



UEA – UNIVERSIDADE DO ESTADO DO AMAZONAS
MESTRADO EM BIOTECNOLOGIA E RECURSOS
NATURAIS DA AMAZÔNIA

STEPHANIE OLIVEIRA QUIÑÓNEZ DIAZ

EFEITO *IN VITRO* DE EXTRATOS DE SEMENTES DE PLANTAS
DA AMAZÔNIA SOBRE *STREPTOCOCCUS MUTANS*

MANAUS
ESTADO DO AMAZONAS – BRASIL
AGOSTO - 2009



UEA – UNIVERSIDADE DO ESTADO DO AMAZONAS
MESTRADO EM BIOTECNOLOGIA E RECURSOS
NATURAIS DA AMAZÔNIA

EFEITO *IN VITRO* DE EXTRATOS DE SEMENTES DE
PLANTAS DA AMAZÔNIA SOBRE *STREPTOCOCCUS MUTANS*

STEPHANIE OLIVEIRA QUIÑÓNEZ DIAZ

Orientador: Prof. Dr. Luiz Antonio de Oliveira.

Co-orientador: Prof. Dr. Arlem Nascimento de Oliveira

Dissertação apresentada à Universidade
do Estado do Amazonas para a obtenção
do título de Mestre em Biotecnologia
e Recursos Naturais da Amazônia.
Área de concentração: Biotecnologia.

MANAUS
ESTADO DO AMAZONAS – BRASIL
AGOSTO – 2009

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual do Amazonas (UEA) e INPA pela estrutura física e o apoio acadêmico para a realização do trabalho e à FAPEAM pela bolsa de estudo.

Ao Professor Luiz Antonio de Oliveira, meu orientador, toda a gratidão pelo espaço de trabalho e conhecimentos cedidos.

Agradeço também ao Doutor Luiz Augusto Gomes por ter cedido as sementes e estar sempre disposto a ajudar, e ao Doutor Arlem de Oliveira do Nascimento pela constante ajuda com estatística, formatação de texto e opiniões.

Agradeço a todos que em algum momento do projeto dispuseram-se a me ajudar. Pessoas sem vínculo algum com o projeto, mas que mesmo assim cederam o seu conhecimento. Uma dessas pessoas é o Professor de Bioquímica do Mestrado; Jorge Luis Lopez Lozano, que me amparou com seus conhecimentos de Fitoquímica e as suas sempre brilhantes idéias.

A todos meus amigos que contribuíram de maneira direta ou indireta para a conclusão de mais essa etapa de minha vida.

Companheiro e amigo, meu marido sempre esteve otimista, deixando-me mais forte para ultrapassar as dificuldades encontradas no caminho. Deixo para ele um obrigada em especial, por ter superado comigo essas barreiras e por acreditar que no final tudo daria certo. À toda minha família que mesmo longe sempre torceu por mim, em especial à minha mãe e meu pai.

RESUMO

A cárie é uma doença bucal que atinge mais de 50% da população brasileira. O microrganismo pioneiro da cárie é o *Streptococcus mutans*. O controle químico da placa dental pode ser feito de forma profilática ou terapêutica, utilizando produtos de origem vegetal, com a vantagem de possuírem menor taxa de efeitos colaterais, mesma qualidade e eficácia, quando comparados aos sintéticos. Foram selecionadas sementes de 32 espécies vegetais, a maioria de acordo com a disponibilidade no Banco de Germoplasmas de Leguminosas e também não leguminosas do INPA (Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia). Algumas espécies não são nativas da Amazônia, mas se adaptaram muito bem a região. Os extratos das sementes foram testados quanto à capacidade de inibirem o crescimento do *Streptococcus mutans* em meio de cultura contendo peptona de soja, bem como em removerem a placa dental usando-se dentes extraídos de seres humanos. Foi utilizado como controle positivo em todos os testes, a clorexidina, antimicrobiano mais utilizado e eficaz na odontologia. Os extratos das sementes das seguintes espécies apresentaram halos de inibição contra o *S. mutans*, comportando-se como a clorexidina diluída a 0,2%, 0,1% e 0,05%: *Solanum sessiliflorum* (cubiu), *Cariniana micrantha* (castanha-de-macaco), *Hymenaea courbaril* (jatobá), *Zygia cauliflora* (jarandeuca), *Mucuna urens* (pó-de-mico), *Parkia pendula* (visgueiro), e *Ricinus communis* (mamona). O *Abelmoschus esculentus* (quiabo), *Basella rubra* (bertalha), *Cichorium intybus* (chicória), *Cucumis melo* (melão), *Enterolobium schomburgkii* (sucupira-amarela), *Persea americana* (abacate), *Terminalia catappa* (sete-copas) e *Vigna unguiculata* (feijão-caupi), apresentaram somente halos de estímulo de crescimento do *S. mutans*. As espécies a seguir apresentaram halos de inibição e de estímulo de crescimento do *S. mutans*: *Solanum sessiliflorum* (cubiu), *Ricinus communis* (mamona), e *Psophocarpus tetragonolobus* (feijão-de-asa), *Cariniana micrantha* (castanha-de-macaco), *Hymenaea courbaril* (jatobá), *Parkia pendula* (visgueiro), *Mucuna urens* (pó-de-mico), *Zygia cauliflora* (jarandeuca), *Cucumis sativus* (pepino), *Ormosia excelsa* (tento-amarelo), *Eugenia stipitata* (araçá-boi), *Vigna unguiculata* (feijão-de-metro), *Buchenavia huberi* (tanibuca), *Dinizia excelsa* (angelim-pedra), *Morinda citrifolia* (noni), *Peltogyne paniculata* (roxinho) e *Swartzia laevicarpa* (saboarana), *Acosmium nitens* (taboarana), *Campsiandra comosa* (acapurana), *Schizolobium amazonicum* (paricá), *Leucaena leucocephala* (leucena), *Artocarpus heterophyllus* (jaca) e *Parkia multijuga* (pinho-cuiabano). Os extratos das sementes das espécies a seguir, apresentaram remoção significativa do biofilme dental: *Solanum sessiliflorum* (cubiu), *Cariniana micrantha* (castanha-de-macaco), *Hymenaea courbaril* (jatobá), *Zygia cauliflora* (jarandeuca) e *Mucuna urens* (pó-de-mico), com remoções superiores a $41,6 \cdot 10^7$ células. Os extratos das sementes de *Parkia pendula* (visgueiro), *Ricinus communis* (mamona), *Cucumis sativus* (pepino) e *Ormosia excelsa* (tento-amarelo) removeram entre $37,6$ a $39,6 \cdot 10^7$ células. Esses resultados permitiram traçar um perfil de espécies, dentre as 32, para possível futuro uso em odontologia.

Palavras-chave: Plantas odontálgicas, placa dental

ABSTRACT

Dental caries is an oral disease that affects more than 50% of the Brazilian population. *Streptococcus mutans* is the leading cause of dental caries (tooth decay). The chemical control of dental plaque can be done as a prophylactic or therapeutic treatment, using products of plant origin, with the advantage of having lower rate of side effects, while delivering same quality and efficiency, when compared to synthetics. Seeds of 32 plant species were selected, most in accordance with their availability on the Germplasm Bank of legumes and non-legumes at the National Institute for Research in the Amazon (INPA), in Brazil. Some species are not native to the Amazon forest, but they are well adapted well in the region. The seed extracts were tested for their ability to inhibit the growth of *Streptococcus mutans* in culture media containing soya peptone, as well as to remove dental plaque by using extracted teeth from humans. The chlorhexidine, the most used and effective antimicrobial in dentistry, was used as positive control in all tests. The seeds extracts of the following species have presented halos of *S. mutans* microorganism growth inhibition, behaving like chlorhexidine diluted to 0.2%, 0.1% and 0.05%: *Solanum sessiliflorum* (cocona), *Cariniana micrantha* (brown capuchin monkey), *Hymenaea courbaril* (locust tree), *Zygia cauliflora* (jarandeu), *Mucuna urens* (cow-icht plant), *Parkia pendula* (acacia male) and *Ricinus communis* (castor bean - extracts of green and mature seeds). The *Abelmoschus esculentus* (ochro), *Basella rubra* (malabar nightshade), *Cichorium intybus* (chicory), *Cucumis melo* (melon), *Enterolobium schomburgkii* (earpod wood), *Persea americana* (avocado), *Terminalia catappa* (olive bark tree), and *Vigna unguiculata* (asparagus bean var. A), showed only halos of *S. mutans* growth stimulation. The following species showed halos of *S. mutans* growth inhibition and stimulation: *Solanum sessiliflorum* (cocona), *Ricinus communis* (castor bean), and *Psophocarpus tetragonolobus* (winged bean), *Cariniana micrantha* (brown capuchin monkey), *Hymenaea courbaril* (locust tree), *Parkia pendula* (acacia male), *Mucuna urens* (cow-icht plant), *Zygia cauliflora* (jarandeu), *Cucumis sativus* (cucumber), *Ormosia excelsa* (horse-eye bean), *Eugenia stipitata* (araza), *Vigna unguiculata* (asparagus bean var. B), *Buchenavia huberi* (tanibuca), *Dinizia excelsa* (angelim-pedra), *Morinda citrifolia* (indian mulberry), *Peltogyne paniculata* (purple heart), *Swartzia laevicarpa* (saboarana), *Acosmium nitens* (taboarana), *Campsiandra comosa* (acapurana), *Schizolobium amazonicum* (paricá), *Leucaena leucocephala* (wild tamarind), *Artocarpus heterophyllus* (jackfruit) and *Parkia multijuga* (pinho-cuiabano). The seeds extracts of the following species showed significant removal of dental biofilm: *Solanum sessiliflorum* (cocona), *Cariniana micrantha* (brown capuchin monkey), *Hymenaea courbaril* (locust tree), *Zygia cauliflora* (jarandeu) and *Mucuna urens* (cow-icht plant), removing more than $41,6 \cdot 10^7$ cells. Seeds extracts of *Parkia pendula* (acacia male), *Ricinus communis* (castor bean), *Cucumis sativus* (cucumber) and *Ormosia excelsa* (tento-amarelo) removed between $37,6- 39,6 \cdot 10^7$ cells. The results allowed drawing a profile of species, among the 32, for possible future use in dentistry.

Key-words: Odontalgic plants, dental plaque.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fórmula estrutural da clorexidina	19
Figura 2 - Principais vias do metabolismo secundário e suas ligações	23
Figura 3 - Esquema geral para obtenção de extratos por rotaevaporador diretamente da planta	53
Figura 4 - Ilustração do método de riscagem de bactéria para avaliação da sobrevivência do <i>S. mutans</i> na presença dos extratos vegetais, proposto por Oliveira & Magalhães (1999)	59
Figura 5 - Escala para avaliação da sobrevivência do <i>S. mutans</i> na presença dos extratos vegetais	59
Figura 6 - Halos de inibição e de estímulo do crescimento da espécie <i>Zygia cauliflora</i> , provenientes da ação do extrato aquoso obtido por embebição sobre o <i>S. mutans</i>	63
Figura 7 – Número de células/mL (Log 10) e notas obtidas nos testes de riscagem	72

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Espécies nativas da Amazônia	49
Tabela 2 - Espécies exóticas presentes na Amazônia	49
Tabela 3 - Síntese de dados dos extratos rotaevaporados	54
Tabela 4 - Síntese de dados dos extratos por embebição	56
Tabela 5 - Halos de inibição provenientes da ação do propilenoglicol e dos extratos de sementes de três espécies vegetais obtidos por rotaevaporação sobre o <i>S. mutans</i>	62
Tabela 6 - Halo de inibição e de estímulo de crescimento do <i>S. mutans</i> provenientes da ação da clorexidina e dos extratos de sementes de diferentes espécies vegetais	65
Tabela 7 - Notas da sobrevivência do <i>Streptococcus mutans</i> nos extratos vegetais e população estimada	73
Tabela 8 - Remoção de <i>S. mutans</i> da superfície dental por extratos de sementes	79

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	3
RESUMO	4
ABSTRACT	5
LISTA DE FIGURAS	6
LISTA DE TABELAS	7
1 INTRODUÇÃO	10
2 OBJETIVOS	11
2.1 Geral	11
2.2 Específicos	11
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
3.1 O uso da fitoterapia na odontologia	11
3.2 Placa bacteriana ou biofilme dental	14
3.3 Cárie dental	15
3.4 Microbiota oral e <i>Streptococcus mutans</i>	15
3.5 Clorexidina	17
3.5.1 Descrição e propriedades da clorexidina	18
3.5.2 Mecanismo de ação da clorexidina	18
3.5.3 Características e benefícios	19
3.5.4 Uso da clorexidina	20
3.5.5 Efeitos colaterais	20
3.6 Metabólitos secundários de plantas	21
3.6.1 Metabólitos secundários de sementes	26
3.7 Principais componentes ativos encontrados nas famílias das espécies vegetais utilizadas para a obtenção dos extratos	28
3.7.1 Família Fabaceae	29
3.7.2 Família Moraceae	31
3.7.3 Família Myrtaceae	32
3.7.4 Família Lecythidaceae	36
3.7.5 Família Combretaceae	37
3.7.6 Família Rubiaceae	39
3.7.7 Família Lauraceae	41
3.7.8 Família Basellaceae	41
3.7.9 Família Cucurbitaceae	43
3.7.10 Família Solanaceae	44
3.7.11 Família Asteraceae	45
3.7.12 Família Malvaceae	46
3.7.13 Família Euphorbiaceae	47

4 MATERIAL E MÉTODOS	48
4.1 Seleção das espécies vegetais	48
4.2 Fitoquímica – obtenção dos extratos vegetais	50
4.3 Crescimento do <i>Streptococcus mutans</i>	56
4.4 Análise microbiológica	57
4.5 Avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos sobre o <i>Streptococcus mutans</i> através da difusão em disco	57
4.6 Avaliação de sobrevivência do <i>Streptococcus mutans</i> na presença dos extratos vegetais	58
4.7 Teste de diluição para avaliar o número de células/mL	59
4.8 Avaliação da remoção do biofilme dental pelos extratos	61
5 ANÁLISE ESTATÍSTICA	61
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO	62
6.1 Avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos sobre o <i>Streptococcus mutans</i> através da difusão em disco	62
6.2 Avaliação de sobrevivência do <i>Streptococcus mutans</i> na presença dos extratos vegetais	71
6.3 Avaliação da remoção do biofilme dental pelos extratos	77
7 CONCLUSÕES	85
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	86
ANEXOS	108

1. INTRODUÇÃO

A cavidade bucal dos humanos suporta uma microbiota complexa, que reflete a diversidade dos habitats e dos ecossistemas ali localizados, compondo uma rede dinâmica de mais de 500 espécies de microrganismos, entre bactérias, fungos, protozoários e micoplasmas (Loeshe, 1986). Diferentes locais na cavidade bucal são colonizados por populações distintas de bactérias. Os estreptococos do grupo *mutans* (particularmente o *Streptococcus mutans* e *Streptococcus sobrinus*) têm sido fortemente implicados como microrganismos causadores de cárie dental (Hamada & Slade, 1980). A presença de sacarose é essencial para o acúmulo desses estreptococos sobre os dentes e para o início da cárie. Devido à sua associação com a cárie, uma avaliação do número destes estreptococos no biofilme dentário e na saliva pode ser útil como auxiliar no diagnóstico de cárie (Tinoco, 2005).

Dentre as enfermidades da cavidade bucal, as que mais atenção despertam aos profissionais dos serviços de Saúde Pública e ao clínico geral da rede privada são a cárie dentária e as doenças periodontais (doenças relacionadas ao tecido gengival e de suporte dos dentes). As condições de saúde bucal dos brasileiros continuam insatisfatórias (Buffon, 2005). A cárie é uma doença bucal que atinge mais de 50% da população brasileira (OMS, 2003). Com exceção do relevante declínio observado no número médio de cavidades de cárie na idade de 12 anos, o ataque cariogênico ainda é muito intenso nas outras faixas etárias, o que gera um maciço acúmulo de dentes com necessidades restauradoras não atendidas (Buffon, 2005).

A remoção do biofilme dental é um fator importante na prevenção da cárie e das doenças periodontais que acometem o periodonto (gengiva, ligamento periodontal, cemento radicular e osso alveolar). Frente às limitações dos métodos mecânicos de higiene, agentes antimicrobianos são estudados no controle do biofilme. O controle químico da placa pode ser feito de forma profilática ou terapêutica. No primeiro caso, evita-se a ocorrência de um desequilíbrio da microbiota, quando os métodos mecânicos são ineficientes. O terapêutico diz respeito a indivíduos que já apresentam uma microbiota desequilibrada, visando atingir as bactérias predominantes relacionadas com as doenças, objetivando o reequilíbrio da microbiota e sua harmonia com o hospedeiro (Cury, 1997). Em face do exposto, diversas substâncias têm sido utilizadas, por meio de enxágüe bucal, na redução da microbiota cariogênica (Jardim *et al.*, 1998). Alguns

produtos de origem vegetal são utilizados na higiene oral com a vantagem de possuírem menor taxa de efeitos colaterais quando comparados a produtos sintéticos (Moran *et al.*, 1992). Assim, com o estudo científico do uso de determinadas plantas nas doenças bucais, a odontologia poderá beneficiar a população ao aplicar a fitoterapia para solucionar problemas rotineiros no consultório odontológico, ou até mesmo torná-los produtos de uso diário.

2. OBJETIVOS

Geral

- Avaliar o efeito *in vitro* de extratos de sementes de plantas da Amazônia sobre o *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Específicos

- Avaliar a sobrevivência do *S. mutans* na presença dos extratos das sementes.
- Avaliar a ação removedora do biofilme bacteriano pelos extratos das sementes.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 O uso da fitoterapia na odontologia

Apesar da produção de novos antibióticos ter aumentado nas últimas três décadas, a resistência microbiana a essas drogas também aumentou. Em geral, as bactérias têm a habilidade genética de adquirir e transmitir resistência às drogas utilizadas como agentes terapêuticos. Assim, o uso de extratos vegetais e fitoquímicos de conhecida atividade antimicrobiana podem adquirir significado nos tratamentos terapêuticos (Loguercio *et al.*, 2005). Testes antimicrobianos *in vitro* permitem a seleção de extratos brutos de plantas com propriedades potenciais de uso em estudos químicos e farmacológicos (Pinto *et al.*, 2000).

As plantas medicinais compõem o arsenal terapêutico desde tempos remotos. O fato de recorrer às suas virtudes curativas retrata um dos primeiros esforços do homem para decifrar e utilizar a natureza em seu benefício direto, sendo uma resposta ao mais antigo desafio vencer a doença e, acima de tudo, a morte. Todas as civilizações, em

momentos históricos diversos desenvolveram, além da habilidade do cultivo de plantas para alimentação, a capacidade de pesquisar e armazenar conhecimentos sobre suas propriedades terapêuticas. Conhecimentos estes, que foram transmitidos de geração em geração por via formal e informal, persistindo até os dias atuais. É provável que a medicina herbária chinesa tenha uma história de quatro mil anos, sendo as primeiras publicações sobre o assunto datado do século 400AC. As civilizações Egípcia, Grega e Romana também acumularam conhecimentos empíricos que foram transmitidos principalmente pelos árabes aos herdeiros europeus dessas civilizações. Dentre esses conhecimentos, se destaca a capacidade dos egípcios em utilizar o ópio obtido da papoula há mais de 4000 anos antes de se conhecer o processo de isolamento da morfina, ocorrido somente no século XIX. Um conjunto de tratados, conhecido como *Corpus Hipocraticum* (460-377 AC), onde para cada enfermidade era descrito um remédio vegetal a ser utilizado, foi contribuição dos gregos. Nos séculos XVII e XVIII aconteceram as primeiras identificações de princípios ativos. Algumas substâncias importantes foram decifradas neste período, tais como a vitamina C, isolada a partir da casca do limão e usada para combater o escorbuto; o quinino extraído da árvore *Chinchona officinales*, utilizada para combater a febre e posteriormente a malária; o ácido acetilsalicílico, a partir da casca do salgueiro; a vitamina B, a partir da casca do arroz; a atropina a partir da beladona; a cocaína a partir da coca; a pilorcapina do jaborandi brasileiro; os digitais da dedaleira, entre outros (Tinoco, 2005).

Muitos trabalhos corroboram para as indicações de plantas medicinais para tratamento de afecções bucais. Utiliza-se uma mistura do suco do tronco da bananeira (*Musa sapienten* Linn) com água, para o combate às aftas. Indicava-se também, o decocto (fervura em água) da casca do cajueiro (*Anacardium occidentale* Linn). Os óleos do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) e do cravo (*Eugenia caryophyllata* T.) são indicados para odontalgias, devendo ser aplicados com o auxílio de uma pelota de algodão sobre o dente dolorido. O cajueiro (*Anacardium occidentale* Linn) também é indicado para o tratamento da inflamação gengival, assim como a aroeira (*Hura crepitans*) (Ferreira *et al.*, 2005). O pó da madeira do pau-brasil (*Caesalpinia echinata* Lam) é aconselhado para o fortalecimento gengival, assim como as folhas da mangueira (*Mangifera indica* Linn), no caso de ulcerações bucais. Outros estudos demonstram que a romã (*Punica granatum* Linn) possui atividade antimicrobiana sobre *Streptococcus*

mutans, microrganismo de extrema importância no início do processo cariioso, além de ser usada contra gengivite e feridas bucais, por sua ação antisséptica e antiinflamatória. A romã é bastante utilizada para tratar processos inflamatórios na região da orofaringe, sendo essa a sua principal indicação na cultura popular.

Na cultura popular, a romã (*Punica granatum* Linn), a malva do reino (*Malva parviflora*) e a malva corama (*Malva viscosa*) foram apontadas para cuidar de processos inflamatórios da orofaringe. As plantas medicinais mais indicadas, de acordo com a bibliografia consultada foram *Punica granatum* L., *Althaea officinalis* L., *Salvia officinalis* L., *Calendula officinalis* L., *Malva sylvestris* L., *Plantago major* L. e *Punica granatum* (Oliveira *et al.*, 2007). O óleo de *Melaleuca alternifolia*, uma mirtácea australiana, demonstrou efetividade *in vitro* contra muitas cepas de estreptococos orais, sendo que da *Camelia sinenses* é extraído um polifenol (sunfenon), que apresenta efeito inibitório sobre glucanos insolúveis produzidos pela glicosiltransferase dos *S.mutans* e *S. sobrinus*. O extrato aquoso de alho mostrou inibição da síntese de proteínas, de ácidos nucleicos e de lipídeos de *Candida albicans*, apresentando potente efeito fungicida (Adetumbi *et al.*,1986).

Com base no uso e conhecimento popular, o importante crescimento mundial da fitoterapia dentro de programas preventivos e curativos tem estimulado a avaliação da atividade de diferentes extratos de plantas para o controle da placa bacteriana (biofilme dental). Diversos estudos têm demonstrado que a placa bacteriana (biofilme dental) é considerada o fator etiológico primário pelo início e desenvolvimento do processo cariioso e de doenças periodontais, justificando, dessa maneira, a utilização de medidas para o seu controle. Mesmo assim, os programas ofertados à população carente dificilmente atingem os objetivos em sua plenitude, uma vez que desvinculam os componentes sociais na incidência da cárie e doença periodontal, uma vez que a maior parte da população brasileira não possui condições financeiras para aquisição periódica dos produtos para o controle bacteriano, quer sejam mecânicos ou químicos, fazendo com que o perfil epidemiológico brasileiro seja desastroso. Dessa maneira, com a placa bacteriana não sendo adequadamente controlada, instala-se um processo de contínua destruição, comprometendo a entidade dentoperiodontal e contribuindo para a diminuição da longevidade dos dentes. Esse fato justifica a intensificação das medidas

de prevenção da cárie e da doença periodontal baseadas no controle da placa supragengival através de meios químicos e mecânicos (Buffon, 2005).

3.2 Placa bacteriana ou biofilme dental

A placa é constituída de microrganismos (70-80%), polissacarídeos, células epiteliais descamadas, enzimas, sais minerais, glicoproteínas salivares, proteínas, pigmentos e restos alimentares. A placa bacteriana é definida como um biofilme de microrganismos, contidos em matriz orgânica formada por substâncias da saliva e da dieta do hospedeiro e por polímeros bacterianos. A formação do biofilme ocorre através de uma fixação e proliferação de bactérias sobre as superfícies dos dentes; a aderência bacteriana à película adquirida representa um dos primeiros mecanismos envolvidos na iniciação do desenvolvimento do biofilme dental. Devido à sua conduta contínua de agressão, o biofilme dental, em cada etapa do seu desenvolvimento, vai adquirindo novas espécies, dentre essas *Streptococcus mitis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus sobrinus* e *Lactobacillus casei*, que com suas patogenicidades, irão provocar danos ao esmalte e tecido gengival. A remoção mecânica do biofilme é um fator importante na prevenção da cárie e doença periodontal. No entanto, existem dificuldades na remoção feita pelo próprio paciente. Por se tratar de uma associação organizada, proliferante, enzimaticamente ativa, capaz de se aderir à superfície dos dentes, ocasionando alterações patológicas na cavidade bucal, é indicada sua remoção tão logo quanto possível (Pereira *et al.*, 2006). A placa bacteriana constitui, indiscutivelmente, o fator etiológico principal para a cárie dentária e das doenças periodontais e, portanto, todos os esforços devem ser despendidos com a finalidade da sua remoção ou do seu controle.

A colonização microbiana não é um processo passivo e requer aderência da bactéria à superfície. A adesão inicial ocorre através da película adquirida, por meio de receptores que estabelecem ligações específicas com adesinas da superfície bacteriana. Entende-se por película adquirida uma camada acelular que se deposita no esmalte superficial dos dentes, tendo como principais constituintes, componentes originários da saliva e do fluido gengival, como proteínas, glicoproteínas e lipídios, além de componentes bacterianos, como as glicosiltransferases. Por esse processo de

especificidade, as bactérias com pouca ou nenhuma afinidade à película são eliminadas pelo fluxo salivar. Assim, as interações bactéria/película são de suma importância nos estádios iniciais de formação do biofilme dental. Após a colonização inicial, ocorre o crescimento rápido dos colonizadores. Através de relações interbacterianas, como co-agregação, produção de bacteriocinas e interações nutricionais, ocorre o aumento da diversidade microbiana até atingir uma comunidade clímax em duas ou três semanas. Neste contexto, os dentes oferecem condições ideais para colonização e desenvolvimento microbiano, pois são superfícies não renováveis e, em alguns locais, propícios ao acúmulo bacteriano (Nyvad *et al.*, 1995).

3.3 Cárie dental

Dentre as enfermidades da cavidade bucal, as que mais atenção despertam aos profissionais dos serviços de Saúde Pública e ao clínico geral da rede privada são a cárie dentária e a doença periodontal. A presença de microrganismos patogênicos na superfície dental é um dos fatores predisponentes para o desenvolvimento da cárie dental, doença crônica infectocontagiosa, com alta prevalência no ser humano. Sua etiologia apresenta caráter multifatorial, sendo os hábitos de vida e a infecção bacteriana os fatores mais importantes. Ela caracteriza-se pela desintegração molecular localizada e progressiva das estruturas dentais resultante da estagnação da placa dental e da ação dos ácidos orgânicos produzidos pelas bactérias por meio da fermentação de carboidratos da alimentação.

A cárie dental é uma infecção microbiana dos tecidos calcificados dos dentes, um processo dinâmico caracterizado por perda mineral, que ocorre sempre que o equilíbrio entre a superfície dentária e o fluido da placa é alterado, como resultado da metabolização de carboidratos fermentáveis pelos microrganismos (Tinoco, 2005).

3.4 Microbiota oral e *Streptococcus mutans*

A microbiota oral é um ecossistema complexo que contém uma ampla variedade de espécies microbianas. Essa microflora apresenta, entre bactérias e fungos, mais de 500 espécies microbianas conhecidas e espécies de organismos não-cultiváveis, que estão sendo identificados por técnicas de biologia molecular, sendo que as espécies cultiváveis representam menos que 1% do total da população existente. Muitas dessas

espécies são consideradas comensais e um pequeno número, patógenos oportunistas. Doenças locais como cárie dental, gengivite e periodontite, têm servido de fonte para muitas investigações da microbiota oral. Essas doenças estão associadas com as mudanças da densidade bacteriana local e sua composição. Como na cavidade oral há vários sítios com diferentes condições ambientais, isso proporciona o desenvolvimento dos diferentes microrganismos (Wilson *et al.*, 1997). A capacidade que um microrganismo tem em causar doença é afetada pela composição microbiana do local onde ele está, sendo que sua aderência provoca a liberação de vários mediadores inflamatórios nos tecidos moles resultando na destruição do tecido hospedeiro (Anibal, 2007).

A complexidade da comunidade bacteriana presente na placa dental dificulta a determinação de um único agente bacteriano de cárie. Entretanto, há evidências consideráveis de que os *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus casei* estão envolvidos no início e na progressão da cárie, respectivamente. Esses dois grupos bacterianos são capazes de metabolizar rapidamente os carboidratos em ácidos, principalmente ácido láctico, além de tolerar o baixo pH ambiental. Estudos longitudinais demonstraram que a iniciação da cárie em esmalte é precedida pelo aumento no número de *S. mutans*. O aumento no número do *Lactobacillus* somente é significativo após a cavitação da superfície. Ressalta-se que lesões podem ter início mesmo na ausência de *S. mutans* e de *Lactobacillus*, uma vez que espécies como *Actinomyces* spp., *S. mitis*, *Veillonella* spp. e *Candida* spp. também têm sido associados à cárie de esmalte. O fato de que o *Streptococcus mutans* constitui a principal porção da microbiota envolvida nos mais variados processos cariogênicos já está firmemente consolidado na comunidade acadêmica. Esses *Streptococcus* formam um grupo composto por sete espécies (*S. cricetus*, *S. downei*, *S. ferus*, *S. macacae*, *S. sobrius* e *S. rattus*), as quais reúnem diferentes fatores de virulência para o desenvolvimento da cárie dental, como acidogenicidade e aciduricidade, capacidade de adesão e acúmulo nas superfícies dentárias, síntese de polissacarídeos intra (armazenamento de substratos) e extracelulares solúveis e insolúveis em água, além da produção de bacteriocinas, que podem facilitar sua colonização. O *Streptococcus mutans* e o *S. sobrinus* são consideradas as principais bactérias a iniciar o processo da cárie, sendo que o *S. mutans* é a espécie mais frequentemente isolada na cavidade oral (biofilme dental, lesões

cariosas e saliva), seguida pelo *S. sobrinus*. A microbiota associada à cárie radicular também é complexa. Em pH neutro, *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus* são fracamente competitivos, constituindo, assim, uma pequena percentagem da comunidade total da placa bacteriana. Com o aumento frequente de carboidratos fermentáveis, haverá uma constante diminuição no pH da placa, com conseqüente diminuição na proporção de bactérias acidossensíveis (*S. sanguinis*, *S. oralis* e *S. mitis*) e aumento de bactérias acidogênicas e acidúricas, favorecendo o desenvolvimento e a progressão da doença (Anibal, 2007).

