

Avaliação da atividade biológica do extrato metanólico bruto e frações das folhas de *Erythroxylum suberosum* A. St. -Hil.

José Bruno Zacarias Dos Santos¹ (IC) *, Alanna Kelly Da Rocha Silva¹ (IC), Giuliana Muniz Vila Verde Safadi¹ (PQ)

1. Universidade Estadual de Goiás-CCET
brunounderscore001@gmail.com

A família Erythroxylaceae é distribuída em regiões tropicais e subtropicais, fazendo parte do Bioma Cerrado e tem emprego na medicina popular. O presente trabalho teve por objetivo caracterizar o material vegetal e avaliar o potencial toxicológico e antibacteriano do extrato metanólico bruto e frações das folhas *Erythroxylum suberosum* frente ao bioensaio de toxicidade em *Artêmia salina* e bactérias Gram-positivas. As folhas de *Erythroxylum suberosum* foram submetidas à secagem e posterior moagem com granulometria adequada para as análises. Na caracterização do material vegetal, realizou-se o teste organoléptico e de pureza de acordo com os protocolos descritos na Farmacopéia Brasileira de 2010. O pó apresentou coloração verde claro, odor e intensidade distintos com sensação aromáticos e macios ao prensar entre os dedos. No teste de pureza o pó apresentou teor de umidade com média de 7,70%, teor de cinzas totais de 1,44% e matéria estranha de 1,49%. A obtenção do extrato bruto procedeu-se por maceração em metanol padrão analítico. As frações foram obtidas por cromatografia flash em grau de polaridade crescente de solventes. A análise frente *A. salina* não mostrou letalidade ao microcrustáceo. As frações obtidas pelos solventes hexano, diclorometano e acetato de etila, demonstraram potencial antibacteriano para as cepas em estudo.

Palavras-chave: Cerrado. Uso popular. Biodiversidade. Atividade Antimicrobiana

Introdução

Decorrente de sua extensão territorial, o Brasil apresenta flora e fauna variada, onde o Cerrado representa o segundo maior Bioma brasileiro, possuindo mais de 11 mil espécies vegetais, sendo conhecidas 4.400 espécies vegetais endêmicas (SOUZA & FELFILI, 2006; RODRIGUES et al. 2015). No Bioma Cerrado, encontra-se a família Erythroxylaceae que compreende quatro gêneros: *Aneulophus*, *Erythroxylum*, *Nectaropetalum* e *Pinacopodium*. O gênero *Erythroxylum* é o maior gênero dentre os quatros, sendo composto por cerca de 250 espécies distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais (Sul das Américas, África, Austrália, Madagascar) (PLOWMAN:HENSOLD, 2004; BIERI et al. 2006, RODRIGUES et al.

2015). O gênero *Aneulophus*, *Nectaropetalum* e *Pinacopodim*, apresenta distribuição exclusiva na África e contêm poucas espécies conhecidas (LOIOLA et al. 2007).

O gênero *Erythroxylum* agrega representantes arbóreos, arbustivos e subarbustivos, de folhas e ramos alternos ou opostos, sendo que no Cerrado algumas espécies do gênero *Erythroxylum* são bem conhecidos por apresentarem caule espesso e galhos retorcidos (BEIRAS & SAJO, 2004). A literatura retrata a presença de metabólitos secundários importantes no gênero *Erythroxylum* como, por exemplo, alcaloides tropânicos, fenilpropanoides, taninos e terpenos, sendo tais metabólitos secundários significativos por apresentarem atividades biológicas como, por exemplo, antioxidante, anti-inflamatória, anticancerígena, entre outras (ZUANAZZI, 2001; RODRIGUES et al. 2015).

O interesse no gênero *Erythroxylum* intensificou-se a partir do século XIX após a verificação da atividade psicoativa no Sistema Nervoso Central e anestésica local apresentada pela *Erythroxylon coca* L., sendo suas folhas utilizadas séculos atrás pelos indígenas localizados na região Andina (LOIOLA et al. 2007).

A *Erythroxylum suberosum* A. St.-Hil. é uma espécie típica do Cerrado, sendo distribuída em 20 capitais brasileiras. A espécie apresenta-se como um subarbusto, seus ramos apresentam formatos cilíndricos, espessos e de coloração acinzentada (RODRIGUES et al. 2015). A literatura retrata que a *E. suberosum* é utilizada por índios Kayapós com fins anti-reumáticos e anestésicos (BARBOSA et al., 2014), com finalidade abortiva, em inflamações (NASCIMENTO, 2014) e indigestão (LOPES, 2016). Moraes (2015) relata que a fração hidroalcoólica obtida do extrato etanólico das folhas de *E. suberosum* apresenta potencial anti-hipertensivo, através da ação vasodilatadora dependente de óxido nítrico, em anéis da aorta de camundongos normotensos.

