of plants used in Guatemala for the treatment of sexually transmitted diseases. *J. Ethnopharmacol.*, **48**, 85-88.
- Caceres A., López B., González S., Berger I., Tada I., Maki J. (1998) Plants used in Guatemala for the treatment of protozoal infections. I. Screening of activity to bacteria, fungi and American trypanosomes of 13 native plants. *J. Ethnopharmacol.*, **62**, 195-202.

Cagnacci, A., Arangino, S., Renzi, A., Zanni, A.L., Malmusi, S., Volpe, A. (2003) Kava-kava administration reduces anxiety in perimenopausal women. *Maturitas*, **44**, 103-109.

Campos, M.P. Análise do potencial antimicrobiano de extrato, frações e substâncias puras obtidas de *Piper solmsianum* C.DC. (Piperaceae). (2006) Dissertação de Mestrado. Em Ciências Farmacêuticas. Universidade do Vale do Itajaí. Itajaí/SC.

Cândido, L. C. (2001) *Nova abordagem no tratamento de feridas*. São Paulo: Editora SENAC São Paulo, 282p.

Cantrell, C.L., Berhow, M.A., Phillips, B.S., Duval, S.M., Weisleder, D. Vaughn, S.F. (2003) Bioactive crude plant seed extracts from the NCAUR oilseed repository. *Phytomedicine*, **10**, 325-333.

Capasso, A., Sorrentino, L. (2005) Pharmacological studies on the sedative and hypnotic effect of kava kava and passiflora extracts combination. *Phytomedicine*, **12**, 39-45.

Carpinella, M. C., Herrero, G. G., Alonso, R. A., Palacios, S. M. (1999) Antifungal activity of *Melia azedarach* fruit extract. *Fitoterapia*, **70**, 296-298.

Cavallito, C.J., Bailey, J.H. (1944) Allicin, the principle of *Allium sativum*. Isolation, physical properties and antibacterial activity. *J. Am. Chem.*, **66**, 1950-1954.

Cawte, J. (1985) Psychoactive substances of the south seas: betel, kava and pituri. *Aust. N. Z.J. Psychiat.*, **19**, 83-87.

Centre for Medical Education. (1994) *El programa de las heridas*. Scotland.: The University of Dundee, 188p.

Chakma, T.K., Choudhuri, M.S.K., Jabbar, S., Khan, T.H., Alamgir, M., Gafur, M.A., Ahmed, K., Roy, B.K. (2001) Effect of some medicinal plants and plant parts used in ayurvedic system of medicine on isolated guinea-pig ileum preparations. *Hamdard Med.*, **44**, 70-73.

Chakravarti, H.S. (1961) Inhibition of alkaline phosphatase activity of the endometrium of rabbit by oral administration of indigenous contraceptive drugs. *J. Indian Med. Ass.*, **37**, 322-326.

Chakrabarti, R.N., Dutta, K., Ghosh, K., Sikdar, S. (1990) Uterine cervical dysplasia with reference to the betel quid chewing habit. *Eur. J. Gynaecol. Oncol.*, **11**, 57-59.

Chandhoke, N., Gupta, S., Dhar, S. (1978) Interceptive activity of various species of *Piper*, their natural amides and semi-synthetic analogs. *Indian J. Pharm. Sci.*, **40**, 113-116.

Chandrasekaran M., Venkatesalu V. (2004) Antibacterial and antifungal activity of *Syzygium jabolatum* seeds. *J. Ethnopharmacol.*, **91**, 105-108.

Chang, M.N., Han, G.Q., Arison, B.H., Springer, J.P., Hwang, S.B., Shen, T.Y. (1985) Neolignans from *Piper futokadsura*. *Phytochemistry*, **24**, 2079-2082.

Chanwitheesuk, A., Rakarlyatham, N., Teerawutgulrag, A., Wongchanaplboon, T. (2002) Screening of antioxidants from some Thai vegetables and herbs. *Chiang Mai. J. Sci.*, **29**, 1-5.

Chatterjee, A., Adhikarj, P., Banerjj, J., Choudhury, D., Jana, S., Gupta, A.S. (1994) Antifertility effect of *Piper betle* Linn. (Stalk) in adult male rats. *J. Indian Chem. Soc.*, **71**, 81-84.

Chavez, P.I., Sanchez, L.A., Gonzalez, F.A., Rodriguez, J.L., Axelrod, F. (1997) Cytotoxicity correlations of Puerto Rican plants using a simplified *Brine shrimp* lethality screening procedure. *Int. J. Pharmacog.*, **35**, 222-226.

Chauret, D.C., Bernard, C.B., Arnason, J.T., Durst, T., Krishnamurty, H.G., Sanchez-Vandas, P., Moreno, N., Roman, L.S., Poveda, L. (1996) Insecticidal neolignans from *Piper decurrens*. *J. Nat. Prod.*, **59**, 152-155.

Chen, K. (1981) Certain progress in the treatment of coronary heart disease with traditional medicinal plants in china. *Amer. J. Chinese Med.*, **9**, 193-196.

Chen, S.J., Wu, B.N., Yeh, J.L., Lo, Y.C., Chen, I.S., Chen, I.J. (1995) C-fiber-evoked autonomic cardiovascular effects after injection of *Piper betle* inflorescence extracts. *J. Ethnopharmacol.*, **45**, 183-188.

Chhajed, S., Baghel, M.S., Ravishankar, B., Singh, G. (1991) Evaluation of hepatoprotective effect of *Piper longum* (pippali) and *Withania somnifera* (ashvagandha) in hepatotoxicity induced by antitubercular drugs in mice. *J. Res. Edu. Ind. Med.*, **10**, 9-12.

Chiappeta, A.D.A., Francisco de Mello, J., Maciel, G.M. (1983) Higher plants with biological activity - plants of Pernambuco I. *Rev. Inst. Antibiot.*, **21**, 43-50.

Clifton, P. (2002) Plant sterol and stanols-comparison and contrasts. Sterols versus stanols in cholesterol-lowering: is there adifference? *Atherosclerosis Suplemments*, **3**, 5-9.

Chile, S.K., Vyas, K.M. (1984) Inhibitors of certain enzymes (of *Botryodiplodia theobromae*) in *Piper betle* leaf extracts. *Hindustan Antibiot. Bull.*, **26**, 27-32.

Chkhikvishvili, I.D., Gogiya, N.N. (1995) Flavonoids of mandarin fruit refuse and their fungistatic action on the fungus *Phoma tracheiphila*. *Microbiology*, **31**, 341-345.

Choi, E.M., Hwang, J.K. (2003) Investigations of anti-inflammatory and antinociceptive activities of *Piper cubeba*, *Physalis angulata* and *Rosa hybrida*. *J. Ethnopharmacol*, **89**, 171-175.

Choudhuri, D., Adhikary, P., Banerji, J., Jana, S., Chatterjee, A., Mukherjee, S.R. (1991) Pregnancy interceptive effect of *Piper betle*. *Fitoterapia*, **62**, 397-401.

Chuang, Ping-Hsien, Lee, Chi-Wei, Chou, Jia-Ying, Murugan, M., Shieh, Chen, Hueih-Min. (2007) Anti-fungal activity of crude extracts and essential oil of *Moringa oleifera* Lam. *Bioresource Techn.*, **98**, 232-236.

Clouatre, D.L. (2004) Kava kava: examining new reports of toxicity. *Toxicol. Lett.*, **150**, 85-96.

Cícero A.F., Minardi, M., Mirembe, S., Pedro, E., Gaddi, A. (2004) Effects of a new low dose soy protein/beta sitosterol association on plasma lipid levels and oxidation. *Eur. J. Nutr.*, **26**, 1-4.

Colégio Brasileiro de Experimentação Animal. (COBEA) (2000) Brasil. Brasília: Ministério da Ciência e Tecnologia, 18 p.

Coe, F.G., Anderson, G.J. (1996a) Ethnobotany of the *Garifuna* of Eastern Nicaragua. *Econ. Bot.*, **50**, 71-107.

Coe, F.G., Anderson, G.J. (1996b) Screening of medicinal plants used by the *Garifuna* of Eastern Nicaragua for bioactive compounds. *J. Ethnopharmacol.*, **53**, 29-50.

Comerford, S.C. (1996) Medicinal plants of two *Mayan healers* from San Andres, Peten, Guatemala. *Econ. Bot.*, **50**, 327-336.

Concon, J.M., Newburg, D.S., Swetczek, T.W. (1979) Black pepper (*Piper nigrum*): evidence of carcinogenicity. *Nutr. Cancer*, **1**, 22-26.

Conegero, L.S., Ide, R.M., Nazari, A.S., Sarragiotto, M.H., Dias Filho, B.P., Nakamura, C. V., Carvalho, J.E., Foglio, M.A. (2003) Constituintes químicos de *Alchornea glandulosa* (Euphorbiaceae). *Quím. Nova*, **26**, 825-827.

Connolly, J.D., Deans, R., Haque, M.E. (1995) Constituents of *Piper chaba*. *Fitoterapia*, **66**, 188.

Connor, K.M., Davidson, J.R.T., Churchill, L.E. (2001) Adverse-effect profile of kava. *CNS Spectrums*, **6**, 848-853.

Corrêa, M. P. (1931) *Dicionário das Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas*, Brasil: Imprensa Nacional, Ministério da Agricultura, IBDF, v. IV, 734p.

Cosminsky, S. (1982) Knowledge of body concepts of Guatemalan wives. *Anthropology of human birth*, **12**, 233-252.

Costa, M., Di Stasi, L.C., Kirizawa, M., Mendacolli, S.L.J., Gomes, C., Trolin, G. (1989) Screening in mice of some medicinal plants used for analgesic purposes in the state of São Paulo. *J. Ethnopharmacol.*, **27**, 25-33.

Costatin, M.B., Sartorelli, P., Limberger, R., Henriques, .AT., Steppe, M., Ferreira, M.J., Ohara, M.T., Emerenciano, V.P. Kato, M.J. (2001) Essential oils from *Piper cernuum* and *Piper regnellii*: antimicrobial activities and analysis by GC/MS and ¹³C-NMR. *Planta Med.* **67**, 771-773.

Cox, P.A., Sperry, L.B., Tuominen, M., Bohlin, L. (1989) Pharmacological activity of the Samoan ethnopharmacopoeia. *Econ. Bot.*, **43**, 487-497.

Crocco, E.I., Lycia Mímica, M. J., Muramatu, L.H., Garcia, C., Souza, V.M., Ruiz, L.R.B.,

Zaitz, C. (2004) Identificação de espécies de *Candida* e susceptibilidade antifúngica *in vitro*: estudo de 100 pacientes com candidíases superficiais. *An. Bras. Dermatol.*, **79**, 689-697.

Cuadra, P., Furrianca, M., Oyarzún, A., Yáñez, E., Gallardo, A., Fajardo, V. (2005) Biological activity of some Patagonian plants. *Fitoterapia*, **76**, 718-721.

Cunico, M.M., Dias, J.G., Miguel, M.D., Miguel, O.G. (2006) Potencial antimicrobiano e alelopático das amidas isoladas do extrato das raízes de *Ottonia martiniana* Miq. *Quím. Nova*, **29**, 746-749.

Czajka, P., Pharm, D., Field, J., Novak, P. Kunnecke, J. (1978) Accidental aphrodisiac ingestion. *J. Tenn. Med. Ass.*, **71**, 747.

Dabral, P.K., Sharma, R.K. (1983) Evaluation of the role of Rumalaya and Geriforte in chronic arthritis-a preliminary study. *Probe*, **22**, 120-127.

D'Angelo, L.C.A., Zavier, H.S., Torres, L.M.B., Lapa, A.J., Souccar, C. (1997) Pharmacology of *Piper marginatum* Jacq. a folk medicinal plant used as an analgesic, antiinflammatory and hemostatic. *Phytomedicine*, **4**, 33-40.

D'Cruz, J.L., Nimbkar, A.Y., Kokate, C.K. (1980) Evaluation of fruits of *Piper longum* Linn. and leaves of *Adhatoda vasica* Nees for anthelmintic activity. *Indian Drugs*, **17**, 99-101.

Dahanukar, S.A., Karandikar, S.M. (1984a) Evaluation of antiallergic activity of *Piper longum*. *Indian Drugs*, **21**, 377-303.

Dahanukar, S.A., Karandikar, S.M. (1984b) Evaluation of antiallergic activity of *Piper longum*. *Indian Drugs*, **21**, 377-383.

Dahanukar, S.A., Karandikar, S.M., Desai, M. (1984c) Efficacy of *Piper longum* in childhood asthma. *Indian Drugs*, **21**, 384-388.

Dangol, D.R., Gurung, S.B. (1991) Ethnobotany of the Tharu Tribe of Chitwan District, Nepal. *Int. J. Pharmacog.*, **29**, 203-209.

Das, B., Kashinatham, A., Srinivas, K.V.N.S. (1996) Alkamides and other constituents of *Piper longum*. *Planta Med.*, **62**, 582.

Da Silveira, J.C., Gottliebe, O.T., De Oliveira, G.G. (1975) Zeyherol, a dilignol from *Zeyhera digitalis*. *Phytochemistry*, **14**, 1829-1830.

Das, P.C. (1976) Oral Contraceptive (long-acting). *PATENT-BRIT-1.025.372.445*.

Das, P.C., Sarkar, A.K., Thakur, S. (1987) Studies on animals of a herbo-mineral compound for long acting contraception. *Fitoterapia*, **58**, 257-261.

Davies, L.P., Drew, C.A., Duffield, P., Johnston, G.A.R., Jamieson, D.D. (1992) Kava pyrones and resin: studies on Gaba a, Gaba B, and benzodiazepine binding sites in rodent brain. *Pharmacol Toxicol.*, **71**, 120-126.

David, J.P., Silva, E.F., Moura, Daniel, L., Guedes, M.L.S., Assunção, R.J., Jorge M., David, J. (2001) Lignanas e triterpenos do extrato citotóxico de *Eriope blanchetii*. *Quím. Nova*, **24**, 730-733.

Davis, E.W., Yost, J.A. (1983) The ethnomedicine of the Waorani of Amazonian Ecuador. *J. Ethnopharmacol.*, **9**, 273-297.

Dealey, C. (2001) *Cuidando de feridas: um guia para as enfermeiras*. São Paulo: Atheneu, 255p.

De Blasi, V., Debrot, S., Menoud, P.A., Gendre, L., Schowing, J. (1990) Amoebicidal effect of essential oils in vitro. *J. Toxicol. Clin. Exp.*, **10**, 361-373.

Déciga-Campos, M., Rivero-Cruz, I., Arriaga-Alba, M., Castañeda-Corral, Angeles-López, G., G. E., Navarrete, A., Mata, R. (2007) Acute toxicity and mutagenic activity of Mexican plants used in traditional medicine. *J. Ethnopharmacol.*, **110**, 334-342.

Declair, V. (1994). Efeitos das triglicérides de cadeia média na aceleração do processo de cicatrização de feridas. *Nutrição Enteral e Esportiva*, **5**, 4-8.

Deka, L., Majumdar, R., Dutta, A.M. (1983) Some ayurvedic important plants from District Kamrup (Assam). *Ancient Sci. Life*, **3**, 108-115.

Della Greca, M., Monaco, P., Previtera, L. (1990) Stigmasterols from *Tyfia latifolia*. *J. Natural Products*, **53**, 1430-1435.

De Araújo-Júnior, J.X., Da-Cunha, E.V.L., De O. Chaves, M.C., Gray A.I. (1997) Piperdardine, a piperidine alkaloid from *Piper tuberculatum*. *Phytochemistry*, **44**, 559-561.

De Araújo-Júnior, J.X., Chaves, M.C., Da-Cunha, E.V.L., De O. Chaves, M.C., Gray A.I. (1999) Cepharanone B from *Piper tuberculatum*. *Biochem. Syst. Ecol.*, **27**, 325-327.

De Las Heras, B., Slowing, K., Benedi, J., Carretero, E., Ortega, T., Toledo, C., Bermejo, P., Iglesias, I., Abad, M.J., Gomez-Serranillos, P., Liso, P.A., Villar, A., Chiriboga, X. (1998) Antiinflammatory and antioxidant activity of plants used in traditional medicine in Ecuador. *J. Ethnopharmacol.*, **61**, 161-166.

De Leo, V., LA Marca, A., Lanzetta, D., Pallazs, S., Torricelli, M., Facchini, C., Morgante, G. (2000) Action of the association of kava-kava extract and hormone replacement therapy in the treatment of anxiety in postmenopause. *Minerva Ginecol.*, **52**, 263-267.

De Leo, V., LA Marca, A., Morgante, G., Lanzetta, D., Florio, P., Petraglia, F. (2001) Evaluation of combining kava extract with hormone replacement therapy in the treatment of postmenopausal anxiety. *Maturitas*, **39**, 185-188.

Delgado, A.W., Auvella, M.E., DE Diaz, A.M.P. (1998) Benzylisoquinoline alkaloids from the stem of *Piper augustum* Rudge. *Rev. Colomb. Quím.*, **27**, 13-21.

Dennis, P.A. (1988) Herbal medicine among the miskito of Eastern Nicaragua. *Econ. Bot.*, **42**, 16-28.

Desmarchelier, C., Gurni, A., Ciccía, G., Giulietti, A.M. (1996a) Ritual and medicinal plants of the ese'ejás of the Amazonian Rainforest (Madre de Dios, Peru). *J. Ethnopharmacol.*, **52**, 45-51.

Desmarchelier, C., Mongelli, E., Coussio, J., Ciccía, G. (1996b) Studies on the cytotoxicity, antimicrobial and dna-binding activities of plants used by the ese'ejás. *J. Ethnopharmacol.*, **50**, 91-96.

Desmarchelier, C., Repetto, M., Coussio, J., Llesuy, S., Ciccía, G. (1997a) Antioxidant potential (TRAP) and total antioxidant reactivity (TAR) of medicinal plants used in southwest Amazona (Bolivia and Peru). *Int. J. Pharmacog.*, **35**, 288-296.

Desmarchelier, C., Barros, S., Repetto, M., Latorre, L.R., Kato, M., Coussio, J., Ciccía, G. (1997b) 4-nerolidylactechol from *Pothomorphe* spp. scavenges peroxy radicals and inhibits FE (II)-dependent DNA damage. *Planta Med.*, **63**, 561-563.

Dhar, M.L., Dhar, M.M., Dhawan, B.N., Mehrotra, B.N., Ray, C. (1968) Screening of indian plants for biological activity: part I. *Indian J. Exo. Biol.*, **6**, 232-247.

Dhote, S., Devi, P.U., Pathak, A.K., Goswami, R.B. (2007) Studies on anti-genotoxic effect of piper betle leaves. *J. Nat. Remedies*, **7**, 247-25.

