

## Avaliação da atividade antimicrobiana *in vitro* do extrato de *Tabernaemontana catharinensis* A. DC.

GONÇALVES, D.M.<sup>1</sup>; ARAÚJO, J.H.B.<sup>1\*</sup>; FRANCISCO, M.S.<sup>1</sup>; COELHO, M.A.<sup>1</sup>; FRANCO, J.M.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Campo Mourão, BR 369, km 0,5, CEP: 87301-006, Campo Mourão-Brasil \*jaraujo@utfpr.edu.br <sup>2</sup>Universidade Estadual de Maringá, Avenida Colombo, CEP: 87020-900, Maringá-Brasil

**RESUMO:** Diversas espécies de *Tabernaemontana* têm sido estudadas devido a diversidade de alcalóides com atividade farmacológica. O objetivo desse trabalho foi avaliar a capacidade antimicrobiana *in vitro* do extrato das cascas do caule de *Tabernaemontana catharinensis* A. DC. em cepas de *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, microrganismos causadores de diversas infecções. Os testes de susceptibilidade bacteriana foram realizados usando o método de Kirby Bauer, consistindo na difusão em disco do antibiótico em meio de cultivo Mueller Hinton. Os testes de inibição foram realizados com soluções do extrato bruto seco de *T. catharinensis* dissolvido em etanol 70% (v/v) na concentração 1,0 mg mL<sup>-1</sup>, que aplicada nos discos de área 20 mm<sup>2</sup>, apresentaram concentração de 0,005 mg mm<sup>-2</sup>. Como controle negativo, realizou-se ensaios com placas contendo *P. aeruginosa*, e discos com etanol 70% (v/v), e como controle positivo, discos com os antibióticos ceftriaxona sódica (0,25 mg mm<sup>-2</sup> de área do disco), tetraciclina (0,005 mg mm<sup>-2</sup>) e cefalexina (0,005 mg mm<sup>-2</sup>). A solução do extrato na concentração de 0,005 mg mm<sup>-2</sup> inibiu o *Staphylococcus aureus*, com diâmetro médio do halo de 0,6 cm. O halo de inibição para o *Pseudomonas aeruginosa* foi em média 1,2 cm. A tetraciclina, a cefalexina, e o controle negativo (etanol 70% v/v) não demonstraram ação antimicrobiana. O halo de inibição usando ceftriaxona foi em média 2,2 cm para *P. aeruginosa* e 1,0 cm para *Staphylococcus aureus*.

**Palavras-chave:** atividade antimicrobiana, *Tabernaemontana catharinensis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*

**ABSTRACT:** Evaluation of *in vitro* antimicrobial activity of *Tabernaemontana catharinensis* A. DC. extract. Several *Tabernaemontana* species have been studied due to their several alkaloids with pharmacological activity. The aim of this work was to evaluate the *in vitro* antimicrobial action of the extract from stem barks of *Tabernaemontana catharinensis* A. DC. against strains of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*, microorganisms that cause several infections. Bacterial susceptibility tests were performed by the Kirby-Bauer method, consisting in antibiotic disk diffusion in Mueller Hinton medium. Inhibition tests were performed with solutions of *T. catharinensis* dry crude extract dissolved in ethanol 70% (v/v) at 1.0 mg mL<sup>-1</sup>, which became 0.005 mg mm<sup>-2</sup> when applied to 20 mm<sup>2</sup> disks. As negative control, assays were carried out in plates containing *P. aeruginosa* and disks with ethanol 70% (v/v). Positive control consisted of disks containing the antibiotics ceftriaxone sodium (0.25 mg mm<sup>-2</sup> disk area), tetracycline (0.005 mg mm<sup>-2</sup>) and cephalexin (0.005 mg mm<sup>-2</sup>). Extract solution at 0.005 mg mm<sup>-2</sup> inhibited *Staphylococcus aureus*, with 0.6cm halo mean diameter. The inhibition halo for *Pseudomonas aeruginosa* was on average 1.2 cm. Tetracycline, cephalixin and negative control (ethanol 70% v/v) did not show antimicrobial action, whereas ceftriaxone sodium resulted in 2.2 and 1.0cm mean inhibition halo diameters for *P. aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*, respectively.