Muitas cepas de *Streptococcus mutans* já foram isoladas da cavidade oral, sendo ele considerado o principal agente etiológico do desenvolvimento da cárie, tanto em humanos como em animais. Foi descrito pela primeira vez por JK Clark em 1924, depois de ter sido isolado de uma lesão de cárie, mas não houve interesse nesse microrganismo até a década de 60, quando as pesquisas sobre cárie começaram (Whiley *et al.*, 1998). Para aderir à superfície dos dentes na placa dental, *S. mutans* produz várias proteínas extracelulares ou enzimas, como as proteínas de ancoramento, além da síntese de glucanos extracelulares da sacarose através da enzima glicosiltransferase (GTF). Os glucanos promovem o acúmulo dos estreptococos cariogênicos (e outros microrganismos orais) na superfície do dente, sendo um fator crítico para a formação e estrutura integral do biofilme, com o acúmulo de ácidos que levam à desmineralização do esmalte dos dentes (Anibal, 2007).

3.5 Clorexidina

No final da década de 40, a Clorexidina foi criada por cientistas que procuravam um agente para curar a malária. Alguns anos depois, em 1950, foi descoberta sua verdadeira utilização, um poderoso anti-séptico de amplo espectro no controle de bactérias Gram-positivas, Gram-negativas e fungos. Em 1983 foi considerada como substância essencial pelo órgão máximo de saúde internacional filiado à ONU, o WHO (World Health Organization ou OMS – Organização Mundial de Saúde) e passou a ser um produto de primeira escolha. A Clorexidina possui duas principais formas de atuação, proveniente de dois tipos de sais: como digluconato, é um antimicrobiano de características desinfetantes e sanitizantes. Eficaz contra *Salmonella spp.*, *Listeria spp.*, *Clostridium spp.*, *E. coli*, *Staphylococcus spp.* e *Pseudomonas spp.* Como Dicloridrato,

age por contato na parede do intestino, recuperando e estabilizando a integridade da flora intestinal para melhorar a absorção de nutrientes e proporcionar melhor desempenho produtivo.

3.5.1 Descrição e propriedades da clorexidina

A Clorexidina é um composto sintético derivado de uma bis-biguanida que pelas suas características apresenta um alto nível de atividade, própria dos antimicrobianos de alto padrão, sem, no entanto, ter os efeitos secundários que a maioria apresenta. Em função desse grau de atividade, pequenas concentrações de sais de Clorexidina são geralmente suficientes para inibir o processo reprodutivo ou exterminar a maioria das espécies bacterianas, além do que, sendo praticamente isenta de toxicidade e efeitos corrosivos, proporciona extrema segurança no seu emprego. A Clorexidina mostrou ser ativa em baixas concentrações contra um grande número de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, aeróbicas e anaeróbicas e fungos. As concentrações mínimas inibitórias (MIC) situam-se bem abaixo de 4% o que faz da Clorexidina um dos biocidas de melhor rendimento e total segurança. Sua toxicidade conforme a DL 50 é de 1.800 mg/kg/dia (peso corporal) o que a torna praticamente atóxica, além de não ser poluente, não exalar gases e não irritar a pele e as mucosas. Atua rapidamente, esterilizando no tempo médio de 30 segundos a 5 minutos, dependendo da concentração e do tipo de microrganismo a exterminar, sendo que a ação bactericida é mais rápida do que a fungicida. Dispensa a prática de “rodízio”, pois comprovadamente, por relatos nacionais e internacionais, não permite o desenvolvimento, por parte dos microrganismos, dos mecanismos de resistência, mesmo com aplicação intermitente. Por não ser volátil, permite que as soluções esterilizantes sejam preparadas previamente, mantendo-se ativas por até sete dias, desde que protegidas da luz (Zanatta *et al.*, 2007).

3.5.2 Mecanismo de ação da clorexidina

O modo de ação da Clorexidina se caracteriza por uma rápida absorção por parte das células bacterianas, resultando numa série de modificações citológicas que afetam sua permeabilidade e suas propriedades óticas. Davies (1973) avaliando o efeito da Clorexidina sobre a *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, resumiu o mecanismo de ação do Cloridrato de Clorexidina, sob a seguinte forma: 1. Absorção do produto pela

superfície da bactéria; 2. Deterioração da barreira de permeabilidade, o que facilita a entrada do produto no citoplasma; 3. Precipitação do citoplasma (o que por si só é letal) e ainda, impedindo a reconstituição da parede celular e da membrana citoplasmática; 4. Sua atuação no trato intestinal por contato, evitando o espessamento da mucosa, faz com que os nutrientes sejam melhor absorvidos. Uma parede intestinal mais fina implica num tecido mais saudável, com menor número de organismos que produzem toxina; 5. Mantendo a integridade e regulando a flora intestinal, que nas aves e suínos tem um papel significativo na digestão, é uma das razões da melhora do metabolismo protéico. Sua fórmula é a seguinte:

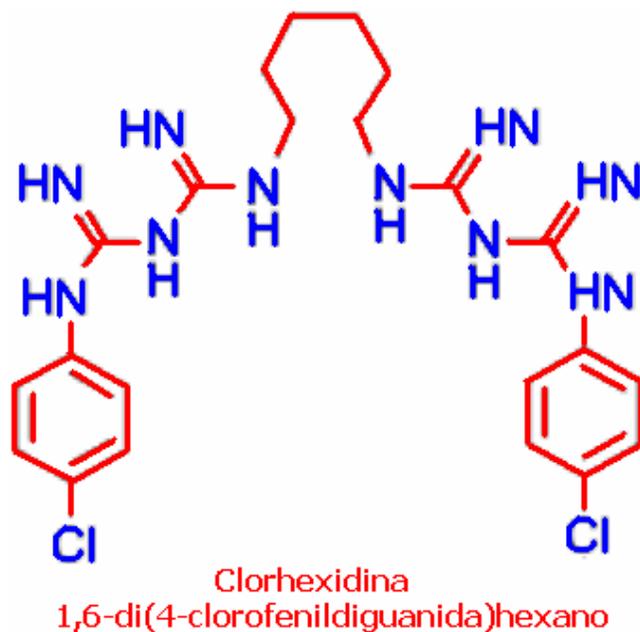


Figura 1 – Fórmula estrutural da clorexidina

3.5.3 Características e benefícios

Efeito residual - a Lactona, um dos componentes do Digluconato de Clorexidina, confere a aderência da substância às superfícies e mantém sua atividade residual por período prolongado, não permitindo sua volatilização. Não é corrosiva - não ataca aço comum, aço inoxidável, alumínio, latão, cobre, borracha sintética ou natural, mármore, azulejo, cerâmica, plásticos, madeira, pintura, etc., preservando os equipamentos. Não irrita a pele dos manipuladores em caso de contato com o concentrado. Não é volátil - a

solução de Digluconato de Clorexidina, quando aplicada em superfícies ou ambientes, permanece ativa por tempo prolongado, dada as características da molécula de não se volatilizar em contato com o ar e não exala gases tóxicos durante o preparo ou uso na desinfecção. Desta forma a clorexidina proporciona alto grau de segurança, mantendo sua ação antimicrobiana por tempo prolongado no ambiente tratado. Inodoro e incolor - pode ser usada em ambientes e equipamentos onde estejam sendo produzidos, manipulados ou armazenados produtos alimentícios, ou outros sem o risco de contaminação por odores e alteração de aspecto. Não é poluente - é biodegradável. É segura para o meio ambiente por não conter metais pesados (Lawrence,1960).

3.5.4 Uso da clorexidina

Aves, suínos e bovinos **nutrição** - aditivo nas rações: Na forma de dicloridrato de clorexidina, age como estabilizador da flora intestinal com a finalidade de melhorar a absorção dos nutrientes, proporcionando melhor desempenho produtivo. **Desinfecção**: na forma de digluconato de clorexidina, é indicado para a desinfecção de galpões, instalações, equipamentos, incubatórios, embalagens, carros e caminhões de transporte, água de bebida e controle de mastite. **Abatedouros, frigoríficos, laticínios e outras indústrias de alimentos** - **Sanitização**: câmaras e caminhões frigoríficos, equipamentos e utensílios, degermante de mãos e antebraços, fabricação e conservação de queijos, preservação de frutas frescas e sucos naturais. **Desinfetante hospitalar, odontológico e cosmético** - assepsia pré-operatória, assepsia do campo operatório e em instrumentos cirúrgicos, colutório bucal, tratamento das infecções gengivais e cirurgias odontológicas e conservantes nos cremes cosméticos. **Armazéns e silos de grãos** - desinfecção de paredes e tetos na prevenção de fungos. **Água de refrigeração** - desinfecção nas torres de resfriamento de ar condicionado (Boobis, 1991).

3.5.5 Efeitos colaterais

A Clorexidina pode penetrar na mucosa oral, mas a quantidade é provavelmente muito pequena. Ainda, alguns efeitos colaterais pouco sérios têm sido relatados como descolorações nos dentes, em restaurações, no dorso da língua, descamação e sensibilidade oral. O gosto amargo da solução e a interferência na sensação gustativa por algumas horas após o bochecho têm sido relatados. A descamação e a sensibilidade

da mucosa oral, que parecem ocorrer em poucos pacientes, podem ser facilmente evitadas através da redução de concentração da solução aplicada. Portanto, a clorexidina, como qualquer outro agente antimicrobiano potente, deve ser administrada somente sob supervisão profissional, e os diferentes métodos de aplicação devem ser adaptados às necessidades individuais do paciente (Ciancio, 1995).

3.6 Metabólitos secundários das plantas

Uma das características dos seres vivos é a presença da atividade metabólica. O metabolismo nada mais é que o conjunto de reações químicas que ocorrem no interior das células. No caso das células vegetais, o metabolismo costuma ser dividido em primário e secundário. Entende-se por metabolismo primário, o conjunto de processos metabólicos que desempenham uma função essencial no vegetal, tais como a fotossíntese, a respiração e o transporte de solutos. Os compostos envolvidos no metabolismo primário, possuem uma distribuição universal nas plantas. Esse é o caso dos aminoácidos, dos nucleotídeos, dos lipídeos, carboidratos e da clorofila (Castro *et al.*, 2005). As substâncias originadas a partir de rotas biossintéticas diversas, e que estão restritas a determinados grupos de organismos, são produtos do metabolismo secundário. Todo o metabolismo vegetal está condicionado aos processos fotossintéticos. Destes resultam todas as substâncias do metabolismo primário, as quais por sua vez irão originar os metabólitos secundários (Vickery & Vickery, 1981).

Os metabólitos secundários são substâncias que geralmente não estão envolvidas em funções vitais das plantas, e não fazem parte do metabolismo básico e possuem características químicas muito variadas e às vezes bem complexas. Ao contrário das substâncias do metabolismo primário, que fazem parte da atividade celular de praticamente todos os seres vivos, desde os organismos unicelulares até o homem, as substâncias do metabolismo secundário são encontradas apenas em grupos restritos - famílias ou gêneros - de plantas. Existem alguns metabólitos secundários que são encontrados apenas em uma única espécie de planta. Os produtos do metabolismo secundário constituem o que os químicos chamam de “produtos naturais”. Podem ser produzidos por plantas, microrganismos, insetos e outros animais e muitos deles são extraídos e usados como medicamentos, corantes, perfumes, inseticidas, etc. Ou constituem um modelo que o homem utiliza para sintetizar em laboratório substâncias

com as mais diversas propriedades. Durante muito tempo acreditou-se que os metabólitos secundários fossem produzidos sem uma função específica, simplesmente como produtos finais das reações. Chegaram a ser considerados até como anomalias. Essa visão mudou radicalmente e a cada dia descobre-se um pouco mais sobre a função dessas substâncias, sua utilidade para o desenvolvimento fisiológico das plantas e seu papel como mediadores das interações entre as plantas e outros organismos (Vickery & Vickery, 1981).

Diferentemente do metabolismo primário, as plantas apresentam uma diversidade de moléculas biologicamente ativas, denominadas de metabólitos secundários, que não são comuns a todos os vegetais e que caracterizam determinados grupos taxonômicos (Chen & Chen 2000). Estes metabólitos podem apresentar ainda atividades biológicas em baixas concentrações e estarem relacionados com aromas, sabores e corantes naturais (Brown *et al.* 1989), variando conforme o desenvolvimento da planta. Durante o florescimento de *Rosmarinus officinalis* ocorre o aumento nos níveis do ácido carnósico (composto fenólico diterpênico) nas folhas e flores, enquanto que a concentração de flavonóides nos ramos das folhas aumenta durante o desenvolvimento das folhas (Del Baño *et al.*, 2004). Deste modo, a concentração de determinados metabólitos secundários pode estar relacionada aos estádios de desenvolvimento do vegetal, ocorrendo o acúmulo de diferentes compostos devido a processos de síntese e transporte nas diferentes etapas do desenvolvimento da planta.

Embora o metabolismo secundário nem sempre seja necessário para que uma planta complete seu ciclo de vida, ele desempenha um papel importante na interação das plantas como o meio ambiente. Um dos principais componentes do meio externo cuja interação é mediada por compostos do metabolismo secundário, são os fatores bióticos. Desse modo, produtos secundários possuem papel contra herbivoria, ataque de patógenos, competição entre plantas e atração de microrganismos benéficos como polinizadores, dispersores de sementes e microrganismos simbiontes. Contudo, produtos secundários também possuem ação protetora em relação a estresses abióticos, como aqueles associados com mudanças de temperatura, conteúdo de água, níveis de luz, exposição à UV e deficiência de nutrientes minerais (Castro *et al.*, 2005).

Existem três grandes grupos de metabólitos secundários: terpenos, compostos fenólicos e alcalóides (Figura 2). Os terpenos são obtidos a partir do ácido mevalônico

(no citoplasma) ou do piruvato e 3-fosfoglicerato (no cloroplasto). Entre esses compostos encontram-se, inclusive, quatro, das seis principais classes de hormônios vegetais. Os monoterpenos, devido ao seu baixo peso molecular, costumam ser substâncias voláteis, sendo portanto, denominados óleos essenciais ou essências. Contudo nem todos os óleos voláteis são terpenóides; alguns podem ser compostos fenólicos (fenilpropanóides). Uma outra classe importante de triterpenos são as saponinas. Como o próprio nome indica, as saponinas são prontamente reconhecidas pela formação de espuma em certos extratos vegetais. Essas substâncias são semelhantes ao sabão porque possuem uma parte solúvel (glicose) e outra lipossolúvel (triterpeno). Nas plantas, as saponinas desempenham um importante papel na defesa contra insetos e microrganismos (Castro *et al.*, 2005).

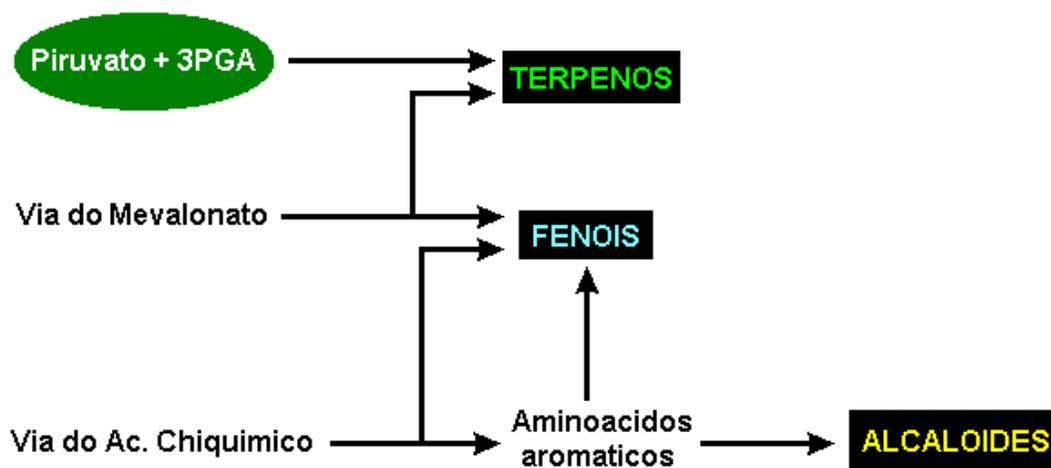


Figura 2- Principais vias do metabolismo secundário e suas ligações

Dentre os metabólitos secundários produzidos pelos vegetais, os fenilpropanóides representam um dos grupos mais importantes que desempenham atividade protetora nas plantas, evitando o ataque de patógenos, herbivoria e parasitismo, principalmente nas condições de estresse (Dixon & Paiva 1995). Os fenilpropanóides, também conhecidos como compostos fenólicos, são amplamente distribuídos no reino vegetal (Kurkin, 2003; Kosar *et al.*, 2004) e vem atraindo a atenção dos pesquisadores devido ao seu uso potencial como antioxidantes naturais

(Cuppert, 1998). São caracterizados por apresentarem um grupo fenol (grupo hidroxila funcional e um anel aromático), sendo produzidos pelo metabolismo secundário dos vegetais onde desempenham uma variedade de funções (Simões *et al.*, 2000; Taiz & Zeiger 2004). Estes compostos podem ser formados através de duas rotas biogênicas: pelo ácido chiquímico, a partir de carboidratos, ou pela via do mevalonato, que se inicia pela acetil-coenzima A e malonil-coenzima A. Esta última rota é a menos significativa devido a estar restrita aos fungos e bactérias (Taiz & Zeiger 2004). A via de formação dos fenilpropanóides é considerada uma das mais importantes rotas metabólicas responsável pela síntese de muitos produtos naturais em plantas, como os flavonóides e antocianinas, os taninos, as ligninas e os ácidos fenólicos. Os flavonóides são responsáveis pela coloração das flores, frutas e algumas folhas, possuindo ainda propriedades de inibir infecções causadas por patógenos, proteger a célula contra a radiação UV, induzir a germinação do pólen e regular o transporte de auxinas (Lemos, 2006).

Por fim, os alcalóides são compostos orgânicos cíclicos que possuem pelo menos um átomo de nitrogênio no seu anel. Na sua grande maioria os alcalóides possuem caráter alcalino, já que a presença do átomo de N representa um par de elétrons não compartilhados. Contudo, existem alcalóides de caráter ácido, como por exemplo a colchicina. Já na antiguidade há referência ao uso dessa classe de compostos. Talvez o caso mais famoso seja a execução do filósofo grego Sócrates, condenado a ingerir cicuta (*Conium maculatum*), uma fonte do alcalóide coniina. Os romanos também faziam uso de alcalóides em homicídios. Os principais alcalóides em questão eram a hiosciamina, a atropina e a baladonina, todos derivados de *Atropa belladonna*. Tal uso fez com que mais tarde essa e outras plantas da família solanaceae fossem conhecidas na Europa como plantas da sombra da noite ou night shade. Os alcalóides são sintetizados no retículo endoplasmático, concentrando-se, em seguida, nos vacúolos e, dessa forma, não aparecem em células jovens. Essa classe de compostos do metabolismo secundário é famosa pela presença de substâncias que possuem acentuado efeito no sistema nervoso, sendo muitas delas largamente utilizadas como venenos ou alucinógenos, derivados de aminoácidos aromáticos (triptofano e tirosina), os quais são derivados do ácido chiquímico, e também de aminoácidos alifáticos (ornitina e lisina) (Castro *et al.*, 2005).

Um exemplo de metabólito secundário são as lectinas, definidas como glicoproteínas de origem não imune que se ligam de maneira reversível a carboidratos ou substâncias que contenham açúcares. Têm capacidade em aglutinar células e/ou precipitar glicoconjugados devido à sua capacidade específica de reconhecimento e ligação sem, entretanto, alterar a estrutura de nenhum glicosil ligante. As lectinas foram descritas inicialmente por Stillmark (1988), que observou a aglutinação de hemácias quando estudava o efeito tóxico de extratos de semente de mamona (*Ricinus communis*) sobre o sangue, sendo que posteriormente se confirmou que o material responsável pela hemaglutinação era uma proteína, a qual foi chamada posteriormente de ricina, que é na verdade uma complexa mistura de moléculas tóxicas e lectinas não-tóxicas. Estas proteínas têm sido encontradas em larga escala, em uma variedade de formas de vida - microrganismos, mamíferos e vegetais - sendo que as encontradas nos vegetais superiores têm sido mais estudadas (Gilboagaerber *et al.*, 1977; Ottenssooser *et al.*, 1974). Dentre os papéis biológicos detectáveis nas lectinas, pode-se citar sua ação fungicida, antimicrobiana e inseticida, além de mimetizar as lectinas humanas e estimular células do sistema imune (Freire, 2003).

O principal papel dos metabólitos secundários é a proteção contra pragas e patógenos. Pode se dizer que a ampla variedade de compostos produzidos pelas plantas é o produto de milhares de anos interagindo com os mais diferentes organismos. A própria proteção que as plantas tiveram que desenvolver contra a dessecação ao conquistarem o ambiente terrestre, ou seja, a cutícula, constitui-se numa defesa contra o ataque de fungos e bactérias. A cutícula possui uma camada mais externa denominada cutina e uma mais interna chamada suberina. Ambas camadas possuem ceras. Essas são misturas complexas de lipídeos bastante hidrofóbicos. Essa repulsão de água tem um papel ecológico importante, pois faz com que a superfície da folha esteja seca impedindo a germinação de esporos de fungos e a multiplicação de bactérias. Atualmente, a crescente preocupação com o meio ambiente e a consciência de que o petróleo, a matéria prima das indústrias químicas, é finito, tem conduzido a uma volta aos produtos naturais. Inúmeros são os compostos conhecidos com ação inseticida ou antipatógenos (Lemos, 2006).

3.6.1 Metabólitos secundários de sementes

Forim *et al.* (2005) relatam que sementes e folhas do nim (*Azadirachta indica* A. Juss), são conhecidos por conterem muitos compostos que possuem atividades contra insetos. Nas últimas décadas tem ocorrido um grande aumento nas investigações do nim como fonte de material de controle de pestes e possível alternativa aos pesticidas sintéticos. Especial interesse tem sido dado a esta espécie devido à presença de um limonóide denominado azadirachtina A. Foram preparados 09 extratos de amêndoas das sementes do nim no estudo de Forim *et al.* (2005). As análises quantitativas foram realizadas por Cromatografia Líquida monitorando o teor do principal composto ativo do nim, azadirachtina A e os bioensaios realizados com *Spodoptera frugiperda* (lagarta considerada praga) como alvo. Nas concentrações de 500 e 1000 mg/Kg, todos os extratos apresentaram uma mortalidade da fase larval de 100%.

Durante a fase de embebição da germinação, são liberados metabólitos secundários, que exercerão várias funções. A germinação das sementes de catingueira (*Caesalpinia pyramidalis*) apresenta fases de embebição bem definidas, ocorrendo a protrusão da raiz às 54 horas de embebição. Os teores de açúcares de reserva diminuem durante a embebição e os teores de albuminas, globulinas e glutelinas variam durante as primeiras horas de embebição. Já na fase seguinte, ocorre um aumento dos teores de proteínas fracionadas e isso se deve à hidratação das sementes, que permitiu a reativação do metabolismo e ativação das enzimas inativas (Dantas *et al.*, 2008). A germinação das sementes de baraúna (*Schinopsis brasiliensis* Engl.) apresenta as três fases de embebição definidas, ocorrendo a protrusão da raiz após 152 horas de embebição. Quanto à mobilização de reservas durante o processo germinativo, ocorre um aumento no teor de açúcares solúveis simultâneo à diminuição do teor de amido nas sementes, indicando que este é uma importante reserva das sementes de baraúna. Entre as proteínas de reserva, as globulinas são as mais abundantes nas sementes de baraúna, no entanto as albuminas e prolaminas são mobilizadas de forma mais ativa após a protrusão da radícula. As sementes de baraúna praticamente não armazenam glutelinas (Dantas *et al.*, 2008).

Entre os principais polissacarídeos de reserva em plantas estão o amido, os frutanos e os polissacarídeos de reserva de parede celular. Estes últimos ocorrem principalmente em sementes e podem ser classificados de acordo com suas estruturas

químicas em mananos, xiloglucanos e galactanos. Apesar das diferenças marcantes nas estruturas químicas, os polímeros dos três grupos apresentam propriedades físico-químicas semelhantes. Eles possuem em comum, a função de reserva, uma vez que são completamente degradados após a germinação da semente e seus produtos são utilizados como fontes de carbono e energia para o crescimento inicial das plântulas. Por outro lado, cada um deles apresenta funções secundárias, tais como o controle da embebição e distribuição de água nos tecidos das sementes e o controle da expansão celular dos cotilédones (Buckeridge *et al.*, 1995).

Na fase de embebição, metabolicamente está ocorrendo a ativação de processos metabólicos pré-germinativos, pois enzimas, membranas e organelas, como as mitocôndrias, tornam-se funcionais, ocorrendo intensa digestão das reservas (carboidratos, proteínas e lipídeos). E durante esta fase, ocorre a síntese de determinadas enzimas como a α -amilase, que é fundamental para a digestão do amido contido no endosperma das sementes. Trata-se, portanto, de uma fase em que se concentram eventos preparatórios para o crescimento do embrião. As reservas são mobilizadas, resultando em aumento na concentração de metabólitos no protoplasma das células. Açúcares derivados desta mobilização serão transportados para embrião, onde serão metabolizadas em novos compostos (Guimarães *et al.*, 2008).

A importância econômica do metabolismo secundário reside em três grandes áreas: a fitomedicina, a nutraceutica e as aplicações industriais diversas. A facilidade que se tem hoje em isolar genes que codificam enzimas-chaves do metabolismo secundário leva a crer que as três áreas mencionadas serão bastante potencializadas no futuro através da biotecnologia. Embora as plantas venham sendo utilizadas como medicamentos há tempos imemorráveis, temos assistido nos dias atuais a uma retomada da chamada fitomedicina. As razões para isso são diversas, estando entre elas os altos preços dos remédios convencionais, os quais, entre outras coisas, refletem um certo abuso pela propriedade intelectual de princípios ativos que, em sua grande maioria, foram extraídos das próprias plantas. Além disso, os remédios caseiros baseados em extratos vegetais complexos, contendo diversos metabólitos, podem ter uma certa vantagem sobre as drogas convencionais, as quais costumam ser baseadas em um único princípio ativo. Desse modo, a presença de vários compostos em um só remédio pode ter um efeito sinérgico benéfico. Por outro lado, o uso de um só princípio ativo obriga

que esse esteja em doses elevadas (farmacológicas), as quais nem sempre são fisiologicamente adequadas e podem provocar efeitos colaterais (Lemos, 2006).

3.7 Principais componentes ativos encontrados nas famílias das espécies vegetais utilizadas para a obtenção dos extratos

A composição química das sementes exhibe, de maneira geral, os mesmos compostos encontrados em outras partes da planta, sendo que o ambiente onde elas crescem, a adubação e muitos outros fatores são capazes de alterar esta constituição, aumentando ou diminuindo a quantidade de certos componentes. Dentre os componentes químicos presentes em uma semente destacam-se três grupos: proteínas, lipídeos e carboidratos. Esta composição é definida geneticamente, podendo ocorrer influência de fatores ambientais. O conhecimento dessa composição torna-se importante, porque tanto o vigor como o potencial de armazenamento de sementes são influenciados pelo teor dos compostos presentes. Os carboidratos são predominantes em cariopses de cereais e outras gramíneas, sendo o amido, o principal carboidrato de reserva. Os lipídeos são os principais materiais de reserva de diversas espécies. As proteínas mais comumente encontradas são albuminas, globulinas, glutelinas e prolaminas. Porém, nem todos os grupos podem ser encontrados nas sementes de uma determinada espécie, por exemplo, as prolaminas são mais abundantes nas gramíneas, mas incomuns em outras sementes. As glutelinas são encontradas em cereais e as globulinas são predominantes em dicotiledôneas, principalmente nas leguminosas. Já as albuminas são mais frequentes em sementes de dicotiledôneas (Baleroni *et al.*, 2002)

Essas substâncias são mobilizadas durante a germinação e no decorrer do desenvolvimento das plântulas, seus produtos de degradação são usados para diferentes propósitos, como a geração de energia e a produção de matéria-prima para a construção de novas células e tecidos. As sementes têm sido estudadas quanto à composição química de suas reservas e tal interesse não se dá apenas por seu teor nutritivo, mas por serem úteis na confecção de produtos industrializados, entre diversos fins. Além disso, o estudo da composição química é do interesse prático também da tecnologia de sementes (Corte *et al.*, 2006).

3.7.1 Família Fabaceae

A família Fabaceae (Leguminosae) é tradicionalmente dividida em três subfamílias: Caesalpinioideae, Faboideae e Mimosoideae, compreendendo cerca de 650 gêneros e 18000 espécies. É a maior família de angiospermas depois de Asteraceae e Orchidaceae e, em importância econômica, equipara-se apenas à Poaceae (Oliveira, 1999). Uma característica típica dessa família é apresentar o fruto do tipo legume, também conhecido como vagem (há exceções). Quase todas as espécies da família apresentam simbiose de suas raízes com bactérias do gênero *Rhizobium* e semelhantes, que fixam o nitrogênio da atmosfera, uma característica ecológica de extrema importância. Também são de grande importância econômica pela produção de alimentos como soja (*Glycine max*), ervilha (*Pisum sativum*), feijão (*Phaseolus vulgaris*), alfafa (*Medicago sativa*) e grão-de-bico (*Cicer arietinum*). A maioria das espécies utilizadas nesse estudo, pertence à família Fabaceae, como por exemplo *Vigna unguiculata* L. var. A (feijão-caupi), *Hymenaea courbaril* L. Var. (jatobá) e *Parkia pendula* Benth. (visgueiro).