Di Carlo, F.J., Haynes, L.J., Sliver, N.J. Phillips, G.E. (1964) Reticuloendothelial system stimulants of botanical origin. *J. Reticuloendothelial Soc.*, **1**, 224.

Diddiqui, M.B., Husain, W. (1993) Traditional treatment of gonorrhoea through herbal drugs in the Province of Central Uttar Pradesh, India. *Fitoterapia*, **64**, 399-403.

Dimayuga, R.E., Virgen, M., Ochoa, N. (1998) Antimicrobial activity of medicinal plants rom baja California Sur (Mexico). *Pharmaceutical. Biol.*, **36**, 33-43.

Dinh, L.D., Simmen, U., Bueter, K.B., Bueter, B., Lundstrom, K., Schaffner, W. (2001) Interaction of various *Piper methysticum* cultivars with CNS receptors in vitro. *Planta Med.*, **67**, 306-311.

Dixit, R.S., Pandey, H.C. (1984) Plants used as folk-medicine in Jhansi and Lalitpur sections of Bundelkhand, Uttar Pradesh. *Int. J. Crude Drug Res.*, **22**, 47-51.

Dolabela, M.E. (1987) Triagem *in vitro* para atividade antitumoral e anti *T. cruzi* de extratos vegetais, produtos naturais e substâncias sintéticas. *Dissertação de Mestrado*. Faculdade de Farmácia - Universidade Federal de Minas Gerais. BH/MG, 198p.

Domingo, D., López-Brea, M. (2003) Plantas com acción antimicrobiana. *Rev. Esp. Quimioterap.*, **16**, 385-393.

Dominguez, X.A., Alcorn, J.B. (1985) Screening of medicinal plants used by Huastec Mayans of Northeastern Mexico. *J. Ethnopharmacol.*, **13**, 139-156.

Dominguez, X.A., Verde, J., Sugar, S., Trevino, R. (1986) Two amides from *Piper amalago*. *Phytochemistry*, **25**, 239-240.

- Dragendorff, G. (1898) *Die heilpflanzen der verschiedenen volker und zeiten*. Stuttgart: F. Enke, 885p.
- Dreyfus, M. M.; Chapela, I. H., Gullo, V. P (1994) *The Discovery of Natural Products with Therapeutic Potential*. Butterworth-Heinemann: Boston, 49p.
- Duarte Weinberg, L.M., Gottlieb, O.R., Oliveira, G.G. (1976) Chemistry of Brazilian Bignoniaceae. Part 2. Naphthoquinones from *Zeyhera tuberculosa*. *Phytochemistry*, **15**, 570.
- Duffield, P.H., Jamieson, D.D., Duffield, A.M. (1989) Effect of aqueous and lipid-soluble extracts of kava on the conditioned avoidance response in rats. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.*, **301**, 81-90.
- Duh, C.Y., Wu, Y.C., Wang, S.K. (1990a) Cytotoxic pyridone alkaloids from *Piper aborescens*. *Phytochemistry*, **29**, 2689-2691.
- Duh, C.Y., Wu, Y.C., Wang, S.K. (1990b) Cytotoxic alkaloids from the leaves *Piper aborescens*. *Phytochemistry*, **53**, 1575-1577.
- Duke, J.A. (1994) *Amazonian ethnobotanical dictionary*. USA: 181p.
- Dunstan, C.A., Noreen, Y., Serrano, G., Cox, P.A., Perera, P., Bohlin, L. (1997) Evaluation of some samoan and peruvian medicinal plants by prostaglandin biosynthesis and rat ear oedema assays. *J. Ethnopharmacol.*, **57**, 35-56.
- Dwuma-badu, D., Ayim, J.S.K., Dabra, T.T., El Sohly, H.N., Knapp, J.E., Slatkin, D.J., Schiff Jr., P.L. (1975) Constituents of West African medicinal plants. Parte IX. Dihydrocubebin, a new lignan from *Piper guineense*. *Lloydia*, **38**, 343.
- Dwuma-badu, D., Ayim, J.S.K., Dabra, T.T., El Sohly, H.N., Knapp, J.E., Slatkin, D.J., Schiff Jr., P.L. (1976) Constituents of West African medicinal plants. Part. XIII. Delta-alpha beta-dihydropiperlonguminine, a new amide from *Piper guineense*. *Phytochemistry*, **15**, 822-823.
- Dyer, L.A., Dodson C.D., Stireman. J.O., Tobler, M.A., Smilanich, A.M., Fincher, R.M., Letourneau, D.K. (2003) Synergistic effects of three *Piper* amides on generalist and specialist herbivores. *J. Chem. Ecol.*, **29**, 2499-2514.
- Dyer, L.A., Richards, J., Dodson, C.D. (2004) Isolation, synthesis and evolutionary ecology of *Piper* amides. In: *Piper: a model genus for studies of phytochemistry, ecology and evolution*. USA: Klumer Academic/Plenum publishers, 405p.
- Eisen, M.J. (1946) Betel chewing among natives of the southwest pacific Islands. *Cancer Res.*, **6**, 139-141.
- El Hamss, R., Idaomar, M., Alonso Moraga, A., Serrano, A.M. (2003) Antimutagenic properties of bell and Black peppers. *Food Cosmet. Toxicol.*, **41**, 41-47.
- Elisabetsky, E., Figueiredo, W., oliveria,g (1992) Traditional amazonian nerve tonics as antidepressant agents: chaunochiton kappleri: a case study. *J. Herbs Spices Med. Plants*, **1**, 125-162.

Ellis, M.D.; Baxendale, F.P. (1997) Toxicity of seven monoterpenoids to tracheal mites (*Acari*: Tarsonemidae) and their honey bee (*Hymenoptera*: Apidae) hosts when applied as fumigants. *J. Economic Entomology*, **90**, 1087-1091.

El-Mofty, .M.M., Soliman, A.A., Abdel-Gawad, A.F. Sakr, S.A., Shwaireb, M.H. (1988) Carcinogenicity testing of black pepper (*Piper nigrum*) using the egyptian toad (*Bufo regularis*) as a quick biological test animal. *Oncology*, **45**, 247-252.

El-Mofty, .M.M., Khudoley, V.V., ,Shwireb, M.H. A.A., Abdel-Gawad, A.F. Sakr, S.A., Shwaireb, M.H. (1991) carcinogenic effect of force-feeding an extract of black pepper (*Piper nigrum*) in egyptian toads (*Bufo regularis*). *Oncology*, **48**, 347-350.

Ernest, E. (2002) Safety concerns about Kava. *Lancet*, **359**, 1865-1865.

Escher, M., Desmeules, J., Giostra, E., Mentha, G. (2001) Hepatitis associated with kava, a herbal remedy for anxiety. *Brit. Med. J.* **322**, 139.

Esmerino, L.A., Pereira, A.V., Adamowicz, T., Borges, D.M., Talacimon,E.A., Schelesky, M.E. (2004) Método microbiológico para determinação da potência de antimicrobianos. *Biol. Health Sci.*, **10**, 53-60.

Etkin, N.L. (1997) Antimalarial plants used by Hausa in Northern Nigeria. *Trop. Doctor*, **27**, 12-16.

Evans, P.H., Bowers, W.S., Funk, E.J. (1984) Identification of fungicidal and nematocidal components in the leaves of *Piper betle* (Piperaceae). *J. Agr. Food Chem.*, **32**, 1254-1256.

Ewald P.W. (2002) *Plague time: The new germ theory of disease*. 2. ed. New York: Anchor Books. 215p.

Eyong, K. O., Folefoc, G. N., Kuete, V., Beng, V. P., Krohn, K., Hussain, H., Nkengfack, A. E., Saefel, M., Sarite, S. R., Hoerauf, A. (2006) Newbouldiaquinone A: a naphthoquinone-anthraquinone ether coupled pigment, as a potential antimicrobial and antimalarial agent from *Newbouldia laevis*. *Phytochemistry*, **67**, 605-609.

Farkas, E., Schubert, R., Zelko, R. (2004) Effect of beta-sitosterol on the characteristics of vesicular gels containg chlorhexidine. *Int. J. Pharm.*, **278**, 63-70.

Favero, N., Gomes, E.L.R., Nakao, J.R.S., Evora, Y.D.M. (1977) Estudo do Grau de infecção em feridas no pós-operatório em Instituições Hospitalares de São Paulo. *Revista Paulista de Enfermagem*, **33**, 179-182.

Feng, P.C., Haynes, L.J., Magnus, K.E., Plimmer, J.R., Sherrat, H.S.A. (1962) Pharmacological screening of some West Indian medicinal plants. *J. Pharm Pharmacol.*, **14**, 556-561.

Feltenstein, M.W., Lambdin, L.C., Ganzera, M., Dharmaratne, H.R.W., Nanayakkara, N.P.D., Khan, I.A., Sufka, K.J. (2003) Anxiolytic properties of *Piper methysticum* extract samples and fractions in the chick social-separation-stress procedure. *Phytother. Res.*, **17**, 210-216.

Fennell, C.W., Lindsey, K.L., McGraw, L.J., Sparg, S.G., Stafford, G.I., Elgorashi E.E., Grace, M., Staden, J. Van. (2004) Assessing African medicinal plants for efficacy and safety: pharmacological screening and toxicology. *J. Ethnopharmacol.*, **95**, 113-121.

Fernandes, A.T., Fernandes, M.A.V., Ribeiro, N.F. (2000) *Infecção hospitalar e sua interface na área da saúde*. Rio de Janeiro: Atheneu, 152p.

Fernandez, O; Capdevila, J. Z.; Dalla, G. and Melchor, G. (2002). Efficacy of *Rhizophora mangle*. Aqueous bark extract in the healing of open surgical wounds. *Fitoterapia*, **73**, 564-568.

Feroz, H., Khare, A.K., Srivastava, M.C. (1982) Review of scientific studies on anthelmintics from plants. *J. Sci. Res. Pl. Med.*, **3**, 6-12.

Ferraz, E.M. (1990) *Infecção da ferida na cirurgia do aparelho digestivo*. Pernambuco. 154fl. Tese de concurso público para preenchimento do cargo de Prof. Titular da Disciplina de Cirurgia Abdominal do Departamento de Cirurgia do Centro de Ciências da Saúde Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

Ferreira, D.T., Silva, R.B., Oliveira, A.B., Isobe, M., Braz-Filho, R. (1995) Dipeptide from the roots of *Zeyheria digitalis*. *J. Braz. Chemical Society*, **6**, 323-326.

Finney, D.J. *Probit Analyses*. Cambridge: Cambridge University Press, 1972

Fleurentin, J., Pelt, J.M. (1982) Repertory of drugs and medicinal plants of Yemen. *J. Ethnopharmacol.*, **6**, 85-108.

Flint, M. (1982) Lockmi: an Indian Midwife. *Anthropology of human birth*, **1**, 211-219.

Foglio, M.A., Queiroga, C.L., Sousa, I.M.O., Rodrigues, R.A.F. (2006) Plantas medicinais como fonte de recursos terapêuticos: um modelo multidisciplinar. *MultiCiência*, **7**, 1-8.

Fong, H.H.S., Farnsworth, N.R., Henry, L.K., Svoboda, G.H., Yates, M.J. (1972) Biological and phytochemical evaluation of plants. X. test results from a third two-hundred accessions. *Lloydia*, **35**, 35-48.

Forgo, P., Kövér, K.E. (2004) Gradient enhanced selective experiments in the ¹H NMR chemical shift assignment of the skeleton and side-chain resonances of stigmasterol, a phytosterol derivative. *Steroids*, **69**, 43-50.

Fournet, A., Barrios, A.A., Munoz, V. (1994) Leishmanicidal and trypanocidal activities of bolivian medicinal plants. *J. Ethnopharmacol.*, **41**, 19-37.

Frater, A.S. (1958) Medical aspects of Yaqona. *Trans. Proc. Fiji Society*, **5**, 31-39.

Freixa, B., Vila, R., Vargas, L., Lozano, N., Adzet, T., Canigüeral, S. (1998) Screening for antifungal activity of nineteen Latin American plants. *Phytother. Res.*, **12**, 427-430.

Frischkorn, C.G.B., Frishchkorn, H.E., Carrazzoni, E. (1978) Cercaricidal activity of some essential oils of plants from Brazil. *Naturwissenschaften*, **65**, 480-483.

- Fuerst, E.V., Wolff, L., Weitzel, M.H. (1977) *Fundamentos de Enfermagem: o humanitarismo e as ciências na Enfermagem*. 5. ed. Rio de Janeiro: Interamericana, 450p.
- Furbee, R.B., Barlotta, K.S., Allen, M.K., Holstege, C.P. (2006) Hepatotoxicity associated with herbal products. *Clin. Lab. Med.*, **26**, 227-241.
- Furgiuele, A.R., Buckley, J.P. (1962) A psychopharmacologic investigation of *Piper methysticum* Forst. (Piperaceae). *Diss. Abstr.*, **23**, 2166.
- Furgiuele, A.R., Kinnard, W.J., Aceto, M.D., Buckley, J.P. (1965) Central activity of aqueous extracts of *Piper methysticum* (Kava). *J. Pharm Sci.*, **54**, 247-252.
- Fyrhrquist P., Mwasumbi L., Haeggström C-A., Vuorela H., Hiltunen R., Vuorela P. (2002) Ethnobotanical and antimicrobial investigation on some species of *Terminalia* and *Combretum* (Combretaceae) growing in Tanzania. *J. Ethnopharmacol.*, **79**, 169-177.
- Garg, S.K. (1981) Antifertility effect of embelia ribes and piper longum in female rats. *Fitoterapia*, **52**, 167-169.
- Garg, S.C., Jain, R. (1992) Biological activity of the essential oil of *Piper betle* L. *J. Essent. Oil Res.*, **4**, 601-606.
- Garner, L.F., Klinger, J.D. (1985) Some visual effects caused by the beverage Kava. *J. Ethnopharmacol.*, **13**, 307-311.
- Gbewonyo, W.S.K., Candy, D.J. (1992a) Separation of insecticidal components from an extract of the roots of male *Piper guineense* (west african black pepper) by Gas Chromatography. *Toxicon*, **30**, 1037-1042.
- Gbewonyo, W.S.K., Candy, D.J. (1992b) Chromatographic isolation of insecticidal amides from *Piper guineense* root. *Chromatogr.*, **607**, 105-111.
- Gentry, A.H. (1992) Bignoniaceae part. II. Tribe Tecomeae. *Flora Neotrop.*, **25**, 1-360.
- Ghazanfar, S.A., Al-Sabahi, M.A. (1993) Medicinal plants of Northern and Central Oman (Arabia). *Econ. Bot.*, **47**, 89-98.
- Ghoshal, S., Prasad, B.N.K., Lakshmi, V. (1996) Antiamoebic activity of *Piper longum* fruits against entamoeba histolytica in vitro and in vivo. *J. Ethnopharmacol.*, **50**, 167-170.
- Ghoshal, S., Lakshmi, V. (2002) Potential antiamoebic property of the roots of *Piper longum* Linn. *Phytother. Res.*, **16**, 689-691.
- Gilani, A.H., Aziz, N., Khurram, I.M., Rao, Z.A., Ali, N.K. (2000) The presence of cholinomimetic and calcium channel antagonist constituents in *Piper betle* Linn. *Phytother. Res.*, **14**, 436-442.
- Gill, L.S., Akinwumi, C. (1986) Nigerian folk medicine: practices and beliefs of the ondo people. *J. Ethnopharmacol.*, **18**, 259-266.

- Gimlette, J.D. (1929) *Malay poisons and charm cures*. 3.ed. London: J & A Churchill. 123p.
- Gimlette, J.D. (1939) *A dictionary of Malayan Medicine*. New York, USA: Oxford Univ. Press, 437p.
- Giron, L.M., Freire, V., Alonzo, A., Caceres, A. (1991) Ethnobotanical survey of the medicinal flora used by the Caribs of Guatemala. *J. Ethnopharmacol.*, **34**, 173-187.
- GMbH. (1963) *Medicines containing lactones from Piper methysticum*. Nickl, J., Keck, J. *PATENT-BRIT* n. 943.121.
- Goldmann, D.A., Huskins, W.C. (1997) Control of nosocomial antimicrobial-resistant bacterial: a strategic priority for hospitals worldwide. *Clin. Infect. Dis.*, **24**, 139-145.
- Gomez – Beloz, A.; Rucinski, J. C.; Baliek, M. J.; Tipton, C. (2003) Doublé incision wound healing bioassay using *Hamelia patens* from El Salvador. *J. Ethnopharmacol.* **88**, 169-173.
- Gonzalez, F., Silva, M. (1987) A survey of plants with antifertility properties described in the South American folk medicine. *Anais Congress I Bangkok Thailand*, 20p.
- Grange, J.M., Davey, R.W. (1990) Detection of antituberculous activity in plant extracts. *J. Appl. Bacteriol.*, **68**, 587-591.
- Green, T.P., Treadwell, E.M., Wiemer, D.F. (1999) Arieianal, a prenylated benzoic acid from *Piper arieianum*. *J. Nat. Prod.*, **62**, 367-368.
- Gregory, R.J., Gregory, J.E., Peck, J.G. (1988) Kava. *Lancet II*, **8605**, 258-259.
- Grisotti, M. (2007) Doenças infecciosas emergentes e a emergência das doenças: uma revisão conceitual e novas questões. *Ciência e Saúde Coletiva*, **In press**, 0126.
- Guerin, J.C., Reveillere, H.P. (1984) Antifungal activity of plant extracts used in therapy. I. Study of 41 plant extracts against 9 fungi species. *Ann. Pharm. Fr.*, **42**, 553-559.
- Guerra, R. (2001) Ecotoxicological and chemical evaluation of phenolic compounds in industrial effluents. *Chemosfere*, **44**, 1737-1747.
- Guimarães, E.F., Giordano, L.C.S. (2004) Piperaceas do Nordeste brasileiro I: estado do Ceará. *Rodriguésia*, **55**, 21-46.
- Guiqiu, H. (1995) PAF receptor antagonistic principles from chinese traditional drugs. *Prog. Nat. Sci.*, **5**, 299-306.
- Guo, S.K., Chen, K.J., Weng, W.L., Zhang, W.Q., Yu, Y.Q. (1983) Immediate effect of kuan-xiong aerosol in the treatment of anginal attacks. *Planta Med.*, **47**, 116.
- Gupta, K.C., Viswanathan, R (1955) Antitubercular substances from plants. A preliminary study. *Antibiot. Chemother.*, **6**, 194.

Gupta, K.C., Viswanathan, R (1956) Antitubercular substances from plants. A preliminary study. *Antibiot. Chemother.*, **6**, 194-195.