**Key words:** antimicrobial activity, *Tabernaemontana catharinensis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*

## INTRODUÇÃO

Os desafios no tratamento de doenças infecciosas vêm crescendo de forma significativa, tendo em vista que bactérias resistentes a múltiplos antimicrobianos representam fonte de incertezas para a cura desses contágios, havendo a necessidade de se buscar novas substâncias com propriedades antibióticas para serem aplicadas no combate a esses microrganismos, abrindo assim caminhos para a evolução das pesquisas no desenvolvimento de novos fármacos efetivos as constantes modificações dos mecanismos de resistência microbiana.

A aplicação da medicina natural tem levado a comunidade científica a investigar a potencialidade de cura de compostos naturais na utilização medicinal. Por outro lado, devido ao desconhecimento da possível existência da ação tóxica, bem como da indicação adequada, as plantas medicinais são muitas vezes usadas de forma incorreta, não produzindo o efeito desejado (Pereira et al., 2004). Dessa forma, conhecer as aplicações fitoterápicas e a fisiologia das espécies vegetais promove maior otimização do uso desses princípios ativos presentes nas plantas, devendo-se determinar o ponto ideal da planta para realizar a coleta, e considerar os períodos de maior produção do mesmo. No entanto, nada impede que sejam feitas coletas do extrato ou látex de plantas em períodos aleatórios ao de melhor coleta para uso imediato.

Segundo Salvagnini et al. (2008), a utilização de plantas medicinais, tem recebido apoio da Organização Mundial de Saúde (OMS) por se tratar de prática tradicional ainda existente entre os povos de todo o mundo trazendo inúmeros benefícios para quem emprega essas técnicas curativas. São muitos os fatores que vêm colaborando para o desenvolvimento de práticas de saúde que incluam plantas medicinais, principalmente no âmbito econômico e social (Elisabetsky, 1991).

O estudo da resistência bacteriana, geralmente é baseado em microrganismos de importância epidemiológica, tais como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e fungos leveduriformes, responsáveis por diferentes processos etiológicos tanto em pacientes imunocompetentes quanto em pacientes imunodeprimidos (Antunes et al., 2006).

Os microrganismos comumente responsáveis pela Pneumonia Adquirida no Hospital (PAH) incluem os patógenos das espécies *Enterobacter*, *Escherichia coli*, espécies de *Klebsiella*, *Proteus*, *Serratia marsecens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* sensível ou resistente a meticilina. Anualmente, dois milhões de casos de pneumonia ocorrem no Brasil e mais de 33000 brasileiros evoluem para óbito. Pneumonia hospitalar é a mais fatal das infecções

hospitalares, com taxas de mortalidade de 30 a 60% (Martins et al., 2008).

Segundo Fuentesria & Einsfeld (2008), a bactéria *Pseudomonas aeruginosa* (Gram-negativa) é um dos principais microrganismos reavidos de efluentes hospitalares. É um patógeno nosocomial responsável por acarretar infecções em vários sítios do corpo humano, principalmente em passivos imunocomprometidos. Está largamente difundida no ambiente e é capaz de perdurar por longos períodos em lugares adversos e desenvolver resistência a agentes antimicrobianos.

O microrganismo *Staphylococcus aureus* é uma bactéria Gram-positiva caracterizada por ser um dos maiores responsáveis pelas mortes por infecção hospitalar, sendo o final dos anos 80 e início dos anos 90, o período constatado pela comunidade médica como sendo o de grande aumento do número de doenças infecciosas causadas pelas cepas de *S. aureus* multirresistentes. A vancomicina é o medicamento de primeira escolha no tratamento de infecções causadas por estes microrganismos. No entanto, há relatos de cepas resistentes a este antibiótico, nos últimos anos (França & Kuster, 2009).

A importância de se estudar a aplicação de novas substâncias obtidas a partir da extração de princípios ativos de diversas espécies vegetais é importante para encontrar formas de inibir ou combater esses patógenos, que constantemente adquirem resistência a antibióticos industrializados.

Em meio a esta busca a espécie *Tabernaemontana catharinensis* A. DC. (Apocynaceae), nativa da América do Sul, popularmente conhecida no Brasil como leiteiro de vaca, apresenta-se como alternativa. Essa espécie é caracterizada por ser arbusto lactífero ou arvoreta de tamanho de 1-10m, característica da sub-serra e de vasta dispersão na zona da mata pluvial da encosta atlântica, bem como do Vale do Rio do Peixe e Bacia do Rio Uruguai. Frequentemente nas capoeiras dos primeiros estágios, situadas em solos úmidos (seletiva higrófila), orlas das matas e clareiras da região da mata pluvial atlântica e bastante rara na zona do oeste "mata branca" (Markgraf, 1968; Lorenzi et al., 2003).