O presente trabalho faz se necessário uma vez que a espécie possui utilização popular, onde o bioensaio de toxicidade e avaliação do potencial antibacteriano do extrato bruto das folhas e frações da *E. suberosum*, venham para corroborar ou refutar as informações populares referente a espécie. Sendo um indivíduo que pertence ao Cerrado, a contribuição se estende ao âmbito da preservação da espécie, do gênero *Erythroxylum* e da família Erythroxylaceae.

Material e Métodos

MATERIAL BOTÂNICO

As folhas de *E. suberosum* foram coletadas na Reserva Biológica da Trilha do TATU/ UEG Campus Anápolis Henrique Santillo (Latitude 16° 22'55.4" S, Longitude 48° 56' 40.5" W) nos meses de Março a Abril de 2016.

O material vegetal foi identificado pela Profa. Dr. Giuliana Vila Verde (UEG) e Profo. Dr. Heleno Dias Ferreira da Universidade Federal de Goiás (UFG). As exsiccatas foram confeccionadas e depositadas no Herbário da Universidade Estadual de Goiás- CCET. As folhas foram submetidas à secagem em estufa modelo TECNAL® versão TE – 394/3 sob circulação forçada de ar a 40 °C por 48-72 horas e posterior moagem em moinho de facas modelo SOLAB® versão SL – 31.

CARACTERIZAÇÃO DO MATERIAL VEGETAL

Para essa parte do estudo foram utilizados os protocolos da Farmacopéia Brasileira 5 edição (2010).

EXAME VISUAL E ODOR

O material vegetal foi analisado quanto à cor, consistência e odor, sendo que o odor foi analisado quanto à intensidade (nenhum, fraco distinto e forte), e a sensação causada (aromático, frutoso, mofado e rançoso). Já a consistência foi analisada quanto à maciez, aspecto granular e outros.

DETERMINAÇÃO DE MATÉRIA ESTRANHA

Para determinação da matéria estranha procedeu-se com a metodologia de observação em microscópio estereoscópio. A matéria estranha foi classificada em três tipos, sendo eles: partes do organismo ou organismos a qual a droga se deriva; impurezas de natureza minerais ou inorgânicas, não inerente a droga; e quaisquer organismos, porções ou produtos de organismos não relativos à droga vegetal.

DETERMINAÇÃO DE CINZAS TOTAIS

Pesou-se 3 g da amostra pulverizada, distribuindo-a uniformemente em cadinho de porcelana previamente tarado e levado a incineração na mufla marca MARCONI® versão MA 030, aumentando a temperatura gradativamente, até no máximo, 600°C± 25 por 6 horas. Logo após, resfriou o cadinho em dessecador e

pesou até peso constante. A porcentagem de cinzas foi calculada em relação à droga seca ao ar. Sendo a análise realizada em triplicata.

DETERMINAÇÃO DO TEOR DE UMIDADE

Seguiu-se o método proposto por Amoedo & Muradian (2002), onde 1 grama da amostra foi exposta ao analisador de umidade modelo Shimadzu com irradiações de raios infravermelhos. A análise foi realizada em triplicata, com duração de 5 minutos entre cada análise em temperatura de 105 °C.

OBTENÇÃO DO EXTRATO BRUTO METANÓLICO

Na obtenção do extrato bruto procedeu-se à maceração de acordo com Matos (1988) e Matos e Matos (1989).

OBTENÇÃO DAS FRAÇÕES

Utilizou-se gradiente de polaridade crescente de solventes Hexano, Diclorometano, Acetato de Etila e Metanol, grau padrão analítico, procedendo a corrida cromatográfica por cromatografia flash marca Biotage® modelo Isolera One versão 3.0 situado no laboratório LPBioS da UEG.

Utilizou-se 15g de extrato acrescido com 15g de sílica Gel 60, 70-230 Mesh, procedendo ao empacotamento da coluna Nap Cartridge KP- Sil 50 e posterior corrida no fluxo de 100 mL /minutos em temperatura de 25°C com detecção no comprimento de onda de 200-800 nm, com duração de 1 hora de corrida, sendo o intervalo de 15 minutos em média entre cada fração corrida.