Gupta, M.P., Monge, A., Karikas, G.A., Lopez de Cerain, A., Solis, P.N., De Leon, E., Trujillo, M., Suarez, O., Wilson, F., Montenegro, G., Noriega, Y., Santana, A.I., Correa, M., Sanchez, C. (1986) Screening panamanian medicinal plants for brine shrimp toxicity, Crown Gall tumor inhibition cytotoxicity and DNA intercalation. *Int. J. Pharmacog. Res.*, **34**, 19-27.

Gupta, R.B., Khanna, R.N. (1978) An unambiguous synthesis of 4-hydroxy-alpha-lapachone and its beta isomer. *Indian J. Chem.*, **16B**, 35.

Gupta, M.P., Arias, T.D., Correa, M., Lamba, S.S. (1979) Ethnopharmacognosic observations on Panamanian medicinal plants. Part I. *Q. J. Crude Drug Res.*, **17**, 115-130.

Guru, L.V., Tewari, K.P. (1966) A brief report on the anti-fertility effect of *Pippali vidang* Yoga in experimental albino rats. *Nagarjun*, **1**, 10.

Gutmanis, J. (1977) *Kahuna la'au lapa'au-the practice of Hawaiian herbal medicine*. Island: Heritage Ltd. Honolulu, Hawaii, 534p.

Habs, M., Honold, E. (1994) The psychoactive special extract ws 1490 from the rhizome of *Piper methysticum* (Kava-kava). *Forsch Komplementarmed*, **1**, 208-215.

Haji Mohiddin, M.Y.B., Chin, W., Holdsworth, D. (1992) Traditional medicinal plants of Brunei Darussalam Part. III. Sengkurong. *Int. J. Pharmacog.*, **30**, 105-108.

Hall, L., Clarke, K., Trim, C. (2000) *Veterinary anaesthesia*. 10. ed. USA/UK: Hardbound, 576p.

Hammer, M.L.A., Johns, E.A.: (1993) Tapping an amazonian plethora: four medicinal plants of Marajo Island, Para (Brazil). *J. Ethnopharmacol.*, **40**, 53-75.

Han, Y.B., Shin, K.H., Woo, W.S. (1984) Effect of spices on hepatic microsomal enzyme function in mice. *Arch. Pharm. Res.*, **7**, 53-56.

Han, G.Q., Li, S.M., Li, C.L., Springer, J.P., Hwang, S.B., Chang, M.N. (1986) Neolignans from *Piper hancei* Maxim. *Yao Hsueh Hsueh Pao*, **21**, 361-365.

Han, G.Q., Pan, J.X., Li, C.L., Tu, F. (1991) The screening of chinese traditional drugs by biological assay and the isolation of some active components. *Int. J. Chin. Med.*, **16**, 1-17.

Handy, E.S.C., Pukui, M.K., Livermore, K. (1934) *Outline of hawaiian Physical Therapeutics*. Honolulu, Hawaii: B.P. Bishop Museum, 253p.

Haranath, P.S.R.K., Akther, M.H., Sharif, S.I. (1987) Acetylcholine and choline in common spices. *Phytother. Res.*, **1**, 91-92.

Hartzell, A. (1947) Plant products for insecticidal properties and summary of results to date. *Chemical*, **42**, 21-34.

- Hashem, F.A., El-Sawi, S.A., Sleem, A.A. (2007) Phenolic compounds and bioactivity of leaves of *Mayodendron igneum* Kurz. *African J. Trad. Compl. Alter.Medicines*, **4**, 306-312.
- Hashim, S., Aboobaker, V.S., Madhubala, R., Bhattacharya, R.K., Rao, A.R. (1994) Modulatory effects of essential oils from spices on the formation of DNA adducts by Aflatoxin B1 in vitro. *Nutr. Cancer*, **21**, 169-175.
- Heiligenstein, E., Guenther, G. (1998) Over-The-Counter psychotropics: a review of melatonin, St John's wort, Valerian, and Kava-kava. *J. Amer. Coll. Health*, **46**, 271-276.
- Hemadri, K., Sasibhushana Rao, S. (1983) Antifertility, abortifacient and fertility promoting drugs from Dandakaranya. *Ancient Sci. Life*, **3**, 103-107.
- Hermoso, A., Jimenez, I.A., Mamani, Z.A., Bazzocchi, I.L., Pinero, J.E., Ravelo, A.G., Valladares, B. (2003) Antileishmanial activities of dihydrochalcones from *Piper elongatum* and synthetic related compounds. Structural requirements for activity. *Biorg. Med. Chem.*, **11**, 3975-3980.
- Higashimoto, M., Purintrapiban, J., Kataoka, K., Kinouchi, T., Vinitketkumnuen, U., Akimoto, S., Matsumoto, H., Ohnishi, Y. (1993) Mutagenicity and antimutagenicity of extracts of three spices and medicinal plant in Thailand. *Mutat Res.*, **303**, 135-142.
- Ho, C.F., Lu, Y.C., Tsai, T.K., Chiu, Y.C., Lai, C., Wang, H.S. (1981) Study on the analgesic principles of *Piper arboricola*. *Yao Hsueh Tung Pao*, **16**, 631.
- Holdsworth, D.K. (1974) A Phytochemical survey of medicinal plants of the D'entrecasteaux Islands, Papua. *Sci. New Guinea*, **2**, 164-171.
- Holdsworth, D.K., Wamoi, B. (1982) Medicinal plants of the Admiralty Islands, Papua New Guinea. Part. I. *Int. J. Crude Drug Res.*, **20**, 169-181.
- Holdsworth, D.K. (1984) Phytomedicine of the Madang Province, Papua New Guinea. Part I. Karkar, Island. *Int. J. Crude Drug Res.*, **22**, 111-119.
- Holdsworth, D.K (1991) Traditional medicinal plants of Rarotonga, Cook Islands. Part II. *Int. J. Pharmacog.*, **29**, 71-79.
- Holdsworth, D.K (1993) Medicinal plants of the Gazele Peninsula, New Britain Island, Papua New Guinea. Part II. *Int. J. Pharmacog.*, **31**, 19-22.
- Hoover, J.M., Kayne, A.D., Ibrahim, I.N., Fields, A.M., Richards, T.A. (2006) Analysis of responses to Kava kava in the feline pulmonary vascular bed. *J. Med. Food*, **9**, 62-71.
- Hope, B.E., Massey, D.G., Fournier- Massey, G. (1993) Hawaiian materia medica for asthma. *Hawaii Med. J.*, **52**, 160-166.
- Horie, T., Ohtsuru, Y., Shibata, K., Yamashita, K. Tsukayama, M., Kawamura, Y. (1998) ¹³C NMR spectral assignment of the A-ring of polyoxygenate flavones. *Phytochemistry*, **47**, 865-874.

Houghton P. J., Mat Ali, R., Azizol, M. (1997) Antimicrobial activity of extracts of some Bignoniaceae from Malaysia. *Pharmaceutical and Pharmacol. Letters*, **7**, 96-98.

Houghton P. J. (2002) The sausage tree (*Kigelia pinnata*): Ethnobotany and recent scientific work. *African Journal of Botany*, **68**, 14-20.

Hoyo de Nunez, E., Johnson, C.H. (1943) A preliminary study of *Piper marginatum* Jacq. *J. Amer. Pharm. Ass.*, **32**, 234-236.

Hu, R.Q., Davies, J.A. (1997) Effects of *Piper nigrum* L. on epileptiform activity in cortical wedges prepared from DBA/2 mice. *Phytother. Res.*, **11**, 222-225.

Hu, S.L., Ao, P., Tan, H.G. (1996) Pharmacognostical studies on the roots of *Piper nigrum* L. II: chemical and pharmacological studies. *Acta Hort.*, **426**, 175-178.

Huang, J.K., Wang, G.S., Chang, W.H. (1981) Studies on the antioxidative activities of spices grown in Taiwan. I. *Chung-kuo Nung Yeh Hua Hsueh Hui Chih*, **19**, 200-207.

Humberston, C.L., Akhtar, J., krenzelok, E.P. (2003) Acute hepatitis induced by Kava kava. *J. Toxicol. Clin. Toxicol.*, **41**, 109-113.

Hussain, R.A., Poveda, L.J., Pezzuto, J.M., Soejarto, D.D., Kinghorn, A.D. (1990) Sweetening agents of plant origin: phenylpropanoid constituents of seven sweet-tasting plants. *Econ. Bot.*, **44**, 174-182.

Hussein, G., Miyashiro, H., Nakamura, N., Hattori, M., Kakiuchi, N., Shimotohno, K. (2000) Inhibitory effects of sudanese medicinal plant extracts on hepatitis Cvirus (HVC) protease. *Phytother. Res.*, **14**, 510-516.

IBAMA, Ministério do Meio Ambiente. Disponível em URL: <http://www.ibama.gov.br>. Acessado: em 30 de janeiro de 2008.

Ilham, M., Yaday, M., Norhanom, A.W. (1995) Tumour promoting activity of plants used in Malaysian traditional medicine. *Nat. Prod. Sci.*, **1**, 31-42.

Ingkaninan, K., Temkitthawon, P., Chuenchom, K., Yuyaem, T., Thongnoi, W. (2003) Screening for acetylcholinesterase inhibitory activity in plants used in Thai traditional rejuvenating and neurotonic remedies. *J. Ethnopharmacol.*, **89**, 261-264.

Ishikura, N. (1982) Flavonol glycosides in the flowers of *Hibiscus. Mutabilis, F. versicolor*. *Agr. Biol. Chem.*, **46**, 1705-1706.

Itokawa, H. (1988) Research on antineoplastic drugs from natural sources, especially from higher plants. *Yakugaku Zasshi*, **108**, 824-841.

Iwu, M.M., Anyanwu, B.N. (1982) Phytotherapeutic profile of Nigerian herbs. I. Anti-inflammatory and anti-arthritic agents. *J. Ethnopharmacol.*, **6**, 263-274.

Jácome, R. L.R.P., Oliveira, A.B., Raslan, D.S., Muller, A., Wagner, H. (1999) Análise da naftoquinonas em extratos brutos de raízes de *Zeyheria montana* M. (bolsa-de-pastor). *Quím. Nova*, **22**, 175-177.

Jadhav, V.J., Pal, M., Mishra, G.S. (2003) Etiological significance of *Candida albicans* em otitis externa. *Mycophatologia*, **156**, 313-315.

Jain, S.K., Tarafder, C.R. (1970) Medicinal plant-lore of the Santals. *Econ. Bot.*, **24**, 241-278.

Jain, S.P., Puri, H.S. (1984) Ethnomedicinal plants of Jaunsar-Bawar Hills, Uttar Pradesh, India. *J. Ethnopharmacol.*, **12**, 213-222.

Jamieson, D.D., Duffield, P.H., Cheng, D., Duffield, A.M. (1989) Comparison of the central nervous system activity of the aqueous and lipid extract of Kava (*Piper methysticum*). *Arch. Int. Pharmacodyn Ther.*, **301**, 66-80.

Jamieson, D.D., Duffield, P.H., (1990a) The antinociceptive actions of Kava components in mice. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, **17**, 495-507.

Jamieson, D.D., Duffield, P.H., (1990b) Interaction of ethanol and Kava resin in mice. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, **17**, 509-514.

Jamieson, D.D., Duffield, P.H., (1990c) Interaction of Kava and ethanol in mice. *Eur. J. Pharmacol.*, **183**, 559.

Jamir, N.S. (1990) Some interesting medicinal plants used by Nagas. *Res. Edu. Ind. Med.*, **9**, 81-87.

Janssen, A.M., Chin, N.L.J., Scheffer, J.J.C., Baerheim-Svendsen, A. (1986) Screening for antimicrobial activity of some essential oils by the Agar overlay technique. *Pharm. Weekbl*, **8**, 289-292.

Jappe, U., Franke, I., Reinhold, D., Gollnick, H.P.M. (1998) Sebotoxic drug reaction resulting from kava-kava extract therapy: a new entity? *J. Amer. Acad. Dermatol.*, **38**, 104-106.

Jawetz, E., Levinson, W. (2005) *Microbiologia Médica e Imunologia*. 7. ed. PortoAlegre: Artmed, 632 p.

Jelager, L., Gurib Fakim, A., Adersen, A. (1998) Antibacterial and antifungal activity of medicinal plants of Mauritius. *Pharmaceutical Biol.*, **36**, 153-161.

Jeng, J.H., Kuo, M.L., Hahn, L.J., Kuo, M.Y.P. (1994) Genotoxic and non-genotoxic effects of Betel quid ingredients on oral mucosal fibroblasts in vitro. *J. Dent. Res.*, **73**, 1043-1049.

Jeng, J.H., Chen, S.Y., Liao, C.H., Tung, Y.Y. Lin, B.R., Hahn, L.J., Chang, M.C. (2002) Modulation of platelet aggregation by Areca nut and Betel leaf ingredients: roles of reactive oxygen species and cyclooxygenase. *Free Radical Biol. Med.*, **32**, 860-871.

- Jin, P., Ju, Y. (2007) Design, synthesis and biological activity of novel steroidal bioconjugates. *Huaxue Jinzhan*, **19**, 1883-1895.
- Jochle, W. (1971) Biology and pathology of reproduction in Greek Mythology. *Contraception*, **4**, 1-13.
- Joly, A.B. (1998) *Botânica: Introdução à taxonomia vegetal*. 12. ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 777p.
- Jongsuwat, Y. (1981) Antileukemic activity of *Acanthus illicifolius*. *Thesis-Master*, Thailand: Univ. Fac. Pharm. Bangkok, 151pp.
- John, D. (1984) One hundred useful raw drugs of the Kani Tribes of Trivandrum Forest Division, Kerala, India. *Int. J. Crude Drug Res.*, **22**, 17-39.
- Joshi, N., Garg, H.S., Bhakuni, D.S, (1990) Chemical constituents of *Piper schmidtii*: structure of a new neolignan schmiditin. *J. Nat. Prod.*, **53**, 479-482.
- Jovel, E.M., Cabanillas, J., Towers, G.H.N. (1996) An ethnobotanical study of the traditional medicine of the mestizo people of Suni Mirano, Loreto, Peru. *J. Ethnopharmacol.*, **53**, 149-156.
- Ju, R.C., Chou, C.C. (1983) Antimicrobial activity of various solvent extracts of *Piper betle*. *Nat. Sci. Counc. Monthly*, **11**, 385-394.
- Jussofie, A., Schimiz, A., Hiemke, C. (1994) Kavapyrone enriched extract from *Piper methysticum* as modulator of the GABA binding site in different regions of rat brain. *Psychopharmacology*, **116**, 469-474.
- Kaij-A-Kamb, M., Amoros, M., Girre, L. (1992) Search for new antiviral agents of plant origin. *Pharm. Acta Helv.*, **67**, 130-147.
- Kamboj, V.P. (1988) A review of Indian medicinal plants with interceptive activity. *Indian J. Med. Res.*, **4**, 336-355.
- Kamtchouing, P., Mbongue, G.Y.F., Dimo, T., Watcho, P., Jatsa, H.B., Sokeng, S.D. (2002) Effects of *Aframomum melegueta* and *Piper guineense* on sexual behaviour of male rats. *Behav. Pharmacol.*, **13**, 243-247.
- Kar, A., Choudhary, B.K., Bandyopadhyay, N.G. (1999) Preliminary studies on the inorganic constituents of some indigenous hypoglycaemic herbs on oral glucose tolerance test. *J. Exp. Bot.*, **64**, 179-184.
- Kar, A., Jain, S.R. (1971) Antibacterial evaluation of some indigenous medicinal volatile oils. *Qual. Plant. Mater Veg.*, **20**, 231.
- Kaushik, N., Alice, K., Geeta, V.S. (2003) Effect of Betel leaf extract on nerve impulse conduction through sciatic nerve in frog using a modified technique. *J. Natural Remedies*, **3**, 174-179.

- Khanna, A.K., Chander, R., Kapoor, N.K. (1991) Hypolipidemic activity of Abana in rats. *Fitoterapia*, **62**, 271-274.
- Khanom, F., Kayahara, H., Tadasa, K. (2000a) Tyrosinase inhibitory activity of Bangladeshi indigenous medicinal plants. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **64**, 1967-1969.
- Khanom, F., Kayahara, H., Tadasa, K. (2000b) Superoxide-scavenging and prolyl endopeptidase inhibitory activities of Bangladeshi indigenous medicinal plants. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **64**, 837-840.
- Khime, R.D., Mehra, Y.N., Mann, S.B.S., Mehta, S.K., Chakraborti, R.N. (1991) Effect of instant preparation of Betel nut (pan masala) on the oral mucosa of albino rats. *Indian J. Med. Res.*, **94**, 119-124.
- Kholkute, S.D., Kekare, M.B., Munshi, S.R. (1979) Antifertility effects of the fruits of *Piper longum* in female rats. *Indian J. Exp. Biol.*, **17**, 289-290.
- Khozirah, S., Ling, S.K., Nik, M. (2000) Evaluation of the anti-inflammatory properties of *Piper betle* L. *Herba Pol.*, **46**, 308-318.
- Kijjoo, A., Giesbrecht, A.M., Akisue, M.K., Gottlieb, O.R., Gottlieb, H.E. (1980) 4-Nerolidylcatechol from *Potomorphe umbellata*. *Planta Med.*, **39**, 85-87.
- Killops, S.D. and Frewin, N.L. (1994) Triterpenoid diagenesis and cuticular preservation. *Organic Geochemistry*. **21**, 1193-1209.
- Kinzler, E., Kromer, J., Lehmann, E. (1991) Clinical efficacy of a Kava extract in patients with anxiety syndrome/double-blind placebo controlled study over 4weeks. *Arzneim-Forsch.*, **41**, 584-588.
- Kiuchi, F., Nakamura, N., Tsuda, Y., Kondo, K., Yoshimura, H. (1988) Studies on crude drugs effective on visceral *Larva migrans*. Isolation and identification of larvicidal principles in Pepper. *Chem. Pharm. Bull.*, **36**, 2452-2465.
- Kiuchi, F., Hioki, M., Nakamura, N., Miyashita, N., Tsuda, Y., Kondo, K. (1989a) Nematocidal activity of some anthelmintics, traditional medicines, and spices by a new assay method using larvae of *Toxocaria canis*. *Shoyakugaku Zasshi*, **43**, 279-287.
- Kiuchi, F., Hioki, M., Nakamura, N., Miyashita, N., Tsuda, Y., Kondo, K. (1989b) Screening of crude drugs used in Sri Lanka for nematocidal activity on the larva of *Toxocaria canis*. *Shoyakugaku Zasshi*, **43**, 288-293.
- Klohs, M.W., Keller, F., Williams, R.E., Toekes, M.I., Cronheim, G.E. (1959) A chemical and pharmacological investigation of *Piper methysticum* Forst. *J. Med. Pharm. Chem.*, **1**, 95-103.
- Kokai. (1979) *N-isobutyl-11-(3,4-methylenedioxyphenyl)-2E,4E,10E-undecatrienoic amide from Piper nigrum*. Naktani, N., Miyakado, M., Nakayama, I., Hirai, H. *PATENT-JAPAN* n. 79.117.476.