Almeida et al. (2004) e Veronese et al. (2005) demonstraram que o extrato das raízes frescas da *Peschiera fuchsiaefolia*, hoje reclassificada como *T. catharinensis*, pode inibir a letal atividade do veneno da cascavel (*Crotalus durissus terrificus*) e jaracacú (*Bothrops jaracussu*).

Para Almeida et al. (2004), um quarto da base do alcalóide, 12-metoxi-4-methylvoachalotine (MMV) extraído do leiteiro de vaca (*T. catharinensis*) provou ser capaz de inibir a atividade letal de duas doses de DL 50 do veneno da cascavel (*Crotalus durissus terrificus*).

Substâncias com atividade antitumoral e tripanocida também foram isoladas a partir desta planta. Além disso, o extrato aquoso de *T. catharinensis* possui atividade citotóxica humana potente sobre linhas de tumor, como SK-BR-3, MCF-7 e C-8161 *in vitro* (Almeida et al., 2004).

Este trabalho buscou avaliar a capacidade antimicrobiana *in vitro* do extrato de *T. catharinensis* em cepas de *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* e comparar a eficiência frente a antibióticos comerciais.

## MATERIAL E MÉTODO

### Coleta

As cascas da planta utilizada nos testes foram coletadas entre os dias 18 e 30 de junho, na estação sazonal inverno/primavera de 2008 no período noturno na área central do município de Campo Mourão, sendo esta espécie identificada pelo professor Dr. Marcelo Galeazzi Caxambú, responsável pelo Herbário da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, *campus* Campo Mourão (HCF), onde foi depositada a excisada a qual recebeu o número de voucher 5479.

### Extrato (preparação e diluição dos extratos)

Para a extração dos alcalóides totais obtidos a partir das cascas retiradas do caule do vegetal utilizou-se o método clássico de Stas-Otto, segundo Rates et al. (1988). As cascas da planta após secagem e trituração foram pesadas para determinação posterior do rendimento de extração. Na primeira extração a proporção de cascas, hidróxido de amônio e clorofórmio utilizada foi de 1:3:3 em massa. Após a primeira extração, a proporção de ácido clorídrico 2% usada na fase clorofórmica foi de 1:1 em volume. A proporção de clorofórmio usada após a fase aquosa ser alcalinizada foi de 1:1 em volume. No final do processo, a fase clorofórmica foi concentrada em evaporador rotativo para recuperação do solvente. A obtenção do princípio ativo no estado sólido foi realizada em estufa com circulação de ar a 50°C, sendo posteriormente pesada para determinação do rendimento final. Para o preparo das soluções de *T. catharinensis*, o extrato seco da planta foi dissolvido em etanol 70% até a concentração de 1,0 mg mL<sup>-1</sup>, elaborando-se por sua vez a solução matriz para ser diluída nas concentrações desejadas.

### Cepas utilizadas

Para os testes de atividade antimicrobiana as linhagens utilizadas foram das bactérias *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*

obtidas junto ao Laboratório de Análises Clínicas São Gabriel localizado no município de Campo Mourão, sendo conservadas em meio líquido Mueller-Hinton e armazenadas durante as semanas que precederam o estudo em refrigerador a 4°C. Foi utilizada apenas uma cepa de cada espécie nos testes. Para a utilização dos microrganismos nos testes de atividade antimicrobiana, a cepa era repicada para tubos de ensaio contendo caldo nutriente e incubadas em estufa bacteriológica por 24h a 37°C para reativação.

### Controles utilizados

As soluções dos antibióticos cefalexina monoidratada fabricada pelo laboratório Legrand e cloridrato de tetraciclina produzida pelo laboratório EMS S/A foram preparadas na mesma concentração que a do extrato da planta (1,0 mg mL<sup>-1</sup>), sendo dissolvidos em água destilada e estéril. O antibiótico ceftriaxona sódica foi preparado de acordo com recomendação do fabricante EMS, sendo de 250 mg mL<sup>-1</sup> como sendo o controle positivo.