ENSAIOS BIOLÓGICOS

BIOENSAIO DE TOXICIDADE EM *Artemia salina* Leach.

O bioensaio realizado seguiu-se metodologia adaptada de Rahman et al. (2005). Sendo as amostras solubilizadas em dimetilsulfóxido a 5% (DMSO) de modo a obter concentrações de 2000; 1000; 500; 250; 125 e 62.5 µg.mL⁻¹, sendo as análises realizadas em triplicata. Para a classificação do nível de toxicidade, foi utilizado o critério proposto por Neguta et al. (2012). Os autores consideram toxicidade forte para valores de CL50 até 100 µg. mL⁻¹, toxicidade moderada para

CL50 entre 100 e 500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e toxicidade baixa para CL50 entre 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$, e não tóxico acima de 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$.

MICRO-ORGANISMOS UTILIZADOS NO ESTUDO

Para a realização dos ensaios, foram utilizadas 3 cepas *American Type Culture Collection* (ATCC) provenientes da coleção do Laboratório de Microbiologia (UEG/Anápolis) tabela 01.

Tabela 01. Micro-organismos utilizados na determinação da concentração mínima inibitória.

Bactérias Gram-positivas	ATCC
<i>Staphylococcus aureus</i>	29213
<i>Staphylococcus aureus</i>	25923
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	12228

DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO MÍNIMA INIBITÓRIA

Para a obtenção do CMI do extrato bruto e frações de *E. suberosum*, seguiu-se a técnica de microdiluição em caldo conforme o protocolo estabelecido pela *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2010) através da visualização da turvação antes de acrescentar a resazurina (7-hidroxi-3H-fenoxazina-3-ona-10-óxido), sendo que o aumento da turbidez ou opacidade do meio indica o crescimento de micro-organismos (PEREIRA, 2010), como também a visualização a olho nu após acrescentar a resazurina como indicador de viabilidade bacteriana (SARKERS et al., 2007), caracterizando coloração azul como negativo para crescimento bacteriano e coloração rósea como positivo para crescimento bacteriano.

As amostras (extrato e frações) foram solubilizadas em DMSO a 5% e diluídas em caldo Mueller Hinton (M.H) de modo a obter concentrações de 2000; 1000; 500; 250; 125 e 62.5 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, sendo as análises realizadas em triplicata.

Adotou-se o critério de Holetz e colaboradores (2002) e Mendes e colaboradores (2011) onde: boa atividade antimicrobiana – valores de CMI até 100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$; atividade antimicrobiana moderada – CMI entre 100 e 500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, fraca

atividade – CMI entre 500 e 1.000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e amostra sem atividade antimicrobiana – CMI acima de 1.000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$.

Resultados e Discussão

CARACTERIZAÇÃO DO MATERIAL VEGETAL (PÓ)

A caracterização organoléptica é necessária para identificação correta, qualidade satisfatória e pureza confiável do material vegetal (BRASIL, 2010). O pó das folhas secas e moídas de *E. suberosum* apresentaram coloração verde claro, de intensidade de odor distinto e com sensação aromático e macio ao prensar entre os dedos.

A pesquisa de matéria estranha apresentou resultado de 1,49%, sendo imprescindível para verificar o grau de pureza da droga vegetal. A referida análise mostrou-se resultado satisfatório, uma vez que a metodologia utilizada estabelece que a matéria estranha de droga vegetal não pode exceder 2% m/m (BRASIL, 2010). Os teores de cinzas totais apresentaram uma média de 1,44 com desvio padrão de $\pm 0,05$ e o teor de umidade apresentou uma média de 7,04 com desvio padrão de $\pm 0,31$. Tais testes são importantes para a identificação de falsificação e pureza da droga vegetal, como também, para garantir a conservação do material vegetal, evitar contaminação por microrganismos e degradação enzimática (OLIVEIRA et al., 2005; COSTA, 2001).