Kokate, C.K., Tipnis, H.P., Gonsalves, L.X., D'Cruz, J.L. (1980) Anti-insect and juvenile hormone mimicking activities of essential oils of *Adhatoda vasica*, *Piper longum* and *Cyperus rotundus*. *Bombay Coll. Pharm.*, **4**, 15-19.

Kokwaro, J.O. (1976) *Medicinal plants of East Africa*. Nairobi-Kenya: East Afr. literature bureau, 243p.

Krasner, D.L., Kane, D. (1997) *Chronic wound care: a clinical source book for healthcare professionals*. 2nd ed. USA: Health Management Publications, Inc Wayne, PA. 427p.

Krettli, A.U., Andrade-Neto, V.F., Brandão, M.G.L., Ferrari, W.M.S. (2001) The search for new antimalarial drugs from plants used to treat fever and malaria or plants randomly selected: a review. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, **96**, 1033-1042.

Krishnakumar, S., Geetha, V.S., Kuruvilla, A. (2001) Determination of local anesthetic action of Betel leaf extract alone and betel nut using infiltration and surface anesthesia. *J. Natural Remedies*, **1**, 28-32.

Krishnakumari, M.K., Majumder, S.K. (1960) Bioassay of piperazine & some plant products with Earthworms. *J. Sci. Ind. Res.*, **19**, 202.

Kumar, D.S., Prabhakar, Y.S. (1987) On The ethnomedical significance of the *Arjun* tree, *Terminalia arjuna* (Roxb.) Wight & Arnot. *J. Ethnopharmacol.*, **20**, 173-190.

Kumarasamy, Y., Byres, M., Cox, P.J., Delazar, A., Jaspars, M., Nahar, L., Shoeb, M., Sarker, S. D. (2004) Isolation, Structure Elucidation, and Biological Activity of Flavone 6-C-Glycosides from *Alliaria*. *Chemistry Nat. Compounds*, **40**, 122-128.

Kunamoto, C.A., Vences, M.D. (2005) Contribution of hypha-co-regulated genes to *Candida albicans* virulence. *Cell. Microbiol.*, **7**, 1546-1554.

Kutney, J.P., Hanssen, H.W. (1971) 5,6,7-Trimetoxiflavone and 5,6,7,8-Tetrametoxiflavone from *Zeyhera tuberculosa*. *Phytochemistry*, **10**, 3298-3302.

Lama, S., Santra, S.C. (1979) Development of Tibetan plant medicine. *Sci. Cult.*, **45**, 262-265.

Laohathai, P., Ratanasangwan, C. (1975) Antifungal activity of Thai medicinal plants. *Undergraduate Special Project Report*, **36**. 10-15.

Larhsini, M., Oumoulid, L., Lazrek, H.B., Wataleb, S., Bousaid, M., Bekkouche, K., Markkouk, M., Jana, M. (1999) Screening of antibacterial and antiparasitic activities of six Moroccan medicinal plants. *Therapie*, **54**, 763-765.

Larini, L. (1997) *Toxicologia*. 3. ed. São Paulo: Ed. Manole. 315p.

Laupattarakasem, P., Houghton, P.J., Hoult, J.R.S., Itharat, A. (2003) An evaluation of the activity related to inflammation of four plants used in Thailand to treat arthritis. *J. Ethnopharmacol.*, **85**, 207-215.

Leaman, D.J., Arnason, J.T., Yusul, R., Sangat-Roemantyo, H., Soedjito, H., Angerhofer, C.K., Pezzuto, J.M. (1995) Malaria remedies of the Kenyah of the Apo Kayan, East Kalimantan, Indonesian Borneo: a quantitative assessment of local consensus as an indicator of biological efficacy. *J. Ethnopharmacol.*, **49**, 1-16.

Lee, E.B. (1981) The screening of biologically active plants in Korea using isolated organ preparation. IV. Anticholinergic and oxytocic actions in rat's ileum and uterus. *Ann. Rep. Nat. Prod. Res. Inst.*, **20**, 1-3.

Lee, E.B. (1982) The Screening of biologically active plants in Korea using isolated organ preparations anticholinergic and oxytocic actions in rat's ileum and uterus. *Korean J. Pharmacog.*, **13**, 99-101.

Lee, S.E. (2000) Mosquito larvicidal activity of piperonaline, a piperidine alkaloid derived from long pepper, *Piper longum*. *J. Amer. Mosq. Control Ass.*, **16**, 245-247.

Lee, E.B., Shin, K.H., Woo, W.S. (1984) Pharmacological study on piperine. *Arch. Pharm. Res.*, **7**, 127-132.

Lehmann, E., Kinzler, E., Fredemann, J. (1996) Efficacy of a special Kava extract (*Piper methysticum*) in patients with states of anxiety, tension and excitedness of nonmental Origin-A double-blind placebo-controlled study of four weeks treatment. *Phytomedicine*, **3**, 113-119.

Lehrl, S. (2004) Clinical efficacy of Kava extract WS 1490 in sleep disturbances associated with anxiety disorders results of a multicenter, randomized, placebo-controlled, double-blind clinical trial. *J. Affective Disorders*, **78**, 101-110.

Lemos, T.L.G., Matos, F.J.A., Alencar, J.W. Craveiro, A.A., Clark, A.M., Mc Chesney, J.D. (1990) Antimicrobial activity of essential oils of Brazilian plants. *Phytother. Res.*, **4**, 82-84.

Lentz, D.L. (1993) Medicinal and other economic plants of the Paya of Honduras. *Econ. Bot.*, **47**, 358-370.

Lentz D.L., Clark A. M., Hufford C.D., Meurer-Grimes C.M., Cordero., J., Ibrahimi., O., Okunade., A.L. (1998) Antimicrobial properties of Honduras medicinal plants. *J. Ethnopharmacol.*, **63**, 253-263.

Li, P., Matsunaga, K., Ohizumi, Y. (1999) Enhancement of the nerve growth factor-mediated neurite outgrowth from pc12d cells by Chinese and Paraguayan medicinal plants. *Biol. Pharm. Bull.*, **22**, 752-755.

Liao, Y.L., Chiang, Y.C., Tsai, T.F., Lee, R.F., Chan, Y.C. Hsiao, C.H. (1999) Contact leukomelanosis induced by the leaves of *Piper betle* L. (Piperaceae): a clinical and histopathologic survey. *J. Amer. Acad. Dermatol.*, **40**, 583-589.

Lima, L.R.P., Oliveira, T.T., Nagem, T.J., Pinto, A.S., Stringheta, P.C., Tinoco, A.L.A., Silva, J. F. (2001a) Bixina, Norbixina e Quercetina e seus efeitos no metabolismo lipídico de coelhos. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, **38**, 196-200.

Lima, E. O. (2001b) Plantas e suas propriedades antimicrobianas: uma breve análise histórica. In: Yunes, R.A.; Calixto, J.B. *Plantas Medicinais sob a Ótica da Química Medicinal Moderna*. Argos Editora Universitária. Chapecó-SC pp. 482-01.

Lima, C. S. A., Cavalcanti de Amorim, E. L., Xiato da Fonseca, K., de Sena, R., Chiappeta, A. A., Nunes, X. P., Agra, M. F., Leitao da-Cunha, E. V., Sobral da Silva, M., Barbosa-Filho, J. M. (2003). Antimicrobial activity of a mixture of two isomeric phenylpropanoid glycosides from *Arrabidaea harleyi* A.H. Gentry (Bignoniaceae). *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas* **39**, 77-81.

Lima, E.O., Pereira, F.O., Lima, I.G., Trajano, V.N., Souza, E.L. (2004) *Schinus Terebenthifolius* Raddi: avaliação do espectro de ação antimicrobiana de seu extrato aquoso. *Infarma*, **16**, 7-8.

Lima, M.E.L., Cordeiro, I., Young, M.C.M., Sobra, M.E.G., Moreno, P.R.H. (2006) Antimicrobial activity of the essential oil from two specimens of *Pimenta pseudocaryophyllus* (Gomes) L. R. Landrum (Myrtaceae) native from São Paulo state – Brazil. *Pharmacologyonline*, **3**, 589-593.

Liu, D.X., Yin, X.J., Wang, H.C., Zhou, Y., Zhang, Y.H. (1990) Antimutagenicity screening of water extracts from 102 kinds of Chinese medicinal herbs. *Chung-kuo Chung Yao Tsa Chi. Li.*, **15**, 617-622.

Lewis, W.H., Elvin-Lewis, M.P.F. (1984) *Plants and dental care among the Jivaro of the upper Amazon Basin*. Advances in economic botany ethnobotany in the neotropics. G. T. Prance & J. A. Kallunki (eds.) New York: Botanical Garden, Bronx NY, 61p.

Locher, C.P., Burch, M.T., Mower, H.F., Berestecky, J., Davis, H., Van Poel, B., Lasure, A., Vander Berghe, D.A., Vlietinck, A.J. (1995) Anti-microbial activity and anti-complement activity of extracts obtained from selected Hawaiian medicinal plants. *J. Ethnopharmacol.*, **49**, 23-32.

Locher, C.P., Witvrouw, M., Bethune, M.P., Burch, M.T., Mower, H.F., Davis, H. Lasure, A., Pauwels, R., De Clercq, E., Vlietinck, A.J. (1996) Antiviral activity of Hawaiian medicinal plants against human immunodeficiency virus Type-1 (HIV-1). *Phytomedicine*, **2**, 259-264.

Loder, J.W., Moorhouse, A., Russell, G.B. (1969) Tumour inhibitory plants. Amides of *Pepper novaehollandiae* (Piperaceae). *Aust. J. Chem.*, **22**, 1531.

Loewsoponkul, P. (1982) Effect of Thai emmenagogue drugs on rat uterine. *Thesis-Master*. Thailand: Univ. Fac. Pharm. Bangkok, 96p.

Lopes, G.C., Sanches, A.C.C., Nakamura, C.V., Dias Filho, B.P., Hernandez, L., Mello, J.C. P. (2005) Influence of extracts of *Stryphnodendron polyphyllum* Mart. and *Stryphnodendron obovatum* Benth. on the cicatrization of cutaneous wounds in rats. *J. Ethnopharmacol.*, **99**, 265-272.

Lorenzi, H. (2002) *Árvores Brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil*. 4. ed. São Paulo: Ed. Plantarum - Nova Odessa, 352p.

Lozoya, X. (1976) *Estado actual del conocimiento en plantas medicinales mexicanas*. Mexico: Inst. Mex. Est. Pl. med., 165p.

Luna, E.J.A. (2002) A emergência das doenças emergentes e as doenças infecciosas emergentes e reemergentes no Brasil. *Rev. Bras. Epidemiol.*, **5**, 229-243.

Luz, H.F., Ferreira, M. (1985) Ipê felpudo (*Zeyhera tuberculosa* (Vell) Bur.): essência nativa pioneira com grande potencial Silvicultural *IPFE*, **31**, 13-21.

Ma, J., Jones, S.H., Marshall, R. Johnson, R.K., Hecht, S.M. (2004) A DNA damaging oxaaporphine alkaloid from *Piper caninum*. *J. Nat. Prod.*, **67**, 1162-1164.

Ma, Y., Han, G.Q., Li, C.L., Chen, J.R. Arison, B.H. Hwang, S.B. (1991) Neolignans from *Piper polysyphorum* C.CD. *Yao Hsueh Pao*, **26**, 345-350.

Machado, S.M.F., Militao, J.S.L.T., Facundo, V.A., Ribeiro, A., Morais, S.M., Machado, M.I.L. (1994) Leaf oils of two brazilian *Piper* species: *Piper arboretum* Aublet var. *latifolium* (C.DC) Yuncker and *Piper hispidum* SW. *J. Essent. Oil Res.*, **6**, 643-644.

Machado, K.E. (2005) Atividade antimicrobiana de extratos, frações e substâncias isoladas da *Eugenia umbelliflora* Berg. *Dissertação de Mestrado*. Universidade do Vale do Itajaí. UNIVALE, SC. 71p.

Mackeen, M.M., Ali, A.M., El-Sharkawy, S.H., Manap, M.Y., Salleh, K.M., Lajis, N.H., Kawazu, K. (1997) Antimicrobial and cytotoxic properties of some Malaysian traditional vegetables (Ulam). *Int. j. Pharmacog.*, **35**, 174-178.

McLaughlin, J.L. (1991) *Methods in Plant Biochemistry* (Dey, P.M., Harbone, J., eds.). New York: *Academic Press*, **6**, 1-32.

Madulid, D.A., Gaerlan, F.J.M., Romero, E.M., Agoo, E.M.G. (1989) Ethnopharmacological study of the Ati Tribe in Nagpana, Barotac Viejo, Iloilo. *Acta Manilana*, **38**, 25-40.

Mahanta, P.K., Ghanim, A., Gopinath, K.W. (1974) Chemical constituents of *Piper sylvaticum* (Roxb) and *Piper boehmerifolium* (Wall). *J. Pharm. Sci.*, **63**, 1160-1161.

Mahmoud, I., Alkofahi, A., Abdelaziz, A. (1992) Mutagenic and toxic activities of several spices and some Jordanian medicinal plants. *Int. J. Pharmacog.*, **30**, 81-85.

Maia, J.M.A., Czezko, N.G., Ribas Filho J.M., Dietz, U.A., Duck, D., Ribas C.A.P.M., Santos, E.A., Baptistella, E., Wallbach, T.Z., Vale, J.R., Yagushita, N. (2006) Estudo da cicatrização de suturas na bexiga urinária de ratos com e sem a utilização de extrato bruto de *Jatropha gossypifolia* L. intraperitoneal. *Acta Cir. Bras.*, **21**, 23-29.

Maikhuri, R.K., Gangwar, A.K. (1993) Ethnobiological notes on the Khasi and Garo Tribes of Meghalaya, Northeast Índia. *Econ. Bot.*, **47**, 345-357.

Majumder, R., Tiwari, K.C., Bhattacharjee, S., Nair, A.R. (1978) Some folklore medicine from Assam and Meghalaya. *Q. J. Crude Drug Res.*, **16**, 185-189.

- Malhi, B.S., Trivedi, V.P. (1972) Vegetable antifertility drugs of India. *Q. J. Crude Drug Res.*, **12**, 1922.
- Manandhar, N.P. (1995a) An inventory of some herbal drugs of Myagdi District, Nepal. *Econ. Bot.*, **49**, 371-379.
- Manandhar, N.P. (1995b) An inventory of some vegetable drug resources of Makawanpur District Nepal. *Fitoterapia*, **66**, 231-238.
- Manavalan, R., Singh, J. (1979) Chemical and some pharmacological studies on leaves of *Piper longum* Linn. *Indian J. Pharm. Sci.*, **41**, 190-191.
- Manfred, L. (1947) *Siete mil recetas botanicas a base de mil trescientas plantas*. Buenos Aires: Edit Kier, 137p.
- Maroja, R. (1999). O uso das ervas no pronto-socorro. *Revista Saúde Natal*, **187**, 18.
- Marquesan, L. (1966) *Sexual Behavior*. New York: Suggs, RC, 231p.
- Marston, A., Dudan, G., Gupta, M.P., Solis, P.N., Correa, M.D., Hostettmann, K. (1996) Screening of panamanian plants for molluscicidal activity. *Int. J. Pharmacog.*, **34**, 15-18.
- Martinez-Crovetto, R. (1981) Fertility-regulating plants used in popular medicine in Northeastern Argentina. *Parodiana*, **1**, 97-117.
- Martinez, M.A. (1984) Medicinal plants used in a Totonac Community of the Sierra Norte de Puebla: Tuzamapan de Galeana, Puebla, Mexico. *J. Ethnopharmacol.*, **11**, 203-221.
- Martinez M.J., Betancourt J., Alonso-González N., Jauregui A. (1996) Screening of some Cuban medicinal plants for antimicrobial activity. *J. Ethnopharmacol.*, **52**, 171-174.
- Matsui, K., Munskata, K. (1975) The structure of piperenone, a new insect antifeeding substance from *Piper futokadzura*. *Tetrahedron Lett.*, 1905-1908.
- Maukakami, A., Nakamura, Y., Ohigashi, H. Koshimizu, K. (1997) Cancer chemopreventive potentials of edible thai plants and some of their active constituents. *Mem. Sch. Biol. oriented Sci. Technol. Kinki Univ.*, **1**, 1-23.
- May, G., Willuhn, G. (1978) Antiviral activity of aqueous extracts from medicinal plants in tissue cultures. *Arzneim-Forsch.*, **28**, 1-7.
- Mazoko, P., Picard, J., Eloff, J.N. (2005) Antifungal activities of six South African *Terminalia* species (Combretaceae). *J. Ethnopharmacol.*, **99**, 301-308.
- Mc Clatchey, W. (1996) The Ethnopharmacopoeia of Rotuma. *J Ethnopharmacol.*, **50**, 147-156.
- Medeiros, A.C., Ramos, A.M.O., Dantas Filho, A.M., Azevedo, R.C.F., Araújo, F.L.F.B. (1999) Tratamento tópico de queimaduras do dorso de ratos com ácido hialurônico. *Acta Cir. Bras.*, **14**, 203-207.

Melchor, G.; Armenteros, M.; Fernández, O.; Linares, E.; Frajas, I. (2001). Antibacterial activity of *Rhizophora mangle* bark. *Fitoterapia*, **72**, 689-691.

Menezes, E.A., Sá, K.M., Cunha, F.A., Ângelo, M.R.F., Oliveira, F.R.N., Salviano, M.N.C. (2004) Perfil de infecção e resistência aos antimicrobianos de bacilos gram negativos não fermentadores isolados no Lab. De Pat. Clin. Dr. Edilson Gurgel, Fortaleza/CE. *Rev. Bras. Anal. Clin.*, **36**, 209-212.

Meyer, B.N., Ferrigni, N.R., Putnam, J.E., Jacobsen, L.B., Nichols, D.E., McLaughlin, J.L. (1982) Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Med.*, **45**, 31-34.

Microcal Software. *OriginPro 7.0 Software*. USA: OriginLab Corporation, 1991-2002.

Midgley, G., Roderick, J.H., Clayton, Y.M. (1998) *Micologia médica: diagnóstico em cores*. São Paulo: Manole, 173p.

Milliken, W., Albert, B. (1996) The use of medicinal plants by the yanomami indians of Brazil. *Econ. Bot.*, **50**, 10-25.

Milliken, W. (1997a) Traditional anti-malarial medicine in Roraima, Brazil. *Econ. Bot.*, **51**, 212-237.

Milliken, W. (1997b) Malaria and antimalarial plants in Roraima, Brazil. *Trop. Doctor, Suppl.*, 20-25.