As leguminosas florestais apresentam várias espécies de grande interesse econômico, principalmente no aspecto da comercialização de madeiras tropicais, tais como sucupira (*Diplotropis martiusii* Benth.), angelim vermelho (*Dinizia excelsa* Ducke) e outras. Produtos não madeireiros oriundos dessas plantas estão sendo aproveitados, como o óleo de copaíba (*Copaifera multijuga* L.), verniz copal e resinas de jatobá (*Hymenaea courbaril* L.), corantes de cumaru (*Dipteryx odorata* (Aubl.) Willd.), gomas naturais de bico de arara (*Parkia discolor* Benth.) e taninos obtidos de acácia negra (*Acacia mearnsii* D. Wild.) para aplicação em curtimento de couros. Essa última espécie destaca-se pela produção comercial de taninos obtidos da casca. Eles constituem uma fonte renovável, de menor custo de obtenção, usados como substitutos do fenol ou outros compostos sintéticos. Pertencem a um grupo de compostos fenólicos provenientes do metabolismo secundário das plantas e estão associados com o mecanismo de defesa dos vegetais. Estes compostos são amplamente distribuídos nos vegetais (cascas, madeiras, raízes, folhas flores e frutos), sendo comuns nas espécies das gimnospermas (coníferas) e angiospermas (folhosas). Outras famílias que apresentam taninos destacam-se: Anacardiaceae, Combretaceae, Pinaceae, Rhizophoraceae, Myrtaceae e Polinaceae (Santos, 2008).

Os carboidratos de reserva armazenados em sementes de leguminosas têm sido aplicados como ferramenta na taxonomia. Muitas Papilionoideae armazenam grandes quantidades de amido em suas sementes; em outras, sua ocorrência é pequena ou ausente. Em Caesalpinioideae e Mimosoideae, essa reserva constitui uma exceção. Sementes de *Caesalpinia peltophoroides* apresentaram cerca de 50% de lipídeos, 32% de carboidratos solúveis, 7,7% de amido e 6,8% de proteínas solúveis em relação ao peso de matéria seca dos cotilédones. Outros compostos, como carboidratos constituintes de parede, proteínas insolúveis e compostos do metabolismo secundário, estariam compondo os 4% restantes. Embora haja grandes variações quantitativas entre os constituintes das sementes, qualitativamente eles se apresentam mais estáveis, pelo menos considerando-os em seus grupos e funções nas sementes. Interessante é que há uma relação inversa em sementes oleaginosas entre o conteúdo de óleo e de proteína, e tal relação é claramente observada em sementes de *Caesalpinia peltophoroides*, uma leguminosa em que lipídeos e proteínas ocuparam proporção máxima e mínima, respectivamente. A quantidade total de reservas da semente disponível para uma plântula não é determinada somente pela sua massa, mas é também influenciada pela composição química. Considerando a alta proporção de lipídeos nas sementes de *Caesalpinia peltophoroides*, pode-se sugerir essa característica como uma possível vantagem adaptativa à espécie, possibilitando o estabelecimento de plântulas em ambientes menos iluminados, devido ao maior conteúdo energético armazenado. Além disso, Kitajima (1996) relatou que os altos conteúdos de lipídeos nas sementes de algumas espécies deve indicar uma seleção compensatória (maior energia/volume), à medida que as sementes mais leves são fortemente selecionadas, por exemplo, para melhor dispersão. Pode-se sugerir que a grande quantidade de carboidratos solúveis observada em sementes de *Caesalpinia peltophoroides* se deve não só ao fornecimento de energia para a germinação, mas também confere maior armazenabilidade a essas sementes (Corte *et al.*, 2006).

A raiz do ingá (*Inga edulis*) var. *Parviflora*, apresenta dentre outros constituintes, flavonóides e esteróides. Foram isoladas cinco substâncias: duas flavanonas e uma aurona, além de dois esteróides (Corte *et al.*, 2006).

O feijão guandu (*Cajanus cajan* Merr.), apresenta em suas folhas e flores, a urease, citisina, carboidratos, proteínas, sais minerais e vitaminas. O chá das flores ou

das folhas é utilizado para hemorragias, gargarejos, inflamação da garganta, tosse e bronquite (Ballve, 1995).

3.7.2 Família Moraceae

A família Moraceae inclui aproximadamente 50 gêneros e 1.500 espécies, predominantemente tropicais e subtropicais, estando representada, no Brasil, por 27 gêneros com cerca de 250 espécies incluindo árvores, arbustos, ervas ou lianas, geralmente lactescentes. Muitas espécies de Moraceae são comercialmente exploradas pela indústria de madeira, papel, borracha e na produção indireta da seda. Além disso, algumas espécies são de grande importância na produção de moléculas (Gomes, 2007).

As sementes de jaca (*Artocarpus heterophyllus*), espécie da família Moraceae, muito conhecida, foram utilizadas no presente estudo para a obtenção do extrato aquoso. Gomes (2007) constatou que em suas sementes estão presentes 6,6% de proteínas e 25,8% de carboidratos. Elas podem ser comidas assadas ou cozidas, além de que quando são moídas, transformam-se em uma farinha que pode ser utilizada na preparação de bolos e pães. Seus frutos, quando verdes, podem ser utilizados como forragem ao serem picados ou moídos e o mesmo pode ser feito com suas folhas; ambos são uma boa ração pra aves domésticas. Os suínos, bovinos, caprinos e os ovinos também a apreciam partida em pequenos pedaços ou moída. Em cada 100 gramas de polpa de jaca encontram-se: 84% de água, 18,9g de carboidratos, 1,9 g de proteína, 0,1g de gordura, 1,1g de fibra, 20mg de cálcio, 30mg de fósforo, 0,5 mg de ferro, vitamina A 540 U.I. e 30 U.I. de tiamina. A jaqueira é fonte de pesquisa para diversos usos medicinais. Estudos feitos por Chandrika (2006), com o extrato de folhas maduras de *Artocarpus heterophyllus* Lam., mostraram eficiência para o combate do diabetes, pois nas suas folhas maduras existem flavonóides, com efeito hipoglicêmico. Foi descoberto que as folhas de jaqueira possuem uma quantidade superior de flavonóides (49%) quando comparadas ao Tobultamide, que é um medicamento comum para o combate a diabetes e que possui somente 27 % destes flavonóides. Kusmartono (2007) estudou o efeito de suplementos feitos à base de folhas de *Artocarpus heterophyllus* Lam. e uréia, para a alimentação de carneiros, mostrando que estes aumentaram o valor nutritivo da dieta básica oferecida ao animal, melhorando a digestibilidade e sendo uma importante fonte de energia para o mesmo (Gomes, 2007).

Na Índia, jaqueiras têm múltiplas utilidades e são de fundamental importância no uso medicinal caseiro. Nesse país, todas as partes da árvore são indicadas para cura de alguma doença. As raízes, por exemplo, são utilizadas para o combate de diarreia, a mistura das suas folhas com algumas ervas é utilizada para curar asma e febre, o extrato da casca é utilizado em torções e inchaços nas pernas para alívio da dor, o óleo retirado da superfície das folhas é utilizado para aliviar a dor e inchaços em diversas partes do corpo, além da utilização do suco de frutas maduras como laxante e no tratamento de eczemas. Suas sementes têm efeitos afrodisíacos utilizados em tratamentos de debilidade sexual (Gomes, 2007). Outros estudos, feitos por Inbaraj & Sulochana (2004), mostraram que a casca dos frutos da jaqueira, depois de tratada com uma solução de ácido sulfúrico, produziu um composto adsorvente capaz de remover cádmio de soluções aquosas. Isso abre também a possibilidade de uso desta espécie para a fitorremediação.

Pinheiro (1999), realizou-se o estudo químico das folhas de *Cecropia palmata* (Moraceae) com o objetivo de isolar e identificar os principais constituintes químicos, motivado pelo fato de que as folhas são amplamente utilizadas na forma de chá, pelos amazonenses, no tratamento de várias enfermidades. A investigação fitoquímica do extrato diclorometânico das folhas resultou no isolamento de quatro substâncias: os terpenos ácido ursólico e fitol, a cumarina escopoletina, e o sitosterol. Já o extrato hexânico forneceu sete substâncias: os triterpenos ácido ursólico, amirina, beta-amirina, lupeol e os esteróides sitosterol, estigmast-4-en-3-ona, estigmasta-4,22-dien-3-ona. O extrato metanólico forneceu, além do ácido ursólico e sitosterol, duas outras substâncias mais polares: o triterpeno ácido pomólico e o sitosterol glicosilado. As substâncias foram isoladas por meio de técnicas cromatográficas convencionais e a identificação estrutural foi feita com base nos métodos espectroscópicos usuais, especialmente IV, RMN ¹H e ¹³C, e ainda por comparação com dados da literatura. A espécie estudada apresenta perfil químico característico da família Moraceae.

A mamica-de-cadela (*Brosimum gaudichaudii* Trec), também da família Moraceae, ocorre do Amazonas e Pará até o Paraná, em cerrados, campos e cerradões. É uma espécie arbórea com altura que varia de 4-10m. Apresenta uma madeira moderadamente pesada, macia de textura média, a qual é empregada em marcenaria, construção civil, lenha e carvão. É uma planta medicinal muito utilizada contra a doença

do vitiligo. A árvore é indicada para reflorestamentos mistos destinados à recuperação e enriquecimento da vegetação de áreas degradadas. Produz anualmente moderada quantidade de sementes viáveis, as quais podem ser coletadas nas árvores ou no chão após a queda dos frutos (Baleroni *et al.*, 2002).

O mapati (*Pourouma cecropiifolia* Martius) é a única espécie do gênero *Pourouma* (Moraceae) cultivada em larga escala em diversos países, para uso dos frutos como alimento. As análises realizadas na polpa do mapati mostraram que se trata de fruto adocicado e com baixa acidez. Os principais componentes da polpa são açúcares representados por frutose e glicose. É um fruto rico em potássio, cálcio e fósforo e que poderia ser empregado na fabricação de sucos, geléias e vinho. A amêndoa apresenta uma gordura com alto teor de ácido behênico (29,78%), diferindo da composição da grande maioria dos óleos e gorduras vegetais. Dentre os constituintes responsáveis pelo aroma desse fruto destacam-se o salicilato de metila (6,01%) e os monoterpenos oxigenados: cis-óxido de linalol (forma furânica) (0,48%), trans-óxido de linalol (forma furânica) (0,24%), linalol (3,10%), p-1-menteno-9-al (0,46%), a-terpineol (0,93%) e geraniol (0,24%). Tais constituintes permitem a correlação do aroma do mapati com o aroma de variedades de uva tipo Moscatel, cujos voláteis característicos são o linalol e seus derivados óxidos de linalol na forma furânica, além de a-terpineol, b-ionona, geraniol, nerol e citronelol (Lopes *et al.*, 1999).

3.7.3 Família Myrtaceae

A família Myrtaceae, que concentra os elementos voláteis nas folhas, contém cerca de 100 gêneros e 3.000 a 3.500 espécies distribuídas por todos os continentes, com exceção da Antártida e com predominância nas regiões tropicais e subtropicais da América e Austrália. Os principais gêneros pertencentes à essa família Myrtaceae são: *Eucalyptus*; *Melaleuca*, *Eugeneia* e *Psidium* (exemplos: eucalipto; “tea tree”; azeitona e goiaba, respectivamente). São cultivados no Brasil devido a várias finalidades, principalmente por apresentarem frutos comestíveis, serem fonte de madeira e lenha, conterem óleos essenciais e pela aparência de algumas espécies, são utilizadas como ornamentais (Andrade, 2005).

Frutas dessa família são fontes de compostos fenólicos, incluindo flavonóides e antocianos e de carotenóides. Essas substâncias possuem um amplo espectro de

atividades bioquímicas, como antioxidante, antimutagênica e anticarcinogênica e, ainda, a habilidade de modificar a expressão gênica. Outros componentes importantes encontrados nas sementes dessas frutas são os ácidos graxos. Entre estes, estão os essenciais linoléico e linolênico, que possuem grande relevância na dieta por contribuírem na regulação de diversas funções no organismo, incluindo pressão sangüínea, viscosidade do sangue e respostas imune e inflamatória (Andrade, 2005).

Eucalyptus é um importante gênero pertencente à família Myrtaceae, composto por aproximadamente 600 a 700 espécies, sendo a maioria nativa do continente australiano e de algumas ilhas ao norte, tendo sido introduzidas espécies em mais de 90 países desde 1850. Devido ao grande número de espécies, este gênero foi dividido em subgêneros, sendo os principais: *Corymbia* (30 espécies), *Monocalyptus* (80 espécies) e *Symphomyrtus* (250 espécies). O gênero *Eucalyptus* foi introduzido no Brasil em 1865, inicialmente com a espécie *Eucalyptus globulus* Labillardiere, da qual utilizam-se as folhas pecioladas e lanceoladas para extração de óleo essencial. A maioria das cinco farmacopéias descreve espécies de *Eucalyptus* produtoras de óleo essencial, constituído de uma mistura de terpenos com 70 a 80% de 1,8-cineol, e baixo teor de felandreno (abaixo de 5%), podendo a composição e o rendimento variar de acordo com a genética, idade das folhas e ambiente. Além de óleo essencial, as folhas de eucalipto contêm outros compostos, tais como: taninos, ácidos gálico, glicólico e glicérrico, princípios amargos, compostos flavônicos, derivados da cumarina, cera e resina. Por apresentar esta diversidade de componentes químicos, pode ser utilizado na área farmacêutica pelas propriedades antifúngica, anti-séptica, adstringente, antiinflamatória, antibacteriana, cicatrizante, desinfetante, expectorante e carminativa (Andrade, 2005).

Provavelmente o gênero *Eugenia* é um dos maiores da família Myrtaceae, com mais de 500 espécies, das quais cerca de 400 encontram-se no Brasil e assumem destaque especial por serem utilizadas como plantas medicinais. Dentro deste gênero tem-se a *Eugenia uniflora* L. (pitangueira), que cresce na Argentina, Uruguai, Paraguai e Brasil. É cultivada na América Central, Antilhas, Flórida, Califórnia, Havaí, China Meridional, Ceilão, Argélia, Tunísia, Sul da França, face sua grande capacidade de adaptação. No Brasil ocorre desde o Estado de Minas Gerais até o Rio Grande do Sul. Essa espécie foi introduzida na medicina empírica pelos índios Guaranis no século XV e é utilizada como fármaco anti-hipertensivo, diurético, adstringente, antipirético e para o

tratamento de desordens digestivas. Na Ilha da Madeira suas folhas são utilizadas no tratamento de bronquites, gripes e problemas intestinais e na Nigéria, como um febrífugo. Segundo Schapoval *et al.* (1994), as folhas da *E. uniflora* são ricas em óleos essenciais contendo citronelol, geraniol, cineol e sesquiterpenos, os quais têm demonstrado possuir atividade antimicrobiana. Nas folhas e frutos são encontrados jambosina, taninos, sais de cálcio e ferro e vitamina C. O chá das folhas é anti-reumático, antidesintérico, febrífugo e contra diabetes. Estes autores observaram que a infusão das suas folhas produziu um aumento significativo no tempo de sono induzido pelo pentobarbital e eles correlacionaram esses achados com a composição química, especialmente monoterpenos, os quais podem interferir com a distribuição do pentobarbital nos tecidos (Fiuza *et al.*, 2008).

O jambolão (*Eugenia cumini* L.), espécie do mesmo gênero da pitangueira, possui nas cascas da sua árvore, folhas e sementes, eugenol, jambosina, antimelina, limoneno, cariofileno, homuleno, ácido gálico e taninos. O chá das folhas ou cascas da árvore serve para desintéria, hemorragia e quilúria. O chá das sementes torradas e pulverizadas ou da casca da árvore serve para diabetes (Ballve, 1995).

Fiuza *et al.* (2008) identificaram os ácidos graxos presentes no óleo das sementes de guabiju (*Myrcianthes pungens* O. Berg), araçá amarelo (*Psidium cattleyanum* var. *lucidum*), araçá vermelho (*Psidium cattleyanum* Sabine) pitanga (*Eugenia uniflora* L.) e feijoa (*Feijoa sellowiana* O. Berg), espécies da família Myrtaceae, nativas do Rio Grande do Sul. Os óleos das espécies analisadas demonstraram alto teor de ácidos graxos insaturados, inclusive os essenciais (linoléico, linolênico), e, em menor escala, ácidos saturados, o que evidencia a importância do aproveitamento desses óleos na dieta humana, considerando as diversas atividades benéficas ao organismo (Andrade, 2005).

A espécie *Campomanesia adamantium*, popularmente conhecida por gabioba ou guabioba apresenta em seus frutos monoterpenos e sesquiterpenos e contém componentes comuns aos dos óleos extraídos das folhas de algumas espécies de *Campomanesia*, com potencial farmacológico citado na literatura e que contribuem para o aroma dos frutos. A utilização dos frutos de *C. xanthocarpa* mostra-se promissora como complemento nutricional na dieta de vertebrados, devido ao seu teor de lipídios,

carboidratos totais, fibra alimentar, vitamina C e de minerais essenciais (Andrade, 2005).

O cravinho da Índia (*Caryophyllus aromaticus* L.) é uma árvore mediana, bastante ramificada, folhas simples, originária da Malásia. Seus botões florais secos contêm cariofileno, furfurool, eugenol, taninos, ácidos galactânico, eugênico e salicílico. O chá é tônico estomáquico, carminativo, antisséptico e sudorífico (Ballve, 1995). Outra espécie da mesma família é a goiabeira (*Psidium guayava* L.), que possui em seus frutos, folhas e cascas, taninos, guavina, piridoxina, niacina, mirceno, borneol, a-pineno, sais minerais e vitaminas, principalmente C. O chá das cascas e folhas novas serve contra diarreias, tosse, bronquite e hemorragias.

A pedra ume (*Myrcia sphaerocarpa* D.C.), planta arbustiva, bastante ramificada, de caule e ramos tortuosos, castanho-claro, comum na Amazônia, apresenta em suas folhas e cascas, mircina e taninos. O chá das folhas e da casca serve para diarreias e diabetes (Ballve, 1995).

3.7.4 Família Lecythidaceae

As Lecythidaceae formam a família botânica da castanheira-do-pará ou castanheira-do-brasil (*Bertholletia excelsa*), cujas sementes (castanhas) são apreciadas no mundo todo, da sapucaia (*Lecythis pisonis*), do matamatá, da bola-de-canhão e dos jequitibás, entre os quais estão as milenares árvores mais antigas do Brasil. A família consiste em cerca de 300 espécies, classificadas em 25 gêneros, de plantas lenhosas originárias da América do Sul, Madagascar, sudeste de Ásia e África Ocidental, com maior diversidade na região neotropical. A maioria são árvores ou arbustos, mas algumas espécies são lianas. No Brasil há 14 gêneros, com cerca de 100 espécies, a maioria nas florestas da Amazônia e na Mata Atlântica do nordeste. As lecitidáceas são abundantes na Amazônia, constituindo 1/3 das espécies em alguns estudos, sendo as Eschweileras as árvores mais encontradas (Ballve, 1995).

A castanha-do-pará, ou castanha-do-brasil, é a semente da castanheira-do-pará (*Bertholletia excelsa*) uma árvore da família botânica Lecythidaceae, nativa emergente da Floresta Amazônica. É um fruto com alto teor calórico e protéico. Além disso, contém o elemento selênio, que combate os radicais livres e muitos estudos o recomendam para a prevenção do câncer (cancro). É a única espécie do gênero

Bertholletia nativa das Guianas, Venezuela, Brasil (Acre, Amapá, Amazonas, Maranhão, Mato Grosso, Pará e Rondônia), leste da Colômbia, leste do Peru e leste da Bolívia. Ela ocorre como árvores espalhadas pelas grandes florestas às margens do rio Negro, rio Orinoco, rio Araguaia, e rio Tocantins. O gênero foi batizado em homenagem ao químico francês Claude Louis Berthollet. Atualmente é abundante apenas no norte da Bolívia e no Suriname. Incluída na Lista Vermelha da IUCN (União Internacional para a Conservação da Natureza e dos Recursos Naturais) como vulnerável, o desmatamento é a ameaça a sua populações. É altamente consumida pela população local *in natura*, torrada, ou na forma de farinhas, doces e sorvetes. Sua casca é muito resistente e requer grande esforço para ser extraída manualmente (Ballve, 1995).

As castanhas-do-pará possuem 18% de proteína, 13% de carboidratos e 69% de gordura. A proporção de gorduras é de aproximadamente 25% de gorduras saturadas, 41% de monoinsaturadas e 34% de poliinsaturadas. Possuem um gosto um tanto terroso, muito apreciado em vários países. O conteúdo de gordura saturada das castanhas-do-pará está entre os mais altos de todas as castanhas e nozes, superando até mesmo o da macadâmia. Nutricionalmente, as castanhas-do-pará são ricas em selênio, embora a quantidade de selênio varie consideravelmente. São também uma boa fonte de magnésio, metionina e tiamina. Algumas pesquisas indicaram que o consumo de selênio está relacionado com uma redução no risco de câncer de próstata. Isso levou alguns analistas a recomendarem o consumo de castanhas-do-pará como uma medida preventiva. Estudos subsequentes sobre o efeito do selênio no câncer de próstata foram inconclusivos. Por seu conteúdo em selênio, a castanha é antioxidante. O chá da casca da castanheira-do-pará é usado na Amazônia para tratamento do fígado, e a infusão de suas sementes para problemas estomacais. Seu óleo é usado como umidificador da pele (Ballve, 1995).

Além de utilizado na alimentação, o óleo extraído da castanha-do-pará também é usado como lubrificante em relógios, para se fazer tintas para artistas plásticos e na indústria de cosméticos. A madeira das castanheiras-do-pará é de excelente qualidade, porém a sua extração está proibida por lei nos três países produtores (Brasil, Bolívia e Peru) (Ballve, 1995).

As castanhas-do-pará podem conter pequenas quantidades de rádio, um material radioativo. Embora a quantidade seja muito pequena, cerca de 1–7 pCi/g (40–260 Bq/kg), e a maior parte não fique retida no corpo, ela é 1.000 vezes mais alta do que em outros alimentos. De acordo com as Universidades Associadas de Oak Ridge, isto não se deve a níveis elevados de rádio no solo, mas sim, ao extremamente extenso sistema de raízes da árvore (Ballve, 1995).

3.7.5 Família Combretaceae

Combretaceae é uma família botânica da ordem Myrtales, constituída por árvores, arbustos e lianas, distribuídas na região pantropical. Inclui 20 gêneros e 400-500 espécies. Ocorrem no Brasil seis gêneros e cerca de 60 espécies. Várias espécies são cultivadas como ornamentais, dentre elas: sete-copas (*Terminalia catappa*), espécie que foi utilizada no presente estudo, nativa da Ásia, jasmim-da-índia (*Quisqualis indica*) e mofumbo (*Combretum leprosum*), nativa da caatinga nordestina (Ballve, 1995).

A sete-copas (*Terminalia catappa*) é uma árvore de grandes dimensões que pode atingir 35 m de altura. É típica de regiões tropicais. Em Angola é conhecida como figueira-da-índia. Conhecida popularmente também como chapéu-de-sol, é muito comum por todo o Brasil, a partir da região sudeste, pois necessita de calor para se desenvolver. Também é extremamente comum em regiões praianas. Em Santos (SP) é conhecida como cuca. Tem a copa bastante larga fornecendo bastante sombra. É cultivada como árvore ornamental e os seus frutos comestíveis, embora um pouco ácidos, são muito apreciados pelos morcegos. A sua madeira é vermelha, sólida e resistente à água, tendo sido utilizada para fazer canoas na antiga Polinésia. Nas suas folhas e casca são encontrados taninos e ácidos elágico, gálico e quebulínico. O chá da casca e folhas é febrífugo e antidiarrêico (Ballve, 1995).

3.7.6 Família Rubiaceae

Rubiaceae é uma família botânica, pertencente às angiospermas, de grande importância para a sociedade, pois nela encontra-se o café (*Coffea spp.*), uma das bebidas mais usadas no mundo, espécies ornamentais (ixora, gardênia, pentas, mussaendas), espécies invasoras (poaias, mata-pasto) e algumas medicinais. Algumas

delas causam intoxicações ao gado (erva-de-rato, *Palicourea* sp.). Mas além dessas espécies há ainda aproximadamente mais de 13.000 espécies pertencentes à família, distribuídas em aproximadamente 650 gêneros (Delprete, 2004).

A composição química do café é a seguinte: alcalóides, incluindo os alcalóides purínicos ou xantinas (cafeína, teobromina, teofilina, paraxantina), ácidos orgânicos (ácido clorogênico 5 a 10%, e os ácidos cafeico, metilúrico, vanílico, hidroxibenzoico e ferrúlico), flavonóides (caempferol, quercetol 40%), diterpenos (cafestol, caveol), salicilatos (salicilato de metila), EDTA, ácido benzoico, derivados nicotínicos (trigonelina), óleos essenciais (ácido cinâmico, aldeído cinâmico), vitaminas (nicotinamida, ácido ascórbico, tiamina, riboflavina e caroteno) e minerais (cálcio, fósforo e ferro) (Moreira, 2000).

O noni (*Morinda citrifolia*), espécie utilizada no presente estudo, é uma pequena árvore da família das Rubiaceae. A *Morinda citrifolia* é originária do sudeste asiático, tendo sido difundida pelo homem através da Ásia Meridional, ilhas do Oceano Pacífico, Polinésia Francesa, Porto Rico e mais recentemente a República Dominicana. O Taiti continua a ser o local de maior cultivo. Na China, Japão e Tahiti, várias partes da árvore (folhas, flores, frutos e tronco) servem para tratamento da febre, tratamento dos olhos e problemas da pele, constipação, dores de estômago, ou dificuldades respiratórias. Na Malásia, acredita-se que as flores aquecidas desta planta aplicadas no peito curam a tosse, náusea e cólicas. Nas Filipinas, é extraído o sumo das folhas como tratamento para a artrite. O tronco desta árvore produz uma cera castanho-púrpura, chamada de cera-batik, aplicada em pintura sobre tecido, normalmente seda (pintura sobre seda). Ela é cultivada com esta finalidade na ilha de Java, na Indonésia. No Havaí é extraída uma tintura amarelada da raiz, usada para tingir tecidos. No Suriname, assim como em outros países, a árvore serve como para-vento, suporte para videiras, e também árvores de sombra para arbustos de café. A fruta é também usada como xampu no Brasil e na Malásia, onde se acredita que ajude no combate aos piolhos (Furusawa *et al.*, 2003).

Na Indochina, o fruto aplica-se no tratamento da asma e disenteria. Para uso externo, o fruto é descascado, esmagado, misturado com sal e depois aplicado em fraturas de ossos. No Havaí, o fruto maduro é aplicado em furúnculos para extrair o pus. O extrato de fruta também pode regular a menstruação ou dificuldades urinárias. Nos Estados Unidos e Canadá, noni é anunciado como produto dietético. Os fabricantes de

seus produtos reivindicam que a xeronina (patenteado nos Estados Unidos sob o nº 4.543.212) é o princípio biológico ativo. Segundo o alegado descobridor desse princípio ativo, Ralphe Heinicke, a xeronina é "um novo alcalóide, útil na medicina, alimentação, e em campos industriais.", "A composição, caracterização, o modo de ação e a utilidade do novo alcalóide, a xeronina (isolado de um grande número de substâncias naturais), podem ser conseguidos por meio de determinadas técnicas e precauções". No entanto, até o ano de 2006, 20 anos após o primeiro anúncio da descoberta da xeronina, não foi lançado nenhum artigo numa publicação científica sobre este. A estrutura química do xeronina ainda hoje é desconhecida (Furusawa *et al.*, 2003).

O jenipapo (*Genipa americana* L.) é uma árvore mediana, bastante ramificada, de caule castanho-acinzentado, flores amareladas, e comum na Amazônia. Nos seus frutos e raiz são encontrados manita, jenipina, cafeína, taninos, ácido tartárico, sais de cálcio e ferro, vitaminas B1, B2 e C. O suco da fruta é digestivo, diurético, contra enterite, hidropisia, asma e anemia. O chá da raiz é purgativo.

Outra espécie da mesma família é a vassourinha de botão (*Borreria verticillata* L.), planta herbácea, perene, ereta, ramificada, e também comum na Amazônia. Está presente nas folhas e raiz, a emetina. O cozimento das folhas e raízes serve para banhos contra erisipela, hemorróida e varizes (Ballve, 1995).

3.7.7 Família Lauraceae

Lauraceae é uma família botânica representada por mais de 2.000 espécies em 40 gêneros. No Brasil há aproximadamente 19 gêneros e 400 espécies. A grande maioria são árvores e arbustos, exceto as trepadeiras parasitas do Gênero *Cassytha*. Têm um cheiro característico nas folhas quando esmagadas, devido à presença de óleos essenciais. Embora as Lauraceae sejam importantes componentes florestais em muitas partes do mundo, relativamente só algumas poucas espécies têm importância local. O principal produto da família é o abacate, o fruto de *Persea americana*, que além de ser consumido cru, em saladas, ou doces, dele se extrai gordura, usada principalmente em cosmética, que também é extraída de *Laurus nobilis*, o louro (que tem suas folhas usadas na culinária como tempero) e de *Litsea sebifera*. No presente estudo foram utilizadas sementes de abacate para a obtenção do extrato por embebição. O abacateiro é uma árvore mediana de copa bastante densa e comum nas Américas central e do sul.

Nos frutos, folhas, casca da árvore e sementes são encontrados carboidratos, proteínas, gorduras, taninos, perseitol, metil-chavicol, metil-eugenol, dopamina, esparagina, ácidos málico e acético. O fruto é utilizado para diminuir a taxa de ácido úrico. O chá das folhas, cascas da árvore e sementes raladas é diurético, anti-reumático, contra anemia e diarreias (Vieira, 1992).

Por séculos o principal produto econômico da família era a canela, a casca de *Cinnamomum zeylanicum* e de outras espécies de *Cinnamomum*, uma das famosas especiarias, que motivaram até mesmo as grandes expedições marítimas para buscá-las no Oriente, e outra especiaria desta família é a cânfora (*Cinnamomum camphora*). O metileugenol e eugenol, substâncias encontradas na natureza, são responsáveis pelo cheiro de canela, assim como o 1-nitro-2-feniletano. São encontradas também outras substâncias como o ácido cinâmico e taninos. Muitas outras espécies aromáticas são usadas como condimentos, como o pau-cravo (*Dicypellium caryophyllatum*) que está ameaçada de extinção, pois não é cultivada, ou em perfumaria como o pau-rosa da Amazônia (*Aniba rosaeodora*). Os principais constituintes químicos dessa espécie são o linalol e acetato de linalila. Também podem ser encontradas no óleo essencial de pau-rosa, a anibina e a 4-metoxiparacotoína. A madeira das espécies das Lauraceae é de excelente qualidade, como exemplos: *Mezilaurus itauba* conhecida no Brasil como itaúba e a imbuia (*Ocotea porosa*) (Baleroni, 2002).