ENSAIOS BIOLÓGICOS

BIOENSAIO DE TOXICIDADE FRENTE À *Artemia salina* Leach

Os resultados obtidos demonstram ausência de toxicidade do extrato metanólico bruto e suas respectivas frações na mais alta concentração utilizada de 2.000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, de acordo com o critério de classificação adotada no estudo. Os referidos resultados se assemelham com os dados apresentados por Nascimento e colaboradores (2012) e Barros et al. (2017) utilizando o bioensaio de toxicidade com *A. salina* com a espécie vegetal analisada. A utilização da *Erythroxylum suberosum* na medicina popular pode ser explicada pela falta de toxicidade apresentada do

extrato bruto metanólico e as frações obtidas de suas folhas ao bioensaio com *A. salina* de acordo com o nível de classificação de toxicidade proposto por Neguta et al. (2011) utilizada no referido bioensaio. Uma vez que o bioensaio utilizando *A. salina* possui uma correlação notória com os testes de toxicidade aguda oral *in vivo* (SILVA et al., 2010), não foram identificados estudos que relatassem casos de intoxicação da referida espécie vegetal em humanos.

DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO MÍNIMA INIBITÓRIA DO EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES DE *Erythroxylum suberosum*

De acordo com os resultados obtidos a *S. aureus* ATCC 29213 apresentou CMI de 500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ para as frações hexânica e diclorometânica, já para a fração acetato de etila a CMI foi de 1.000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e para a fração metanólica e para o extrato bruto a CMI foi superior a 2.000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$.

A *S. aureus* ATCC 25923 apresentou CMI de 2.000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ para as frações hexânica e diclorometânica. Já para a fração acetato de etila a CMI apresentada foi de 1.000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Contudo, a CMI verificada para o extrato bruto metanólico e fração metanólica foram superior a 2.000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$.

A cepa *S. epidermidis* ATCC 12228 apresentou CMI superior a 2.000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ para o EBM e para as frações hexânica e metanólica. Já para as frações acetato de etila e diclorometânica a CMI observada foi de 1.000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$.

O extrato metanólico bruto obtido das folhas de *Erythroxylum suberosum* não apresentaram atividade antibacteriana nas cepas utilizadas, sendo tal resultado semelhante ao demonstrado por Violante et al. (2012).

As frações que apresentaram atividade antimicrobiana considerável frente às cepas testadas foram às frações hexânica, diclorometânica e acetato de etila.

É sugestivo que a atividade antibacteriana apresentada pelas frações diclorometânica e acetato de etila obtidas das folhas de *Erythroxylum suberosum* seja devido à elevada quantidade de compostos fenólicos, uma vez que os estudos relatam a presença de flavonoides como, por exemplo, quercitrina, isoquercitrina, e rutina, taninos, cumarinas e antocianidinas nas referidas frações (OLIVEIRA, 2014; NASCIMENTO, 2014; RODRIGUES et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2015).

A atividade antibacteriana apresentada pela fração hexânica pode ser devido a compostos lipofílicos, uma vez que, a literatura retrata a presença de esteróides,

terpenos e acetofenonas em frações extraídas pelo referido solvente (MALHEIROS, 2001; MACIEL et al., 2002). Uma vez que a literatura relata que os terpenos são conhecidos por serem ativos contra bactérias, protozoários, vírus e fungos (MATIAS et al., 2010; BUSTAMANTE et al., 2010; SILVA, 2010).

Considerações Finais

Os resultados verificados no estudo corroboram com os dados relatados para o gênero *Erythroxylum*, uma vez que literatura relata que há poucos estudos fitoquímicos e biológicos referentes às suas espécies, sendo do que as mesmas têm emprego na medicina popular.

Agradecimentos

À Universidade Estadual de Goiás pelo apoio dada a pesquisa e pela bolsa de Iniciação Científica, PIBIC-UEG, concebida.

Referências

AMOEDO, L.H.G.; MURADIAN, L.B.A. Comparação de metodologias para determinação de umidade em geléia real. **Química Nova**, v. 25, n. 4, p. 676-679, 2002.

BARBOSA CC, SILVA FD, SANTOS AM, VAZ MRF, NÓBREGA FFF. Aspectos gerais e propriedades farmacológicas do gênero *Erythroxylum*. **Revista Saúde e Ciência On line**. v. 3, n.3, p.207-216, 2014.

BARROS, IVELONE M. DE C.; LEITE, BRUNO H. M.; LEITE, CAIO F. M. ; FAGG, CHRISTOPHER W.; GOMES, SUELI M.; RESCK, INÊS SABIONI; BAZZO, YRIS M. FONSECA-; MAGALHÃES, PÉROLA O.; SILVEIRA, DÂMARIS. Chemical composition and antioxidant activity of extracts from *Erythroxylum suberosum* A.St. Hil.leaves. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**. n.7, v.3, p.088-094, 2017.