Minossi, J.G., Leite, C.V.S., Naresse, L.E., Marchesan, M.A.R., Angeleli, A.Y.O., Kobayasi, S. (2001) Efeito do diclofenaco de sódio na cicatrização da parede abdominal de ratos. Estudo histopatológico, da força de ruptura e do colágeno tecidual. *Acta Cir. Bras.*, **16**, 146-154.

Misas, C.A.J., Hernandez, N.M.R., Abraham, A.M.L. (1979) Contribution to the biological evaluation of Cuban plants. I. *Rev. Cub. Med. Trop.*, **31**, 5-12.

Mitra, S.K., Muralidhar, T.S., Rao, D.R.B. (1996) Experimental assessment of relative efficacy of drugs of herbal origin on sexual performance and hormone levels in alcohol exposed and normal rats. *Phytother. Res.*, **10**, 296-299.

Miwa, M., Kong, Z.L., Shinohara, K., Watanabe, M. (1990) Macrophage stimulating activity of foods. *Agr. Biol. Chem.*, **54**, 1863-1866.

Miyakado, M., Nakayama, I., Yoshioka, H. (1980a) Insecticidal joint action of pipericide and co-occurring compounds isolated from *Piper nigrum* L. *Agr. Biol. Chem.*, **44**, 1701-1703.

Miyakado, M., Nakayama, I., Ohnon, N., Yoshioka, H. (1980b) Structure, chemistry and actions of the Piperaceae amides: new insecticidal constituents isolated from the Pepper plant. *Natural Products for Innovative Pest Management*, **1**, 369-382.

- Mizushina, Y., Nakanishi, R., Kuriama, I., Kamira, K., Sataka, T., Shimazaki, M. (2006) β sitosterol-3-O- β -D-glucopyranoside: A eukaryotic DNA polymerase λ inhibitor. *Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, **99**, 100-107.
- Mokkhasmit, M., Sawasdimongkol, K., Satrawaha, P. (1971a) Study on toxicity of Thai medicinal plants. *Bull. Dept. Med. Sci.*, **12**, 36-65.
- Mokkhasmit, M., Ngarmwanthana, W., Sawasdimongkol, K., Permiphath, U. (1971b) Pharmacological evaluation of Thai medicinal plants. *J. Med. Ass. Thailand*, **54**, 490-504.
- Molina-Salinas, G.M., Said-Fernández, S. (2006) A modified microplate cytotoxicity assay with brine shrimp larvae (*Artemia salina*). *Pharmacologyonline*, **3**, 633-638.
- Mongelli, E., Desmarchelier, C., Coussio, J., Cicia, G. (1995) Antimicrobial activity and DNA interaction in medicinal plants from the Peruvian Amazon. *Rev. Argent. Microbiol.*, **27**, 199-203.
- Mongelli, E., Romano, A. Desmarchelier, C., Coussio, J., Ciccía, G. (1999a) Antioxidant compound 4-nerolidylcatechol inhibits in vitro KB cell growth and topoisomerase I activity. *Spec. Publ-R Soc. Chem.*, **240**, 404-406.
- Mongelli, E., Romano, A. Desmarchelier, C., Coussio, J., Ciccía, G. (1999b) Cytotoxic 4-nerolidylcatechol from *Pothomorphe peltata* inhibits topoisomerase I activity. *Planta Med.*, **65**, 376-378.
- Mongelli, E., Romano, A. Desmarchelier, C., Coussio, G.C. (1999c) Antioxidant compound 4-nerolidylcatechol inhibits in vitro kb cells growth and topoisomerase I activity. *Nutrition, Health and Disease*, **24**, 404-406.
- Monetta, L. (1987). Uso da papáina nos curativos feitos pela enfermagem. *Revista Brasileira de Enfermagem*, **40**, 66-73.
- Montemarano, A.D., James, W.D. (1993) *Staphylococcus aureus* as a cause of perianal dermatitis. *Pediatric Dermatology*, **10**, 259-262.
- Moolenaar, R.L., Crutcher, J.M., San Joaquin, V.H. (2000) A prolonged outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* in a neonatal intensive care unit: did staff fingernails play a role in disease transmission? *Infect. Control Hosp. Epidemiol.*, **21**, 80-85.
- Moreira, D.L., Souza, P.O. Kaplan, M.A.C., Pereira, N.A., Cardoso, G.L., Guimarães, E.F. (2001) Effect of leaf essential oil from *Piper solmsianum* C.DC. in mice behaviour. *An Acad. Brasil. Cienc.*, **73**, 33-37.
- Moreira, F.P.M., Coutinho, V., Montanher, A.B.P., Caro, M.S.B., Brighente, I.M.C., Pzzolatti, M.G. (2003) Flavonóides e triterpenóides de *Baccharis pseudotenuifolia* – bioatividade sobre *Artemia salina*. *Quím. Nova*, **26**, 309-311.
- Moreira, M.E.L. (2005) Controversies about the management of invasive fungal infections in very low birth weight infants. *J. Pediatr.*, **81**, 552-558.

Moreno A.R. (1975) *Two hundred sixty-eight medicinal plants used to regulate fertility in some countries of South America*. Paraguay: Unpublished (stenciled), Review in Spanish.

Moryson, M., Moffat, C., Bridel-Nixon, J., Bale, S. (1998) *A colour guide to nursing management of chronic wounds*. 2. ed. London: Mosby, 220p.

Morton, J.F. (1977) Some folk-medicine plants of Central American markets. *Q. J. Crude Drug Res.*, **1**, 15.

Morton, J.F. (1990) Mucilaginous plants and their uses in medicine. *J. Ethnopharmacol.*, **29**, 245-266.

Mukarami, A., Jiwajiinda, S., Koshimizu, K., Ohigashi, H. (1995) Screening for in vitro anti-tumor promoting activities of edible plants from Thailand. *Cancer Lett.*, **95**, 137-146.

Mukherjee, P.K., Badami, S., Wahile, A.M., Rajan, S., Suresh, B. (2001) Evaluation of tyrosinase inhibitory activity of some Indian spices. *J. Natural Remedies*, **1**, 125-129.

Muñoz-Mingarro, D., Acero, N., Linhares, F., Pozuelo, J.M., Galán de Mera, A., Vicenten, J.A., Morales, L., Alguacil, R.F., Pérez, C. (2003) Biological activity of extratcts from *Catalpa bignonioids* Walt. (Bignoniaceae). *J. Ethnopharmacol.*, **87**, 163-167.

Munte, T.F., Heinze, H.J., Matzke, M., Stetz, J. (1993) Effects of oxazepam and an extract of Kava roots (*Piper methysticum*) on event-related potentials in a word recognition task. *Neuropsychobiology*, **27**, 46-53.

Murakami, A., Jiwajiinda, S., Koshimizu, K., Ohigashi, H. (1995) Screening for in vitro anti-tumor promoting activities of edible plants from Thailand. *Cancer Lett.*, **95**, 137-146.

Murray, P.R. (1995) Laboratory Procedures for Epidemiologic Analysis. In: *Manual of Clinical Microbiology*. 6. ed., Washington: DC ASM Press, 359p.

Myers, A.H., Postlethwait, R.W., Smith, A.G. (1961) Histologic grading of experimental healing wound. *Arch. Surg.*, **83**, 147-150.

Nagabhushan, M., Amonkar, A.J., D'Souza, A.V., Bhide, S.V. (1987) Nonmutagenicity of Betel leaf and its antimutagenic action against environmental mutagens. *Neoplasma*, **34**, 159-167.

Nascimento, M.C., Mors, W.B., Pereira, B.M.R., Nave, N.A.P. (2000) Plant natural products active against snake bite – the molecular approach *Phytochemistry*, **55**, 627-642.

Nawaqi, A., Ma, C.M., Nakamura, N., Hattori, M., Kurokawa, M., Shiraki, K., Kashiwaba, N., Ono, M. (1999) Anti-herpes simplex virus activity of alkaloids isolated from *Stephania cepharantha*. *Biol. Pharm. Bull.*, **22**, 268-274.

Nayampalli, S.S., Satoskar, R.S. (1980) Evaluation of anti-allergenic activity of *Piper longum* using rat-lung perfusion technique. Proc. *13Th Annual Conf. Indian Pharmacol.*, Sep., 30-Oct., 2.

Nayampalli, S.S., Nadkarni, P.M., Satoskar, R.S. (1980) Evaluation of anti-allergenic activity of *Piper longum* using rat-lung perfusion technique. *Indian J. Pharmacol.*, **13**, 90.

NCCLS - *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (2003) Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Documents M7 - A6 and M100-S13, Pennsylvania, USA, 58p.

NCCLS - *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (2005) National Committee for Clinical Laboratory Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standards - eighth ed. (ISBN 1-56238-485-6), Pennsylvania, USA, 177p.

Ndukwu, B.C., Ben-Nwadibia, N.B. (2005) *Ethnomedicinal aspects of plants used as spices and condiments in the Niger Delta Area of Nigeria*. Department of Plant Science and Biotechnology. University of Port Harcourt, Nigeria, 26p.

Nepomuceno, D.C., Younes, R.N., Varella, A.D., Suffredini, I.B. (2003) Atividade antibacteriana e fracionamento direcionado do extrato orgânico obtido de *Tovomita* sp. *Rev. Bras. Farmacog.*, **14**, 3-4.

Nes, I.F., Skjelkvale, R., Olsvik, O., Berdal, B.P. (1984) The effect of natural spices and oleoresins on *Lactobacillus plantarum* and *Staphylococcus aureus*. *Microb. Assoc. Interact. Food. Proc.*, **12**, 435-440.

Ngane, A.N., Biyiti, L., Bouchet, P., Nkengfack, A., Zollo, P.H.A. (2003) Antifungal activity of *Piper guineense* of Cameroon. *Fitoterapia*, **74**, 464-468.

Nisteswar, K., Kumar, K.A. (1980) Utilitarian values of medical-lore of Rampa Agency (A.P) in primary health care. *Sachitra Ayurved*, **19**, 210-211.

Nobre, M.O., Nascente, P.S., Meireles, M.C., Ferreira, L. (2002) Antifungal drugs for small and large animals. *Cienc. Rural*, **32**, 175-184.

Nogueira, M.J.C. (1983) *Fitoterapia popular e enfermagem comunitária*. São Paulo. Tese (Livre – Docência) – Escola de Enfermagem, USP, 257p.

Nogueira, J.C.R., Diniz, M.F.M., Lima, E.O. (2008) Atividade antimicrobiana *in vitro* de produtos vegetais em otite externa aguda. *Rev. Bras. Otorrinolaringol.*, **74**, 118-124.

Noldin, V.F., Cechinel Filho, V., Monache, F.D., Benassi, J. C., Christmann, I.L., Pedrosa, R.C., Yunes, R.A. (2003) Composição química e atividades biológicas das folhas de *Cynara scolymus* L. (alcachofra) cultivada no Brasil. *Quím. Nova*, **26**, 331-334.

Norton, S.A., Ruze, P. (1994) Kava dermopathy. *J. Amer. Acad. Dermatol.*, **31**, 89-97.

Noumi, E., Yomi, A. (2001) Medicinal plants used for intestinal diseases in Mbalmayo Region Central Province, Cameroon. *Fitoterapia*, **72**, 246-254.

Nunez, V., Castro, V., Murillo, R., Ponce-Soto, L.A., Merfort, I., Lomonte, B. (2005) Inhibitory effects of *Piper umbellatum* and *Piper peltatum* extracts towards myotoxic

phospholipases A2 from *Bothrops snakes* venoms: isolation of 4-nerolidylcatechol as active principle. *Phytochemistry*, **66**, 1017-1025.

Ochman H., Lawrence, G., Groisman, E. (2000) Lateral gene transfer and the nature of bacterial innovation. *Nature*, **405**, 299-304.

Oguntimein, B.O., Elakovich, S.D. (1991) Allelopathic activity of the essential oils of Nigerian medicinal plants. *Int. J. Pharmacog.*, **29**, 39-44.

O'Hara, M.J., Kinnard, W.J., Buckley, J.P. (1965) Preliminary characterization of aqueous extracts of *Piper methysticum* (Kava, Kawa kawa). *J. Pharm. Sci.*, **54**, 1021-1025.

Ohnishi, M., Utyama, I.K.A., Janene, S.M.A., Pereira, F. (2001) Feridas: cuidados e condutas. *Dissertação de Mestrado*. Universidade Estadual de Londrina.

Ohsumi, K., Ito, M., Ohmori, Y., Kishi, M., Katada, T., Riswan, S., Konishi, H. (1995) Anti-inflammatory activities of some traditional Indonesian crude drugs. *Natural Med.*, **49**, 472-474.

Oji, O. (1991) Use of *Piper guineense* in the protection of stored zea mays against the maize weevil. *Fitoterapia*, **62**, 179-182.

Oji, O., Madubuiké, F.N., Oji, P.O., Nwaigbo, L.C. (1992) Insecticidal activity of *Xylopiá aethiópica* and *Piper guineense* on the stored Bean beetle. *Fitoterapia*, **63**, 181-183.

Okada, Y., Tachibana, K., Miyauchi, N., Okuyama, T. (1998) Search for naturally occurring substances for prevention against the complications of diabetes, inhibitory effect on aldose reductase and platelet aggregation. *Proc. Int. Symp. Nat. Med.*, **36**, 28-30.

Okunade, A.L., Hufford, C.D., Clark, A.M., Lentz, D. (1997) Antimicrobial properties of the constituents of *Piper aduncum*. *Phytother. Res.*, **11**, 142-144.

Okuyama, T., Matsuda, M., Masuda, Y., Baba, M., Masubuchi, H., Adachi, M., Okada, Y., Hashimoto, T., Zou, L.B., Nishino, H. (1995) Studies on cancer bio-chemoprevention of natural resources. X. inhibitory effect of spices on TPA-enhanced 3H-choline incorporation in phospholipid of C3H10T1/2 cells and on TPA-induced ear edema. *Zhonghua Yaoxue Zazhi*, **47**, 421-430.

Oliveira, T.D., Ribeiro, M.C., Costa, I.L.L., Farias, F.S., Figueira, J.E.C. (2004) Estabelecimento de espécies vegetais em um *inselberg* granítico de mata atlântica. *Estudos de Biología*. **26**, 17-24.

Olsen, C.E., Tyagi, O.D., Boll, P.M., Hussaini, F.A., Parmar, V.S., Sharma, N.K., Taneja, P., Jain, S.C. (1993) An aristolactam from *Piper acutisleginum* and revision of the structures of piperolactam B and D. *Phytochemistry*, **33**, 518-520.

Ontengco, D.C., Dayap, L.A., Capal, T.V. (1995) Screening for the antibacterial activity of essential oils from some Philippine plants. *Acta Manilana*, **43**, 19-23.

Opdyke, D.L.J. (1976) Monographs on fragrance raw materials. *Cubeb* oil. *Food Cosmet. Toxicol.*, **14**, 729-730.

Opdyke, D.L.J. (1978) Monographs on fragrance raw materials. *Black pepper* oil. *Food Cosmet. Toxicol.*, **16**, 651-652.

Oriel, J.D. (1998) Gonorrhoea and the balsams. *Sex. Trans. Infect.*, **74**, 127.

Orjala, J., Wright, A.D., Rali, T., Sticher, O. (1993a) Aduncamide, a cytotoxic and antibacterial beta-phenylethylamine-derived amide from *Piper aduncum*. *Nat. Prod. Lett.*, **2**, 231-236.

Orjala, J., Wright, A.D., Erdelmeier, C.A.J., Sticher, O., Rali, T. (1993b) New monoterpene-substituted dihydrochalcones from *Piper aduncum*. *Helv. Chim. Acta*, **76**, 1481-1488.

Orjala, J., Erdelmeier, C.A.J., Wright, A.D., Rali, T., Sticher, O. (1993c) Two chromenes and a prenylated benzoic acid derivative from *Piper aduncum*. *Phytochemistry*, **34**, 813-818.

Orjala, J., Erdelmeier, C.A.J., Wright, A.D., Rali, T., Sticher, O. (1993d) Five new prenylated p-hydroxybenzoic acid derivatives with antimicrobial and molluscicidal activity from *Piper aduncum* leaves. *Planta Med.*, **59**, 546-551.

Orjala, J., Wright, A.D., Behrends, H., Folkers, G., Sticher, O., Ruegger, H., Rali, T. (1994) Cytotoxic and antibacterial dihydrochalcones from *Piper aduncum*. *J. Nat. Prod.*, **57**, 18-26.

Ortega, T., Carretero, M.E., Pascual, E., Villar, A.M., Chiriboga, X. (1996) Anti-inflammatory activity of ethanolic extracts of plants used in traditional medicine in Ecuador. *Phytother., Res.*, **10**, 121-122.

Otero, R., Fonnegra, R., Jimenez, S.L., Nunez, V., Evans, N., Alzate, S.P., Garcia, M.E., Saldarriaga, M., Valle, G.D., Osorio, R.G., Diaz, A., Valderrama, R., Duque, A., Velez, H.N. (2000) Snakebites and ethnobotany in the northwest region of Colombia. Part I: Traditional use of plants. *J. Ethnopharmacol.*, **71**, 493-504.

Otero, R., Nunez, V., Barona, J., Fonnegra, R., Jimenez, S.L., Osorio, R.G., Saldarriaga, M., Diaz, A. (2000) Snakebites and ethnobotany in the northwest region of Colombia. Part III: Neutralization of the haemorrhagic effect of bothrops atrox venom. *J. Ethnopharmacol.*, **73**, 233-241.

Ovesna, Z., Vachalkova, A., Horvathova, K. (2004) Taraxasterol and beta-sitosterol: new naturally compounds with chemoprotective/chemopreventive effects. *Neoplasma*, **51**, 407-414.

Özçelik, B., Orhan, I., Toker, G. (2006) Antiviral and Antimicrobial Assessment of Some Selected Flavonoids. *Z. Naturforsch.*, **61**, 632-638.

Padma, P.R.; Amonkar, A.J.; Bhide, S.V. (1989) Anticarcinogenic effect of Betel leaf extract against the mutagenicity of two tobacco-specific n-nitrosamines. *Mutagenesis*, **4**, 154-156.