A Imbuia (*Ocotea porosa* L. Barroso), também conhecida como embuia, canelaimbuia, existindo em todo sul do país, trata-se de uma espécie nativa com distribuição em matas temperadas do sul do Brasil, que devido à exploração por sua madeira nobre, encontra-se em risco de extinção. A análise da composição do óleo indicou 5 componentes majoritários nas folhas: pineno 22,4%, mirceno 5,73%, bisaboleno 25,86% e espatulenol 10,78% e 4 componentes majoritários nos galhos: pineno 5,50%, bisaboleno 8,48% e eudesmol 23,72%. O óleo de sassafrás brasileiro, extraído da madeira de *Ocotea pretiosa*, espécie do mesmo gênero da imbuia, contém safrol, seu constituinte odorífero (Baleroni, 2002).

O estudo de Silva (1995) teve como objetivo o isolamento e a elucidação estrutural de alguns constituintes químicos da madeira do tronco de *Aniba puchury*, uma Laureacea conhecida popularmente como "casca preciosa arana", que foi coletada no município de Marabá (PA), Região Amazônica. Os metabólitos secundários foram

isolados através de métodos cromatográficos e suas estruturas elucidadas por técnicas espectrométricas usuais. Foram isolados quatro arilpropanóides monoméricos (3,4-dimetoxi -alilbenzeno; 3,4-dimetoxi propenilbenzeno; 2,4,5-trimetoxipropenilbenzeno), um esteróide (beta-sitosterol), um aldeído aromático (2,4,5-tri metoxifenil), tetrahidrofurano; (7r,8s,7'r,8'r)-8,8'-dimetil-7,7'bis (2,4,5-trimetoxifeniltetrahidrofurano).

3.7.8 Família Basellaceae

É uma família com plantas angiospérmicas (plantas com flor, divisão Magnoliophyta), pertencente à ordem Caryophyllales. A bertalha (*Basella rubra*), uma representante dessa família, que foi utilizada para a obtenção do extrato no presente trabalho, é uma espécie perene, originária da Índia e introduzida no Brasil, sendo cultivada em hortas, de preferência junto aos muros ou ripados por apresentar características de planta trepadeira. Suas folhas são utilizadas na alimentação humana e as raízes como emoliente, refrescante e estimulante. Essa planta tem apresentado melhor desenvolvimento em solo úmido, fresco e rico em matéria orgânica. Semelhante ao espinafre, com folhas mais arredondadas, pode ser refogada, adicionada aos cozidos ou consumida na forma de cremes. Suas folhas são ricas em vitamina A. Portanto, ela é recomendada no combate às doenças do fígado e no combate às hemorragias do pós-parto. Mas seu consumo exagerado deve ser evitado pelas mulheres no início da gravidez devido essa mesma vitamina A, que não é facilmente degradada pelo organismo e pode causar lesões no feto. Seus principais constituintes químicos encontrados nas folhas, além da vitamina A são a vitamina B, B2, B5 e C, cálcio, cobre, ferro, fósforo, manganês, magnésio, potássio, sódio e zinco. Não é indicado que se consuma mais de 500 g por dia, devido ao teor considerável de ácido oxálico, que é venenoso em altas concentrações (Vieira, 1992).

3.7.9 Família Cucurbitaceae

É uma família de plantas dicotiledôneas, de haste rastejante, frequentemente com gavinhas de sustentação, que reúne cerca de 750 espécies, a maioria perene, entre as quais domesticadas e de grande importância para o homem tais como abóbora, melão, melancia, bucha, cabaça, abobrinha, pepino e outras (Ballve, 1995).

A abóbora (*Cucurbita pepo* L.) possui em suas sementes, folhas, flores e frutos, fitosterina, globulina, fitina, sacarose, dextrose, protease, lectina, vitaminas A, B, C, sais minerais, ácidos oleico, cucurbitacina. O fruto é usado cru, as sementes são vermífugas o chá das flores é estomáquico, antiinflamatório dos rins, fígado, baço e antitérmico. O sumo das folhas verdes, pisadas, é usado para queimaduras e erisipela. Nos frutos da cabacinha (*Luffa operculata* Cogn.) são encontrados isocucurbitacina e buchulina. O chá de 1g do fruto serve para sinusite, pingando apenas uma gotinha na narina. Nas folhas e frutos do chuchu (*Sechium edule* Swartz), planta originária do México, são encontrados carboidratos, proteínas, sais de cálcio, fósforo e ferro, vitaminas A, B1, B2 e C. O chá das folhas é diurético, cardiotônico, hipotensor e antidiabético. Nos frutos do maxixe (*Cucumis anguria* L.) encontra-se miriocarpina, carboidratos, proteínas, sais de cálcio, fósforo e ferro, vitaminas A, B1, B2 e C. O chá dos frutos serve contra inflamação dos rins e cálculos renais, é anti-emético e anti-hemorroidal (Vieira, 1992).

Dessa família, foram utilizados no presente estudo o pepino (*Cucumis sativus* L.) e o melão (*Cucumis melo* L.). Os componentes químicos do pepino são carboidratos, proteínas e gorduras, sais de potássio, fósforo, cálcio, sódio, magnésio e ferro, vitaminas A, B1, B2 e C. O fruto comido cru, em saladas, é diurético, sedativo, anti-reumático e sonífero. O melão é uma fruta nativa do Oriente Médio. Existem inúmeras variedades cultivadas em regiões semi-áridas do mundo, todas apresentando frutos mais ou menos esféricos, com casca espessa e polpa carnosa e succulenta, com sementes achatadas no centro. A cor e a textura da casca, bem como a cor e o sabor da polpa, variam de acordo com o método de cultivo. A abundância da água em seu interior e o sabor suave tornam o melão uma fruta muito apreciada na forma de refrescos. Suas sementes tostadas e salgadas, também podem ser consumidas. Cada 100g de melão contém: 31 Kcal, 0,85g de proteínas, 0,15g de gordura, 2800 U.I de vitamina A, 30mcg de vitamina B1 (tiamina), 20mcg de vitamina B2 (riboflavina), 0,55 mg de vitamina B5 (niacina) e vitamina C. Contém ainda quantidades razoáveis de cálcio, fósforo e ferro, que contribuem para a formação dos ossos, dente e sangue. A vitamina A protege a visão, vitamina C age contra infecções e a B5 combate problemas de pele. O melão maduro é bom como calmante, diurético e laxante. Também é recomendado nos casos de gota, reumatismo, artrite, obesidade, colite, prisão de ventre, afecções renais, cistite e problemas ginecológicos (Vieira, 1992).

3.7.10 Família Solanaceae

É uma família botânica representada por aproximadamente 2000 espécies distribuídas em 95 gêneros. Possui grande importância para a alimentação. Fazem parte dessa família, a batata, o tomate, o tabaco e o cubiu, espécie utilizada no presente estudo, conhecida também como tomate de índio e maná. Planta tipicamente amazônica, o cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal) é um dos recursos genéticos nativos da Amazônia, completamente domesticado pelos povos indígenas da região antes da chegada dos europeus. Nas últimas décadas, este material genético foi muito estudado, sendo os trabalhos científicos mais importantes desenvolvidos na Amazônia brasileira e peruana. Sob o ponto de vista econômico, o cubiu tem se constituído em uma importante matéria-prima para a agroindústria moderna, por reunir atributos como produtividade, podendo atingir 100 toneladas de frutos por hectare, rusticidade, precocidade, e fácil cultivo. O fruto é exótico e possui sabor característico e agradável, podendo ser utilizado de múltiplas formas como sucos, doces, geléias, compotas, molhos para temperar carnes de um modo geral, cosméticos e medicamentos caseiros para controlar os altos níveis de colesterol, ácido úrico e diabetes (Luz *et al.*, 2008).

De sabor típico, ácido, considerável teor de pectina, niacina e ferro com boas características nutricionais, pode contribuir como valor agregado a produtos, como a geléia, que, apesar de ser um produto disponível no mercado, torna-se uma nova opção de produtos genuinamente regionais para uma parcela da população com restrição a açúcares. Para atender às necessidades desses indivíduos, vários estudos têm sido realizados, com o emprego de edulcorantes. Estudos preliminares, tendo ratos como modelo experimental, constataram ação hipoglicemiante do cubiu. Portanto, a utilização desse fruto como matéria-prima, para a formulação de geléia dietética e convencional, poderá contribuir não só para o desenvolvimento sócio-econômico da Região Amazônica, como também beneficiar os pacientes com restrição de sacarose (Yuyama *et al.*, 2008).

O camapu (*Physalis angulata* L.), espécie dessa família, possui em suas folhas, frutos e raízes, fisalina, higrina, tropeina, proteínas, vitaminas A e C. O chá da raiz é diurético, sudorífico, contra icterícia, anti-reumático, hepatoprotetor, anti-inflamatório. O chá das folhas serve contra a inflamação da bexiga e fígado (Vieira, 1995).

No pimentão (*Capsicum annuum* L.) são encontrados solanidina, capsicina, carboidratos, proteínas, sais de cálcio, potássio, sódio, vitaminas A, B1, B2 e C. O fruto cru, em salada ou cozido, é sialagogo (substância que estimula o fluxo salivar), estomáquico e ativa a peristalse dos intestinos (Ballve, 1995).

O tomate (*Solanum lycopersicum* L.) é originário da América Central e do Sul, amplamente cultivado e consumido em todo o mundo. É um alimento rico em licopeno, substância utilizada na prevenção do câncer de próstata e no fortalecimento imunológico, vitaminas do complexo A, B, fósforo, potássio, ácido fólico, cálcio e frutose (Ballve, 1995).

3.7.11 Família Asteraceae

É a família botânica com maior número de espécies entre Magnoliophytas, e é também conhecida por Compositae ou compostas. São aproximadamente 50.000 espécies divididas em 900 gêneros. Muitas espécies são usadas no cultivo devido ao seu valor biológico. Entre os representantes da família estão o absinto, a alface, o girassol, o crisântemo, a margarida, a chicória e muitas outras. As asteráceas encontram-se em regiões tropicais, subtropicais e temperadas (Vieira, 1995).

Foram utilizadas no presente estudo, sementes de chicória (*Chicorium intybus* L.) para a obtenção do extrato por embebição. É utilizada para problemas digestivos e biliares, produzindo efeito diurético e laxativo, na insuficiência biliar, hepatismo, anemia, astenia, artrite e estimula o metabolismo. Na raiz e nas folhas encontram-se os seguintes constituintes: chicorina (glucosídeo), óleo essencial, inulina, tanino, matérias mucilaginosas, resinosas, pépticas, princípio amargo (intibina), insulina, lactocopicrina, ácido chicorésico, sal de potássio (Vieira, 1995).

A alface (*Lactuca sativa* L.), outra espécie dessa família, promove a circulação de energia do organismo, evita as estagnações que podem ocorrer no trato digestivo (dores abdominais e diarréias) e no fígado. Suas propriedades também ajudam a combater a insônia, a vertigem a icterícia e o reumatismo. A alface merece um especial interesse, não só pelo seu valor alimentício, mas também por suas virtudes medicinais. As folhas são usadas para salada e são levemente laxantes, diuréticas, antiácidas e contra reumatismos. O suco cru e o chá das folhas, talos e raízes, contêm a “lactucina”, princípio ativo e amargo, além de manita, asparagina, albumina, resina, cera, sais, etc.

As folhas, no seu estado fresco, contêm mais de 95% de água e menos de 2% de matéria azotada, proteína, manganês e outras matérias minerais, além do cobre. Das sementes, extrai-se óleo emoliente, alimentar, (principalmente no Egito), onde é usado como afrodisíaco (Ballve, 1995).

A carqueja (*Baccharis trimera* Less), também da família Asteraceae, é uma planta ideal para canteiros de jardins, pois cresce formando tufos espessos. Pelo seu gosto amargo, a medicina popular recomenda-a para combater problemas digestivos e hepáticos. Com efeito diurético, auxilia no emagrecimento e no controle da diabetes. Pelo mesmo motivo, deve ser usada com moderação. Principais propriedades medicinais: antianêmica, antiasmática, antibiótica, antidiarréica, antidiabética, antidispéptica, antigripal, antihidrópica, antiinflamatória, anti-reumática, anti-*Trypanosoma cruzi* (causador da moléstia de Chagas), aperiente, aromática, colagoga, depurativa, digestivo, diurético, emoliente, eupéptica, estimulante hepática, estomáquica, febrífuga, hepática, hepato-protetor, hipocolesterolêmica, hipoglicêmica, laxante, moluscocida (contra *Biomplalaria glabrata*, hospedeiro intermediário do *Schistosoma mansoni*, causador da esquistossomose), sudorífica, tenífuga, tônico, vermífuga. Indicada para afecções febris, afecções gástricas, intestinais, das vias urinárias, hepáticas e biliares, inflamação das vias urinárias, intestino solto, má-digestão, má-circulação, obesidade, prisão de ventre, reumatismo, úlceras. Nas suas hastes encontram-se os seguintes constituintes químicos: alfa e beta-pineno, álcoois sesquiterpênicos, ésteres terpênicos, flavonas, saponinas, flavonóides, fenólicos, lactonas sesquiterpênicas e tricotecenos, alcalóides. Compostos específicos: apigenina, dilactonas A, B e C, diterpeno do tipo eupatorina, germacreno-D, hispidulina, luteolina, nepetina e quercetina. O óleo essencial contém monoterpenos (nopineno, carquejol e acetato de carquejilo). É contra-indicado para gestantes e lactantes e doses excessivas podem causar hipotensão (Ballve, 1995).

3.7.12 Família Malvaceae

A família Malvaceae é constituída de 252 gêneros e cerca 2330 espécies espalhadas pelo mundo, com destaque na América do Sul. Sua principal representante é a malva (*Malva sylvestris* L.). Suas folhas e raiz são usadas para qualquer tipo de infecção ou inflamação de boca, garganta, laringe faringe, olhos, ouvidos, estômago,

úlceras, rins, bexiga, ovários, nervos, hemorróidas, para mau hálito, em picadas de insetos e como cicatrizante. Os principais componentes químicos são o malvidol, pectinas, taninos, mucilagens e resinas. Atualmente, enxaguantes bucais e dentifrícios com os princípios ativos da malva são muito utilizados e conhecidos (Alves *et al.*, 2009).

A malva roxa (*Urena lobata* L.) possui em suas folhas, flores e raiz, a aramina, oxalatos e mucilagem. O chá das folhas e flores é emoliente, béquico (diminui a tosse), diurético, expectorante, antidesintérico, antiespasmódico, contra inflamação das mucosas, hepatite e infecções pulmonares, e o chá da raiz é antiespasmódico (Alves *et al.*, 2009).

O quiabo (*Abelmoschus esculentus* Moench.) espécie dessa família e utilizada no presente estudo, é rica em vitamina A e, portanto de importância para a visão, pele e mucosas. É muito utilizado na culinária em diferentes tipos de pratos. Pode-se encontrar em 100g de quiabo 850 U.I de vitamina A, 130mcg de vitamina B1, 75mcg de vitamina B5 e 25,8mg de vitamina C. Além disso, contém 40,0% de calorias, 89,6% de água, 7,4% de hidratos de carbono, 1,8% de proteínas, 0,2% de gorduras e 1,0% de sais minerais (Vieira, 1995).

O algodoeiro (*Gossypium arboreum* L.) possui na casca da raiz, folhas e sementes gossipol, furfurool, acetovanilona, betaina, fitosterol, serotonina, oleina e ácidos palmítico, esteárico, aráquico e pectínico. O óleo das sementes, além de alimentício é galactagogo (aumenta a excreção de leite). O chá da casca da raiz e folhas é diurético, antiasmático, antidesintérico, antianêmico, hemostático uterino, e para infecções renais. O sumo das folhas é vulnerário e alivia queimaduras (Vieira, 1995).

Nas folhas e raiz da vinagreira (*Hibiscus sabdariffa* L.), que também a essa família, encontra-se o ácido oxálico, oxalato de potássio e carboidratos. O chá das folhas ou raízes é antiescorbútico, estomáquico, diurético e emoliente (Vieira, 1995).

3.7.13 Família Euphorbiaceae

É uma família botânica representada por 222 gêneros e cerca de 5970 espécies. Podem se apresentar como arbóreas, arbustivas, subarbustos e ervas. As espécies mais conhecidas são a seringueira (*Hevea brasiliensis* Willd.) e a mamona (*Ricinus communis* L.). Essa família destaca-se pela sua importância econômica. Da seringueira

extrai-se o látex usado para a manufatura de borracha natural. Em sua composição encontra-se em média 35% de hidrocarbonetos, destacando-se o 2-metil-1,3-butadieno, conhecido como isopropeno, o monômero da borracha (Moreno *et al.*, 2003).

A mamona (*Ricinus communis* L.) espécie utilizada no presente estudo, é nativa da África e fonte de óleo de rícino, fibras vegetais e compostos químicos utilizados na medicina. Os frutos, em geral, possuem espinhos e, em alguns casos, são inermes. As sementes apresentam-se com diferentes tamanhos, formatos e grande variabilidade de coloração. A semente é tóxica devido principalmente a uma proteína chamada ricina, que quando purificada é mortal mesmo em pequenas doses. O óleo é de difícil digestão, mas o maior risco na ingestão da semente é a toxidez da ricina. Mais de três sementes podem matar uma criança e mais de oito, um adulto. Esse óleo é extraído pela prensagem das sementes, e contém 90% de ácido graxo ricinoléico, o qual confere-lhe características singulares, possibilitando ampla gama de utilização industrial, como a produção de biodiesel, tornando a cultura da mamoneira importante potencial econômico e estratégico ao País (Baleroni, 2002).

O quebra-pedra (*Phyllanthus niruri* L.) possui princípios ativos que são encontrados em toda a planta, como filantina, filalvina, cineol, cimol, linalol, salicilato de metila, securimina, filantidina, ácido salicílico. O chá da planta é diurético e antiinfecioso das vias urinárias. Outra espécie é a sacaca (*Croton cajucara* Benth.) que possui em suas folhas e casca da árvore linalol, pineno, sabineno, estragol, linearisina, magnoflorina. O chá das folhas ou da casca da árvore serve para distúrbios hepáticos e dos rins e diminui o colesterol (Vieira, 1995).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Seleção das espécies vegetais

As sementes das espécies foram cedidas pelo Dr. Luiz Augusto Gomes, do Banco de Germoplasmas de Leguminosas do INPA (Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia), com exceção das sementes de jaca e leucena coletadas de árvores do próprio INPA situado na Avenida Efigênio Salles, e do feijão-caupi, comprado no comércio local. Algumas espécies utilizadas não são nativas da Amazônia, mas foram introduzidas na região e se adaptaram muito bem. Foram selecionadas 32 espécies da Amazônia (Tabela 1) e exóticas (Tabela 2).

Tabela 1 - Espécies nativas da Amazônia

Espécies da Amazônia		
Espécie vegetal	Nome vulgar	Família
<i>Acosmium nitens</i> Vogel.	taboarana	Fabaceae
<i>Buchenavia huberi</i> Ducke	tanibuca	Combretaceae
<i>Campsiandra comosa</i> Benth.	acapurana	Fabaceae
<i>Cariniana micrantha</i> Ducke	castanha-de-macaco	Lecythidaceae
<i>Dinizia excelsa</i> Ducke	angelim-pedra	Fabaceae
<i>Dipteryx odorata</i> Benth.	cumarú	Fabaceae
<i>Enterolobium schomburgkii</i> Benth.	sucupira-amarela	Fabaceae
<i>Eugenia stipitata</i> Mc. Vaugh.	araçá-boi	Myrtaceae
<i>Hymenaea courbaril</i> L.	jatobá	Fabaceae
<i>Leucaena leucocephala</i> Lam.	leucena	Fabaceae
<i>Mucuna urens</i> L. Medik.	pó-de-mico	Fabaceae
<i>Ormosia excelsa</i> Benth.	tento-amarelo	Fabaceae
<i>Parkia multijuga</i> Benth.	pinho-cuiabano	Fabaceae
<i>Parkia pendula</i> Benth.	visgueiro	Fabaceae
<i>Peltogyne paniculata</i> Benth.	roxinho	Fabaceae
<i>Psophocarpus tetragonolobus</i> L.	feijão-de-asa	Fabaceae
<i>Schizolobium amazonicum</i> Ducke	paricá	Fabaceae
<i>Solanum sessiliflorum</i> Dunal	cubiu	Solanaceae
<i>Swartzia laevicarpa</i> Amshoff.	saboarana	Fabaceae
<i>Vigna unguiculata</i> L. var. A	feijão-caupi	Fabaceae
<i>Vigna unguiculata</i> L. var. B	feijão-de-metro	Fabaceae
<i>Zygia cauliflora</i> Willd.	jarandea	Fabaceae

Tabela 2 – Espécies exóticas presentes na Amazônia

Espécies exóticas		
Espécie vegetal	Nome vulgar	Família
<i>Abelmoschus esculentus</i> Moench.	quiabo	Malvaceae
<i>Artocarpus heterophyllus</i> Lam.	jaca	Moraceae
<i>Basella rubra</i> (L.) DC.	bertalha	Basellaceae
<i>Cichorium intybus</i> L.	chicória	Asteraceae
<i>Cucumis melo</i> L.	melão	Curcubitaceae
<i>Cucumis sativus</i> L.	pepino	Curcubitaceae

Tabela 2 – Continuação

Espécies exóticas		
Espécie vegetal	Nome vulgar	Família
<i>Morinda citrifolia</i> L.	noni	Rubiaceae
<i>Persea americana</i> Mill.	abacate	Lauracea
<i>Ricinus communis</i> L.	mamona	Euphorbiaceae
<i>Terminalia catappa</i> L.	sete-copas	Combretaceae

4.2 Fitoquímica – obtenção dos extratos vegetais

Existem várias metodologias descritas para a preparação de extratos vegetais, visando o isolamento de seus constituintes químicos. Em análises fitoquímicas, quando não se conhece previamente o conteúdo do material a ser analisado, costuma-se submetê-lo a sucessivas extrações, com solventes de polaridade crescente, conseguindo-se, assim, uma extração fracionada, em que as diferentes frações contêm compostos de polaridade também crescente. Na escolha de um solvente, além dos fatores relacionados à eficiência do processo extrativo, devem ainda ser considerados a toxicidade e/ou riscos que seu manuseio representam, a estabilidade das substâncias extraídas, a disponibilidade e o custo do solvente (Simões *et al.*, 2004). Foram utilizados quatro solventes: hexano, acetato de etila, metanol e água. O hexano é utilizado para a extração de ácidos graxos, triglicerídeos, esteróides, terpenos e acetofenonas, e o acetato de etila para flavonóides, taninos, xantonas, ácidos triterpênicos, saponinas e compostos fenólicos em geral. O metanol é utilizado para a extração de heterosídeos em geral, porém somente o metanol é miscível em água em todas as proporções. A água é sem dúvida, um dos líquidos extratores mais importantes, sendo utilizada na extração de substâncias hidrofílicas, como aminoácidos, açúcares, alcalóides na forma de sal, saponinas, heterosídeos flavonoídicos e mucilagens (Simões *et al.*, 2004).

As sementes de cumaru, jaca e feijão-caupi, foram desidratadas na estufa a 40°C, moídas e pesadas. Cada espécie foi misturada com quatro solventes de polaridades crescentes sequencialmente, em separado: hexano, acetato de etila, metanol (MeOH) e água, visando uma semipurificação das substâncias através de suas distintas

polaridades. Para cada 200g de semente moída, utilizou-se 600mL de solvente, e as extrações foram feitas em triplicatas (Cursino *et al.*, 2009). O material vegetal e o solvente foram levados em um Erlenmeyer de 1L para o ultrassom em temperatura ambiente por vinte minutos. Em seguida, filtrou-se a mistura através de um funil com filtro de papel, e o filtrado foi levado para o rotaevaporador para a evaporação total do solvente em uma temperatura de 50°C. O material vegetal resultante foi disposto em uma bandeja e juntamente com o extrato obtido do rotaevaporador, que foi armazenado em um pote de vidro devidamente etiquetado, foram colocados na estufa para a secagem do material vegetal e a evaporação de solvente residual do extrato. Somente no dia seguinte os dois foram pesados. Calculou-se o rendimento do extrato, que foi tampado e levado para a geladeira, e uma nova extração começou com a massa vegetal resultante da mesma espécie, mas com outro solvente, obedecendo à ordem crescente de polaridade (hexano, acetato de etila, metanol e água).

O processo de elaboração dos extratos iniciou-se no laboratório de Química Analítica Ambiental do CPPN (Coordenação de Pesquisas em Produtos Naturais - Fitoquímica) no INPA, sob a orientação do Dr. Ézio Sargentini Junior e Edilene Cristine Lopes Pereira, e seguiu no laboratório de Botânica do Mestrado de Biotecnologia da UEA (Universidade do Estado do Amazonas). Foram obtidos extratos rotaevaporados das seguintes espécies: feijão-caupi, cumaru e jaca, usando o esquema da Figura 3. Os principais dados sobre esses extratos encontram-se na Tabela 3.

No laboratório de microbiologia da Coordenação de Pesquisas em Ciências Agronômicas (CPCA) do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), usamos uma metodologia de embebição de sementes em água, para obtenção de um extrato aquoso. A assepsia das sementes foi realizada utilizando-se solução de hipoclorito de sódio a 2%, por três minutos e, em seguida as sementes foram lavadas em água destilada e esterilizada (Ferreira *et al.*, 2001). Foram então, embebidas em água estéril por 24 horas, na proporção de 28g de semente fresca para 100mL de água. Efetuamos tal metodologia baseada na fase de embebição da germinação das sementes, quando são liberados no meio, metabólitos secundários que podem ter algum interesse científico (Povinel *et al.*, 2002). Foram obtidos extratos aquosos por embebição das seguintes espécies: angelim-pedra, pinho-cuiabano, leucena, saboarana, acapurana, jaca, jarandeuca, taboarana, pó-de-mico, tento-amarelo, castanha-de-macaco, sucupira-

amarela, tanibuca, roxinho, jatobá, visgueiro, paricá, feijão-de-asa, quiabo, pepino, feijão-de-metro, bertalha, cubiu, feijão-caupi, melão, chicória, noni, abacate, mamona verde e mamona madura, sete-copas, araçá-boi (Tabela 3).

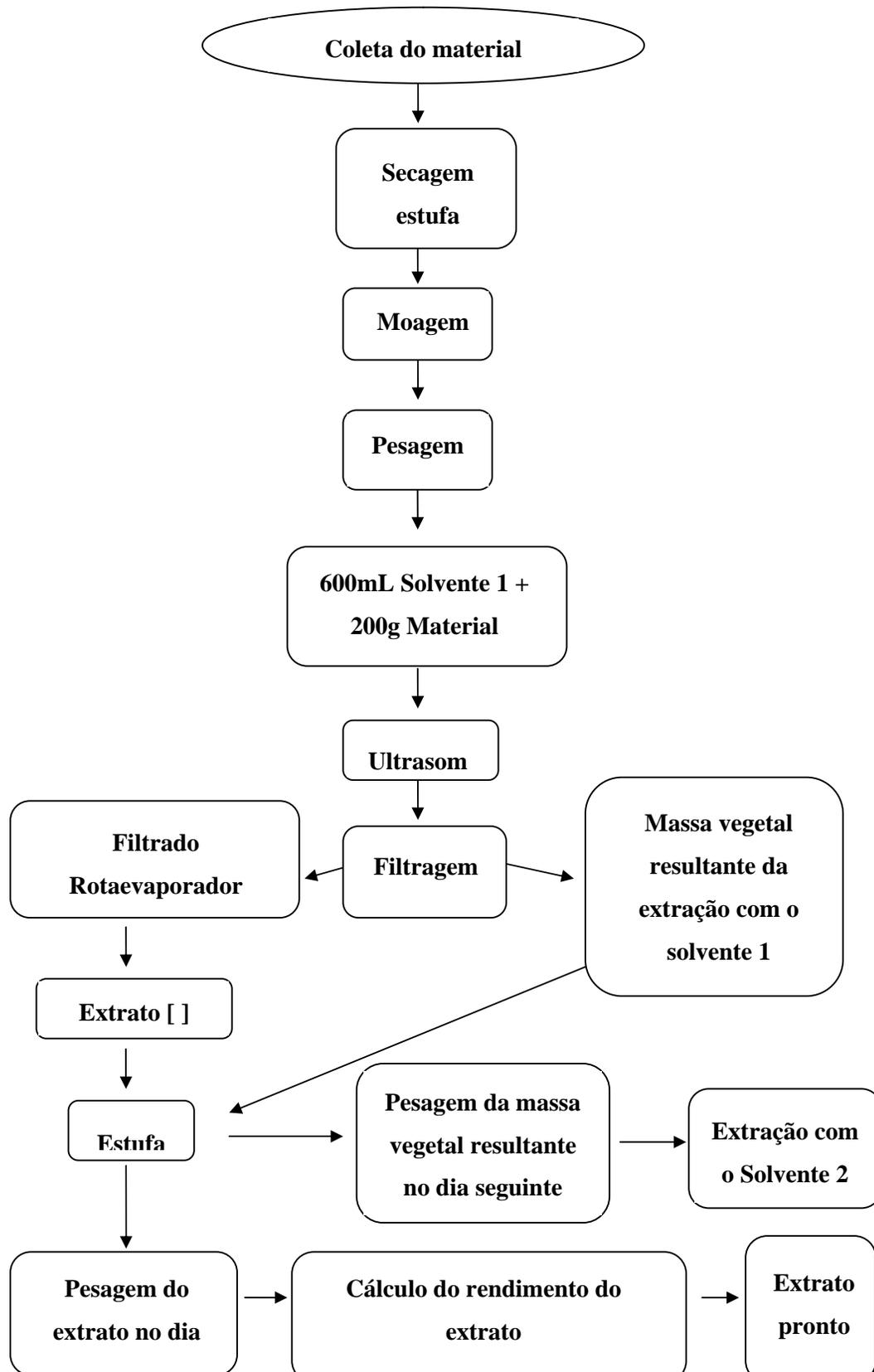


Figura 3 - Esquema geral para obtenção de extratos por rotaevaporador diretamente da planta

Tabela 3 – Síntese de dados dos extratos rotaevaporados.