BIERI, STEFAN; BRACHET, ANNE; VEUTHEY, JEAN-LUC; CHRISTEN, PHILIPPE. Cocaine distribution in wild *Erythroxylum* species. **Journal of Ethnopharmacology**. v.103, p.439-447, 2006.

BIERAS, ANGELA C.; SAJO, MARIA DAS GRAÇAS. Ontogenia foliar de três espécies de *Erythroxylum* P. Browne (Erythroxylaceae) ocorrentes no Cerrado. **Revista Brasil Botânica**. v.27, n.1, p.71-77, 2004 .

BRASIL. **Farmacopéia Brasileira**, volume 1 / Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2010. 546f.

BUSTAMANTE, K.G.L.1 ; LIMA, A.D.F.1 ; SOARES, M.L.1 ; FIUZA, T.S.1 ; TRESVENZOL, L.M.F.2 , BARA, M.T.F.2 ; PIMENTA, F.C.3 ; PAULA, J.R.2 Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato etanólico bruto da casca da sucupira branca (*Pterodon emarginatus* Vogel) – Fabaceae. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**. v.12, n.3, p.341-345, 2010.

COSTA, A. F. **Farmacognosia**. 3. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, v.3, 2001.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically. Approved Standard M7–A6. Wayne, PA: **CLSI**; 2010.

HOLETZ, F.B., PESSINI, G.L., SANCHES, N.R., CORTEZ, D.A.G., NAKAMURA, C.V. and DIAS FILHO, B.P. Screening of some plants used in the Brazilian Folk Medicine for the treatment of infectious diseases. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.97, n.7, p.1027-1031, 2002.

LOIOLA, MARIA IRACEMA BEZERRA; AGRA, MARIA DE FÁTIMA; BARACHO, GEORGE SIDNEY; DE QUEIROZ, RUBENS TEIXEIRA. Flora da Paraíba, Brasil: Erythroxylaceae Kunth. **Acta Botânica Brasil**. v.21, n.2, 2007.

LOPES, IVELONE MARIA DE CARVALHO. **Estudo químico de Erythroxylum suberosum, biomonitorado por inibição da hialuronidase**. 2016. 48f. Tese (Doutorado) Pós-Graduação em Ciências da Saúde. Universidade de Brasília, DF.

MACIEL, MARIA APARECIDA M.; PINTO, ANGELO C.; JR, VALDIR F. VEIGA. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**. v.25, n.3, p.429-438, 2002.

MALHEIROS, ANGELA. **Estudos químicos farmacológicos e alelopáticos das espécies *Drimys angustifolia* e *Drimys brasiliensis* (winteraceae)**. 2001. 174f. Tese. Pós em Química Orgânica. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis.

MATIAS, EDINARDO F.F.; SANTOS, KARLA K. A.; ALMEIDA, THIAGO S.; COSTA, JOSÉ G. M.; COUTINHO, HENRIQUE D.M. Atividade antibacteriana *In vitro* de *Croton campestris* A., *Ocimum gratissimum* L. e *Cordia verbenácea* DC. **Revista Brasileira de Biociências**. v. 8, n. 3, p. 294-298, 2010.

MATOS, F. J. A. **Introdução à fitoquímica experimental**. Fortaleza: UFC, 1988.

MATOS, J. M. D.; MATOS, M. E. **Farmacognosia**. Fortaleza: UFC, 1989.

MENDES, L.P.M. ; MACIEL, K.M. ; VIEIRA, A.B.R. ; MENDONÇA, L.C.V. ; SILVA, R.M.F. ; ROLIM NETO, P.J.; BARBOSA, W.L.R. ; VIEIRA, J.M.S. Atividade Antimicrobiana de Extratos Etanólicos de *Peperomia pellucida* e *Portulaca pilosa*. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. v.32, n.1, p.121-125, 2011.

MORAIS, NATHALIA DE ALMEIDA. **Monitoramento sazonal da atividade antioxidante das folhas de *Erythroxylum suberosum* A.St.-Hil.: correlação com o teor de hiperosídeo e isoquercitrina**. 2015. 91f. Dissertação (Mestrado). Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas Faculdade de Brasília, DF.