### Teste antimicrobiano

Antes dos testes de atividade antimicrobiana do extrato da planta, foi necessário o preparo do meio de propagação *in vitro* dos microrganismos utilizados nos testes de susceptibilidade. O meio de cultivo utilizado foi o ágar Mueller-Hinton. Este meio foi formulado no laboratório de microbiologia do *campus*, seguindo as indicações do Manual "Descrição dos Meios de Cultura Empregados nos Exames Microbiológicos", elaborado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa, 2004).

A atividade antimicrobiana do extrato foi constatada pela técnica de difusão em disco de papel descrito pela metodologia de Kirby-Bauer como citado por Okura & Rende (2008), onde as suspensões dos microrganismos convenientemente diluídas foram inseridas às placas contendo o meio de cultura em estado sólido. Os fatores de diluição foram ajustados a turvação de acordo com a escala 0,5 de Mc Farland (10<sup>8</sup> UFC mL<sup>-1</sup>) e em seguida as bactérias foram diluídas 1:1000 para uso no ensaio de atividade antimicrobiana obedecendo as recomendações do National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS, 1997).

Ao final os discos de papel receberam 20 µL das soluções do extrato resultando na concentração de 0,005 mg mm<sup>-2</sup> a qual posteriormente foi aplicada as placas e incubadas a 37°C durante 24 horas em posição invertida. Após o período de incubação foram realizadas leituras visuais observando-se os halos de inibição de crescimento bacteriano e quantificado em milímetros com o auxílio de paquímetro. Foram realizados três ensaios independentes para cada um dos três testes de atividade antimicrobiana.

## RESULTADO E DISCUSSÃO

### Rendimento de extração

Após secagem, trituração e extração dos alcalóides da planta determinou-se o rendimento de extração. Foram realizados quatro testes para determinação de rendimento, que foi em média de 0,51% para o extrato bruto seco das cascas do caule do *T. catharinensis*.

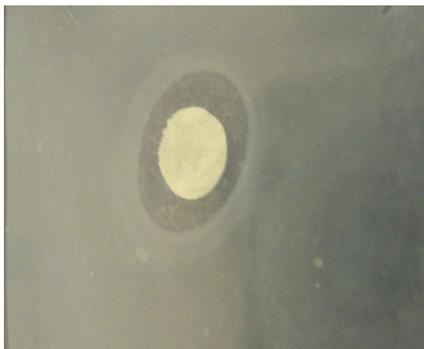
### Testes de inibição antimicrobiana

As plantas medicinais têm sido utilizadas como agentes antimicrobianos considerando sua composição e potencial de inibição, uma vez que existe forte tendência para o uso quando aplicadas metodologias capazes de comprovar a eficácia frente aos malefícios provenientes de microrganismos patogênicos. Os ensaios de atividade antimicrobiana *in vitro* mostraram que a aplicação da medicina popular, representa uma fonte de descoberta para inúmeros fármacos, além de pesquisas relacionadas à procura de atributos terapêuticos trazidas por estas, formando importante ferramenta para elucidação científica das propriedades curativas.

Os resultados obtidos evidenciaram o potencial de inibição microbiana das linhagens testadas de acordo com a técnica de difusão em disco frente à concentração do extrato de *T. catharinensis*. Na Figura 1 é apresentado o halo de inibição formado após o período de incubação para a bactéria *S. aureus*.

Na Tabela 1 é possível observar os valores obtidos na inibição do crescimento bacteriano que ocorreu de maneira dose-dependente para os microrganismos, atingindo máximo de inibição com a concentração. Os valores referem-se à média de três experimentos realizados.

Após analisados os efeitos inibitórios do extrato, foram realizados ensaios para fins comparativos com os medicamentos comercialmente produzidos ceftriaxona sódica, cefalexina e tetraciclina, sendo estas drogas as responsáveis pelo combate ao *S. aureus* e *P. aeruginosa*.



**FIGURA 1.** Fotografia de halo de inibição de *S. aureus* pelo extrato de *T. catharinensis* na concentração de 0,005 mg mm<sup>-2</sup> após 24 horas de incubação.

A bactéria *P. aeruginosa* apresentou maior sensibilidade ao medicamento apresentando halos de inibição de 2,2 cm, já para o *S. aureus* a média dos diâmetros de inibição foi de 1,0 cm.