Espécie	Massa vegetal inicial utilizada (g)	Solvente	Massa vegetal final (g)	Massa extrato (g)	Rendimento do extrato %
cumaru	59,1	hexano	54,9	21,11	35,70
	54,9	acetato de etila	51,9	2,00	3,38
	51,9	metanol	40,9	9,38	17,09
	40,9	água	42,3	9,58	18,47
jaca	216,6	hexano	193,6	1,73	0,79
	193,6	acetato de etila	180,6	0,52	0,26
	180,6	metanol	164,6	8,33	4,61
	164,6	água	140,6	10,96	6,66
feijão-caupi	200,0	hexano	177,6	0,95	0,47
	177,6	acetato de etila	174,6	0,09	0,05
	174,6	metanol	167,6	6,37	3,64
	167,6	água	291,0	19,04	11,36

Tabela 4 – Síntese de dados dos extratos vegetais obtidos por embebição.

Espécie	Volume de água estéril (mL)	Peso da semente utilizada(g)	Peso do extrato(g)
angelim- pedra	100	28	71,4
pinho- cuiabano	100	28	70,3
leucena	100	28	48,9
saboarana	100	28	80,3
acapurana	100	28	28,5
jarandea	100	28	42,7
taboarana	100	28	41,8
pó-de-mico	100	28	87,4
tento-amarelo	100	28	33,2
araçá-boi	100	28	43,4
castanha-de-macaco	100	28	24,8
jatobá	100	28	57,2
paricá	100	28	37,7
tanibuca	100	28	30,5
visgueiro	100	28	35,6
roxinho	100	28	56,4
sucupira-amarela	100	28	31,5
feijão-de-asa	100	28	43,7
quiabo	100	28	65,5
pepino	100	28	47,9
feijão-de-metro	100	28	48,6
bertalha	100	28	35,8
cubiu	100	28	18,8
feijão-caupi	100	28	29,2
melão	42	12	13,8
chicória	12	3	11,4
noni	50	14	9,4
abacate	196	55	110,0
mamona verde	100	28	35,6
mamona madura	100	28	65,1
sete-copas	100	28	28,3
jaca	100	28	35,6

4.3 Crescimento do *Streptococcus mutans*

O crescimento do *Streptococcus mutans*, classificado como tipo γ (gama) ou inerte, não produtor de halo de hemólise, foi realizado no meio de cultura TSA (Tryptic Soy Agar), ou seja, 7,5g de peptona de soja com 7,5g agar em 500 mL de água destilada (Manual DIFCO, 1984), que é o meio utilizado pela Fundação André Tosello, onde a bactéria de referência ATCC 25175 foi adquirida. Essa mistura foi esterilizada em autoclave, e posteriormente distribuída assepticamente, na câmara de fluxo laminar em placas de Petri estéreis e em tubos de ensaio para cultivo e manutenção das culturas. Para comprovar e controlar a esterilidade das placas, foi conservado um meio de cultura puro, não semeado, durante 24 horas na estufa a 37 °C, evitando a sua contaminação.

Para obtenção do meio líquido, foram misturados 7,5 g de peptona de soja em 500 mL de água destilada, sendo submetido à esterilização em autoclave. Posteriormente as culturas foram distribuídas em 2 frascos Erlenmeyers de 250 mL cada, submetidos a um aparelho agitador para crescimento das culturas por 72 horas.

4.4 Análise microbiológica

A análise microbiológica utilizada foi o método comparativo entre as amostras, com uma cultura de *Streptococcus mutans* de referência, buscando avaliar a presença de propriedades antimicrobianas e de remoção do biofilme dental pelas amostras de extratos das sementes, no meio de cultura contendo esse microrganismo, responsável pela formação do biofilme bacteriano em contato com o esmalte dentário humano. As análises foram realizadas no laboratório de microbiologia da Coordenação de Pesquisas em Ciências Agrônomicas (CPCA) do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA). Foram utilizados os seguintes equipamentos: balança analítica Marte, estufa de cultura bacteriológica Nova Técnica, estufa de secagem Quimis, mesa agitadora Cientec CT 165, geladeira Electrolux R340, microondas Electrolux, câmara de fluxo laminar Pachane, autoclave vertical Phoenix, microscópio Medilux e centrífuga Minispin.

4.5 Avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos sobre o *S. mutans* através da difusão em disco

A propriedade antimicrobiana foi analisada através das atividades bactericida e/ou bacteriostática, *in vitro*, dos extratos sobre o *S. mutans*. O meio de cultura TSA foi distribuído em placas de petri a uma temperatura de 50 °C. Após o resfriamento completo, uma alíquota de 0,5mL do inóculo (meio de cultura líquido com a bactéria) foi adicionada a cada placa. Sobre esse conjunto, foram acrescentadas as amostras de extratos das sementes embebidos em discos de papel de filtro de aproximadamente 5 mm de diâmetro. Foram adicionados sobre a cultura, cinco discos de papel impregnados individualmente por amostra em cada placa de Petri e um disco no centro da placa com propilenoglicol, que foi o agente diluente nos extratos rotaevaporados, e para os extratos obtidos por embebição, um disco no centro da placa embebido em água estéril (técnica de difusão em disco de Kirby Bauer, 1966). Como tratamento foi utilizada também a clorexidina na sua forma concentrada comercializada (2%) e nas diluições em água de 0,4%, 0,2%, 0,1% e 0,05%. A diluição foi realizada na proporção de 0,1g de extrato vegetal para 1mL de propilenoglicol, e todos os extratos se diluíram na proporção de 1:2, extrato e solvente respectivamente. Na análise qualitativa foi levado em consideração, o tamanho do halo de inibição ocasionado pelo extrato vegetal no crescimento da *S. mutans* em meio de cultura em placa de Petri. Para isso, os halos de inibição foram medidos com um paquímetro digital e analisados estatisticamente.

Os valores relacionados foram mensurados em mm de halo de inibição verdadeiro, calculado pela diferença entre o halo total e o diâmetro do disco, ou seja, a medida da difusão das moléculas bioativas no meio de cultura com a bactéria.

4.6 Avaliação da sobrevivência do *Streptococcus mutans* na presença dos extratos

A cultura bacteriana foi sempre renovada antes de cada teste. Foram utilizados 1,5mL do meio líquido com *S. mutans* e 0,3mL de extrato de semente para cada tubo de ensaio. Cada tratamento foi repetido três vezes, inclusive a testemunha, composta somente de 1,8mL do meio líquido com *S. mutans* e o controle positivo, composto de 1,5mL de meio líquido com *S. mutans* e 0,3mL de clorexidina, que foi utilizada na sua forma concentrada comercializada, e diluída 0,4%, 0,2%, 0,1% e 0,05%. Após 24h, foi realizado o teste de sobrevivência da bactéria na presença dos extratos. Agitou-se o tubo para se obter uma alíquota e riscar na placa de Petri, que foi dividida em duas repetições, e para cada tratamento fez-se então, duas placas e quatro repetições. O método de riscagem utilizado foi o proposto por Oliveira & Magalhães (1999) (Figura 4), onde cada placa foi marcada ao meio, e cada metade da placa continha uma repetição, estabelecendo-se então, duas repetições por placa de Petri. Foram utilizadas também, as diluições da clorexidina. As placas foram mantidas em uma estufa na temperatura de 36,5°C (temperatura corporal humana normal), e a avaliação foi realizada após 24 h. De acordo com o desenvolvimento das colônias nas quatro zonas da placa (Figura 5), foram dados valores para o crescimento para cada isolado variando de 1 (sem crescimento visível na placa) a 4 (máximo crescimento em todas as zonas), segundo a escala apresentada na Figura 5. Os valores foram analisados estatisticamente. Foram também atribuídas notas intermediárias, subdivididas em 0,25, ou seja 1,00, 1,25, 1,50, 1,75, 2,00 e etc., até 4,00, aumentando assim a precisão do método. Por esse método, ocorre uma diluição das células bacterianas na placa de Petri, onde a Zona 1 apresenta a maior concentração e a Zona 4, a menor.

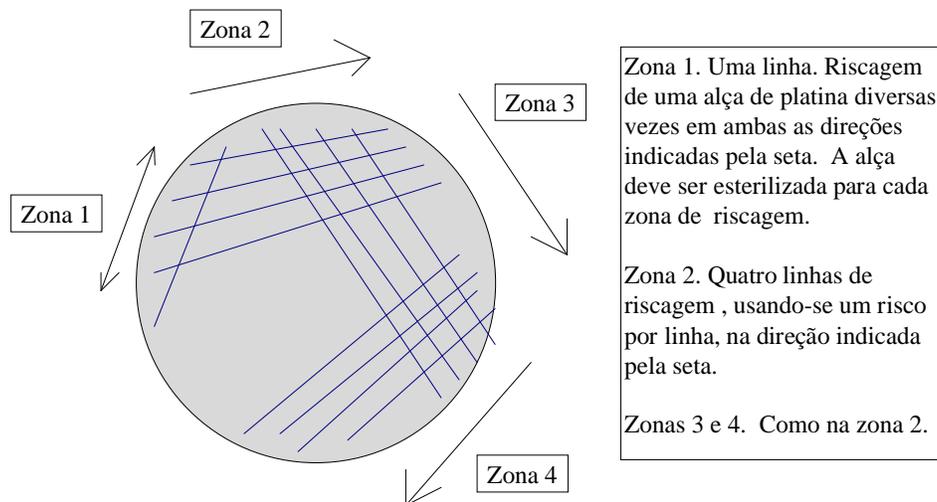


Figura 4 – Ilustração do método de riscagem de bactéria para avaliação da sobrevivência do do *S. mutans* na presença dos extratos vegetais, proposto por Oliveria & Magalhães (1999).

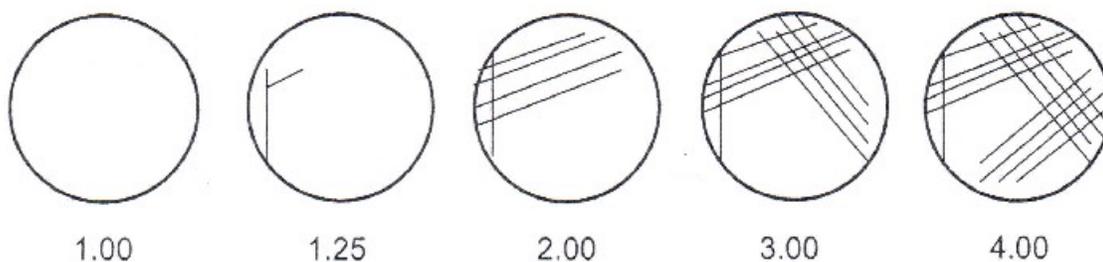


Figura 5 – Escala para avaliação da sobrevivência do *S. mutans* na presença dos extratos vegetais

4.7 Teste de diluição para avaliar o número de células/mL equivalente a cada valor encontrado pelo método de Oliveira & Magalhães (1999)

Preparou-se meio líquido misturando-se 7,5 g de peptona de soja em 500 mL de água destilada, que foi submetido à esterilização em autoclave. Posteriormente as culturas foram distribuídas em cinco frascos de Erlenmeyers de 125 mL cada, e levados

a um aparelho agitador para crescimento das culturas por 72 horas. A solução diluente foi de sulfato de magnésio, preparado a 0,2% e esterilizado posteriormente. Utilizou-se as seguintes diluições: 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} e 10^{-7} , que foram preparadas em tubos de ensaio previamente esterilizados, que continham 9mL de solução salina. Uma alíquota de 1mL foi retirada do meio com o inóculo e acrescentada no primeiro tubo com diluição 10^{-1} . Após a homogeneização com pipeta (sugando e dispersando a solução), uma alíquota de 1mL foi retirada então do tubo de diluição 10^{-1} e transferida para o tubo 10^{-2} e assim por diante até o tubo contendo a diluição 10^{-7} . Para cada diluição, foram utilizadas duas placas que foram divididas ao meio, adotando-se o mesmo método de riscagem de Oliveira & Magalhães (1999), resultando então, em quatro repetições para cada diluição. As placas foram mantidas durante 24h em uma estufa no laboratório, a uma temperatura de 36,5°C. De acordo com o desenvolvimento das colônias nas quatro zonas da placa, foram dados valores para o crescimento para cada isolado, variando de 1 (sem crescimento visível na placa) a 4 (máximo crescimento em todas as zonas). Foram utilizadas três placas de Petri para as seguintes diluições para contagem de colônias: 10^{-3} , 10^{-5} e 10^{-7} . Uma alíquota de 1mL de meio com inóculo foi disperso em cada placa vazia e em seguida foi colocado o meio com agar no estado líquido e com movimentos giratórios foi-se homogeneizando o inóculo com o meio de agar, e essas placas também foram levadas para a estufa no laboratório, a uma temperatura de 36,5°C, durante 24h.

4.8 Avaliação da remoção do biofilme dental pelos extratos das sementes

Para os ensaios de remoção do biofilme foi estabelecido o seguinte protocolo: o meio de cultura contendo peptona de soja foi esterilizado em autoclave e resfriado posteriormente. O meio foi distribuído em Erlenmeyers e inoculado com colônias de *Streptococcus mutans*. Dentes previamente esterilizados, foram suspensos por uma linha e imersos na cultura, e mantidos na mesa agitadora por uma semana, até a formação do biofilme bacteriano nos dentes pelas bactérias presentes na cultura (Pelino, 1998). Após a formação do biofilme, os dentes foram imersos em tubos de ensaio contendo individualmente os extratos das sementes, utilizando como tratamento controle água estéril. Foram utilizadas também a clorexidina comercial 2% e suas diluições de 0,4%, 0,2%, 0,1% e 0,05%. Os dentes foram mantidos imersos nos extratos de sementes e na clorexidina e suas diluições durante 40 minutos. Foram utilizados três tubos como repetições para cada tratamento, avaliando-se a desagregação das bactérias dos dentes através da contagem das bactérias na suspensão presente nos tubos. Para essa contagem foi utilizada uma lâmina Neubauer-House, retirando-se uma gota da suspensão para esse procedimento. Quanto mais células de *S. mutans* foram removidas dos dentes, maiores os seus números na suspensão e maiores as contagens na lâmina de Neubauer-House.

5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foi realizada utilizando o programa ESTAT – sistema para análises estatísticas v 2.0, através do teste de Tukey a 5% de probabilidade, usando como referência, Gomez & Gomez (1984).

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos sobre o *S. mutans* através da difusão em disco

Pela Tabela 5, observa-se que apenas a clorexidina causou a formação de halo de inibição significativa contra o crescimento do *S. mutans*, sendo proporcional à concentração desse produto, o que era esperado, considerando suas propriedades antimicrobianas já conhecidas segundo Denardi (1994).

Tabela 5 - Halos de inibição provenientes da ação do propilenoglicol e dos extratos de sementes de três espécies vegetais obtidos por rotaevaporação sobre o *S. mutans*.

Tratamentos	Média do diâmetro dos halos de inibição (mm)
Clorexidina 2%	29,45a
Clorexidina 0,4%	15,27b
Clorexidina 0,2%	8,00c
Clorexidina 0,1%	5,73d
Clorexidina 0,05%	4,64d
Extrato aquoso feijão-caupi	0,49e
Extrato metanol feijão-caupi	1,40e
Extrato acetato de etila feijão-caupi	1,01e
Extrato hexano feijão-caupi	2,09e
Extrato aquoso jaca	0,23e
Extrato metanol jaca	0,54e
Extrato acetato de etila jaca	1,86e
Extrato hexano jaca	1,19e
Extrato aquoso cumaru	0,52e
Extrato metanol cumaru	0,57e
Extrato acetato de etila cumaru	1,06e
Extrato hexano cumaru	0,73e
Propilenoglicol	0,99e

OBS.: As médias com letras iguais na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Com relação aos extratos obtidos por rotaevaporação de feijão-caupi, cumaru e jaca, não houve a presença de halos de inibição a serem considerados, uma vez que foram estatisticamente iguais aos observados na solução controle (propilenoglicol). Os extratos de sementes das outras espécies foram obtidos por embebição.

Ao mudar a metodologia de extração usando apenas água (extração por embebição das sementes), sem passar anteriormente pela extração com metanol, acetato de etila e hexano, foi possível observar halos de inibição e de estímulo de crescimento

do *S. mutans* com os extratos das sementes de diversas espécies testadas. A figura 6, com o extrato aquoso das sementes de jarandeuca, ilustra esses resultados.

Os halos de estímulo de crescimento do *Streptococcus mutans* sempre foram encontrados posicionados externamente aos halos de inibição (Figura 6, Tabela 6). Provavelmente, a posição do halo de estímulo de crescimento após o de inibição se deve ao maior peso molecular das substâncias inibidoras, que percorrem menor distância do disco de papel no meio com água, e menor peso molecular das estimuladoras, que percorrem maior distância.

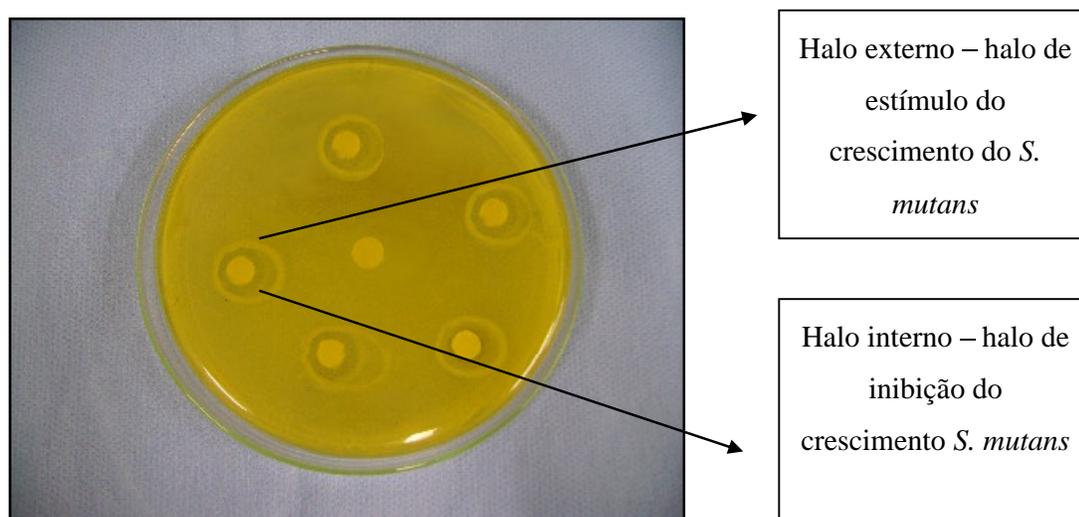


Figura 6 - Halos de inibição e de estímulo do crescimento da espécie *Zygia cauliflora* (jarandeuca), provenientes da ação do extrato aquoso obtido por embebição sobre o *S. mutans*.

Halos de inibição do *S. mutans* também foram observados no estudo de Soares *et al.* (2007), onde foi utilizado o extrato alcoólico de *Schinus terebinthifolius* (aroeira) a 20%, que mostrou-se eficaz na redução da contaminação de escovas dentais contaminadas por este microrganismo. No estudo de Carvalho *et al.* (2009), o extrato de *Myrciaria cauliflora* (jaboticaba), também apresentou bom efeito inibitório sobre o crescimento do *S. mutans*, suscitando assim, a possibilidade da sua incorporação a agentes antibiofilme como colutórios (enxaguantes bucais) e dentifrícios.

As sementes de diversas espécies também apresentaram substâncias inibidoras e/ou estimuladoras do crescimento do *S. mutans* (Tabela 6). Ao se analisar estatisticamente apenas os halos de inibição, observou-se que a clorexidina 2% e logo a seguir a 0,4%, apresentaram os melhores resultados (maiores halos de inibição). A análise estatística mostrou que as clorexidinas 0,2%, 0,1% e 0,05%, apresentaram resultados semelhantes entre si, e também com as espécies *Solanum sessiliflorum* (cubiu), *Cariniana micrantha* (castanha-de-macaco), *Hymenaea courbaril* (jatobá), *Zygia cauliflora* (jarandeuá), *Mucuna urens* (pó-de-mico), *Parkia pendula* (visgueiro), e *Ricinus communis* (mamona – extratos de mamona verde e madura). Os halos de inibição provocados por substâncias das sementes dessas espécies variam de 3,9 a 5,9mm.

Hymenaea courbaril (jatobá), é uma planta medicinal utilizada como vermífugo e adstringente, sendo eficaz contra hemorragias, diarreias e disenterias. Seu tronco exsuda uma resina, usada na medicina popular para tratamento de úlceras, bronquites e distúrbios estomacais. Na casca e seiva encontram-se os seguintes princípios ativos: ésteres dos ácidos benzóico e cinâmico, catequina e óleos essenciais (Vieira, 1992).

Uma lectina foi purificada, Ppel, parcialmente caracterizada e cristalizada a partir de sementes de *Parkia pendula* (visgueiro), que tem demonstrado potencial utilidade como marcador histoquímico de alterações neoplásicas da mama (Lombardi *et al.*, 1998).

Em vários países a mamona é cultivada para a extração do óleo das sementes, o óleo de rícino, cujo principal emprego é na lubrificação de motores de alta rotação, como é o caso dos motores de aviões. O óleo de rícino é usado, também, como purgativo, na fabricação de tinta, verniz e plástico, enquanto a torta, subproduto da extração do óleo, é usada como adubo. Apesar da alta toxicidade das sementes de mamona, o óleo de rícino não é tóxico, visto que a ricina, proteína tóxica das sementes (uma lectina), não é solúvel em lipídeos, ficando todo o componente tóxico restrito á torta (Rodrigues, *et al.*, 2002). As partes usadas com mais freqüência do vegetal são as sementes, seguidas das folhas, dos caules e das raízes. E atualmente a produção do óleo das sementes dessa planta vem destacando-se por sua aplicação como biocombustível (Silva, 2007).

Tabela 6 - Halo de inibição e de estímulo de crescimento do *S. mutans* provenientes da ação da clorexidina e dos extratos de sementes de diferentes espécies vegetais (médias de três repetições).

Tratamentos	Diâmetros dos halos de inibição (mm)	Diâmetros dos halos de estímulo de crescimento (mm)
Clorexidina 2%	29,4a	0,0e
Clorexidina 0,4%	15,3b	0,0e
Clorexidina 0,2%	8,0c	0,0e
Clorexidina 0,1%	5,7cd	0,0e
<i>Solanum sessiliflorum</i> (cubiu)	5,9cd	1,9abcde
<i>Cariniana micrantha</i> (castanha-de-macaco)	5,0cde	1,3bcde
<i>Hymenaea courbaril</i> (jatobá)	4,9cde	1,3bcde
<i>Zygia cauliflora</i> (jarandea)	4,9cde	1,7bcde
Clorexidina 0,05%	4,6cdef	0,0e
<i>Mucuna urens</i> (pó-de-mico)	4,5cdefg	1,5bcde
<i>Parkia pendula</i> (visgueiro)	4,2cdefgh	1,6bcde
<i>Ricinus communis</i> (mamona verde)	4,0cdefgh	1,7bcde
<i>Ricinus communis</i> (mamona madura)	3,9cdefgh	2,6abc
<i>Cucumis sativus</i> (pepino)	3,7defgh	1,5bcde
<i>Ormosia excelsa</i> (tento-amarelo)	3,6defgh	1,7bcde
<i>Eugenia stipitata</i> (araçá-boi)	3,4defghi	1,2bcde
<i>Vigna unguiculata</i> (feijão-de-metro)	3,3defghi	1,4bcde
<i>Buchenavia huberi</i> (tanibuca)	3,8defghij	1,5bcde
<i>Dinizia excelsa</i> (angelim- pedra)	2,5defghij	1,6bcde
<i>Morinda citrifolia</i> (noni)	2,3defghij	1,8bcde
<i>Peltogyne paniculata</i> (roxinho)	3,0defghij	1,7bcde
<i>Swartzia laeviscarpa</i> (saboarana)	2,5defghij	1,7bcde
<i>Acosmium nitens</i> (taboarana)	1,9efghijk	2,0abcde
<i>Psophocarpus tetragonolobus</i> (feijão-de-asa)	1,9efghijk	2,3abcd
<i>Campsiandra comosa</i> (acapurana)	1,5fghijk	1,2bcde
<i>Schizolobium amazonicum</i> (paricá)	1,5ghijk	0,7bcde
<i>Leucaena leucocephala</i> (leucena)	1,3hijk	0,9de
<i>Artocarpus heterophyllus</i> (jaca)	1,8ijk	1,6bcde
<i>Parkia multijuga</i> (pinho-cuiabano)	0,7jk	1,7bcde
<i>Abelmoschus esculentus</i> (quiabo)	0,0k	2,0abcde
<i>Basella rubra</i> (bertalha)	0,0k	2,0abcde
<i>Cichorium intybus</i> (chicória)	0,0k	2,6abc
<i>Cucumis melo</i> (melão)	0,0k	3,9a
<i>Enterolobium schomburgkii</i> (sucupira-amarela)	0,0k	1,6bcde
<i>Persea americana</i> (abacate)	0,0k	2,2abcde
<i>Terminalia catappa</i> (sete-copas)	0,0k	1,4bcde
<i>Vigna unguiculata</i> (feijão-caupi)	0,0k	2,4abcd
Água	0,0k	0,0e

OBS.: As médias com letras iguais nas colunas não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Seguindo a ordem de efetividade de melhores resultados, está o seguinte grupo de espécies (Tabela 6): *Cucumis sativus* (pepino), *Ormosia excelsa* (tento-amarelo), *Eugenia stipitata* (araçá-boi), *Vigna unguiculata* (feijão-de-metro), *Buchenavia huberi* (tanibuca), *Dinizia excelsa* (angelim-pedra), *Morinda citrifolia* (noni), *Peltogyne paniculata* (roxinho) e *Swartzia laevicarpa* (saboarana), com halos de inibição variando de 2,5 a 3,7mm.

Pesquisas indicando a presença de inibição do *S. mutans* por extratos vegetais são encontrados na literatura. Drumond *et al.* (2004) verificaram que o fitoterápico Malvatricin, constituído de malva, quinosol e tirotricina, apresentou os maiores halos de inibição frente ao *S. mutans*, ao comparar com outros fitoterápicos. Os componentes quinosol e tirotricina possuem ação antibacteriana. Assim, a superioridade desse produto sobre os demais fitoterápicos testados pode estar baseada na ação desses componentes. Gebara *et al.* (1996) avaliaram a ação antibacteriana de cacau, salva, camomila, tomilho e própolis sobre *S. mutans* e *S. sobrinus in vitro*. As concentrações dos extratos variaram entre 0,05 e 0,16 mg/mL. As concentrações inibitórias mínimas (CIM) para *S. mutans* foram de 0,06, 0,10 e 0,04 mg/mL para tomilho, cacau e própolis respectivamente. Para *S. sobrinus*, as CIM foram de 0,04, 0,12 e 0,02 mg/mL para tomilho, cacau e própolis respectivamente. Malva, salva e camomila não apresentaram ação antimicrobiana.

Assim como nesse trabalho, extratos de sementes para comprovar atividade antibacteriana também foram utilizados no estudo de Sousa *et al.* (2007), que pesquisaram *Joannesia princeps* Vellozo (Euphorbiaceae), popularmente conhecida como boleira e cutieira, uma árvore encontrada nas regiões norte, nordeste e sudeste, principalmente em floresta pluvial de mata atlântica. Segundo os autores, os frutos contêm, geralmente, duas amêndoas que possuem 37% de óleo, sendo útil para fins medicinais e industriais. Na medicina popular, essa planta é indicada como purgativo, para perturbações menstruais, febre pernicioso, antimicrobiano, sífilis, escrofulose e inchaço. O extrato das sementes exibe forte atividade anti-helmíntica. A atividade anti-helmíntica foi atribuída a alcalóides isolados de diferentes partes da planta. Observou-se que todas as amostras bacterianas testadas foram inibidas pelo extrato metanólico e fração residual na concentração de 25 mg/kg. Nesta mesma concentração, verificou-se

que as frações hexânica, diclorometânica, em acetato de etila e butanólica foram ativas contra o *S. aureus*. As frações hexânica e diclorometânica também inibiram o crescimento de *Streptococcus mutans* e *Salmonella typhimurium* (Sousa *et al.*, 2007).

No estudo de Zanella *et al.* (2009), foram colhidas amostras de sementes de uvas integrais (*Vitis vinifera*), tendo seu óleo sido extraído a quente, em prensa mecânica. As sementes de uvas desengorduradas (SUD) foram moídas e maceradas com solução extratora de acetona, água e ácido acético, na proporção de 90:9,5:0,5, respectivamente, ao abrigo de luz solar por 15 dias, com renovação de solvente aos sete dias, para extração de compostos fenólicos que, posteriormente, foram concentrados em rotoevaporador. O extrato obtido denominou-se de extrato de semente de uva desengordurada (ESUD). Esse extrato apresentou alta atividade antibacteriana *in vitro* contra cepas de *S. aureus* e *E. coli*, baixa atividade contra cepas de *Salmonella sp.*, e atividade antioxidante comparável ao ácido ascórbico.

Drumond *et al.* (2004) constataram que dos fitoterápicos estudados com mais de um constituinte vegetal, o de melhor ação antibacteriana sobre o *S. mutans* foi o Fitogargarejo, constituído de gengibre, romã e própolis. Os resultados encontrados por Souza *et al.* (2006) indicam que as soluções anti-sépticas à base de extrato de guaco, com ou sem própolis, inibem o crescimento de *S. mutans*. A incorporação do extrato de própolis nas formulações contendo extrato de guaco potencializou o efeito sobre *S. mutans*, sugerindo uma provável ação sinérgica entre os constituintes dos extratos. No estudo de Silva *et al.* (2002), verificou-se que o extrato metanólico de caules de plantas do gênero *Hyptis* apresentou halo de inibição contra *S. mutans*. Em relação aos óleos essenciais, segundo Nogueira *et al.* (2007), os óleos de guaçatonga, lipia, citronela, canela, cravo, poejo e hortelã apresentaram atividade contra o *S. mutans*, sendo que os óleos essenciais de citronela e cravo apresentaram halos de inibição maiores que o controle utilizado nesse estudo.