NASCIMENTO, CRISTIANE JUSTINO; VIOLANTE, IVANA MARIA POVOA; GARCEZ, WALMIR SILVA; POTT, ARNILDO; GARCEZ, FERNANDA RODRIGUES. Biologically active abietane and ent-kaurane diterpenoids and other constituents from *Erythroxylum suberosum*. **Phytochemistry Letters**. v. 5, p.401–406, 2012.

NASCIMENTO, MICHELLE NAUARA GOMES DO. **Estudo químico de *Erythroxylum suberosum* (Erythroxylaceae) frente às catepsinas k, l e v**. 2014.122f. Dissertação (Mestrado) Pós-Graduação *Stricto sensu* em Química. Universidade Federal de Goiás. Catalão.

NGUTA, J. M.; MBARIA, J. M.; GAKUYA, D. W.; GATHUMBI, P. K.; KABASA, J. D.; KIAMA, S. G. Biological screening of Kenyan medicinal plants using *Artemia Salina* L. (Artemiidae). **Pharmacologyonline**, v.14, n.2, p.358-361, 2012.

OLIVEIRA, F.; AKISUE, G.; AKISUE, M. K. **Farmacognosia** – 1. ed. – São Paulo: Editora Atheneu, 2005.

OLIVEIRA, FERNANDA DE FÁTIMA SOUZA DE. Pesquisa de dados botânicos de plantas úteis coletadas por naturalistas europeus no século XIX no Norte/Nordeste de Minas Gerais - **Dados botânicos, químicos e ensaios antioxidantes de *Erythroxylum suberosum* A. St.-Hil (Erythroxylaceae)**. 2014. 143f. Dissertação (Mestrado) Pós-graduação Ciências Farmacêuticas. Diamantina, MG.

PEREIRA, C. K. B. **Estudo químico e atividades microbiológicas de espécies do gênero *Psidium* (Myrtaceae)**. 2010. 123f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós Graduação em Bioprospecção Molecular. Universidade Regional de Cariri, Crato-CE.

PLOWMAN, T. & HENSOLD, N. “**Names, types, and distribution of neotropical species of *Erythroxylum* (Erythroxylaceae)**”. *Brittonia*, v.56,p.1-53, 2004.

RAHMAN, A.; CHOUDHARY, M. I.; THOMSEN, W. J. *Bioassay Techniques for Drug Development*. **1ª. ed. Singapore: Taylor & Francis e-Library**, 2005.

RODRIGUES, G.A.; SOUZA, W. C.; GODINHO, M. G. C.; FERREIRA, H.D.; VILA VERDE, G.M. Determinação de parâmetros farmacognósticos para as folhas de *Erythroxylum suberosum* A. St.-Hilaire (Erythroxylaceae) coletadas no município de Goiânia, GO. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**. v.17, n.4, p.1169-1176, 2015.

SARKER, S. D.; NAHAR, L.; KUMARASAMY, Y. Microtitre plate-based antibacterial assay incorporating resazurin as an indicator of cell growth, and its application in the in vitro antibacterial screening of phytochemicals. **Methods**, v.42, p.321– 24, 2007.

SILVA, LENISE L.; HELDWEIN, CLARISSA G.; REETZ, LUIZ G. B.; HÖRNER, ROSMARI; MALLMANN, CARLOS A.; HEINZMANN, BERTA M. Composição química, atividade antibacteriana in vitro e toxicidade em *Artemia salina* do óleo essencial das inflorescências de *Ocimum gratissimum* L., Lamiaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.20, n.5, p.700-705, 2010.

SOUZA, CYNTHIA DOMINGUES; FELFILI, JEANINE MARIA FELFILI. Uso de plantas medicinais na região de Alto Paraíso de Goiás, GO, Brasil. **Acta Botânica Brasil**. n.20,v.1, p.135-142, 2006

VIOLANTE, IVANA MARIA PÓVOA; HAMERSK, LIDILHONE; GARCEZ, WALMIR SILVA; BATISTA, ANA LUCIA; CHANG, MARILENE RODRIGUES; POTT, VALI JOANA; GARCEZ, FERNANDA RODRIGUES. Antimicrobial activity of some medicinal plants from the cerrado of the central-western region of Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**. p.1302-1308, 2012.

ZUANAZZI, JOSÉ ANGELO S.; TREMEA, VALÉRIA; LIMBERGER, RENATA P.; SOBRAL, MARCOS; HENRIQUES, AMÉLIA T. Alkaloids of *Erythroxylum* (Erythroxylaceae) species from Southern Brazil. **Biochemical Systematics and Ecology**. v. 29, p.819–825, 2001.