Quando confrontados os resultados nota-se que o medicamento ceftriaxona sódica possui maior potencial de inibição, uma vez que a composição é definida para tratamento desses patógenos, já para os medicamentos cefalexina e tetraciclina não ocorreram a formação dos halos de inibição uma vez que essas drogas foram substituídas no mercado por não causarem o efeito desejado frente as cepas testadas, porém a inibição dos microrganismos aplicando-se o extrato de *T. catharinensis* mostra-se como sendo uma nova fonte fitoterápica de combate a essas bactérias, uma vez que a aplicação do extrato apresenta efeitos inibitórios significativos quando comparado ao medicamento. Justifica-se ainda pela proximidade entre os valores de inibição do *S. aureus* para ceftriaxona sódica na concentração de 0,25 mg mm<sup>-2</sup> e o extrato na concentração de 0,005 mg mm<sup>-2</sup>.

Como forma de elucidar os resultados foi realizado o controle negativo, dessa forma comprovou-se que o solvente utilizado nas diluições não interferiu nos resultados obtidos, uma vez que não produziu halos de inibição, demonstrando que o solvente (etanol 70%) não influenciou na formação do diâmetro de inibição produzido pelo extrato.

A *T. catharinensis* é uma planta medicinal conhecida pela composição rica em alcalóides indólicos. Os alcalóides derivados de metabólitos secundários possuem várias atividades biológicas, podendo até reverter o mecanismo de múltipla resistência a drogas em microrganismos (Prado et al., 2008).

Os alcalóides indólicos isolados de *Aspidosperma marcgravianum* mostraram atividades antimicrobiana e citotóxica, enquanto aqueles isolados das cascas das raízes de *Aspidosperma excelsum* Benth apresentaram atividade antimicrobiana frente a *Bacillus subtilis* e *Staphylococcus aureus*, sendo ambas espécies da mesma família da *T. catharinensis* (Pereira et al., 2007).

A produção de alcalóides indólicos representa os metabólitos secundários que a planta produz, sendo típico das espécies da família Apocynaceae, os alcalóides são derivados de aminoácidos aromáticos (triptofano, tirosina), os quais são derivados do ácido chiquímico, e também de aminoácidos alifáticos (ornitina, lisina) (Peres, 2004).

Segundo Bezerra (2008), a presença dos alcalóides na espécie *Piptadenia stipulacea* foi o responsável pela inibição das cepas dos microrganismos *S. aureus* e *P. aeruginosa*, demonstrando maior sensibilidade ao extrato etanólico obtido da planta em questão, sendo realizados testes com antibióticos comercialmente produzidos como no caso da vancomicina, onde os efeitos obtidos foram superiores ao do extrato da planta.

**TABELA 1.** Comparação entre os tamanhos médios dos halos para os microrganismos testados utilizando o extrato de *T. catharinensis* e os controles.

Microrganismos	Diâmetro médio dos halos de inibição (cm)				
	Controle negativo	Controles positivos			
	Etanol 70%	Tetraciclina (0,005 mg mm <sup>-2</sup> )	Cefalexina (0,005 mg mm <sup>-2</sup> )	Ceftriaxona sódica (0,25 mg mm <sup>-2</sup> )	Extrato da casca do caule (0,005 mg mm <sup>-2</sup> )
<i>P. aeruginosa</i>	0,0	0,0	0,0	2,2	1,0
<i>S. aureus</i>	0,0	0,0	0,0	1,0	0,6

## CONCLUSÃO

Este trabalho comprovou a atividade antimicrobiana *in vitro* do extrato de *Tabernaemontana catharinensis* de maneira dose-dependente frente aos microrganismos *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*. Além disso, em comparação com a atividade antimicrobiana do antibiótico ceftriaxona sódica, o extrato da planta demonstrou-se eficiente. É possível atribuir a formação dos halos de inibição à presença dos metabólitos secundários presentes na espécie *T. catharinensis*. Porém, outras pesquisas devem ser realizadas para confirmar a ação da planta no combate a outros tipos de microrganismos, e um número maior e mais representativo de cepas, isolado de diversos pacientes e ambientes, devem ser testados em futuros trabalhos. Além disso, deve-se realizar a separação dos constituintes da planta por meio de cromatografia, e testar a ação antimicrobiana de cada constituinte para confrontar com os resultados obtidos pelos autores acima descritos quanto aos alcalóides indólicos e identificar outros compostos responsáveis pela atividade de inibição do crescimento dos microrganismos, ou ação anti-ófidico, como expressado por “raizeiros”, e por pessoas que fazem uso do látex para fins medicinais.