A técnica de difusão em agar utilizada no presente estudo, também foi utilizada no trabalho de Mussi *et al.* (2008), que avaliaram o efeito de uma solução de óleo de copaíba (*Copaifera officinalis*) sobre a bactéria cariogênica *Streptococcus mutans*. Foram utilizados três grupos, sendo um com solução de óleo de copaíba 10%, um controle positivo com digluconato de clorexidina 0,12% solubilizado na mesma solução base utilizada para o óleo e um controle negativo com o emprego apenas da solução

base. Para o ensaio de difusão em agar os resultados apontaram uma inibição de crescimento de *S. mutans* superior para a solução de copaíba em relação ao controle positivo. Tais resultados apresentam a solução de óleo de copaíba a 10% como uma possível alternativa no combate à bactéria *S. mutans*, devido a inibições possíveis do crescimento microbiano.

A mesma técnica também foi utilizada no trabalho de Oliveira *et al.* (2008), que avaliou a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais obtidos de capim-limão (*Cymbopogon citratus*), cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllata*) e canela (*Cinnamomum zeylanicum*) puros e incorporados em formulações de gel dentifrício sobre as bactérias cariogênicas *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus casei*. Os resultados mostraram que tanto os óleos essenciais quanto as formulações de gel dentifrício inibiram o crescimento bacteriano, podendo ser usados para prevenção de doenças periodontais e placas bacterianas.

O potencial antimicrobiano do extrato do gengibre (*Zingiber officinale*) foi avaliado no estudo de Grégio *et al.* (2006), com microrganismos comumente encontrados na cavidade bucal, no qual foi obtida a concentração mínima inibitória do extrato de gengibre contra alguns tipos de patógenos presentes na microbiota bucal do ser humano. Foi utilizado o método microbiológico, no qual os extratos glicólico e hidroalcoólico do gengibre sofreram diluições seriadas no meio de cultura (BHI) para uma posterior inoculação dos microrganismos *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Candida albicans*. Obteve-se a concentração mínima inibitória dos extratos de gengibre, tanto na sua forma glicólica quanto hidroalcoólica. A dose mínima necessária para inibir o crescimento dos vários microrganismos testados foi de 5mg/mL dos dois extratos estudados. O extrato da *Zingiber officinale* apresentou atividade antibacteriana e antifúngica relevante para a odontologia, podendo contribuir para o tratamento de doenças causadas por esses microrganismos presentes na cavidade bucal.

A atividade inibitória do desenvolvimento de placa dental e cepas da microbiota oral, tais como *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*, foi testada utilizando-se o extrato bruto etanólico de monte-cassino (*Aster lanceolatus*). Os meios utilizados nestes experimentos foram BHI para os microrganismos microaerofílicos e gelose para os demais. Para controle positivo

utilizou-se solução de digluconato de clorexidina a 0,2%. O extrato bruto etanólico de *Aster lanceolatus* inibiu o crescimento de todos os microrganismos testados, incluindo-se as amostras clínicas, com ênfase para a inibição da bactéria *Staphylococcus aureus* superando o resultado obtido com o controle positivo (Virtuoso *et al.*, 2005).

Soares *et al.* (2006), assim como nesse trabalho, também utilizaram extratos de plantas, com o objetivo de avaliar a atividade antibacteriana sobre o *S. mutans*. Foram utilizados extratos alcoólicos de jucá (*Caesalpinia ferrea*), aroeira (*Schinus terebinthifolius*), gengibre (*Zingiber officinale*), alfavaca (*Ocimum basilicum*), própolis, romã (*Punica granatum*) e hortelã da folha graúda (*Coleus amboinicus*), utilizando-se a clorexidina 0,12% como controle positivo. O jucá, a aroeira e a própolis apresentaram uma significativa atividade antibacteriana sobre *S. mutans*, sendo que o gengibre e a alfavaca apresentaram os menores espectros de ação. Essas plantas e o própolis destacam-se devido às suas propriedades terapêuticas, e possuem uso bastante difundido dentro da medicina popular no tratamento de diversas afecções bucais. O jucá (*Caesalpinia férrea*) e a aroeira (*Schinus terebinthifolius*) apresentam atividade analgésica, antiinflamatória, antiulcerogênica e antibacteriana (Carvalho *et al.*, 1996; Diniz *et al.*, 1997). Os estudos realizados por Martinez *et al.* (1996) e Guerra *et al.* (2000) revelaram a significativa atividade antibacteriana do extrato etanólico da aroeira sobre *S. aureus*, como também sobre outros microrganismos, comprovando a eficácia desta planta como potente antimicrobiano. O gengibre (*Zingiber officinale*) possui comprovada atividade antibacteriana e antioxidante frente ao *S. aureus*, que foi estudada por Alzoreky *et al.* (2003) e Nguetack *et al.* (2004). A alfavaca (*Ocimum basilicum*) possui atividade antibacteriana sobre bactérias gram positivas e gram negativas (Suppakul *et al.*, 2003). A própolis apresenta ação cicatrizante, analgésica, antiinflamatória e antimicrobiana (Manara *et al.*, 1999). De acordo com Uzel *et al.* (2005), os flavonóides são os constituintes responsáveis pela atividade antimicrobiana da própolis sobre microrganismos como o *S. mutans* e *S. sobrinus*. (Leal *et al.*, 2003).

Os extratos das sementes das espécies a seguir, apresentaram resultados estatisticamente semelhantes estatisticamente à água: *Acosmium nitens* (taboarana), *Psophocarpus tetragonolobus* (feijão-de-asa), *Campsiandra comosa* (acapurana), *Schizolobium amazonicum* (paricá), *Leucaena leucocephala* (leucena), *Artocarpus heterophyllus* (jaca) e *Parkia multijuga* (pinho-cuiabano), com halos de inibição muito

fracos, variando de 0,7 a 1,9mm. Algumas espécies não apresentaram halos de inibição, comportando-se como a água, apresentando (Tabela 6): *Abelmoschus esculentus* (quiabo), *Basella rubra* (bertalha), *Cichorium intybus* (chicória), *Cucumis melo* (melão), *Enterolobium schomburgkii* (sucupira-amarela), *Persea americana* (abacate), *Terminalia catappa* (sete-copas) e *Vigna unguiculata* (feijão-caupi).

Ausência de halos de inibição ao *S. mutans* também foi observada por Alvarenga *et al.* (2007), ao testarem os extratos aquosos de alecrim, capim-limão, gengibre, hortelã, orégano e sálvia a 10%. O mesmo resultado também foi verificado por Gebara *et al.* (1996), que constataram que o extrato alcoólico de malva não exerceu atividade antibacteriana sobre o *S. mutans*.

Não se observou halos de estímulo de crescimento na água e todas as variações da clorexidina (Tabela 6). As seguintes espécies apresentaram halos de estímulo diferentes estatisticamente da água e da clorexidina: mamona madura, feijão-de-asa, chicória, melão e feijão-caupi, indicando que os extratos dessas espécies possuem substâncias estimuladoras do crescimento do *S. mutans*. No presente estudo (Tabela 4), os halos de estímulo de crescimento se formaram provavelmente pela presença das substâncias de reserva da semente, que funcionaram como fonte de alimento para a bactéria (*S. mutans*). Estas podem ser glicídeos (exemplo: amido), proteínas e lipídeos, variando o tipo das mesmas e as suas proporções de acordo com a espécie. Assim, no grão do milho, a principal reserva é o amido; na semente do feijoeiro encontram-se 25 a 40% de proteínas, sendo a restante percentagem, formada por glicídeos, especialmente amido. As sementes de urucum não germinam durante os primeiros estádios de seu desenvolvimento devido em parte à insuficiência de materiais de reserva. A análise *in situ* do material de reserva das sementes revelou que ocorrem principalmente proteínas e amido nas células do endosperma (Amaral, 2001).

Cichorium intybus (chicória), que apresentou um dos maiores halos de estímulo de crescimento, é uma planta medicinal utilizada como diurético, para problemas estomacais, laxante, antiinflamatório do fígado e do intestino, e das folhas e raízes obtêm-se os seguintes princípios ativos intibina, inulina, chicorina, sais minerais e vitaminas A, B1, B2 e C (Vieira, 1992). No presente estudo, não houve indicação de que essa espécie apresenta substâncias antibacterianas, o que explicaria a ausência de inibição e presença do estímulo nos resultados da Tabela 4.

Persea americana (abacate), cujo extrato de semente apresentou baixo estímulo de crescimento do *S. mutans*, é uma planta essencialmente medicinal pelos componentes químicos que possui. Suas folhas, brotos, casca e semente ralada, são utilizados como chá, para infecções dos rins e bexiga, e dores de cabeça. Possui também ação diurética, antireumática, e é utilizada no tratamento de anemia e diarreia. Os princípios ativos encontrados nos frutos, folhas, casca e sementes são: carboidratos, proteínas, gorduras, taninos, perseitol, metil-chavicol, metil-eugenol, dopamina, esparigina, ácido málico e acético (Vieira, 1992).

6.2 Avaliação da sobrevivência do *Streptococcus mutans* na presença dos extratos.

No teste de diluição para avaliar o número de células/mL equivalente a cada valor encontrado no método de Oliveira & Magalhães (1999), a contagem de colônias foi realizada nas placas com diluição 10^{-7} . Na primeira placa obteve-se 993 colônias, na segunda 1068 e na terceira 971, apresentando então a média de $1,0 \cdot 10^{10}$ células/mL. A partir desses dados, obteve-se um gráfico relacionando o número de células/mL e as notas obtidas (Figura 7). Esse teste demonstrou a respectiva quantidade de células/mL de acordo com a nota que cada extrato inibiu. Cada nota encontrada referente à sobrevivência do *S. mutans* nos extratos vegetais, tem o seu correspondente no eixo y (Log_{10} da população estimada de *S. mutans* – encontra-se na segunda coluna da Tabela 5), e na terceira coluna da mesma tabela, pode-se observar a população estimada de *S. mutans* $\times 10^5$.

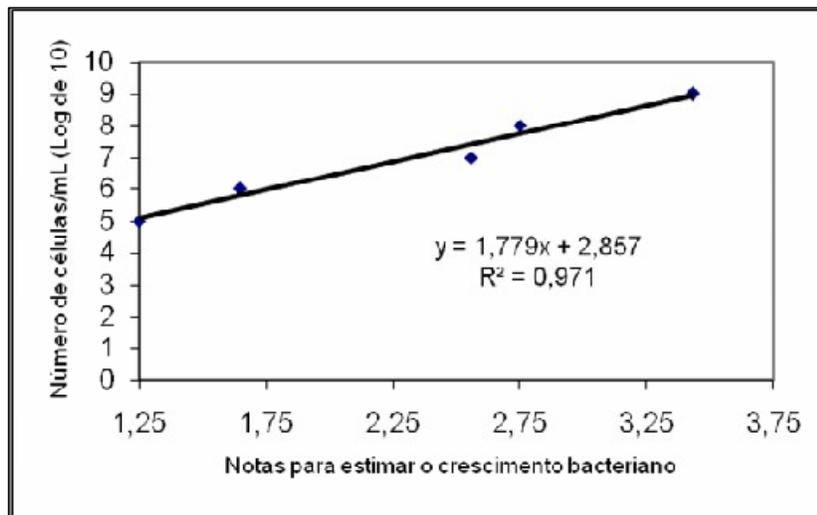


Figura 7 – Número de células/mL (Log de 10) e notas obtidas nos testes de riscagem, baseado em Oliveira & Magalhães (1999).

Os dados referentes à sobrevivência do *S. mutans* nos extratos vegetais (Tabela 7), mostram que a clorexidina 2%, 0,4% e 0,2%, apresentaram comportamento semelhante entre si, mostrando ação contra essa bactéria, não havendo crescimento bacteriano nas placas riscadas.

Em seguida, as clorexidinas 0,1% e 0,05% e as espécies *Cariniana micrantha* (castanha-de-macaco), *Hymenaea courbaril* (jatobá), *Parkia pendula* (visgueiro), *Mucuna urens* (pó-de-mico), *Ricinus communis* (mamona – os dois tipos de extratos – mamona madura e mamona verde), *Solanum sessiliflorum* (cubiu) e *Zygia cauliflora* (jarandea), apresentaram as melhores ações contra o *S. mutans*, inibindo significativamente o seu crescimento nas placas de Petri. A população final de *S. mutans* no meio de cultura usado, no momento do teste de sobrevivência, na presença de clorexidina ou extratos de sementes ou água, foi de $1,0 \cdot 10^{10}$ cel/mL. Ao ser adicionado na água (diluída), caiu para $1,0 \cdot 10^7$ cel/mL. Essa população da água serve como referencial para se comparar os extratos que diminuíram significativamente a população dessa bactéria. No caso das espécies acima, a população final estimada foi de $1,8 \cdot 10^5$ células/mL, uma diminuição aproximada de 50 vezes (Tabela 7), podendo assim, restringir a ação dessa bactéria nos dentes, caso esses extratos sejam um dia usados em produtos odontológicos.

Os extratos das sementes do *Cucumis sativus* (pepino) e *Morinda citrifolia* (noni), que estão logo depois das espécies acima, na ordem de efetividade, diminuíram 10 vezes a população do *S. mutans* ao se comparar com a população dessa bactéria no tratamento controle (água). O *Acosmium nitens* (taboarana), *Artocarpus heterophyllus* (jaca), *Campsiandra comosa* (acapurana) e *Schizolobium amazonicum* (paricá), diminuíram 4 vezes a

população dessa bactéria.

No estudo de Melo *et al.* (2006), também foi observada atividade antibacteriana sobre o *S. mutans*, causada pelo extrato hidroalcoólico de *Anacardium occidentale*. Em sua pesquisa, González *et al.* (2005) verificaram que os extratos etanólicos de *Psidium guineensis* (choba), apresentaram atividade contra o *S. mutans*, o que foi atribuído aos metabólitos secundários, taninos, flavonóides, terpenos e aldeídos, presentes no fruto da espécie. Gebara *et al.* (1996) mostraram que o tomilho foi empregado na medicina popular como agente anti-séptico e apresentava ação antibacteriana contra *S. mutans* e *S. sobrinus*.

Tabela 7 – Notas da sobrevivência do *Streptococcus mutans* nos extratos vegetais, obtidas pela metodologia proposta por Oliveira & Magalhães (1999) e população estimada.

Tratamentos	Média da nota da sobrevivência bacteriana nos extratos	Log ₁₀ da população estimada de <i>S. mutans</i> *	População estimada de <i>S. mutans</i> /mL x10 ⁵
Clorexidina 2%	1,00a**	0,00	0,00
Clorexidina 0,4%	1,00a**	0,00	0,00
Clorexidina 0,2%	1,00a**	0,00	0,00
Clorexidina 0,1%	1,25b	5,080	1,80
Clorexidina 0,05%	1,25b	5,080	1,80
<i>Cariniana micrantha</i> (castanha-de-macaco)	1,25b	5,080	1,80
<i>Hymenaea courbaril</i> (jatobá)	1,25b	5,080	1,80
<i>Parkia pendula</i> (visgueiro)	1,25b	5,080	1,80
<i>Mucuna urens</i> (pó-de-mico)	1,25b	5,080	1,80
<i>Ricinus communis</i> (mamona madura)	1,25b	5,080	1,80
<i>Ricinus communis</i> (mamona verde)	1,25b	5,080	1,80
<i>Solanum sessiliflorum</i> (cubiu)	1,25b	5,080	1,80
<i>Zygia cauliflora</i> (jarandeuá)	1,25b	5,080	1,80
<i>Cucumis sativus</i> (pepino)	1,75cd	5,970	9,70
<i>Morinda citrifolia</i> (noni)	1,75cd	5,970	9,70
<i>Acosmium nitens</i> (taboarana)	1,91cde	6,255	26,00
<i>Artocarpus heterophyllus</i> (jaca)	1,91cde	6,255	26,00
<i>Campsiandra comosa</i> (acapurana)	1,91cde	6,255	26,00
<i>Schizolobium amazonicum</i> (paricá)	1,91cde	6,255	26,00
<i>Buchenavia huberi</i> (tanibuca)	2,08de	6,557	56,00
<i>Dinizia excelsa</i> (angelim-pedra)	2,08de	6,557	56,00
<i>Swartzia laevis</i> (saboarana)	2,08de	6,557	56,00
<i>Eugenia stipitata</i> (araçá-boi)	2,25de	6,860	86,00
<i>Leucaena leucocephala</i> (leucena)	2,25de	6,860	86,00
<i>Ormosia excelsa</i> (tento-amarelo)	2,25de	6,860	86,00
<i>Parkia multijuga</i> (pinho-cuiabano)	2,25de	6,860	86,00
<i>Peltogyne paniculata</i> (roxinho)	2,25de	6,860	86,00
<i>Psophocarpus tetragonolobus</i> (feijão-de-asa)	2,25de	6,860	86,00
<i>Vigna unguiculata</i> (feijão-de-metro)	2,25de	6,860	86,00

Tabela 7 – Continuação

Tratamentos	Média da nota da sobrevivência bacteriana nos extratos	Log ₁₀ da população estimada de <i>S. mutans</i> *	População estimada de <i>S. mutans</i> /mL x10 ⁵
<i>Abelmoschus esculentus</i> (quiabo)	2,33e	7,002	100,00
<i>Basella rubra</i> (bertalha)	2,33e	7,002	100,00
<i>Cichorium intybus</i> (chicória)	2,33e	7,002	100,00
<i>Cucumis melo</i> (melão)	2,33e	7,002	100,00
<i>Enterolobium schomburgkii</i> (sucupira-amarela)	2,33e	7,002	100,00
<i>Persea americana</i> (abacate)	2,33e	7,002	100,00
<i>Terminalia catappa</i> (sete-copas)	2,33e	7,002	100,00
<i>Vigna unguiculata</i> (feijão-caupi)	2,33e	7,002	100,00
Água	2,33e	7,002	100,00

OBS.: As médias com letras iguais nas colunas não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

*Com base na equação $y = 1,779x + 2,857$

** A nota 1,00 significa sem crescimento de *S. mutans*

Buchenavia huberi (tanibuca), *Dinizia excelsa* (angelim-pedra), *Eugenia stipitata* (araçá-boi), *Leucaena leucocephala* (leucena), *Ormosia excelsa* (tento-amarelo), *Parkia multijuga* (pinho-cuiabano), *Peltogyne paniculata* (roxinho), *Psophocarpus tetragonolobus* (feijão-de-asa), *Swartzia laevicarpa* (saboarana), *Vigna unguiculata* (feijão-de-metro), *Abelmoschus esculentus* (quiabo), *Basella rubra* (bertalha), *Cichorium intybus* (chicória), *Cucumis melo* (melão), *Enterolobium schomburgkii* (sucupira-amarela), *Persea americana* (abacate), *Terminalia catappa* (sete-copas) e *Vigna unguiculata* (feijão-caupi), comportaram-se estatisticamente como a água.

Assim como as espécies do primeiro grupo da Tabela 7, que apresentaram ação contra o *S. mutans*, a *Punica granatum*, espécie pertencente à Família Punicaceae, e mais conhecida como romã, apresenta ação bactericida e bacteriostática sobre bactérias Gram-positivas e Gram-negativas constituintes do biofilme dental (Pereira, 2004; Pereira *et al.*, 2006). O autor estudou a ação antibacteriana do extrato hidroalcoólico da casca de romã, frente a diferentes bactérias. Essa ação antibacteriana foi ainda comparada à atividade antibacteriana da clorexidina, como no presente trabalho. A *Calendula officinalis* é uma espécie exótica empregada na cicatrização de feridas com ação antiinflamatória e antibacteriana (Blumenthal

et al., 2000; Shultz *et al.*, 2002; Sartori *et al.*, 2003; Falcão *et al.*, 2005). Na Odontologia, vem sendo testada no controle de crescimento de bactérias em biofilme dental, contra bactérias periodontopatogênicas, entre outros.

Na comparação da atividade antimicrobiana do extrato bruto de barbatimão e de hipoclorito de sódio a 1% e 2,5%, verificou-se a inibição do crescimento de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Escherichia coli* e *Enterococcus faecalis* com o hipoclorito, mas o barbatimão não inibiu *E. coli* (Oliveira *et al.*, 2005). Schuch (1999) demonstrou que plantas como o cravo-da-índia, calêndula, barbatimão, rama-de-batata e alecrim apresentam atividade antimicrobiana sobre *Streptococcus mutans*, inferindo que poderiam ser eficazes no tratamento da cárie dental. Todas as plantas possuíram atividade antimicrobiana, porém o melhor resultado foi obtido com o uso de cravo-da-índia. O óleo de copaíba vem sendo indicado, há mais de quatro séculos, para diversos fins farmacológicos. Este óleo é o exsudato do tronco da copaibeira. Os estudos de atividade antibacteriana mostraram atividade bactericida e bacteriostática do óleo frente ao *Streptococcus mutans* (Drumond *et al.*, 2004).

Alves *et al.* (2009) também avaliaram a atividade antimicrobiana *in vitro* de extratos vegetais sobre o *S. mutans*. Os extratos hidroalcoólicos da malva (*Malva sylvestris*), aroeira-do-sertão (*Myracrodruon urundeuval*) e da goiabeira (*Psidium guajava*), apresentaram ação inibitória sobre *S. mutans*, sendo que o extrato da goiabeira mostrou o melhor resultado de todos os extratos.

Stefanello *et al.* (2006) avaliaram a atividade antimicrobiana pelo mesmo método do presente estudo, de extratos de cambará (*Gochnatia polymorpha*), espécie empregada na medicina popular contra doenças respiratórias. Folhas, cascas do tronco e ramos foram extraídos com hexano, diclorometano e etanol, sucessivamente, sendo obtidos os respectivos extratos brutos. A atividade antimicrobiana foi determinada pelo método de difusão em ágar utilizando-se bactérias Gram-positivas, Gram-negativas e fungos. A maior atividade antimicrobiana foi observada pelo extrato em diclorometano das cascas, que inibiu o crescimento de *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Streptococcus mutans*, *Enterococcus faecalis* e *Candida albicans*. Esta atividade parece estar relacionada à presença de diterpenos no extrato.

A atividade antimicrobiana de extratos brutos da espécie vegetal manacá (*Tibouchina stenoscarpa*) foi avaliada frente a alguns microrganismos da cavidade bucal utilizando o método de microdiluição em caldo para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM). Os microrganismos utilizados no estudo da atividade antimicrobiana foram: *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus sobrinus*, *Enterococcus faecalis* e *Lactobacillus casei*. O extrato em diclorometano de *T. stenoscarpa* foi o que demonstrou maior efetividade contra o conjunto de microrganismos testados (Faria *et al.*, 2002).

O gênero *Acacia* está incluído na família Fabaceae (Leguminosae), assim como algumas espécies utilizadas no presente estudo. A família Fabaceae é uma das maiores dentre as dicotiledôneas, compreendendo mais de 13.000 espécies reunidas em mais de 600 gêneros distribuídos mundialmente, principalmente nas regiões tropicais e subtropicais (Joly, 1998). Diversas espécies de *Acacia* são utilizadas tradicionalmente para o tratamento das mais diversas patologias. Na Somália utiliza-se a goma da *A. tortilis* como medicamento contra a asma, conhecido como *Qurac*. Os ativos foram encontrados como sendo quracol A (1-(2,4-dihidroxifenil)-3-(3-hidroxifenil)-propan-2-ol, quracol B e fisetinidol (1-(2,4-dihidroxifenil)-3-(3,4-hidroxifenil)-propan-2-ol (Hagos, 1988; Samuelsson, 1988). As sementes da *A. concinna* são utilizadas para o tratamento de doenças de pele (Sekine *et al.*, 1997). Porém, foram observados efeitos tóxicos com espécies da *Acacia* como *A. berlandieri* e *A. riqula*, devido a presença de alcalóides e aminas tóxicas, conduzindo a ataxia locomotora e efeitos sobre a fertilidade de ovelhas e cabras (Clement, 1997; Clement *et al.*, 1998). Efeito antimicrobiano foi verificado com extratos de diversas espécies de *Acacia*. O extrato metanólico das cascas da *A. senegal* inibiu o desenvolvimento de *Streptococcus mutans*, *Actinomyces viscosus* e da levedura *Candida albicans* (Khan, 2000; Ngassapa, 2000; Matee, 2000). Diversos metabólitos secundários como as cumarinas, taninos, glicosídeos e cianogênicos, alcalóides, esteróides e flavonóides foram verificados no gênero *Acacia*. Os flavonóides correspondem ao grupamento químico predominante neste gênero (Andrade *et al.*, 2003).

A copaíba é outra espécie que pertence à família *Leguminosae*, segundo o sistema de Engler. As copaíbas são árvores nativas da região tropical da América Latina

e também da África Ocidental. Na América Latina são encontradas espécies na região que se estende do México ao norte da Argentina. Popularmente conhecidas como copaibeiras ou pau d'óleo, as copaíbas são encontradas facilmente nas Regiões Amazônica e Centro-Oeste do Brasil. A biologia das sementes de *C. langsdorfii* foi estudada por diversos pesquisadores que abordaram desde sua morfologia e anatomia, passando pela sua conservação e maturação, até a germinação. A designação correta para o óleo da copaíba é a de óleo-resina, por ser um exudato constituído por ácidos resinosos e compostos voláteis. Também é chamado, erroneamente, de bálsamo de copaíba, apesar de não ser um bálsamo verdadeiro, por não conter derivados do ácido benzóico ou cinâmico. As utilizações da medicina popular para o óleo de copaíba são muitas e indicam uma grande variedade de propriedades farmacológicas. As principais atividades relatadas foram de antiinflamatório das vias superiores e inferiores e cicatrizante. Constatou-se serem os óleos constituídos por misturas de sesquiterpenos, predominantes na maioria deles, e de diterpenos. Estudos fitoquímicos foram também realizados com as sementes de *Copaifera salikounda* Heck., uma espécie do sul da África Ocidental, sendo detectadas cumarinas. Em estudos mais recentes realizados com o óleo das sementes de uma espécie de *Copaifera* brasileira foram encontrados cumarinas (0,15 %) e os ácidos palmítico (24,9 %), oléico (35,3%), linoléico (35,7 %), araquidínico (1,1%) e beênico (3,0%). Estudos realizados com óleos de sementes de *C. langsdorfii* mostraram a presença da cumarina umbeliferona e de oligossacarídeos xiloglucânicos com rendimento de 40 % do peso da semente seca e alto peso molecular. Uma das áreas em que se vem pesquisando intensamente a utilização do óleo de copaíba atualmente é a odontológica. Os estudos de atividade antibacteriana mostraram maiores atividades bactericida e bacteriostática do óleo de *Copaifera multijuga*, frente à *Streptococcus mutans*, enquanto o óleo essencial apresentou melhor ação bactericida e a resina apresentou-se apenas bacteriostática (Veiga Jr. *et al.*, 2002).

6.3 Avaliação da remoção do biofilme dental pelos extratos vegetais

De acordo com os resultados observados e análise estatística da contagem do número de células que foram removidas pelos extratos (Tabela 8), as espécies com melhor ação de remoção do biofilme foram *Solanum sessiliflorum* (cubiu), *Hymenaea*

courbaril (jatobá), *Mucuna urens* (pó-de-mico), *Cariniana micrantha* (castanha-de-macaco) e *Zygia cauliflora* (jarandea), com remoções superiores a $41,6 \cdot 10^7$ células. A *Parkia pendula* (visgueiro), *Ricinus communis* (mamona verde), *Ricinus communis* (mamona madura), *Cucumis sativus* (pepino) e *Ormosia excelsa* (tento-amarelo), estão no segundo grupo de efetividade, e removeram entre 37,6 a $39,6 \cdot 10^7$ células. Logo a seguir estão a *Eugenia stipitata* (araçá-boi), *Vigna unguiculata* (feijão-de-metro), *Peltogyne paniculata* (roxinho), *Swartzia laevis* (saboarana), *Campsiandra comosa* (acapurana), *Dinizia excelsa* (angelim-pedra), *Morinda citrifolia* (noni) e *Buchenavia huberi* (tanibuca), que removeram entre 29,6 a $33,6 \cdot 10^7$ células. Em seguida estão as espécies *Acosmium nitens* (toboarana), *Artocarpus heterophyllus* (jaca), *Leucaena leucocephala* (leucena), *Schizolobium amazonicum* (paricá), *Psophocarpus tetragonolobus* (feijão-de-asa) e *Parkia multijuga* (pinho-cuiabano), que removeram entre 21,6 a $26,8 \cdot 10^7$ células.

O *Enterolobium schomburgkii* (sucupira-amarela), *Persea americana* (abacate), *Basella rubra* (bertalha), *Cichorium intybus* (chicória) e *Cucumis melo* (melão), fazem parte do penúltimo grupo, que removeram entre 8,8 a $10 \cdot 10^7$ células. As três espécies com o menor resultado foram: *Abelmoschus esculentus* (quiabo), *Vigna unguiculata* (feijão-caupi) e *Terminalia catappa* (sete-copas), que removeram 6,5, 3,5 e $2,0 \cdot 10^7$ células respectivamente .

A clorexidina 2% e as suas diluições apresentaram reação leitosa no momento do contato do dente com o biofilme e a clorexidina, porém constatou-se na contagem de células, que ela não foi capaz de remover o biofilme formado sobre o dente (Tabela 8). Hjeljord *et al.* (1973) e Rölla *et al.* (1975), reportaram que a clorexidina age impedindo a formação do biofilme. Zaura-Arite *et al.* (2001) demonstraram a ineficácia da clorexidina nas camadas mais internas do biofilme com mais de 24 horas de formação. Nesse estudo, os dentes foram mantidos na mesa agitadora por uma semana para a formação do biofilme. Sugere-se que nos casos de biofilmes formados com mais de 24 horas, a sua remoção seja realizada com o auxílio de processos mecânicos, como a escovação e o uso do fio-dental, que irão complementar a ação química da clorexidina; ou então soluções contendo extratos de sementes das espécies com os melhores resultados do presente trabalho, como o cubiu, mamona verde e madura, visgueiro,

jatobá, pó-de-mico, castanha-de-macaco e jarandea, depois da elucidação das substâncias removedoras de biofilme, dos ensaios biológicos e de toxicidade.