- Padma, P.R.; Lalitha, V.S.; Amonkar, A.J.; Bhide, S.V. (1989) Anticarcinogenic effect of Betel leaf extract against *Tobacco carcinogens*. *Cancer Lett.*, **45**, 195-202.
- Padmaja, R., Arun, P.C., Prashanth, D., Deepak, M., Amit, A., Anjana, M. (2002) *Brine shrimp* lethality bioassay of selected Indian medicinal plants. *Fitoterapia*, **73**, 508-510.
- Palleroni, N.J. (1993) *Pseudomonas*, classification: a new case history in the taxonomy of gram-negative bacteria. *Antonie Leeuwenhoek*, **64**, 231-251.
- Panda, S., Kar, A. (2003) Water and ethanol extracts of *Piper nigrum* in regulating thyroid function and lipid peroxidation in mice. *Probe*, **41**, 479-482.
- Panico, A.m., Cardile, V., Garufi, F. (2005) Protective effect of *Capparis spinosa* on chondrocytes. *Life Sci.*, **30**, 2479-2488.
- Panthong, A., Kanjanapothi, D., Taylor, W.C. (1986) Ethnobotanical review of medicinal plants from Thai traditional books, Part 1: Plants with antiinflammatory, antiasthmatic and antihypertensive properties. *J. Ethnopharmacol.*, **18**, 213-228.
- Parmar, V.S., Sinha, R., Shakil, N.A., Tyagi, O.D., Boll, P.M., Wengel, A. (1993) An insecticidal amide from *Piper falconeri*. *Indian J. Chem.*, **32b**, 392-393.
- Parmar, V.S., Subhash, S.J., Kirpal, S.B., Rajni, J., Taneja, P., Jha, A., Tyagi, O.D., Prasad, A.K., Wengel, J., Olsen, C.E., Boll, P.M., (1997) Phytochemistry of the Genus *Piper*. *Phytochemistry*, **46**, 597-673.
- Parra, A.L., Yhebra, R.S., Sardinias, I.G., Buella, L.I. (2001) Comparative study of the assay of *Artemia salina* L. and the estimate of the Medium Lethal Dose (LD₅₀ value) in mice, to determine oral acute toxicity of plant extracts. *Phytomedicine*, **8**, 395-400.
- Passos, X.S., Santos, S.C., Ferri, P.H., Fernandes, O.F.L., Paula, T.F., Garcia, A.C.F., Silva, M.R.R. (2002) Atividade antifúngica de *Caryocar brasiliensis* (Caryocaraceae) sobre *Cryptococcus neoformans*. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, **35**, 623-627.
- Patel, R.S. (1979) Antioxidative role of Curry (*Murraya koenigi*) and Betel (*Piper betel*) leaves in ghee. *J. Food Sci. Technol.*, **16**, 158-160.
- Patra, A., Ghosh, A. (1974) Amides of *Piper chaba*. *Phytochemistry*, **13**, 2889-2890.
- Pauletti, P.M., Bolzani, V.S., Young, M.C.M. (2003) Constituintes químicos de *Arrabidaea samydoides* (BIGNONIACEAE). *Quím. Nova*, **26**, 641-643.
- Paviani, E.R., Stadnik, C.B., Heinek, I. (2004) Estudo da epidemiologia e perfil de sensibilidade da *Pseudomonas aeruginosa*. *Infarma*, **15**, 66-70.
- Pei, Y.Q. (1983) Depressant action of fructus piperis longi on the Central Nervous System. *Chung. J. Tsa. Chih.*, **3**, 17-22.
- Pei, S-J. (1985) Preliminary study of ethnobotany in xishuang banna, people's republic of China. *J. Ethnopharmacol.*, **13**, 121-137.

Pelczar JR., M.J., Chan, E.C.S., Krieg, N.R. (1996) *Microbiologia: conceitos e aplicações*. 2. ed., São Paulo: Makron Books do Brasil, 517 p.

Pepping, J. (1999) Kava: *Piper methysticum*. *Amer. J. Health Syst. Pharm.*, **56**, 957-960.

Pereda-Miranda, R., Bernard, C.B., Durst, T., Arnason, J.T., Sanchez-Vindas, P., Poveda, L., San Roman, L. (1997) Methyl 4-hydroxy-3-(3'-methyl-2'-butenyl)benzoate, major insecticidal principle from *Piper guanacastensis*. *J. Nat. Prod.*, **60**, 282-284.

Pereira, A.L., Pita, J.R. (2005) Alexander Fleming (1881-1955): da descoberta da penicilina (1928) ao Prémio Nobel (1945). *Rev. Fac. Letras de Coimbra/Portugal*, **6**, 129-151.

Pereira, J.D., Vieira, L.C., Langeloh, A. (2004) Estudo da atividade antiespasmodica de extrato hidroetanólico de *Piper regnellii* C.DC. sobre o jejuno isolado de rata. *Acta Farm. Bonaerense*, **23**, 311-314.

Perez, C., Anesini, C. (1994a) Antibacterial activity of alimentary plants against *Staphylococcus aureus* growth. *Amer. J. Chinese Med.*, **22**, 169-174.

Perez, C., Anesini, C. (1994b) Inhibition of *Pseudomonas aeruginosa* by Argentinean medicinal plants. *Fitoterapia*, **65**, 169-172.

Pessini, G.L., Dias Filho, B.P., Nakamura, C.V., Ferreira, A.G., Cortez, D.A.G. (2005) Neolignanans e análise do óleo essencial das folhas de *Piper regnellii* (Miq) C.DC. var. *pallescens* (C.DC.) Yunck. *Rev. Bras. Farmacog.*, **15**, 199-204.

Petelot, A. (1954) *Les plantes medicinales du Cambodge, du Laos et du Vietnam*. Vietnam: Archives des Recherches Agronomiques et Pastorales au Vietnam, v. 1, 23p.

Peugvicha, P., Thirawarapan, S.S., Temsiririrkkul, R., Watanabe, H., Prasain, J.K., Kadota, S. (1998) Hypoglycemic effect of the water extract of *Piper sarmentosum* in rats. *J. Ethnopharmacol.*, **60**, 27-32.

Pfeifer, C.C., Murphree, H.B., Goldstein, L. (1967) Effect of Kava in normal subjects and patients. *Ethnopharmacol. Search Psychoact. Drugs Proc. Symp.*, **19**, 155-161.

Phillipson, J.D. (2000) Phytochemistry and medical plants. *Phytochemistry*. **56**, 237-243.

Pickard, P.P., Cox, P.A. (1986) Use of derris as a fish poison in Guadalcanal, Solomon Islands. *Econ. Bot.*, **40**, 479-484.

Pieper, B., Caliri, M.H.L. (2003) Nontraditional wound care: a review of the evidence for the use of sugar, papaya/papain, and fatty acids. *Journal of WOCN.*, **30**, 175-183.

Pinheiro de Sousa, M., Rouquayrol, M.Z. (1974) Molluscicidal activity of plants from Northeast Brazil. *Rev. Brasil Pesq. Med. Biol.*, **7**, 389-394.

Pinto, A.C., Silva, D.H.S., Bolzani, V.S., Lopes, N.P., Rosângela de Almeida Epifanio, R.A. (2002). Produtos Naturais: atualidades, desafios e perspectivas *Quím. Nova*. **25**, 45-61.

Pittler, M.H., Ernst, E. (2000) Efficacy of Kava extract for treating anxiety: systematic review and meta-analysis. *J. Clin. Psychopharmacol.*, **20**, 84-89.

Piyachaturawat, P., Glinsukon, T., Peungvicha, P. (1982) Antifertility activity of an alkaloid from *Piper longum* and *Piper nigrum*. *Pharmacol.*, **3**, 25-28.

Poletti, N. A. A. (2000). O cuidado de enfermagem a pacientes com feridas crônicas. A busca de evidências para a prática. *Dissertação de Mestrado*. Universidade de São Paulo.

Prance, G.T. (1972) An Ethnobotanical comparison of four tribes of Amazonian Indians. *Acta Amazonica*, **2**, 7-27.

Prakash, A.O. (1984) Biological evaluation of some medicinal plant extracts for contraceptive efficacy. *Contraceptive Delivery Systems*, **5**, 9-10.

Pretto J.B., Cechienel-Filho, V., Noldin, V.F., Sartori, M.R.K., Isaias, D.E.B., Cruz, A.B. (2004) Antimicrobial activity of fractions and compounds *Calophyllum brasiliense* (Clusiaceae). *Z. Naturforsch*, **59**, 657-662.

Pretto J.B. (2005) Potencial antimicrobiano de extratos, frações e compostos puros obtidos de algumas plantas da flora catarinense *Dissertação de Mestrado*. Universidade do Vale do Itajaí. UNIVALE, SC. 74p.

Pring, B.G. (1982) Isolation and identification of amides from *Piper callosum*. synthesis of pipercollosine and pipercollosidine. *J. Chem. Soc. Perkin. Trans.*, **1**, 1493-1498

Projeto Ciência Hoje. Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência (SBPC) Disponível em URL: <http://www.cienciahoje.uol.com.br>. Acessado: em 04 de fevereiro de 2008.

Polysciences, Inc. (1993) *Buffer solution system for standardizing pH analyzers and electrolytes*. Manzone, A. M., *PATENT- USA* n. 5.227.305.

Pushpangadan, P., Atal, C.K. (1984) Ethno-medico-botanical investigations in Kerala i. some primitive tribals of Western Ghats and their herbal medicine. *J. Ethnofarmacol.*, **11**, 59-77.

Quisumbing, E. (1951) *Medicinal plants of the Philippines*. Dept. Agr. Nat. Resources, Manila: Tech. Bull., 16p.

Raffauf, R.F. (1996) *Plant Alkaloids: a guide to their discovery and distribution*. New York: Food Products Press, 279p.

Rageau, J. (1973) *Les plantes medicinales de la Nouvelle-Caledonie*. Paris: Trav. & Doc. De Lorstom, 233p.

Rahal, S.C., Bracarense, A.P.F.R.L., Tanaka, C.Y., Grillo, T.P., Leite, C.A.L. (2003) Utilização de própolis ou mel no tratamento de feridas limpas induzidas em ratos. *Arch. Veterinary Science*, **8**, 61-67.

- Rahalison, L., Hamburger, M., Hostettmann, K., Monod, M., Frenk, E. Gupta, M.P., Santana, A.I., Correa, M.D., Gonzalez, A.G. (1993) Screening for antifungal activity of Panamanian plants. *Int. J. Pharmacog.*, **31**, 68-76.
- Rahman, N.N.N.A., Furuta, T., Kkojima, S., Takane, K., Mohd, M.A. (1999) Antimalarial activity of extracts of Malaysian medicinal plants. *J. Ethnopharmacol.*, **64**, 249-254.
- Rahmani, M., Ismail, H.B.M., Ahmad, F., Manas, A.R. Sukari, M.A. (1992) Screening of tropical plants for the presence of bioactive compounds. *Pertanika*, **15**, 131-135.
- Rajesh, R., Sathiyarayanan, L., Arulmozhi, S., Jubie, S., Md, S. (2007) Effect of leaf galls of *Piper nigrum* Linn. against carageenan induced inflammation in albino rats. *J. Nat. Remedies*, **7**, 229-233.
- Ramirez, V.R., Mostacero, L.J., Garcia, A.E., Mejia, C.F., Pelaez, P.F., Medina, C.D., Miranda, C.H. (1988) *Vegetales empleados en medicina tradicional Norperuana*. Peru: Banco Agrario del Peru, 54p.
- Ramos, L.S., Da Silva, M.L., Luz, A.I.R., Zoghbi, M.G.B., Maia, J.G.S. (1986) Essential oil of *Piper marginatum*. *J. Nat. Prod.*, **49**, 712-714.
- Rao, S.S. (1977) *Folklore, ethnomedical, no scientific evidence*. Institute for research in reproduction, Indian council of medical research. Indian: Bombay Maharastra.
- Rao, A.R., Sinha, A., Selvan, R.S. (1985) Inhibitory action of *Piper betle* on the initiation of 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-induced mammary carcinogenesis in rats. *Cancer Lett.*, **26**, 207-214.
- Rasik, A.M., Raghubir. R., Gupta, A., Shukla, A., Dubey, M.P., Srivastava, S., Jain, H.K., Kulshrestha D. K. (1999). Healing potential of *Calotropis procera* on dermal wounds in Guinea pigs. *J. Ethnopharmacol.*, **68**, 261-266.
- Rashed, A.N., Afifi, F.V., Disi, A.M. (2003). Simple evaluation of the wound healing activity of a crude extract of *Portulaca oleracea* L. (growing in Jordan) in *Mus musculus* JVI-1. *J. Ethnopharmacol.*, **82**, 131-136.
- Razzack, H.M.A. (1980) *The concept of birth control in Unani medical literature*. India: Ministry of Health, 64p.
- Reddy, M.B., Reddy, K.R., Reddy, M.N. (1988) A survey of medicinal plants of Chenchu Tribes of Andhra Pradesh, India. *Int. J. Crude Drug Res.*, **26**, 189-196.
- Reddy, M.B., Reddy, K.R., Reddy, M.N. (1989) A survey of plant crude drugs of Anantapur District, Andhra Pradesh, India. *Int. J. Crude Drug Res.*, **27**, 145-155.
- Rege, N., Dahanukar, S., Karandikar, S.M. (1984) Hepatoprotective effects of *P. longum* against carbon tetrachloride induced liver damage. *Indian Drugs*, **21**, 569-580.
- Rege, N., Thatte, U.M., Dahanukar, S. (1999) Adaptogenic properties of six Rasayana herbs used in Ayurvedic medicine. *Phytother. Res.*, **13**, 275-291.

- Reiter, M., Brandt, W. (1985) Relaxant effects on tracheal and ileal smooth muscles of the Guinea pig. *Arzneim-Forsch*, **35**, 408-414.
- Reynolds, T., Dweck, A.C. (1999) *Aloe vera* leaf gel: a review update. *J. Ethnopharmacol.*, **68**, 3-37.
- Ribeiro, J.E.L.S. (1999) *Flora da reserva Ducke: guia de identificação das plantas vasculares de uma floresta da terra-firme na Amazônia Central*. Manaus: INPA, Ministério do Meio Ambiente, Brasil, 799p.
- Riditid, W., Rattanaprom, W., Thaina, P., Chittrakarn, S., Sunbhanich, M. (1998) Neuromuscular blocking activity of methanolic extract of *Piper sarmentosum* leaves in the rat phrenic nervehemidiaphragm preparation. *J. Ethnopharmacol.*, **61**, 135-142.
- Rios, J.L., Recio, M.C., Villar, A. (1988). Screening methods for natural products with antimicrobial activity: a review of the literature. *J. Ethnopharmacol.*, **23**, 127-149.
- Roig Y Mesa, J.T. (1945) *Plantas medicinales, aromaticas o venenosas de Cuba*. Havana: Ministerio de Agricultura, Republica de Cuba, 872p.
- Roming, T.L., Weber, N.D., Murray, B.K., North, J.A., Wood, S.G., Hughes, B.G., Cates, R.G. (1992) Antiviral activity of Panamanian plant extracts. *Phytother. Res.*, **6**, 38-43.
- Rose, J.E., Behm, F.M. (1994) Inhalation of vapor from Black pepper extract reduces smoking withdrawal symptoms. *Drug Alcohol Dep.*, **34**, 225-229.
- Rouquayrol, M.Z., Fonteles, M.C., Alencar, J.E., Matos, J.A., Craveiro, A.A. (1980) Molluscicidal activity of essential oils from Northeastern Brazilian plants. *Rev. Brasil Pesq. Med. Biol.*, **13**, 135-143.
- Roussis, V., Ampofo, S.A., Wiemer, D.F. (1990) A prenylated benzoic acid derivative from the leaves of *Piper taboganum*. *Phytochemistry*, **29**, 1787-1788.
- Rovira, I., Berkov, A., Parkinson, A., Tavakilian, G., Mori, S., Meurer-Grimes, B. (1999) Antimicrobial activity of neotropical wood and bark extracts. *Pharmaceutical. Biol.*, **37**, 208-215.
- Roys, R.L. (1931) *The ethnobotany of the Maya*. New Orleans: Dept. Middle Amer Res., Tulane Univ. of Louisiana, 356p.
- Ruiz, A.R., De La Torre, R.A., Alonso, N., Villaescusa, A., Betancourt, J., Vizoso, A. (1996) Screening of medicinal plants for induction of somatic segregation activity in *Aspergillus nidulans*. *J. Ethnopharmacol.*, **52**, 123-127.
- Ruiz A.L.T.G., Magalhães, E.G. Magalhães, A.F., Faria, A.D., Amaral, M.C.E., Serrano, D.R., Zanotti-Magalhães, E.M., Magalhães, L.A. (2005) Avaliação da atividade tóxica em *Artemia salina* e *Biomphalaria glabrata* de extratos de quatro espécies do gênero *Eleocharis* (Cyperaceae). *Braz. J. Pharmacog.*, **15**, 98-102.
- Russel A.D., Furr J.R. (1997) Methodology for antimicrobial test. *Journal Appl. Bacteriology*, **43**, 253.

- Russmann, S., Helbling, A. (2001a) Kava Hepatotoxicity. *Ann. Intern. Med.*, **135**, 68-69.
- Russmann, S., Escher, M., Stoller, R., Lauterburg, B.H. (2001b) hepatotoxicity of kava (*Piper methysticum*)-containing herbal drugs - recent cases in switzerland and investigations regarding the mechanism. *Arch. Pharmacol.*, **363**, 131.
- Ruze, P. (1990) Kava-induced dermopathy: a niacin deficiency? *Lancet.*, **335**, 1442-1445.
- Ryokknen, A., Kayhko, U.R., Mustonen, A.M., Kukkonen, J.V., Neeminen, P. (2005) Multigenerational exposure to phytosterols in the mouse. *Reprod. Toxicol.*, **19**, 535-540.
- Sader, H.S., Pignatari, A.C., Hollins, R.J., Leme, I., Jones, R.N. (1993) Oxacilin and quinolone resistant *Staphylococcus aureus* in São Paulo, Brazil: a multicenter molecular epidemiology study. *Infec. Control Hosp. Epidemiol.*, **14**, 260-264.
- Saha, K., Mukherjee, P.K., Das, P., Pal, M., Saha, P.B. (1997). Wound healing activity of *Leucas lavanderlaefolia* Rees. *J. Ethnopharmacol.*, **56**, 139-144.
- Sahu, T.R. (1984) Less known uses of weeds as Medicinal plants. *Ancient Sci. Life*, **3**, 245-249.
- Semenoff Segundo, A., Bosco, A.F., Maia, D., Ribeiro, R.V., Aguiar, E.B.H., Rocatto, G.E.G.D., Cirilo, D.M., Buzele, S.L., Vedove, T.A.D. (2007) Influência do Alo vera e própolis na contração de feridas no dorso de rato. *Periodontia*, **17**, 5-10.
- Sampaio, S.A., Rvitti, E.A. (2007) *Dermatologia*. 3. ed. Porto Alegre: Artmed. 1600p.
- Samuelson, A.B. (2000) The traditional uses, chemical constituents and biological activities of *Plantago major* L. A review. *J. Ethnopharmacol.*, **71**, 1-21.
- Samy, R.P., Ignacimuthu, S., Sen, A. (1998) Screening of 34 Indian medicinal plants for antibacterial properties. *J. Ethnopharmacol.*, **62**, 173-182.
- Sanchez, C. (1996) Screening of anamanian medicinal plants for *Brine shrimp* toxicity, Crown Gall tumor inhibition, cytotoxicity and DNA intercalation. *Int. J. Pharmacog.*, **34**, 19-27.
- Santhanam, G., Nagarajan, S. (1990) Wound healing activity of *Curcuma aromatica* and *Piper betle*. *Fitoterapia*, **61**, 458-459.
- Santos, H.R., Pinheiro, J.N., Alves, J.M.A. (1992) Germinação de sementes da Beldroega, *Portulaca oleraceae* em diferentes épocas de coleta. *Ciê. Agron. Fortaleza*, **23**, 109-112.
- Saravanan, R., Pugalendi, K.V. (2004) Effect of piper betel on blood glucose and lipid profiles in rats after chronic ethanol administration. *Pharmaceutical. Biol.*, **42**, 323-327.
- Sarkar, S., Azuine, M.A., Amonkar, A.J., Bhide, S.V. (1990) Anticarcinogenic properties of Betel leaf extract (ble) and its constituents against methylacetoxymethylnitrosamine - and benzo[a]pyrene-induced tumors. *Cancer Res. Inst.*, **115**, 141-149.