## REFERÊNCIA

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA - ANVISA. **Manual de microbiologia clínica para o controle de infecções em serviços de saúde:** Módulo IV, descrição dos meios de cultura empregados nos exames microbiológicos. Brasília, 2004. 381p.

ALMEIDA, L. et al. Anticrotalic and antitumoral activities of gel filtration fractions of aqueous extract from *Tabernaemontana catharinensis* (Apocynaceae). **Comparative Biochemistry and Physiology Part C. Pharmacology, Toxicology & Endocrinology**, v.137, p.19-27, 2004.

ANTUNES, R.M.P. et al. Atividade antimicrobiana “in vitro” e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de fitoconstituintes e produtos sintéticos sobre bactérias e fungos leveduriformes. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v.16, n.4, p.517-24, 2006.

BEZERRA, D.A.C. **Estudo Fitoquímico, Bromatológico e Microbiológico de *Mimosa tenuiflora* (Wild) Poiret e *Piptadenia stipulacea* (Benth) Ducke.** 2008. 63p. Dissertação (Mestrado - Área de Concentração em Saúde e Tecnologia Animal) - Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Campina Grande, Paraíba.

ELISABETSKY, E. Sociopolitical, economical and ethical issues in medicinal plant research. **Journal of Ethnopharmacology**, v.31, p.235-9, 1991.

FRANÇA, H.S.; KUSTER, R.M. Atividade antibacteriana de floroglucinois e do extrato hexânico de *Hypericum brasiliense* Choisy. **Química Nova**, v.32, n.5, p.1103-6, 2009.

FUENTEFRIA, D.B.; EINSFELD, A. *Pseudomonas aeruginosa*: disseminação de resistência antimicrobiana em efluente hospitalar e água superficial. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.5, n.5, p.470-3, 2008.

LORENZI, H. et al. **Árvores exóticas no Brasil:** madeiras, ornamentais e aromáticas. 2.ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2003. 386p.

MARKGRAF, F. Apocináceas. In: REITZ, P.R (Ed.). **Flora ilustrada catarinense.** Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 1968. p.1-112.

MARTINS, S.G. et al. Prevalência e perfil de resistência de microrganismos isolados do trato respiratório inferior de pacientes internados no Hospital Divina Providência-Porto Alegre, RS. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v.40, n.1, p.83-6, 2008. Disponível em: <[http://www.sbac.org.br/pt/pdfs/rbac/rbac\\_40\\_02/01.pdf](http://www.sbac.org.br/pt/pdfs/rbac/rbac_40_02/01.pdf)>. Acesso em: 15 fev. 2009.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS - NCCLS. **Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals.** Tentative standards. Wayne, 1997. 64p. (Document M31-T).

OKURA, M.H.; RENDE, J.C. **Microbiologia:** roteiros de aulas práticas. Ribeirão Preto: Tecmedd, 2008. 203p.

PEREIRA, R.S. et al. Atividade antibacteriana de óleos

essenciais em cepas isoladas de infecção urinária.

**Revista Saúde Pública**, v.38, n.2, p.326-8, 2004.

PEREIRA, M.M. et al. Alcalóides indólicos isolados de espécies do gênero *Aspidosperma* (*Apocynaceae*).

**Química Nova**, v.30, n.4, p.970-83, 2007.

PERES, L.E.P. **Metabolismo secundário**. Piracicaba: ESALQ/USP, 2004. 10p.

PRADO, L.A.M. et al. Avaliação de frações ricas em alcalóides de *Tabernaemontana catharinensis* frente a isolados clínicos de bactérias resistentes a antibióticos.

In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 16., 2008. **Proceedings...** São Paulo: USP, 2008.

RATES, S.M.K. et al. Alcalóides indólicos em *Peschiera australis* (MUELL. ARG.) MIERS. var. *australis*. **Caderno de Farmácia**, v.4, n.1/2, p.51-62, 1988.

SALVAGNINI, L.E. et al. Avaliação da atividade antibacteriana de folhas de *Myrtus communis* L. (*Myrtaceae*). **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v.18, n.2, p.241-4, 2008.

VERONESE, E.L.G. et al. Inhibition of the myotoxic activity of *Bothrops jararacussu* venom and its two major myotoxins, BthTX-I and BthTX-II, by the aqueous extract of *Tabernaemontana catharinensis* A. DC. (*Apocynaceae*), **Journal Phytomedicine**, v.12, n.1-2, p.123-30, 2005.