Tabela 8 – Remoção de *Streptococcus mutans* da superfície dental por extratos de sementes

Tratamentos	Número de células removidas x10 ⁷	
	por mL	por dente
<i>Solanum sessiliflorum</i> (cubiu)	11,4a	45,6
<i>Hymenaea courbaril</i> (jatobá)	10,7ab	42,8
<i>Mucuna urens</i> (pó-de-mico)	10,5ab	42,0
<i>Cariniana micrantha</i> (castanha-de-macaco)	10,4ab	41,6
<i>Zygia cauliflora</i> (jarandea)	10,4ab	41,6
<i>Parkia pendula</i> (visgueiro)	9,9cd	39,6
<i>Ricinus communis</i> (mamona verde)	9,9cd	39,6
<i>Ricinus communis</i> (mamona madura)	9,7d	38,8
<i>Cucumis sativus</i> (pepino)	9,5d	38,0
<i>Ormosia excelsa</i> (tento-amarelo)	9,4d	37,6
<i>Eugenia stipitata</i> (araçá-boi)	8,4e	33,6
<i>Vigna unguiculata</i> (feijão-de-metro)	8,1ef	32,4
<i>Peltogyne paniculata</i> (roxinho)	7,9ef	31,6
<i>Swartzia laevicarpa</i> (saboarana)	7,6f	30,4
<i>Campsiandra comosa</i> (acapurana)	7,5fg	30,0
<i>Dinizia excelsa</i> (angelim-pedra)	7,5fg	30,0
<i>Morinda citrifolia</i> (noni)	7,5fg	30,0
<i>Buchenavia huberi</i> (tanibuca)	7,4ef	29,6
<i>Acosmium nitens</i> (taboarana)	6,7h	26,8
<i>Artocarpus heterophyllus</i> (jaca)	6,4hi	25,6
<i>Leucaena leucocephala</i> (leucena)	6,4hi	25,6
<i>Schizolobium amazonicum</i> (paricá)	6,4hi	25,6
<i>Psophocarpus tetragonolobus</i> (feijão-de-asa)	5,7ij	22,8
<i>Parkia multijuga</i> (pinho-cuiabano)	5,4j	21,6
<i>Enterolobium schomburgkii</i> (sucupira-amarela)	2,5k	10,0
<i>Persea americana</i> (abacate)	2,5k	10,0
<i>Basella rubra</i> (bertalha)	2,4k	9,6
<i>Cichorium intybus</i> (chicória)	2,4k	9,6
<i>Cucumis melo</i> (melão)	2,2kl	8,8
<i>Abelmoschus esculentus</i> (quiabo)	1,62mn	6,5
<i>Vigna unguiculata</i> (feijão-caupi)	0,87no	3,5
<i>Terminalia catappa</i> (sete-copas)	0,5o	2,0
Água	0,0p	0,0
Clorexidina 2%	0,0p	0,0
Clorexidina 0,4%	0,0p	0,0
Clorexidina 0,2%	0,0p	0,0
Clorexidina 0,1%	0,0p	0,0
Clorexidina 0,05%	0,0p	0,0

OBS.: As médias com letras iguais nas colunas não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O cubiu, que faz parte do grupo de espécies que apresentou melhor resultado, removendo o biofilme dental, é uma solanácea arbustiva, originária da região do alto Orinoco da Bacia Amazônica, e popularmente conhecido como “topiro” no Peru e na Venezuela, “cocona” na Colômbia e na Venezuela, “tomate de índio” no estado de Pernambuco, “orinoco apple” ou “peachtomato” nos países de língua inglesa, além de “maná” na Amazônia. O cubiu é um fruto bastante nutritivo, de sabor e aroma agradáveis. Por ser rico em ferro, niacina, ácido cítrico e pectina, é utilizado pelas populações tradicionais da Amazônia com diferentes propósitos: as folhas e raízes são empregadas como medicamentos, os frutos como alimento, e o suco do fruto como cosmético. Como medicamento, é utilizado no tratamento da anemia, da pelagra e, principalmente, no controle dos níveis elevados de colesterol, ácido úrico e glicose no sangue. Quanto à niacina, o cubiu apresenta uma concentração três vezes superior à da berinjela, reconhecidamente um dos vegetais mais ricos nesta substância. A niacina contribui para um sistema digestivo saudável, melhora a circulação e reduz a pressão alta do sangue, o colesterol e os triglicérides. Ele também apresenta elevado teor de pectina, que, durante a extração da polpa, é dispersa na solução e, juntamente com outros polissacarídeos e, ou, complexos protéicos, causa turvação e aumento de viscosidade. Portanto, por apresentar bom poder espessante ou geleificante, esta fruta pode dar origem a doces, geléias e sucos com ótimas propriedades tecnológicas (Pires *et al.*, 2006).

O uso de pastas dentais com produtos naturais é recente no mercado nacional e voltado apenas para o público adulto, com algumas marcas apresentando grande aceitação pelos consumidores em geral (Rosell *et al.*, 2004). Estudos preliminares relatam que algumas plantas têm ação antiséptica e bactericida, sendo eficientes na promoção da saúde bucal e no controle de doenças bucais, podendo ser utilizados na rotina profilática (Mullally *et al.*, 1995). Os óleos essenciais de citronela e canela apresentaram maior atividade em relação ao controle no estudo de Nogueira *et al.* (2007). Para uma formulação dental mais efetiva que combata as causas primárias da cárie, os extratos de própolis deverão ser utilizados em associação aos óleos essenciais de citronela e canela, que apresentaram atividade para o *S. mutans*, podendo dessa forma, ser uma excelente promessa como agente anticárie e antiplaca na rotina profilática em crianças de zero a cinco anos.

A Malva (*Malva sylvestris*) é uma das plantas mais citadas para tratamentos de afecções bucais. Esta espécie é conhecida por suas propriedades antiinflamatórias, antimicrobianas, presença de mucilagens, taninos, óleos essenciais, glicolipídeos e flavonóides e vem sendo testada no controle de crescimento de bactérias presentes no biofilme dental e citada em diferentes levantamentos etnobotânicos (Oliveira *et al.*, 2007). Weyne *et al.* (2003) avaliaram clinicamente a ação de dois enxaguatórios bucais - Malvatricin e Flogoral. Após 7 e 14 dias de tratamento, foi observado que os pacientes do grupo do Malvatricin apresentaram uma redução dos índices de biofilme de 16,9% e 30,1% respectivamente e uma redução do índice gengival de 41,6% e 60,7% respectivamente. O grupo que fazia uso do Flogoral apresentou uma redução dos índices de biofilme ao final de 7 e 14 dias de 9,4% e 11,7% respectivamente e uma redução do índice gengival de 34,1% e 35,2% respectivamente.

Kakiuchi *et al.* (1996) afirmaram que a *Punica granatum* possui ação antimicrobiana específica sobre bactérias presentes no biofilme supragengival, produzindo uma interferência na síntese de poliglicanos, agindo, então, no mecanismo de aderência das bactérias sobre as superfícies dos dentes. Como a aderência bacteriana tem sido mostrada como um dos primeiros mecanismos envolvidos na iniciação do desenvolvimento do biofilme dental, a inibição desse processo, certamente, conduzirá a um efetivo controle qualitativo do mesmo. Eles ainda observaram que os extratos da *Galla rhois*, *Paeoniae rubrae* e *Uvae ursi* possuem atividade antimicrobiana contra *Streptococcus mutans*. Estudos recentes mostraram a potencialidade da *Punica granatum* na inibição da síntese de glucano representada pela aderência ao vidro, sugerindo o emprego do extrato de romã como meio alternativo no controle desses microrganismos na formação do biofilme (Pereira *et al.*, 2006).

Estudos realizados com plantas medicinais têm demonstrado que as mesmas podem ter efeito bacteriostático e/ou bactericida, podendo assim, atuar no controle da formação da placa bacteriana. Pereira *et al.* (2006) avaliaram o efeito, *in vitro*, do guaco, da pitanga e do tomilho na dinâmica da formação de placa pelo *Streptococcus mutans* sobre uma bengala de vidro. As formas de preparo avaliadas foram: infusões de guaco, de pitanga e de tomilho a 5%, 7,5% e 10%. A análise da formação ou não de placa, foi realizada visualmente, pela microscopia óptica e de varredura, sobre a superfície da bengala após incubação, em microaerofilia, a 37°C por 24 e 48h e seu

posterior plaqueamento em ágar sangue, para análise da atividade antibacteriana das infusões (UFC/mL). As análises qualitativas demonstraram que houve uma redução na formação da placa bacteriana, *in vitro*, utilizando diferentes proporções de guaco, pitanga e tomilho, apresentando, este último, um efeito bactericida sobre a cepa estudada. Os resultados obtidos sugerem que o uso de substâncias naturais pode ser uma nova perspectiva na prevenção e terapêutica na área odontológica. De acordo com Koo *et al.* (2000) e Duarte *et al.* (2003), a inibição da aderência por extratos fracionados de guaco é decorrente da ação sobre as glicosiltransferase (GTF1), enzimas responsáveis pela síntese de glucanos extracelulares, impedindo assim a aderência dos *S. mutans* na superfície do dente. A pitanga e o guaco modificaram a conformação da placa bacteriana *in vitro*, apresentando uma menor agregação bacteriana em relação ao controle positivo.

O estudo de Alves *et al.* (2009), além de avaliar a atividade antimicrobiana *in vitro* de extratos vegetais sobre o *S. mutans*, também verificou a ação antiaderente dos extratos hidroalcoólicos da malva (*Malva sylvestris*), aroeira-do-sertão (*Myracrodruon urundeuval*) e da goiabeira (*Psidium guajava*). A concentração inibitória mínima de aderência (CIMA) foi determinada utilizando-se o método proposto por Gebara *et al.*, (1996). A concentração inibitória mínima de aderência foi definida como a menor concentração do extrato que impediu a aderência bacteriana ao tubo de vidro. Todos os extratos foram diluídos em concentrações crescentes até 1: 512. Os mesmos procedimentos foram realizados com o gluconato de clorexidina a 0,12% (controle positivo), bem como com uma solução hidroalcoólica a 80% (controle negativo). Os três extratos apresentaram atividade antiaderente. Atividade esta representada pela ausência de aderência da bactéria à parede do tubo de vidro, demonstrando a capacidade dos extratos de inibir a síntese do glucano pela glicosiltransferase. Estes resultados obtidos são bastante promissores uma vez que os microrganismos analisados são os maiores responsáveis pela formação do biofilme dental.

Segundo Gibbons & Nygaard (1968), a aderência dos microrganismos na superfície do dente e subsequente formação da placa ocorrem em dois estádios. O primeiro é a aderência reversível da célula bacteriana à película adquirida presente na superfície do esmalte e o segundo estágio é a acumulação de *S. mutans* através do seu crescimento e produção de glucanos extracelulares. A interferência em alguns desses

mecanismos pode prevenir a formação da cárie dentária. A adesão de células bacterianas à superfície dos dentes é de fundamental importância para o início da lesão cáriosa. Glucanos extracelulares insolúveis são os principais responsáveis por essa adesão e também pela coesão intercelular entre bactérias diferentes como, por exemplo, estreptococos e *Actinomyces*. A síntese de glucanos extracelulares insolúveis resulta da ação da enzima glicosiltransferase sobre a sacarose. Essa enzima pode ser encontrada extracelularmente na superfície da célula e intracelularmente (Newbrun *et al.*, 1977). Estudos têm demonstrado a ação de uma série de produtos químicos, agentes biológicos e substâncias naturais antiplaca e anticárie na restrição *in vivo* da formação do biofilme e cárie, os quais agem principalmente sobre a formação dos polissacarídeos extracelulares (Duarte *et al.*, 2003).

O ácido tânico, encontrado em vários tipos de chá e outras bebidas como o café, é estudado como um importante inibidor de crescimento bacteriano e da ação da enzima glicosiltransferase. É também capaz de formar um complexo estável com proteínas ricas em prolina presentes na saliva, as quais estão diretamente envolvidas com a adsorção de bactérias bucais à película adquirida. Essa capacidade de unir as proteínas pode interferir com os receptores da superfície celular dos microrganismos envolvidos na adesão bacteriana (Otake *et al.*, 1991). Landucci *et al.* (2003) avaliaram os efeitos de diferentes soluções de café na aderência de *S. mutans* à superfície de vidro. As soluções de café foram preparadas com água destilada contendo fluoreto (1ppm), totalizando 5 grupos experimentais (n=20): 1) solução de café a 8%; 2) solução de café a 16%, ambos com água fervida e escoada através do pó (solução de café simples); 3) solução de café a 8%; 4) solução de café a 16%, ambos com água fervida juntamente com o pó e depois filtrada (solução de café fervido) e 5) controle. Todas as diferentes soluções de café e controle foram colocadas em 20 tubos de ensaio contendo BHI desidratado e 10% de sacarose. Bengalas de vidro de tamanho padronizado foram inseridas em cada um dos tubos e a seguir esterilizados. *S. mutans* GS 5 (10^5 células/mL) foram transferidos para os tubos, permanecendo em microaerofilia (5% de CO₂) a 37° por 1h30min. Após esse período, as bengalas foram transferidas para tubos com tampão fosfato, agitadas e a suspensão diluída e semeada em placas com ágar BHI acrescido de 10% de sacarose. Após 48h de incubação a 37°C/ 5%CO₂, determinou-se o número de UFC/mL para cada grupo. Pode-se concluir que a solução de café simples e a solução de café fervido

reduziu significativamente a aderência de *S. mutans*, sendo a solução de café fervido a 16% mais efetiva.

Experimentos em laboratório demonstraram que extratos de cacau, chá e café inibiram a enzima glicosiltransferase de vários estreptococos orais, sendo que os extratos de cacau e café não perderam essa habilidade mesmo após a retirada do ácido tânico presente em seus extratos (Kashket *et al.*, 1985).

O estudo de Mussi *et al.* (2008), que avaliou a atividade antibacteriana de uma solução de óleo de copaíba (*Copaifera officinalis*) sobre a bactéria cariogênica *Streptococcus mutans*, também verificou a inibição da aderência capilar em vidro. A solução de óleo de copaíba a 10% apresentou inibição eficaz da aderência desse microrganismo ao vidro.

Entre as lectinas vegetais, que são metabólitos secundários de sementes, recentemente isoladas tem-se a Labramin extraída da espécie *Labramia bojeri*, popularmente conhecida como “abricó da praia”. As lectinas foram descritas inicialmente por Stillmark (1988), que observou a aglutinação de hemácias quando estudava o efeito tóxico de extratos de semente de mamona (*Ricinus communis*) sobre o sangue, sendo que posteriormente se confirmou que o material responsável pela hemaglutinação era uma proteína, a qual foi chamada posteriormente de ricina. Atualmente, se sabe que a ricina é na verdade uma complexa mistura de moléculas tóxicas e lectinas não-tóxicas. O trabalho de Tinoco (2005), visou estudar *in vitro* os efeitos da lectina das sementes de *Labramia bojeri* (Labramin) sobre o biofilme oral, objetivando futuramente, sua aplicação em Saúde Pública. Concluiu-se com os resultados, que a lectina Labramin é capaz de inibir significativamente a aderência de estreptococos cariogênicos.

7. CONCLUSÕES

Os extratos das sementes das seguintes espécies apresentaram halos de inibição contra o *S. mutans*, comportando-se como as clorexidinas 0,2%, 0,1% e 0,05%: *Solanum sessiliflorum* (cubiu), *Cariniana micrantha* (castanha-de-macaco), *Hymenaea courbaril* (jatobá), *Zygia cauliflora* (jarandeua), *Mucuna urens* (pó-de-mico), *Parkia pendula* (visgueiro) e *Ricinus communis* (mamona – extratos de mamona verde e madura).

O *Abelmoschus esculentus* (quiabo), *Basella rubra* (bertalha), *Cichorium intybus* (chicória), *Cucumis melo* (melão), *Enterolobium schomburgkii* (sucupira-amarela), *Persea americana* (abacate), *Terminalia catappa* (sete-copas), *Terminalia catappa* (sete-copas) e *Vigna unguiculata* (feijão-caupi) apresentaram somente halos de estímulo de crescimento do *S. mutans*.

As espécies a seguir apresentaram halos de inibição e de estímulo de crescimento do *S. mutans*: *Solanum sessiliflorum* (cubiu), *Ricinus communis* (mamona madura), e *Psophocarpus tetragonolobus* (feijão-de-asa), *Cariniana micrantha* (castanha-de-macaco), *Hymenaea courbaril* (jatobá), *Parkia pendula* (visgueiro), *Mucuna urens* (pó-de-mico), *Ricinus communis* (mamona verde), *Zygia cauliflora* (jarandeua), *Cucumis sativus* (pepino), *Ormosia excelsa* (tento-amarelo), *Eugenia stipitata* (araçá-boi), *Vigna unguiculata* (feijão-de-metro), *Buchenavia huberi* (tanibuca), *Dinizia excelsa* (angelim-pedra), *Morinda citrifolia* (noni), *Peltogyne paniculata* (roxinho) e *Swartzia laevis* (saboarana), *Acosmium nitens* (taboarana), *Campsiandra comosa* (acapurana), *Schizolobium amazonicum* (paricá), *Leucaena leucocephala* (leucena), *Artocarpus heterophyllus* (jaca) e *Parkia multijuga* (pinho-cuiabano).

Os extratos das sementes das espécies a seguir, apresentaram remoção significativa do biofilme dental: *Solanum sessiliflorum* (cubiu), *Cariniana micrantha* (castanha-de-macaco), *Hymenaea courbaril* (jatobá), *Zygia cauliflora* (jarandeua) e *Mucuna urens* (pó-de-mico), com remoções superiores a $41,6 \cdot 10^7$ células.

Os extratos das sementes de *Parkia pendula* (visgueiro), *Ricinus communis* (mamona verde), *Ricinus communis* (mamona madura), *Cucumis sativus* (pepino) e *Ormosia excelsa* (tento-amarelo) removeram entre 37,6 a $39,6 \cdot 10^7$ células.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADETUMBI, M., JAVOR, G.T., LAU, B. H. *Allium sativum* (garlic) inhibits lipid synthesis by *Candida albicans*. **Antimicrob Agents Chemother**, Washington, v.30, n.3, p. 499-501, Sep. 1986.
- ALVARENGA, A.L.; SCHWAN, R.F.; DIAS, D.R.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; BRAVO-MARTINS, C.E.C. Atividade antimicrobiana de extratos vegetais sobre bactérias patogênicas humanas. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.9, n.4, p.86-91, 2007.
- ALVES, M.P.; QUEIROZ, M.G.; PEREIRA, J.V.; PEREIRA, M.S.V. Atividade antimicrobiana, antiaderente e antifúngica *in vitro* de plantas medicinais brasileiras sobre microrganismos do biofilme dental e cepas do gênero *Candida*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.42, n.2, p.222-224, mar-abr, 2009.
- ALZOREKY, N.S.; NAKAHARA, K. Antibacterial activity of extracts from some edible plants commonly consumed in Asia. **Int J Food Microbiology**, v.80, n.3, p.223-30, 2003.
- ANDRADE, C.; PEITZ, C.; SILVA, C.; MIGUEL, M.D.; MIGUEL, O.G.; KEBER, V.A. Revisão do gênero *Acacia* – atividades biológicas e presença de fenóis derivados do núcleo flavânico. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v.4, n.1, p.7 - 56, jan.- jun./2003.
- ANDRADE, J.M.M.; APEL, M.A.; RASEIRA, M.C.B.; PEREIRA, J.F.M.; HENRIQUES, A.T. Avaliação do conteúdo de ácidos graxos no óleo das sementes de espécies nativas de Myrtaceae no Rio Grande do Sul. **31ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, 2005.
- ANIBAL, P.C. **Potencial de ação antimicrobiana *in vitro* de extratos de plantas na inibição de *Candida spp*, *Streptococcus mutans* e *Staphylococcus aureus*.** 2007.

Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, Piracicaba.

BALERONI, C.R.S.; MORAES, S.M.B.; SOUZA, C.S.; SÁ, M.E. Composição química de sementes das espécies florestais mamica-de-cadela (*Brosimum gaudichaudii* Trec), marolo arbóreo (*Annona crassiflora* Mart.), marolo rasteiro (*Annona dióica* St. Hil.), chicha-do-cerrado. **Ciê. Agr. Saúde**. FEA, Andradina, v.2, n.1, p.28-32, jan./jun. 2002.

BALLVE, C.A. **Plantas medicinais de uso popular**. Editora Ulbra, 1ª edição, 208p, 1995.

BARIANI, A.; PANDO, S.C.; GONÇALVES, J.F.C.; CHEVREUIL, L.R.; JÚNIOR, A.R.N.; SOUZA, L.A.G. Análise do perfil protéico e da atividade hemaglutinante no extrato total de sementes de *Peltogyne venosa*. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v.5, supl. 2, p.207-209, jul. 2007.

BANZATTO, D. A., KRONKA, S. N. **Experimentação Agrícola**. Jaboticabal: FUNEP, 1992. 247p.

BAUER, W.; KIRBY, W.M.; SHEERRIS, J.C.; TURCCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **American Journal of Clinical Pathology**, v.45, p.493-496, 1966.

BLUMENTHAL, M.; GOLDEBERG, A.; BRINCKMANN, J. **Herbal Medicine: Expanded Commission E Monographs**. Austin, TX: American Botanical Council, 2000.

BOOBIS. Londres Dollery: Chlorhexidine. **Therapeutics Drugs**, v.2, n.1, p.181-183, 1991.

BOWDEN, G. *Mutans* streptococci caries and chlohexidine. **J. cant. Dent. Assoc.**, Ottawa, v.62, n.9, p.700, sep. 1996.

BRADSHAW, D.J.; HOMER, K. A.; MARSH, P.D.; BEIGHTON, D. Effects of conditioning films on oral microbial development. **Biofouling**, v. 11, n.33, p.217-226, 1997.

BROWN, C.M.; CAMPBELL, I.; PRIESTt, F.G. **Introducción a la biotecnología**. Zaragoza, Espanha. Editora Acribia S.A., 1989. 167p.

BUCKERIDGE, M.S.; TINÉ, M.A.S.; DOS SANTOS, H.P.; DE LIMA, D.U. Polissacarídeos de reserva de parede celular em sementes. Estrutura, metabolismo, funções e aspectos ecológicos. Palestra proferida no **VII Congresso Brasileiro de Fisiologia Vegetal**, Brasília, julho,1999.

BUFFON, M.C.M. **Aplicação do extrato de agrião d'água (*Nasturtium officinale* R. Br.) no controle da placa bacteriana: uma proposta para a saúde pública**. 2005. 116f. Dissertação (Doutorado) - Curso de Pós-Graduação em Produção Vegetal, do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

CARVALHO, C.M.; MACEDO-COSTA, M.R.; PEREIRA, M.S.V.; HIGINO, J.S.; CARVALHO, L.F.P.C.; COSTA, L.J. Efeito antimicrobiano *in vitro* do extrato de jabuticaba [*Myrciaria cauliflora* (Mart.)O.Berg.] sobre *Streptococcus* da cavidade oral. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.11, n.1, p.79-83, 2009.

CARVALHO, J.C.T. Preliminary studies of analgesic and anti-inflammatory properties of *Caesalpinia ferrea* crude extract. **J Ethnopharmacol.**, v.53, n.3, p.117-85, 1996.

CASTRO, P.R.C.; KLUGE, R.A.; PERES, L.E.P. **Manual de fisiologia vegetal (Teoria e Prática)**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. 640p.

CECHINEL, F.V.; YUNES, R.A. Estratégias para obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. **Química Nova**, São Paulo, v.21, n.1, p.99-105, jan/fev, 1998.

CHANDRIKA, U.G. Hypoglycaemic action of the flavonoid fraction of *Artocarpus heterophyllus* leaf. **African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines**, v.3, n.2, p.42-50, 2006.

CHEN, H. e CHEN, F. Effects of yeast elicitor on the grown and secondary metabolism of a high-tanshinone-producing line of the Ti transformed *Salvia miltiorrhiza* cells in suspension culture. **Process Biochemistry**, v.35, p.837-840, 2000.

CIANCIO, S.G. Chemical agents: plaque control, calculus reduction and treatment of dentinal hypersensitivity. **Periodontol 2000**, v.8, p.75-86, 1995.

CLEMENT, B.A. Toxic amines and alkaloids from *Acacia belandieri*. In: **Phytochemistry**, v.46, n.2, p.249-254, 1997.

CLEMENT, B; GOFF, C.M; FORBES, D. Toxic amines and alkaloids from *Acacia rigidula*. **Phytochemistry**, v.49, n.5, p.1377-1380, 1998.

CORRÊA, S.M.V. **Constituintes químicos de *Inga edulis* var. *parviflora***. 1991. 94 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Mestrado em Química, Centro de Ciências Exatas e Naturais, Universidade do Pará, Belém.

CORTE, V.B.; BORGES, E.E.L.; PONTES, C.A.; LEITE, I.T.A.; VENTRELLA, M.C.; MATHIAS, A.A. Mobilização de reservas durante a germinação das sementes e

crescimento das plântulas de *Caesalpinia peltophoroides* Benth. (Leguminosae – Caesalpinoideae). **R. Árvore**, Viçosa, Minas Gerais, v.30, n.6, p.941-949, 2006.

CUPPETT, S. L. Antioxidant activity of Lamiaceae. *Advances in Food and Nutrition Research*, v.42, p.245-271, 1998.

CURSINO, L.M.C.; MESQUITA, A.S.S.; MESQUITA, D.W.O.; FERNANDES, C.C.; JUNIOR, O.L.P.; AMARAL, I.L.; NUNEZ, C.V. Triterpenos das folhas de *Minquartia guianensis* Aubl. (Olacaceae). **Acta Amazônica**, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, v.39, n.1, p.181-186, 2009.

CURY, J. A. Controle químico da placa dental. In : KRIGER, L. (Coord.). **ABOPREV: Promoção de saúde bucal**. São Paulo; Artes Médicas, cap.7, p.129-140, 1997.

DANTAS, B.F.; CORREIA, J.S.; MARINHO, L.B.; ARAGÃO, C.A. Alterações bioquímicas durante a embebição de sementes de catingueira (*Caesalpinia pyramidalis* Tul.). **Revista Brasileira de Sementes**, v.30, n.1, p.221-227, 2008.

DANTAS, B.F.; SOARES, F.S.J.; LÚCIO, A.A.; ARAGÃO, C.A. Alterações bioquímicas durante a embebição de sementes de baraúna (*Schinopsis brasiliensis* Engl.). **Revista Brasileira de Sementes**, v.30, n.2, p.214-219, 2008.

DAVIES A. The mode of action of chlorhexidine. **J Periodont Res.**, v.12, p.68-75, 1973.

DEL BAÑO, M.J.; LORENTE, J.; CASTILHO, J.; BENAVENTE-GARCIA, O.; DEL RIO, J.A.; ORTUNO, A.; QUIRIN, K-W.; GERARD, D. Phenolic diterpenes, flavones, and rosmarinic acid distribution during the development of leaves, flower, stems, and roots of *Rosmarinus officinalis*. Antioxidant activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.51, p.4247-4253, 2004.

DELPRETE, P.G. Rubiaceae. In: N. Smith et al. (Eds.), **Flowering Plants of the Neotropics**. The New York Botanical Garden, Bronx, USA, 2004.

DENARDI, B.B. O uso de clorexidina na prática odontológica. **Revista APCD**, v.48, n.2, p.279-1284, 1994.

DIFCO MANUAL. **Dehydrated Culture Media and Reagents for Microbiology**. 10 ed. Detroit: Difco Laboratories, 1147p, 1984.

DINIZ, M.F.F.M.; OLIVEIRA, R.A.G.; MEDEIROS, A.C.D.; MALTA Jr., A. **Memento Fitoterápico: as plantas como alternativa terapêutica, aspectos populares e científicos**. João Pessoa: Editora Universitária; 1997.

DIXON, R. A. e PAIVA, N. L. Stress-induced phenilpropanoid metabolism. **The Plant Cell**, v.7, p.1085-1097, 1995.

DRUMOND, M.R.; CASTRO, R.D.; ALMEIDA, R.V.D.; PEREIRA, M.S.V.; PADILHA, W.W.N. Estudo Comparativo in vitro da Atividade Antibacteriana de Produtos Fitoterápicos Sobre Bactérias Cariogênicas. **Pesq Bras Odontoped Clin Integr**, João Pessoa, v.4, n.1, p. 33-38, jan./abr., 2004.

DUARTE, S.; KOO, H.; BOWEN, W.H.; HAYACIBARA, M.F.; CURY, J.A.; IKEGAKI, M. Effect of a novel type of propolis and its chemical fractions on glucosyltransferases and on growth and adherence of mutans streptococci. **Bio. Pharm. Bull.**, v.26, n.4, p.527-31, 2003.

FALCÃO, H.S.; LIMA, I.O.; SANTOS, V.L.; DANTAS, H.F.; DINIZ, M.F.F.M.; BARBOSA-FILHO, J.M.; BATISTA, L.M. Review of the plants with anti-inflammatory activity studied in Brazil. **Rev Bras Farmacogn**, v.15, p.381-391, 2005.

FARIA, A.U.; ANDRADE E SILVA, M.L.; MARTINS, C.H.G.; FURTADO, N.A.J.C.; VINHOLIS, A.H.C.; CUNHA, W.R. Atividade antimicrobiana *in vitro* de extratos brutos de *Tibouchina stenocarpa* (Melastomataceae) frente a microrganismos da cavidade bucal. Sociedade Brasileira de Química – SBQ, **29^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, 2002.

FERREIRA, R.A.; BOTELHO, S.A.; DAVIDE, A.C.; MALAVAS, M.M. Morfologia de frutos, sementes, plântulas e plantas jovens de *Dimorphandra mollis* Benth. - faveira (Leguminosae-Caesalpinioideae). **Revta brasil. Bot.**, São Paulo, v.24, n.3, p.303-309, set. 2001.

FIUZA, T.S.; REZENDE, M.H.; SABÓIA-MORAES, S.M.T.; BARAS, M.T.F.; TRESVENZOL, L.M.F.; PAULA, J.R. Caracterização farmacológica das folhas de *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae). **Revista eletrônica de Farmácia**, v.2, n.1-11, 2008.

FORIM, M.R.; CORNÉLIO, V.E.; MATOS, A.P.; DA SILVA, M.F.G.F.; FERNANDES, J.B.; VIEIRA, P.C. Avaliação quantitativa e biológica para diversas técnicas de extração de metabólitos secundários de sementes de *Azadirachta indica*. **30^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, 2005.