Sarkar, M., Gangopadhyay, P., Basak, B., Chakrabarty, K., Banerji, J., Adhikary, P., Chatterjee, A. (2000) The reversible antifertility effect of *Piper betle* Linn. on swiss albino male mice. *Contraception*, **62**, 271-274.

Sartori, M. R. K. (2005) Atividade antimicrobiana de frações de extratos e compostos puros obtidos das flores da *Acmelia brasiliensis* Spreng (Asteraceae) *Dissertação de Mestrado*. Universidade do Vale do Itajaí. UNIVALE, SC. 81p.

Schelosky, L., Raffauf, C., Jendroska, K., Poewe, W. (1995) Kava and dopamine antagonistism. *J. Neurol. Neurosurg. Psych.*, **58**, 639-640.

Schenkel, E.P., Gosman, G., Petrovick, P.R. (2004) Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos. In: Simões, C.M.O., Schenkel, E.P., Gosman, G., Mello, J.C.P., Mentz, L.A., Petrovick, P.R. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 5. ed., Porto Alegre: Ed. Univ./UFRGS/UFSC, 371-379p.

Schirato, G.V., Monteiro, F.M.F., Silva, F.O., Lima Filho, J.L., Leão, A.M.A.C., Porto, L.F. (2006) O polissacarídeo do *Anacardium occidentale* L. na fase inflamatória do processo cicatricial de lesões cutâneas. *Cienc. Rural*, **36**, 149-154.

Schmidt, P., Boehncke, W.H. (2000) Delayed-type hypersensitivity reaction to Kava-kava extract. *Contact. Dermatitis*, **42**, 363-364.

Schull, P. D. (1996). *Enfermagem Básica: teoria e prática*. São Paulo: Rideel, 78p.

Schultes, R.E. (1975) *De plantas toxicariis e mundo novo tropicale commentationes*. XII. Notes on biodynamic Piperaceous plants. Cambridge, USA: Rhodora, 165p.

Schultes, R.E. (1980) De plantas toxicariis e mundo novo tropicale commentation. XXVI. Ethnopharmacological notes on the flora of Northwestern South America. *Bot. Mus. Leaflet. Harv. Univ.*, **28**, 1-45.

Schultes, R.E., Raffauf, R.F. (1990) Field notes on curare constituents in the Northwest Amazonia. *Curare*, **13**, 105-120.

Schultes, R.E. (1993) Plants in treating senile dementia in the Northwest Amazon. *J. Ethnopharmacol.*, **38**, 129-135.

Schultes, R.E., Raffauf, R.F. (1994) De plantas toxicariis e mundo novo tropicale commentation. XXXIX. Febrifuges of Northwest Amazonia. *Harvard Pap. in Bot.*, **5**, 50-68.

Schulz, H., Jobert, M., Hubner, W.D. (1998) The quantitative eeg as a screening instrument to identify sedative effects of single doses of plant extracts in comparison with diazepam. *Hytomedicine*, **5**, 449-458.

Scott, M.P., Zappacosta, F., Kim, E.Y., Annan, R.S., Miller, W.T. (2002) Identification of novel SH3 domain ligands for the SRC family Kinase HCK: Wiskott-Aldrich Syndrome Protein (WASP), WASP-Interacting Protein (WIP), and ELMO1. *J. Biological Chemistry*, **277**, 238-246.

Seabrook, W.B. (1927) *Adventures in Arabia among the bedouins, druses, whirling dervishes & yezidee devil worshipers*. New York: Blue Ribbon Book, 105p.

Selvanayahgam, Z.E., Gnanevendhan, S.G., Balakrishna, K., Rao, R.B. (1994) Antisnake venom botanicals from ethnomedicine. *J. Herbs Spices Med. Plants*, **2**, 45-100.

Sen, S., Talukder, G., Sharma, A. (1987) Potentiation of Betel-induced alterations of mouse glandular stomach mucosa by Tobacco in studies simulating Betel addiction. *Int. J. Crude Drug Res.*, **25**, 209-215.

Sen, S., Talukder, G., Sharma, A. (1991) Betel cytotoxicity: further evidence from mouse bone Marrow cells. *Int. J. Pharmacog.*, **29**, 130-140.

Serafin, C., Nart, V., Malheiros, A., Cruz, A.B., Monache, F.D., Gette, M.A., Zacchino, S., Cechinel Filho, V. (2007) Avaliação do potencial antimicrobiano de *Plinia glomerata* (Myrtaceae). *Rev. Bras. Farmacog.*, **17**, 578-582.

Serdarevic, N., Echert, G.P., Muller, W.E. (2001) The effects of extracts from St. John's wort and Kava kava on brain neurotransmitter levels in the mouse. *Pharmacopsychiatry*, **34**, 134-136.

Setzer, W.N., Setzer, M.C., Bates, R.B., Nakkiew, P., Jackes, B.R., Chen, L.Q., Mc Ferrin, M.B., Meehan, E.J. (1999) Antibacterial hydroxycinnamic esters from *Piper caninum* from Paulma, North Queensland, Australia. The crystal and molecular structure of (+)-bornyl coumarate. *Planta Med.*, **65**, 747-749.

Shah, A.H., Al-Shareff, A.H., Ageel, A.M., Qureshi, S. (1998) Toxicity studies in mice of common spices, cinnamomum zeylanicum bark and *Piper longum* fruits. *Plant Foods Human Nutr.*, **52**, 231-239.

Saha, J.C. Savini, E.C., Kasinathan, S. (1961) Ecobolic properties of Indian medicinal plants. Part 1. *Indian J. Med. Res.*, **49**, 130-151.

Shashikanth, K.N., Hosono, A. (1986) In vitro mutagenicity of tropical spices to streptomycin dependent strains of *Salmonella typhimurium* TA 98. *Agr. Biol. Chem.*, **50**, 947-948.

Shanmugasundaram, E.R.B., Radah Shanmugasundar, K. (1986) An Indian herbal formula (SKY) for controlling voluntary ethanol intake in rats with chronic alcoholism. *J. Ethnopharmacol.*, **17**, 171-182.

Sheikh, M.V., Rizvi, I.H., Ahmed, I. (1992) Oesophageal carcinoma caused by Betel Nut. *J. Pak. Med. Ass.*, **42**, 145-146.

Sheu, F., Lai, H., Yen, G. (2001) Suppression effect of soy isoflavones on nitric oxide production in RAW 264.7 Macrophages. *J. Agric. Food Chem.*, **49**, 1767-1772.

Shilaskar, D.V., Parasar, G.C. (1985) Studies on effect of *Psoralea corylifolia* and *Piper betle* on cholinesterase and succinic dehydrogenase enzymes as possible targets of their anthelmintic action. *Indian Vet. J.*, **62**, 557-562.

Shimomura, H., Sashida, Y., Nakata, H. (1981) Plant growth regulating activities of crude drugs and medicinal plants. *Shoyakugaku Zasshi*, **35**, 173-179.

Shin, K.H., Woo, W.S. (1979) A survey of the response of medicinal plants on drug metabolism. *Nat Prod Res.*, **8**, 1-2.

Shin, K.H., Woo, W.S. (1980) A survey of the response of medicinal plants on drug metabolism. *Korean J. Pharmacog.*, **11**, 109-122.

Shitut, S., Pandit, Y., Mehta, B.K. (1999) The antimicrobial efficiency of *Piper betle* Linn leaf (stalk) against human pathogenic bacteria and phytopathogenic fungi. *Cent. Eur. J. Public. Health*, **7**, 137-139.

Shoeb, M., Jaspars, M., Macmanus, S.M., Celik, S., Nahar, L., Kong-Thoo-Lin, P., Sarker, S.D. (2007) Anti-colon cancer potential of phenolic compounds from the aerial parts of *Centaurea gigantea* (Asteraceae). *J. Nat. Med.*, **61**, 164-169.

Shoji, N., Umeyama, A., Saito, N., Takemoto, T., Kajiwara, A., Ohizumi, (1986) Dehydropiperonaline, an amide possessing coronary vasodilating activity, isolated from *Piper longum* L. *J. Pharm. Sci.*, **75**, 1188-1189.

Shukia, B., Khanna, N.K., Godhwani, J.L. (1987) Effect of brahmi rasayan on the central nervous system. *J. Ethnopharmacol.*, **21**, 65-74.

Shukla, A. Rasik, A. M.; Jain, G. K.; Shankar, R.; Kulshrestha, D. K.; Dhawan, B. N. (1999). *In vitro* and *in vivo* wound healing activity of asiaticoside isolated from *Centella asiatica*. *J. Ethnopharmacol.*, **65**, 1-11.

Siddiqui, N.A., Hasan, M.Z. (1981) Therapeutic response of Arab medicines in cases of Laquwa. *Bull. Islamic Med.*, **1**, 366-374.

Siddiqui, M.B., Husain, W. (1990) Traditional antidotes of snake poison. *Fitoterapia*, **61**, 41-44.

Siddiqui, M.B., Husain, W. (1994) Medicinal plants of wide use in India with special refernce to Sitapur District (Uttar Pradesh). *Fitoterapia*, **65**, 3-6.

Siddiqui, B.S., Gulzar, T., Begum, S., Afshan, F. (2004) Piptigrine, a new insecticidal amide from *Piper nigrum* Linn. *Nat. Prod. Res.*, **18**, 473-477.

Siegel, R.K. (1976) Herbal intoxication. psychoactive effects from herbal cigarettes, tea, and capsules. *J. Amer. Med. Ass.*, **236**, 473-476.

Silpasuwon, S. (1979) *Studies of the effects of some medicinal plants on growth of some bacteria in the family Enterobacteriaceae*. Thailand: Chiangmai Univ., 522p.

Silva, C.H.P.M. (1999). *Bacteriologia: um texto ilustrado*. Rio de Janeiro: Eventos, 1327p.

Silva, R.Z.D., Rios, E.M., Silva, M.Z., Leal, L.F., Yunes, R.A., Miguel, O.G., Cechinel Filho, V. (2002) Investigação Fitoquímica e Avaliação da Atividade Antibacteriana da *Mikania lanuginosa* DC. (Asteraceae) *Visão Acadêmica*, **3**, 59-64.

Silva, H.H.G., Silva, I.G., Santos, R.M.G., Rodrigues Filho, E., Elias, C.N. (2004) Atividade larvicida de taninos isolados de *Magonia pubescens* St. Hil. (Sapindaceae) sobre *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, **37**, 393-399.

Silva, M.T.G., Simas, S.M., Batista, T.G.F.M., Cardarelli, P., Tomassini, T.C.B. (2005) Studies on antimicrobial activity, in vitro, of *Physalis angulata* L. (Solonaceae) fraction and physalin B bringing out the importance of assay determination. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, **100**, 779-782.

Silva, P. (2006) *Farmacologia*. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1398p.

Silva, T.M.S., Nascimento, R.J.B., Batista, M.M., Agra, M.F., Câmara, C.A. (2007) Brine shrimp bioassay of some species of *Solanum* from Northeastern Brazil. *Rev. Bras. Farmacog.*, **17**, 35-38.

Simões, A.L.B., Martino, M.M.F. (2007) Variabilidade circadiana da temperatura oral, timpânica e axilar em adultos hospitalizados. *Rev. Esc. Enferm. USP*, **41**, 485-491.

Singh, A., Rao, A.R. (1993) Evaluation of the modulatory influence of Black pepper (*Piper nigrum*, L.) on the hepatic detoxication system. *Cancer Lett.*, **72**, 5-9.

Singh, K.K., Maheshwari, J.K. (1994) Traditional phytotherapy of some medicinal plants used by the Tharus of the Nainital District, Uttar Pradesh. *India.Int. J. Pharmacog.*, **32**, 51-58.

Singh, K.V., Pathak, R.K. (1984) Effect of leaves extracts of some higher plants on spore germination of *Ustilago maydes* and *Unuda*. *Fitoterapia*, **55**, 318-320.

Singh, M.P., Malla, S.B., Rajbhandari, S.B., Manandhar, A. (1979) Medicinal plants of nepal-retrospects and prospects. *Econ. Bot.*, **33**, 185-198.

Singh, Y.N. (1983) Effects of kava on neuromuscular transmission and muscle contractility. *J. Ethnopharmacol.*, **7**, 267-276.

Singh, Y.N., Ikahihifo, T., Panuve, M., Slatter, C. (1984) Folk medicine in Tonga. A study on the use of herbal medicines for obstetric and gynaecological conditions and disorders. *J. Ethnopharmacol.*, **12**, 305-329.

Singh, Y.N. (1986) Traditional medicine in Fiji: some herbal folk cures used by Fiji indians. *J. Ethnopharmacol.*, **15**, 57-88.

Singh, V.K., Ali, Z.A., Zaidi, S.T.H., Siddiqui, M.K. (1996a) ethnomedicinal uses of plants of Gonda District Forests of Uttar Pradesh, India. *Fitoterapia*, **67**, 129-139.

Singh, V.K., Ali, Z.A., Zaidi, S.T.H., Siddiqui, M.K. (1996b) ethnomedicines in the Bahraich District of Uttar Pradesh, India. *Fitoterapia*, **67**, 65-76.

Siqueira, J.M., Ziminiani, M.G., Resende, U.A., Boaventura, M.A.D. (2001) Estudo fitoquímico das cascas do caule de *Duguetia glabriuscula* – Annonaceae, biomonitorado pelo ensaio de toxicidade frente à *Artemia salina* Leach. *Rev. Bras. Farmacog.*, **24**, 185-187.

- Sircar, N.N. (1984) Pharmaco-therapeutics of Dasemani drugs. *Ancient Sci. Life*, **3**, 132-135.
- Solis, P.N., Wright, C.W., Anderson, M.M., Gupta, M.P., Phillipson, D. (1992) A microwell cytotoxicity using *Artemia salina* (Brine shrimp). *Planta Med.*, **59**, 250-252.
- Somanadhan, B., Varughese, G., Palpu, P., Sreedharan, R., Gudiksen, L., Smitt, U.W., Nyman, U. (1999) An ethnopharmacological survey for potential angiotensin converting enzyme inhibitors from Indian medicinal plants. *J. Ethnopharmacol.*, **65**, 103-112.
- Sosa, S., Balick, M.J., Arvigo, R., Esposito, R.G., Pizza, C., Altinier, G., Tubaro, A. (2002) Screening of the topical anti-inflammatory activity of some Central American plants. *J. Ethnopharmacol.*, **81**, 211-215.
- Spencer, A.P. (1991) *Anatomia Humana Básica*. 2. ed. São Paulo: Manole, 79p.
- Spillane, P.K., Fisher, D.A., Currie, B.J. (1997) Neurological manifestations of Kava intoxication. *Med. J. Aust.*, **167**, 172-173.
- Sridharan, K., Kalla, A.K., Singh, J. (1978) Chemical and Pharmacological screening of *Piper nigrum* L. leaves. *J. Res. Indian Med. Yoga Homeopathy*, **13**, 107-108.
- Srijayanta, S., Jones, P.M., Persaud, S., Lawrence, M.J., Raman, A. (1998) In-vitro screening of medicinal plants for potential antidiabetic effects. *J. Pharm. Pharmacol.*, **50**, 219.
- Srinivasan, M.R., Satyanarayana, M.N. (1981) Effect of Black pepper (*Piper nigrum* Linn) and piperine on growth, blood constituents and organ weight in rats. *Nutr. Rep. Int.*, **23**, 871-876.
- Srinivasan, K., Sambaiah, K. (1991) The effect of spices on cholesterol 7-alpha-hydroxylase activity and on serum and hepatic cholesterol levels in the rat. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.*, **61**, 364-369.
- Srivastava, J.B. (1970) Insecticide and larvicide activity in the extract of *Piper peepuloides* royle. *Indian J. Exp. Biol.*, **8**, 224-225.
- Statistical Package for Social Science (SPSS) (2002) versão 11.5-2002.
- Steenis-Kruseman, M.J. Van (1953) Select Indonesian medicinal plants. *Organiz Sci. Res. Indonesia Bull.*, **1**, 18.
- Stefanello, M.E.A., Salvador, M.J., Ito, I.Y., Macari, P.A.T. (2006) Avaliação da atividade antimicrobiana e citotóxica de extratos de *Gochnatia polymorpha* ssp. *floccosa*. *Rev. Bras. Farmacog.*, **16**, 525-530.
- Stehmann, J.R., Brandao, M.G.L. (1995) Medicinal plants of Lavras Novas (Minas Gerais, Brazil). *Fitoterapia*, **56**, 515-520.
- Steinberg, J.P., Clark, C.C.; Hackman, B.O. (1996) Nosocomial and community-acquired *Staphylococcus aureus* bacteremias from 1980 to 1993: impact of intravascular devices and methicillin resistance. *Clin Infect Dis*, **23**, 255-259.

Steiner, G.G. (2000) The correlation between cancer incidence and Kava consumption. *Hawaii Med. J.*, **59**, 420-422.

Sthor, J.R., Xiao, P.G., Bauer, R. (1999) Isobutylamides and a new methylbutylamide from *Piper sarmentosum*. *Planta Med.*, **65**, 175-177.

Stimson, W.R. (1971) Ethnobotanical notes from Puerto Rico. *Lloydia*, **34**, 165.

Stich, H.F., Stich, W., Parida, B.B. (1982) Elevated frequency of micronucleated cells in the buccal mucosa of individuals at high risk for oral cancer: Betel quid chewers. *Cancer Lett.*, **17**, 125-134.

Strahl, S., Ehret, Y., Dahm, H.H., Maier, J.P. (1998) Necrotizing hepatitis after taking herbal medication (extracts of Kava or of common or lesser celandine). *Dtsch. Med. Wochenschr.*, **123**, 1410-1414.