FREIRE, M.G. **Isolamento, caracterização físico-química e estudo das atividades inseticida, microbicida e inflamatória da lectina de sementes de *Talísia Esculenta* (ST. HILL) RALDLAK.** 2003. 189p. Tese (Doutorado em Bioquímica). Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas. Campinas, SP, 2001.

FURASAWA, E.; HIRAZUMI, A.; STORY, S.; JENSEN, J. Antitumor potencial of a polysaccharide-rich substance from the fruit of *Morinda citrifolia* (noni) on sarcoma 180 ascites tumor in mice. **Phytother. Res.**, v.17, n.10, p.1158-64, dec., 2003.

GEBARA, E. C. E.; ZARDETTO, C. G. D. C.; MAYER, M. P. Estudo in vitro da ação antimicrobiana de substâncias naturais sobre *S.mutans* e *S.sobrinus*. **Revista de Odontologia**,

Universidade de São Paulo, v.10, n.4, p.251-256, out./dez., 1996.

GIBBONS, R.J.; NYGAARD, M. Synthesis of insoluble dextran and its significance in the formation of gelatinous deposits by plaqueforming streptococci. **Archs Oral Biol.**, v.13, p.1249-62. 1968.

GILBOA, N. *et al.* Microbios. In: BITTIGER, H. *et al.* Concanavalin A. as a tool. **Great Britain: John Wiley & Sons**, p.99-109, 1976.

GOMES, E.R.S. **Espécies invasoras em unidades de conservação da cidade do Rio de Janeiro – estudo de população de jaqueiras (*Artocarpus heterophyllus* L.) no parque natural municipal do Mendanha.** 2007. 96f. Dissertação de mestrado, Ciências Ambientais e Florestais, Universidade Rural do Rio de Janeiro.

GOMEZ, K.A., GOMEZ, A.A. **Statistical procedures for agricultural research.** John Willey & Sons, New York, 680 p. 1984.

GONZÁLEZ, A.M.N.; GONZÁLEZ, M.B.R.; PINTO, N.L.S. Estudio fitoquímico y actividad antibacterial de *Psidium guineense* Sw (choba) frente a *Streptococcus mutans*, agente causal de caries dentales. **Rev Cubana Plant Med**, Colômbia, v.10, n.3-4, 2005.

GRÉGIO, A.M.T.; FORTES, E.S.M.; ROSA, E.A.R.; SIMEONE, R.B.; ROSA, R.T. Ação antimicrobiana do *Zingiber officinale* frente à microbiota bucal. **Estud. Biol.**, v.28, n.62, p. 61-66, jan./mar. 2006.

GUERRA, M.J.M.; BARREIRO, M.L.; RODRIGUEZ, Z.M.; RUBALCABA, Y. Actividad antimicrobiana de um extracto fluido al 80% de *Schinus terebinthifolius* raddi (copal). **Rev cubana plant med.**, v.5, n.1, p.23-5, 2000.

GUIMARÃES, M.A.; DIAS, D.C.F.S.; LOUREIRO, M.E. Hidratação de sementes. **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas**, v.2, n.1, p.31, 2008.

HAGOS, M; SAMUELSSON, G. Quantitative determination of Quracol A, b and (+)-fisetinidol in bark and gum of *Acacia tortilis*. In: **Acta Pharm. Suec**, v.25, n.6, p.321-324, 1988.

HAMADA, S.; SLADE, H.D. Biology, immunology and cariogenicity of *Streptococcus mutans*. **Microbiol. Rev.**, v.44, n.2, p.331-84, jun. 1980.

HINKELMANN, K., KEMPTHORNE, O. **Design and Analysis of Experiments, Introduction to Experimental Design**. 2.ed. Nova York: John Wiley, John Wiley & Sons, 2007. 631p.

HJELJORD, L.G.; ROLLA, G.; BONESVOLL, P. Chlorhexidine-protein interactions. **J Periodontal Res Suppl.**, v.12, p.11-16, 1973.

INBARAJ, B.S.; SULOCHANA, N. Carbonised jackfruit peel as an adsorbent for the removal of Cd(II) from aqueous solution. **Bioresourse Technology**, v.94, n.1, august, pag.49 -52. 2004.

JACOMASSI, E.; MOSCHETA, I.S.; MACHADO, S.R. Morfoanatomia e histoquímica de *Brosimum gaudichaudii* Trécul. (Moraceae). **Acta bot. bras.**, v.21, n.3, p.575-597, 2007.

JARDIM, P.S.; JARDIM, E.G.J. Influência da remoção mecânica da placa bacteriana associada ao uso diário de solução fluoretada. **RGO.**, Porto Alegre, v.46, n.2, p.79-84, abr./jun. 1998.

JOLY, A.B. **Botânica: Introdução à Taxonomia Vegetal**. 12^a ed. São Paulo: Nacional, 1998.

KAKIUCHI, N. Studies on dental caries prevention by traditional medicines. VIII. Inhibitory effect of various tannins on glucan synthesis by glucosyltransferase from *Streptococcus mutans*. **Chem Pharm.**, v.34, p.720-725, 1996.

KASHKET, S.; PAOLINO, V.J.; LEWIS, D.A.; VANHOUTE, J. *In vitro* inhibition of glucosyltransferase from the dental plaque bacterium *Streptococcus mutans* by commons beverages and food extracts. **Archs Oral Biol.**, v.30, n.11/12, p.821-826. 1985.

KITAJIMA, K. Ecophysiology of tropical tree seedlings. In: MULKEY, S.S.; CHAZDON, R.L.; SMITH, A.P. **Tropical forest plant ecophysiology**. New York: Chapman & Hall, p.559-596, 1996.

KOO, H. *et al.* In vitro antimicrobial activity of propolis and *Arnica montana* against oral pathogens. **Arch. Oral Biol.**, v.45, p.141-148, 2000.

KOSAR, M.; DORMAN, D.; BASER, K.; HILTUNEN, R. An improved HPLC post-column methodology for the identification of free radical scavenging phytochemicals in complex mixtures. **Chromatographia**, v.60, p.635-638, 2004.

KURKIN, V.A. Phenylpropanoids from medicinal plants: distribution, classification, structural análise, and biological activity. **Chemistry of Natural Compounds**, v.39, n.2, p. 123-153, 2003.

KUSMARTONO. Effects of supplementing Jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* L) wastes with urea or Gliricidia/cassava leaves on growth, rumen digestion and feed degradability of sheep fed on rice straw basal diet. **Livestock Research for Rural Development** v.19, n2, 2007.

LANDUCCI, L.F.; OLIVEIRA, L.D.; BRANDÃO, E.H.S.; KOGA-TO, C.Y.; JORGE, A.O.C. Efeitos de *Coffea arabica* sobre a aderência de *Streptococcus mutans* à superfície de vidro. **Cienc. Odontol. Bras.**, v.6, n.3, p.58-64, jul./set. 2003.

LAWRENCE, C.A. Antimicrobial activity, in vitro, of Chlorhexidine. **Journal of the American Pharmaceutical Association**, Los Angeles County Health Department and the Department of Infectious Diseases, University of California Medical Center, Los Angeles, v.49, n.11, p.731-734, 1960

LEAL, P.F.; BRAGA, M.E.M.; SATO, D.N.; CARVALHO, J.E.; MARQUES, M.O.M.; MEIRELES, M.A.A. Functional properties of spice extracts obtained via supercritical fluid extraction. **J Agricultural Food Chemistry Table of Contents**, v.51, n.9, p.2520-5, 2003.

LEITE, M.J.V.F.; LIMA, C.K.; LIMA, J.F.J.; VIEIRA, L.B. O uso de Fitoterápicos e a Saúde Bucal. **Saúde Rev.**, Piracicaba, v.7, n.16, p.11-17, mai. 2005.

LEMOS, S.D.C. **Avaliação de eliciadores do metabolismo dos fenilpropanóides em *Melissa officinalis* L. (Lamiaceae)**. 2006. 85f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Biociências, Universidade Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

LOESCHE, W. J. Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. **Microbiol. Rev.**, v, 50, p.353-380, 1986.

LOESCHE, W.J. The identification of bacteria associated with periodontal disease and dental caries by enzymatic methods. **Oral microbial. Immunol.**, v.1, n.1, p.71-72, feb. 1986.

LOESCHE, W.J. Metabolismo dos carboidratos pelos microorganismos da placa. In: LOESCHE, W.J. **Cárie dental: uma infecção tratável**. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 1993. cap.9, p.103-127.

LOGUERCIO, A.P.; BATTISTIN, A.; VARGAS, A.C.; HENZEL, A.; WITT, N.M. Atividade antibacteriana de extrato hidro-alcoólico de folhas de jambolão (*Syzygium cumini* L. Skells). **Ciência Rural**, v.35, n.2, p.371-376, 2005.

LOMBARDI, F.R.; FONTES, M.R.M.; SOUSA, G.M.O.; COELHO, L.C.B.B.; ARNI, R.K.; AZEVEDO Jr, W.F. Crystallization and preliminary x-ray analysis of Parkia pendula lectin. **Protein and Peptide Letters**, v.5, p.117-120, 1998.

LOPES, D.; ANTONIASSI, R.; SOUZA, M.L.M.; CASTRO, I.M. Caracterização Química dos Frutos do Mapati (*Pourouma cecropiifolia* Martius - Moraceae). **Braz. J. Food Technol.**, v.2, n.1,2, p.45-50, 1999.

LUZ, C.L.; SCHUELTER, A.R.; DAL'MASO, A.; VIEIRA, E.S.; BARRETO, R.R. Germinação in vitro de grãos de pólen e efeito da proteção das plantas na frutificação de cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal). **Acta Sci. Agron.**, Maringá, v.30, n.4, p.539-545, 2008.

MACIEL, M.A.M.; PINTO, C.A.; VEIGA, F.V.J. Plantas Medicinais: A necessidade de Estudos Multidisciplinares. **Química Nova**, São paulo, v.25, n.3, p.429-438, mai. 2002.

MANARA, L.R.B.; ANCONI, S.I.; GROMATZKY, A.; CONDE, M.C.; BRETZ, W.A. Utilização da própolis em odontologia. **Rev FOB.**, v.7, n.3/4, p.15-20, 1999.

MANTEL, M.S.; REIJERSE, E.; TIMMER, C.J.; TIMMERMAN, M.F.; VAN DER VELDEN, U.; VAN DER WEIJDEN, G.A. The effect of herbal extracts in an experimental mouth rinse on established plaque and gingivitis. **J. Clin. Periodontol.**, Amsterdam, v.25, n.5, p.399-403, may. 1998.

MARCOTTE, H.; LAVOIE, M. C. Oral Microbial Ecology and the Role of Salivary Immunoglobulin A. **Microbiol. Mol. Biol. Rev.**, v. 62, p. 69-71, 1998.

MARSH, P.D. Microbiological Aspects of the Chemical Control of Plaque and Gingivitis. Pathology Division, PHLS Centre for Applied Microbiology and Research, Salisbury, SP4 OJG, England. **J Dent Res.**, v.71, n.7, p.1431-1438, July, 1992.

MARTA, S.R. **Avaliação *in situ* do efeito de dentifrício com e sem flúor associado ou não à profilaxia profissional com jato de bicarbonato de sódio sobre a remineralização do esmalte dental.** 2002. 139f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, Bauru.

MARTINEZ, M.J.; GONZALEZ, A.N.; BADELL, B.J. Actividad antimicrobiana del *Schinus terebenthifolius* Raddi (copal). **Rev Cubana Plant Med.**, v.1, n.3, p.37-9, 1996.

MELO, A.F.M.; SANTOS, E.J.V.; SOUZA, L.F.C.; CARVALHO, A.A.T.; PEREIRA, M.S.V.; HIGINO, J.S. Atividade antimicrobiana *in vitro* do extrato de *Anacardium occidentale* L. sobre espécies de *Streptococcus*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, n.2, p.202-205, abr./jun. 2006.

MORAN, J.; ADDY, M., ROBERTS, S. A Comparison of natural product, triclosan and chlorhexidine mouth rinses on 4-day plaque regrowth. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v. 19, n.8, p.578-582, sept. 1992.

MOREIRA, R. F. A.; TRUGO, L. C.; DE MARIA, C. A. B. Componentes voláteis do café torrado. Parte II. Compostos alifáticos, alicíclicos e aromáticos. **Química Nova**, v.23, n.2, p.195-203, 2000.

MORENO, R.M.; FERREIRA, M.; GONÇALVES, P.S.; MATTOSO, L.H.C. Avaliação do látex e da borracha natural de clones de seringueira no Estado de São Paulo. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.38, n.5, p.583-590, maio. 2003.

MULLALLY, B.H.; JAMES, J.A.; COULTER, W.A. The efficacy of a herbal based toothpaste on the control of plaque and gingivitis. **J Clin Priodontol.**, v.229, p.686-689, 1995.

MUSSI, M.C.M.; PIERI, F.A.; ASSIS, J.J.C.; FIORINI, J.E.; DA SILVA, J.M.S.F. Avaliação *in vitro* do efeito antimicrobiano e antiaderente do óleo de copaíba sobre a bactéria cariogênica *Streptococcus mutans*. In: FÓRUM CIENTÍFICO. Universidade Federal de Alfenas. **Anais...** Minas Gerais, 2008.

NASCIMENTO, G.G.F. *et al.* Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.31, n.4, p.247-56, 2000.

NEWBRUN, E.; FINZEN, F.; SHARMA, M. Inhibition of adherence of *Streptococcus mutans* to glass surfaces. **Caries Res.**, v.11, p.153-9. 1977

NGUEFACK, J.; BUDDE, B.B.; JAKOBSEN, M. Five essential oils from aromatic plants of Cameroon: their antibacterial activity and ability to permeabilize the cytoplasmic membrane of *Listeria innocua* examined by flow cytometry. **Letters in Applied Microbiology.**, v.39, n.5, p.395-400, 2004.

NOGUEIRA, M.A.; DIAZ, M.G.; TAGAMI, P.M.; LORSCHHEIDE, J. Atividade microbiana de óleos essenciais e extratos de própolis sobre bactérias cariogênicas. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, v.28, n.1, p.93-97, 2007.

NYVAD, B.; FEJERSKOV, O. Desenvolvimento, estrutura e pH da placa dental. In: THYLSTRUP, A. & FEJERSKOV, O. **Cariologia Clínica**. 2° ed. p.89-110. São Paulo, Santos.1995.

OLIVEIRA, D.A; SPONCHIADO JUNIOR, E.C.; CASTILHO, C.; PEREIRA, J.V.; PIETRO, R.C.L.R.; SOUZA NETO, M.D. Avaliação da ação antimicrobiana das soluções de hipoclorito de sódio e barbatimão em diferentes concentrações. **J Bras Fitomed.**, v.5, p.3:12, 2008.

OLIVEIRA, D.M.T. Morfo-anatomia do embrião de leguminosas arbóreas nativas. **Revista brasil. Bot.**, São Paulo, v.22, n.3, p.413-427, dez. 1999.

OLIVEIRA, F.Q.; GOBIRA, B.; GUIMARÃES, C.; BATISTA, J.; BARRETO, M.; SOUZA, M. Espécies vegetais indicadas na odontologia, **Revista Brasileira de Farmacognosia - Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v.17, n.3, p.466-476, jul./set. 2007.

OLIVEIRA, L.A.; MAGALHÃES, H.P. Quantitative evaluation of acidity tolerance of root nodule bacteria. **Rev. Microbiol.**, v.30, p.203-208, 1999.

OLIVEIRA, R.R.; FRANÇA, E.C.; SEGURA, M.E.; SANTOS, V.R. Susceptibilidade de microorganismos patogênicos da cavidade bucal a extratos de *S. adstringens* e *C. sylvestris*. **Braz Oral Res.**, v.18, n.95, 2004.

OLIVEIRA, S.M.M.; LORSCHIEDER, J.A.; NOGUEIRA, M.A. Avaliação da ação *in vitro* de gel dentifrício contendo óleos essenciais sobre bactérias cariogênicas. **Lat. Am. J. Pharm.**, v.27, n.2, p.266-9, 2008.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. Ministério da Saúde. Divisão Nacional de Saúde Bucal. **Condições de saúde bucal da população brasileira 2002-2003**. Brasília: Ministério da Saúde, 2003. 68 p.

OTAKE, S.; MAKIMURA, M.; KUROKI, T.; NISHIHARA, Y.; HIRASAWA, M. Anticaries effects of polyphenolic compounds from japanese green tea. **Caries Res.**, v.25, p.438-43. 1991.

OTTENSOOSER, F., *et al.* Lectins detecting groups C streptococci. **Infection and Immunology**, v.9, p.971-73,1974.

PAZHANI, G.P. et al. Clonal multidrug-resistant Shigella dysenteriae Type 1 strains associated with epidemic and sporadic dysenteries in Eastern India. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, v.48, n.2, p.681-4, 2004.

PELINO, J.E.P. **Estudo *in vitro* do efeito do laser de Nd: YAG sobre o esmalte dental humano: Análise por Microscopia Óptica e Microscopia Eletrônica de Varredura**. 1998. 155f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita, São José dos Campos.

PEREIRA, D.F.A.; SILVA, P.V.; RANGEL, R.N.; TEODORO, G.R.; KHOURI, S.; CANETTIERI, A.C.V. Avaliação de extratos naturais sobre cepa de *Streptococcus mutans* na formação, *in vitro*, da placa dentária. **X Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e VI Encontro Latino Americano de Pós-Graduação** – Universidade do Vale do Paraíba, Universidade do Vale do Paraíba – Faculdade da Ciências da Saúde, p.631-634, 2003.

PEREIRA, J.B. Atividade antimicrobiana do extrato hidroalcoólico da *Punica granatum* Linn., sobre microrganismos formadores de placa bacteriana. **Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada**, v.4, p.265, 2004.

PEREIRA, J.V.; VIEIRA, M.S.P.; SAMPAIO, F.C.; CORREIA, M.C.S.; ALVES, P.M.; ARAÚJO, C.R.F.; HIGINO, J.S. Efeito antibacteriano e antiaderente *in vitro* do extrato da *Punica granatum* Linn. Sobre microrganismos do biofilme dental. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, n.1, p.88-93, jan/mar, 2006.

PINHEIRO, G.V. **Terpenóides de *Cecropia palmata*** (Moraceae). 1999. 70f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestrado em Química, Centro de Ciências Exatas e Naturais, Universidade Federal do Pará, Belém.

PINTO, C.N.; DANTAS A.P.; DE MOURA, K.C.; EMERY, F.S.; POLEQUEVITCH, P.F.; PINTO, M.C.; *et al.* Chemical reactivity studies with naphthoquinones from *Tabebuia* with anti-trypanosomal efficacy. *Arzneim- Forsch/ Drug Res.*; v.50, p.1120-1128, 2000 .

PIRES, A.M.B.; SILVA, P.S.; N.P.M.; GOMEZ, J.C.; RAMOS, A.M. Caracterização e processamento de cubiu (*Solanum sessiliflorum*). **Revista Ceres**, v.53, n.307, p.309-316, 2006.

POVINELI, K.L.; FINARDI FILHO, F. As múltiplas funções das lectinas vegetais. **Nutrire; rev. Soc. Bras. Alim. Nutr.**, São Paulo, SP., v.24, p.135-136, dez. 2002.

QUINDERÉ, L.B. Efeitos da clorexidina na mucosa oral de ratos wistar. In: REUNIÃO CIENTÍFICA DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PESQUISAS ODONTOLÓGICAS. 16, 1999, Águas de São Pedro. **Anais....**São Paulo: SBPqO, 1999. p.37.

RODRIGUES, R.F.O.; OLIVEIRA, F.; FONSECA, A.M. As folhas de Palma Christi – *Ricinus communis* L. Euphorbiaceae Jussieu. Revisão de conhecimentos. **Revista Lecta**, Bragança Paulista, v.20, n.2, p.183-194, jul./dez. 2002.

ROLLA, G.; MELSEN, B. On the mechanism of the plaque inhibition by chlorhexidine. **J Dent Res.**, v.54, p.57-62, 1975.

ROSELL, F.L.; VALSECKI-JUNIOR, A.; SILVA, S.R.C.; OLIVEIRA-JÚNIOR, L.G. Atividade antimicrobiana de substâncias naturais em dentifrícios. **Saúde Rev.**, v.6, p.39-44, 2004.

SANTOS, A.S. **Caracterização química e tecnológica de taninos da casca das leguminosas florestais** *Mora paraensis* Ducke e *Stryphodendron guianense* (Aubl.) Benth. 2008. 79f. Dissertação de mestrado, Ciências Florestais e Ambientais, Universidade Federal do Amazonas.

SARTORI, L.R.; FERREIRA, M.S.; PERAZZO, F.F.; MANDALHO-LIMA, L.; CARVALHO, J.C.T. Atividade antiinflamatória do granulado de *Calendula offi cinalis* L. e *Matricaria recutita* L. **Rev Bras Farmacogn.**, v.13, n.1, p.17-19, 2003.

SCHAPOVAL, E. E. S. *et al.* Evaluation of some pharmacological activities on *Eugenia uniflora* L. **Journal of Ethnopharmacology**, v.44, p.137-142, 1994.

SCHUCH, T.C. Plantas contra cárie. 1999. Disponível em: <http://www.geocities.com/buchaul/fnews08.htm>. Acesso em 17 de outubro de 2008.

SEKINE, A. Structure and synthesis of a new monoterpenoidal carboxiamide from the seeds of the Thaimedicinal plant *Acacia concinna*. In: **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v.45, n.1, p.148-151, 1997.

SILVA, D. H., **Boro em mamoeira: aspectos morfológicos e fisiológicos relacionados à deficiência e toxicidade**, 2007. 103 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

SILVA, M.F. **Constituintes químicos de *Aniba puchury-minor* (MART.) MEZ (LAURACEAE)**. 1995. Dissertação (Mestrado) - Programa de Mestrado em Química, Centro de Ciências Exatas e Naturais, Universidade Federal do Pará, Belém.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. Introdução à análise fitoquímica. In: SIMÕES, C.M.O.; FALKENBERG, M.B. (Eds). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre, Editora UFRGS, 2004. p.229-245.

SOARES, D.G.S.; OLIVEIRA, C.B.; LEAL, C.; DRUMOND, M.R.S.; PADILHA, W.W.N. Susceptibilidade *in vitro* de bactérias bucais a tinturas fitoterápicas. **Revista Odonto Ciência – Fac. Odonto/PUCRS**, v.21, n.53, jul./set. 2006.

SOARES, D.G.S.; DE OLIVEIRA, C.B.; LEAL, C.; DRUMOND, M.R.S.; PADILHA, W.W.N. Atividade antibacteriana *in vitro* da tintura de aroeira (*Schinus terebinthifolius*) na descontaminação de escovas dentais contaminadas pelo *S. mutans*. **Pesq Bras Odontoped Clin Integr**, João Pessoa, v.7, n.3, p.253-257, set./dez. 2007.

SOARES, S.P.; VINHOLIS, A.H.C.; CASEMIRO, L.A.; SILVA, M.L.A.; CUNHA, W.R.; MARTINS, C.H.G. Atividade antibacteriana do extrato hidroalcoólico bruto de *Stryphnodendron adstringens* sobre microorganismos da cárie dental. **Rev. odonto ciênc.**, v.23, n.2, p.141-144, 2008.

SOUSA, O.V.; FIOVARANTE, I.A.; YAMAMOTO, C.H.; ALVES, M.S.; VIEIRA, G.D.; ARAÚJO, A.L.A.A. Propriedades biológicas das sementes de *Joannesia princeps* Vellozo. **HU rev.**, Juiz de Fora, v.33, n.1, p.23-27, jan./mar. 2007.

SOUZA, D.H.; YAMAMOTO, C.H.; PINHO, J.J.R.G.; ALVES, M.S.; ARAÚJO, A.L.A. Atividade antibacteriana frente ao *Streptococcus mutans* e estabilidade de produtos naturais contendo extrato de *Mikania glomerata* Sprengel. **HU rev**, Juiz de Fora, v.32, n.1, p.11-14, jan./mar. 2006.

SOUZA, F.B.; GIL, J.N. Doença Cárie: Nem infecciosa, nem transmissível. **RGO.**, Porto Alegre, v.49, n.3, p.139-144, jul./ago. 1998.

STEFANELLO, M.E.; SALVADOR, M.J.; ITO, I.Y.; MACARI, P.A.T. Avaliação da atividade antimicrobiana e citotóxica de extratos de *Gochnatia polymorpha* ssp *fl occosa*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, n.4, p.525-530, out./dez. 2006.

STILLMARK, H. Uber ricin, ein giftigs ferment aus den samen von *Ricinus communis* L. und einigen Euphorbiaceen. **Thesis Univ. Dorpat**, 1888. In: LIENER *et al*, 1986.

SUPPAKUL, P.; MILTZ, J.; SONNEVELD, K.; BIGGER, S.W. Antimicrobial properties of basil and its possible application in food packaging. **J Agricultural Food Chemistry**, v.51, n.11, p.3197-207, 2003.

TAIZ, L. e ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed., 2004.719p.

TINOCO, M.R.R.O. **Avaliação *in vitro* do efeito das lectinas de sementes de *Talisia esculenta* e *Labramia bojeri* sobre o biofilme oral**. 2005. 51f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual de Campinas, Piracicaba.

TORRES, C.R.G.; KUBO, C.H.; ANIDO, A.A.; RODRIGUES, J.R. Agentes antimicrobianos e seu potencial de uso na Odontologia. Pós-Grad. **Rev. Fac. Odontol.**, São José dos Campos, v.3, n.2, p.43-52, jul./dez., 2000.

UZEL, A.; SORKUN, K.; ONAÇAG, O.; ÇOGULU, D.; GENÇAY, O.; SALIH, B. Chemical compositions and antimicrobial activities of four different Antolian propolis samples. **Microbiological Res.**, v.160, n.2, p.189-95, 2005.

VALLILO, M.I.; BUSTILLOS, O.V.; AGUIAR, O.T. Identificação de terpenos no óleo essencial dos frutos de *Campomanesia adamantium* (Cambessédes) O. Berg – Myrtaceae. **Rev. Inst. Flor.**, São Paulo, v.18, n.único, p.15-22, dez. 2006.

VEIGA Jr., V.F.; PINTO, A.C. O gênero *Copaifera* L. **Quim. Nova**, v.25, n.2, p.273-286, 2002.

VICKERY, M. L. & VICKERY, B. (1981). **Secondary Plant Metabolism**. The Macmillan Press Ltd., Hong Kong.

VIEIRA, L.S. **Fitoterapia da Amazônia. Manual das plantas medicinais**. São Paulo: Agrônômica Ceres, 1992. 349p.

VIEIRA, R.F.; SILVA, S.R. (coords.). 2002. Estratégias para conservação e manejo de recursos genéticos de plantas medicinais e aromáticas. Pp. 184. In: **Resultados da 1ª Reunião Técnica**. Brasília, Embrapa/Ibama/CNPq.

VIRTUOSO, S.; DIAS, J.F.G.; DAVET, A.; CUNICO, M.M.; FERRONATO, M.L.; BUFFON, M.C.M.; MIGUEL, M.D.; MIGUEL, O.G. Avaliação do efeito do extrato etanólico de *Aster lanceolatus* Willd. (Asteraceae) no controle do crescimento das bactérias da placa dentária. Estudo *in vitro*. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v.6, n.2, jul./dez. 2005.

WEYNE, S.; *et al.* Avaliação clínica de dois enxagatários bucais- Malvatricin e Flogoral. **Odontis**, Rio de Janeiro, v.3, n.8, p.3-4, abr./jun. 2003.

YUYAMA, L.K.O.; PANTOJA, L.; MAEDA, R.N.; AGUIAR, J.P.L.; SILVA, S.B. Desenvolvimento e aceitabilidade de geléia dietética de cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal). **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.28, n.4, p.929-934, out.-dez., 2008.

ZANATTA, F.B.; ROSING, C.K. Clorexidina: mecanismo de ação e evidências atuais de sua eficácia no contexto do biofilme supragengival. **Scientific-A**, v.1, n.2, p.35-43, 2007.

ZANELLA, R.I.; DA SILVA, L.P.; MANFRON, M.P.; CERON, C.S.; ALVES, S.H.; KARKOW, A.N.; SANTOS, J.P.A. Atividade antibacteriana, antioxidante e tanante de subprodutos da uva. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.39, n.3, p.941-944, mai./jun. 2009.

ANEXOS

ANEXO 1. Análise da variância do teste de difusão em disco para extratos obtidos por embebição – dados dos halos de inibição em milímetros

C. VARIAÇÃO	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	37	103,2848	2,7915	40,68 **
Resíduo	76	5,2150	0,0686	
Total	113	108,4998		
Desvio Padrão =	0,2620		Erro Padrão da média =	0,1512
Média Geral =	1,7828		Coefficiente de Variação =	14,69

ANEXO 2. Análise da variância do teste de difusão em disco para extratos obtidos por rotaevaporação – dados dos halos de inibição em milímetros.

C. VARIAÇÃO	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	17	2459,5400	144,6788	277,04 **
Resíduo	36	18,8004	0,5222	
Total	53	2478,3404		
Desvio Padrão =	0,7227		Erro Padrão da Média =	0,4172
Média Geral =	4,0819		Coefficiente de Variação =	17,70

ANEXO 3. Análise da variância do teste de difusão em disco para extratos por embebição – dados dos halos de estímulo de crescimento em milímetros.

C. VARIAÇÃO	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	31	3,4253	0,1105	3,71 **
Resíduos	64	1,9059	0,0298	
Total	95	5,3312		
Desvio Padrão =	0,1726		Erro Padrão da média =	0,0996
Média Geral =	1,4802		Coefficiente de Variação =	11,66

ANEXO 4. Análise da variância do teste de sobrevivência do *Streptococcus mutans* na presença dos extratos

C. VARIAÇÃO	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	37	22,1842	0,5996	5.02 **
Resíduo	76	9,0833	0,1195	
Total	113	31,2675		
Desvio Padrão =	0,3457		Erro Padrão da média =	0,1996
Média Geral =	1,9693		Coefficiente de Variação =	17,56

ANEXO 5. Análise da variância do teste de remoção do biofilme pelos extratos vegetais.

C. VARIAÇÃO	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamentos	36	82536,8108	2292,6892	880,58 **
Resíduo	74	192,6667	2,6036	
Total	110	82729,4775		
Desvio Padrão =	1,6136		Erro Padrão da Média =	0,9316
Média Geral =	49,1171		Coefficiente de Variação =	3,29

This document was created with Win2PDF available at <http://www.daneprairie.com>.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.