Su, H.C.F., Horvat, R. (1981) Isolation, identification and insecticidal properties of *Piper nigrum* amides. *J. Agr. Food Chem.*, **29**, 115-118.

Suh, M.J. (1976) Effects of condiments upon alpha-amylase activity. *Hanguk Yongyang Hakhoe Chi.*, **9**, 104.

Sukumar, K., Perich, M.J., Boobar, L.R. (1991) Botanical derivatives in mosquito control: a review. *J. American Mosq. Control Assoc.*, **7**, 210-237.

Takatsuki, S., Narui, T., Ekimoto, H., Abuki, H., Niijima, K., Okuyama, T. (1996) Studies on cytotoxic activity of animal and plant crude drugs. *Natural Med.*, **50**, 145-157.

Tamura, M., Hirayama, K., Itoh, K. (2003) Role of intestinal flora on the metabolism, absorption, and biological activity of dietary flavonoids. *Bioscience and Microflora* , **22**, 125-131.

Tatkon, M. (1976) The practice of a Jaipur midwife. *Ethnomedicine*, **2**, 59.

Tavares, O.S., Duarte, N.D. Cunha, S.O., Ascenso, J.R., Ferreira, M.J.U. (1995) Triterpenoids from *Euphorbia boetica*. *Fitoterapia*, **66**, 551-52.

Tavares, W. (1996) *Manual de Antibióticos e Quimioterápicos Antiinfeciosos*. 2. ed., São Paulo: Atheneu, 792p.

Tewari, P.V., Chaturvedi, C., Dixit, S.N. (1970) Antifertility effect of Betal leaf stalk (*Tambul patrabrint*): A preliminary experimental report. *J. Res. Indian Med.*, **4**, 143-150.

Tewari, S.N., Dath, A.P. (1984) Effect of leaf extract media of some plants on the growth of three fungal pathogens of rice. *Indian Phytopathol.*, **37**, 458-461.

Tewtrakul, S., Miyashiro, H., Nakamura, N., Hattori, M., Kawahata, T., Otake, T., Yoshinaga, T., Fujiwara, T., Supavita, T., Yuenyongsawad, S., Rattanasuwon, P., Dej Adisai, S. (2003) HIV-1 integrase inhibitory substances from *Coleus parvifolius*. *Phytother. Res.*, **17**, 232-239.

Thompson, L. (1941) Guam and its people. American council. New York: Inst. Pacific Relations, 367p.

Thompson, R., Ruch, W., Hasenohrl, R.U. (2004) Enhanced cognitive performance and cheerful mood by standardized extracts of *Piper methysticum* (Kava-kava). *Human Psychopharmacol. Clin. Exp.*, **19**, 243-250.

Tipsrisukond, N., Fernando, L.N., Clarke, A.D. (1996) Antioxidant effects of essential oil and oleoresin of Black pepper from supercritical carbon dioxide extractions inground pork. *J. Agr. Food Chem.*, **46**, 4329-4333.

Tiwari, K.C., Majumder, R., Bhattacharjee, S. (1979) Folklore medicines from Assam and Arunachal Pradesh (District Tirap). *Int. J. Crude Drug Res.*, **17**, 61-67.

To-A-Nun, C., Sommart, T., Rakvidhyasastra, V. (1985) Effect of some medicinal plants and spices on growth of *Aspergillus*. *11Th Conference of science and technology of Thailand*, Oct. 24-26, 364-365.

Tomás-Barberán, F.A., Msonthi, J.D., Hostettmann, K. (1988) Antifungal epicuticular methylated flavonoids from *Helichrysum nitens*. *Phytochemistry*, **27**, 753-755.

Tomazzoni M.I., Negrelle R.R.B., Centa, M.L. (2006) Fitoterapia popular: a busca instrumental enquanto prática terapêutica. *Texto Contexto Enferm.*, **15**, 115-121.

Torres-Santos, E.C., Moreira, D.L., Kaplan, A.M.C., Meirelles, M.N., Rossi-Bergmann, B. (1999) Selective effect of 2',6'-dihydroxy-4'-methoxychalcone isolated from *Piper aduncum* on *Leishmania amazonensis*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **43**, 1234-1241.

Tortora, G.J., Funke, B.R., Case, C.L. (2001) *Microbiology: an introduction*. 7. ed. New York: Addison Wesley Longman, Inc., 886p.

Trabulsi, L.R., Alterthum, F., Gompertz, O.F., Candeias, J.A.N. (1999) *Microbiologia*. 3. ed. São Paulo: Atheneu, 586p.

Trillini, B., Velasquez, E.R., Pellegrino, R. (1996) Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Piper angustifolium*. *Planta Med.*, **62**, 372-373.

Trovão, D.M.B.M., Silva, S.C., Silva, A.B., Vieira Jr., R.L. (2004) Estudo comparativo entre três fisionomias de Caatinga no estado da Paraíba e análise do uso das espécies vegetais pelo homem nas áreas de estudo. *Rev. Biol. Ciênc. Terra*, **4**, 2.

Udoh, F.V., Akpan, J.O., Ufaruna, N. (1996) Effect of extract of leaf and seed of *Piper guineense* on some smooth muscle activity in rat, guinea-pig and rabbit. *Phytother. Res.*, **10**, 596-599.

Udoh, F.V., Lot, T.Y., Braide, V.B. (1999) Effects of extracts of seed and leaf of *Piper guineense* on skeletal muscle activity in rat and frog. *Phytother. Res.*, **13**, 106-110.

Udoh, F.V. (1999) Uterine muscle reactivity to repeated administration and phytochemistry of the leaf and seed extracts of *Piper guineense*. *Phytother. Res.*, **13**, 55-58.

Ueda, N., Wada, K., Hino, J., Ito, M., Yamashita, J., Sasaki, K., Anno, T., Sawada, H., Haga, M. (1999) Effects of spices on glutathione S-transferase activity in mice. *Natural Med.*, **53**, 46-48.

Unnikrishnan, M.C., Kuttan, R. (1988) Cytotoxicity of extracts of spices to cultured cells. *Nutr. Cancer*, **11**, 251-257.

Upadhyay, S.D., Kansal, C.M., Pandey, N.N. (1982) Clinical evaluation of pippali (*Piper longum*) Kshira Paka on patients of bronchial asthma - a preliminary study. *Nagarjun*, **25**, 256-258.

Vaijayanthimala, J., Anandi, C., Udhaya, V., Pugalendi, K.V. (2000) Anticandidal activity of certain South Indian medicinal plants. *Phytother. Res.*, **14**, 207-209.

Val, I.C.C., Almeida Filho, G.L. (2001) Abordagem atual da candidíase vulvovaginal. *J. Bras. Doenças Sex. Transm.*, **13**, 3-5.

Vale, N.B. (2002) A farmacobotânica, ainda tem lugar na moderna anestesiologia? *Rev. Bras. Anesthesiol.*, **52**, 368-380.

Valle, J. R. (1978). *A Farmacologia no Brasil, Antecedentes e Perspectivas*. São Paulo: Academia de Ciências do Estado de São Paulo, 322p.

Van Den Berg, M.A. (1984) Ver-o-Peso: the ethnobotany of an amazonian market. *Bronx*, **1**, 140-149.

Van Puyvelde, L., Geysen, D., Ayobangira, F.X., Hakizamungu, E., Nshimiyimana, A., Kalisa, A. (1985) Screening of medicinal plants of Rwanda for acaricidal activity. *J. Ethnopharmacol.*, **13**, 209-215.

Vasconcelos, K.P., Tomé, A.R., Pereira, B.S., Nunes-Pinheiro, D.C.S. (2007) Avaliação dos unguentos à base de extratos hexânico ou etanólico das folhas de *Momordica charantia* L. sobre as lesões cutâneas experimentais em coelhos. *Acta Scientiae Veterinariae*, **35**, 59-65.

Vasileva, B. (1969) *Plantes medicinales de Guinee*. Conakry, Republique de Guinee: Univ. Moscow, 20p.

Vazquez-Olivencia, W., Shah, P., Pitchumoni, C.S. (1992) The effect of red and Black pepper on orocecal transit time. *J. Amer. Coll. Nutr.*, **11**, 228-231.

Vedavathy, S., Rao, K.N., Rajaiah, M., Nagaraju, N. (1991) Folklore information from Rayalaseema Region, Andhra Pradesh for family planning and birth control. *Int. J. Pharmacog.*, **29**, 113-116.

Velazco, E.A. (1980) Herbal and traditional practices related to maternal and child health care. *Rural Reconstruction Review*, **2**, 35-39.

Venkatraghavan, S., Sundaresan, T.P. (1981) A short note on contraceptive in Ayurveda. *J. Sci. Res. Pl. Med.*, **2**, 39.

- Viegas Jr., C., Bolzani, V.S., Barreiro, E.J. (2006) Os produtos naturais e a química medicinal moderna. *Quím. Nova*, **29**, 326-337.
- Virtuoso, S., Davet, A., Dias, J.F.G., Cunico, M.M., Miguel, M.D., Oliveira, A.B., Miguel, O.G. (2005) Estudo preliminar da atividade antibacteriana das cascas de *Erythrina velutina* Willd., Fabaceae (Leguminosae) *Rev. Bras. Farmacog.*, **15**, 137-142.
- Volak, J., Stodola, J. (1990) *Plantas Mediciniais*. São Paulo: Ed. Inquérito. 319p.
- Volpato, A.M.M., Rios, E.M., Miguel, M.D., Sander, P.C., Miguel, O.G. (2001) Investigação da atividade antibacteriana de *Calendula officinalis* L. (Asteraceae) *Rev. Visão Acadêmica*, **2**, 7-10.
- Volz, H.P., Kieser, M. (1997) Kava-kava extract WS 1490 versus placebo in anxiety disorders-a randomized placebo-controlled 25-week outpatient trial. *Pharmacopsychiatry*, **30**, 1-5.
- Wang, C.K., Wu, M.J. (1996) The separation of phenolics from *Piper betle* leaf and the effect on the mutagenicity of arecoline. *Zhongguo Nongye Huaxue Huizhi*, **34**, 638-647.
- Wang, C.K., Peng, C.H. (1996) The mutagenicities of alkaloids and n-nitrosoguvacoline from Betel quid. *Mutat. Res.*, **360**, 165-171.
- Wang, X., Yin, X.R.B.S, King, S.R.D.M., Grammas, S.P. (2008) Inhibition of Thromboxane A Synthase Activity Enhances Steroidogenesis and Steroidogenic Acute Regulatory Gene Expression in MA-10 Mouse Leydig Cells. *Endocrinology*, **149**, 851-857.
- Warnecke, G., Pfaender, H., Gerster, G., Gracza, E. (1990) Wirksamkeit von Kawa-kawa extrakt beim klimakterischen syndrom. *Z. Phytother*, **11**, 81-86.
- Wasuwat, S. (1967) *A list of Thai medicinal plants*. Thailand: ASRCT, 122p.
- Watt, J.M., Breyer-Brandwijk, M.G. (1962) *The medicinal and poisonous plants of Southern and Eastern Africa*. 2. ed., London: Livingstone Ltd., 574p.
- Wei, K., Li, W., Koike, K., Pei, Y.P., Chen, Y.J., Nikaido, T. (2004) New amide alkaloids from the roots of *Piper nigrum*. *J. Nat. Prod.*, **67**, 1005-1009.
- Weniger, B., Rouzier, M., Daguilh, R., Henrys, D., Henrys, J.H., Anton, R. (1986) Popular medicine of the central plateau of Haiti 2. Ethnopharmacological Inventory. *J. Ethnopharmacol.*, **17**, 13-30.
- Whipple, A. O. (1961). História da cirurgia In: *Christopher Davis, Clínica cirúrgica*. Loyal Davis. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 480p.
- Whistler, W.A. (1985) Traditional and herbal medicine in the cook Islands. *J. Ethnopharmacol.*, **13**, 239-280.

Witte, S., Loew, D., Gaus, W. (2005) Meta-Analysis of the efficacy of the acetonetic Kava-kava extract WS 1490 in patients with non-psychotic anxiety disorders. *Phytother. Res.*, **19**, 183-188.

Womersley, J.S. (1974) *Botanical validification in medicinal plant investigations*. New Caledonia: Report Regional Med. Plants, 117p.

Woo, W.S., Shin, K.H., Kim, I.C. (1978) The effects of irritating spices on drug metabolizing enzyme activity. effects on hexobarbital hypnosis in mice. *Korean J. Pharmacog.*, **8**, 115-119.

Woo, W.S., Shin, K.H., Kim, I.C., Lee, C.K. (1978) A survey of the response of Korean medicinal plants on drug metabolism. *Arch Pharm. Res.*, **1**, 13-19.

Woo, W.S., Lee, E.B., Han, B.H. (1979) Biological evaluation of Korean medicinal plants. III. *Arch. Pharm. Res.*, **2**, 127-131.

Woo, W.S., Lee, E.B., Shin, K.H., Kang, S.S., Chi, H.J. (1981) A review of research on plants for fertility regulation in Korea. *Korean J. Pharmacog.*, **12**, 153-170.

Woode, K.A., Addae-Mensah, I., Kufuor, F.A. (1985) *X-Ray structural studies on constituents of African medicinal plants*. Carolina, USA: Chapel Hill, 209p.

Wright, J.L., Mcinnes, A.G., Shimizu, S., Smith, D.G., Walter, J.A., Idler, D., Khalil, W. (1978) *Can. J. Chem.*, **56**, 1898.

Wu, Q.L., Wang, S.P., Tu, G.Z., Feng, Y.X., Yang, J.S. (1997) Alkaloids from *Piper puberullum*. *Phytochemistry*, **44**, 727-730.

Wu, D., Nair, M.G., Dewitt, D.L. (2002) Novel compounds from *Piper methysticum* Forst (Kava kava) roots and their effect on cyclooxygenase enzyme. *J. Agr. Food Chem.*, **50**, 701-705.

Yaguishita, N. (2007) Avaliação da cicatrização induzida pela membrana de celulose porosa depois da retirada total da pele em dorso de ratos. *J. Vasc. Bras.*, **6**, 193-194.

Yang, Y.C., Lee, S.G., Lee, H.K, Kim, M.K., Lee, S.H., Lee, H.L. (2002) A piperidine amide extracted from *Piper longum* L. fruit shows activity against *Aedes aegypti* mosquito larvae. *J. Agr. Food Chem.*, **50**, 3765-3767.

Yarnell, E. (1997) *Botanical medicine for cystitis*. Sedona, USA: Altern Complement, 275p.

Yasukawa, K., Yamaguchi, A., Arita, J., Sakurai, S., Ikeda, A., Takido, M. (1993) Inhibitory effect of edible plant extracts on 12-o-tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced ear oedema in mice. *Phytother. Res.*, **7**, 185-189.

Yen, Mao-Hsumg, Wu, E.S.C. (2004) Chromones and chromone derivates and uses thereof. *PATENT-USA* n. 037.193.

- Yuncker, T. G. (1972) The Piperaceae of Brazil, I. *Piper* - Group I, II, III, IV. *Hoehnea*, **2**, 19-366.
- Yuncker, T. G. (1973) The Piperaceae of Brazil, II: *Piper* - Group V, *Ottonia*; *Pothomorphe*; *Sarcorchachis*. *Hoehnea*, **3**, 29-284.
- Yunes, R.A., Pedrosa, R.C., Cechinel-Filho, V. (2001) Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. *Quím. Nova*, **24**, 147-152.
- Zamora-Martinez, M.C., Pola, C.N.P. (1992) Medicinal plants used in some rural populations of Oaxaca, Puebla and Veracruz, Mexico. *J. Ethnopharmacol.*, **35**, 229-257.
- Zanetti, G.D., Manfron, M.P., Hoelzel, S.C.S.M., Pagli, V.P., Morel, A.F. (2003) Toxicidade aguda e atividade antibacteriana dos extratos de *Tropaeolum majus* L. *Acta Farm. Bonaerense*, **22**, 159-162.
- Zampini, I.C., Vattuone, M.A., Isla, M.I. (2005) Antimicrobial activity of *Zuccagnia punctata* Cav. Ethanolic extracts. *J. Ethnopharmacol.*, **102**, 450-456.
- Zhang, S.X., Chen, K., Liu, X.J., Zhang, D.C., Tao-Wiedmann, T.W., Leu, S.L., Mc Phail, A.T., Lee, K.H. (1995) The isolation and structural elucidation of three new neolignans, puberulins A, B, and C, as platelet activating factor receptor antagonists from *Piper puberulum*. *J. Nat. Prod.*, **58**, 540-547.
- Zou, L., Harkey, M.R., Henderson, G.L., Dike, L.E. (2004) Kava does not display metabolic toxicity in a homogenous cellular assay. *Planta Med.*, **70**, 289-292.

8. Anexos

ANEXO I
PROTOCOLO DE AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA/CLÍNICA DAS LESÕES

Código do animal: _____

Data: _____

Critérios		1°	3°	6°	9°	12°	15°
DPO							
1. Peso							
2. Temperatura							
3. Diâmetro da lesão							
4. Tecido de granulação	Sim (S)						
	Não (N)						
5. Necrose	Sim (S)						
	Não (N)						
6. Inflamação	Sim (S)						
	Não (N)						
5. Cor da Lesão	Vermelho (V)						
	Rosa (R)						
	Marrom (M)						
	Amarelo (A)						

ANEXO II

PROTOCOLO DE AVALIAÇÃO MICROSCÓPICA/MICROBIOLÓGICO DAS LESÕES

Código do Animal: _____

Dias	CRESCIMENTO MICROBIANO	
	<i>S. aureus</i> () <i>C. albicans</i> ()	Outros
3° DPO	Presente ()	Presente ()
	Ausente ()	Ausente ()
9° DPO	Presente ()	Presente ()
	Ausente ()	Ausente ()
15° DPO	Presente ()	Presente ()
	Ausente ()	Ausente ()

OBS: 1- Colocar data nos DPO.

ANEXO III

PROTOCOLO DE AVALIAÇÃO MICROSCÓPICA/HISTOPATOLÓGICA DAS LESÕES

Código do animal: _____ Data da biópsia: _____

Critérios:

1- Grau de epitelização:

- sem epitelização / +
- discreta epitelização / ++
- moderada epitelização / +++
- epitelização completa / ++++

2- Intensidade da reação inflamatória:

- ausente / +
- discreta / ++
- moderada / +++
- intensa / ++++

3-Tipo de reação inflamatória e célula predominante:

- aguda (neutrófilo)
- crônica (linfócito)
- agudo-crônica/ sem predomínio de neutrófilo ou de linfócito.

4- Presença de rede de fibrina:

- ausente / +
- discreto / ++
- moderado / +++
- intenso / ++++

5- Presença de tecido de granulação/ neovascularização:

- ausente / +
- discreto / ++
- moderado / +++
- intenso / ++++

6- Presença de fibras colágenas:

- presente
- ausente