

## Estudo fitoquímico, toxicidade em *Artemia salina* Leach e atividade antibacteriana de *Pseudoxandra cuspidata* Maas

Danilo Cabral Hyacienth<sup>1</sup>, Sheylla Susan Moreira da Silva de Almeida<sup>2</sup>

1. Acadêmico do Curso de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Amapá, Brasil. E-mail: dhyacienth@gmail.com

2. Graduada em Farmácia, Universidade Federal do Amapá. Doutora em Química de Produtos Naturais, Universidade de São Carlos. Professora Efetiva, Universidade Federal do Amapá, Brasil. E-mail: sheyllasusan@yahoo.com.br

**RESUMO:** A *Pseudoxandra cuspidata* Maas (Annonaceae Juss.), conhecida como Lamuci, é uma árvore de médio porte. Esta planta é empregada no Amapá para o tratamento de micoses superficiais e na Guiana Francesa é utilizada como antimalárico. O presente trabalho avaliou o perfil fitoquímico de *P. cuspidata*, toxicidade (ensaio de letalidade com *Artemia salina* Leach) e a atividade antibiótica do extrato pelo método de Kirby-Bauer modificado. Os resultados demonstraram que o extrato bruto etanólico apresenta média toxicidade ( $CL_{50} = 605,92 \mu\text{g/mL}$ ), além de ter a presença de alcaloides, compostos fenólicos e ácidos orgânicos, sendo o primeiro o possível responsável por essa toxicidade e o último sendo responsável pela provável atividade antifúngica; porém no teste antibacteriano não houve inibição frente às cepas de *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli* nas concentrações testadas.

**Palavras-chave:** *Pseudoxandra cuspidata*, Produtos Naturais, Estudo Fitoquímico, Alcaloides.

### Phytochemical study, toxicity in *Artemia salina* Leach, antibacterial test of *Pseudoxandra cuspidata* Maas

**ABSTRACT:** The *Pseudoxandra cuspidata* Maas (Annonaceae Juss.), known as Lamuci, is a medium sized tree, and its occurrence is mainly in the Amapá, where it is used for the treatment of superficial mycoses and in French Guiana is used as an antimalarial. This study evaluated the phytochemical profile of *P. cuspidata*, toxicity (lethality assay with *Artemia salina* Leach) and antibiotic activity of the extract by the method of modified Kirby-Bauer. The results demonstrated that the extract crude ethanol has an average toxicity ( $CL_{50} = 605,92 \mu\text{g/mL}$ ), in addition to the presence of alkaloids, composed phenolic and organic acids, with the first possible responsible for this toxicity and the latter being responsible for the antifungal activity likely; but the antibacterial test did not inhibit opposite strains of *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in the tested concentrations. The fundamental presence of alkaloids shows the main action *P. cuspidata* in the treatment of superficial mycoses, however, no inhibition front the bacteria tested could be related to the concentration of extract used in the test, thus suggesting the use of other concentrations.

**Keywords:** *Pseudoxandra cuspidata*, Natural Products, Phytochemical Study, Alkaloids.

### 1. Introdução

De acordo com a Organização Mundial de Saúde, a pesquisa de plantas medicinais é de grande benefício, haja visto, que incentiva a descoberta de medicamentos fitoterápicos aliados aos seus diversos benefícios, além de evidenciar os riscos que podem causar. Além disso, mais de 65% da população mundial utiliza principalmente as plantas no tratamento de diversos transtornos (CARELLI, 2011; SANTOS et al., 2011).

O emprego de plantas medicinais na recuperação da saúde tem evoluído, desde as formas mais simples de tratamento local, provavelmente utilizada pelo homem das cavernas, até as formas tecnologicamente sofisticadas da fabricação industrial utilizada pelo homem moderno. Porém, entre essas duas maneiras de uso, há um fato comum: a presença nas plantas da existência de algo que, administrado sob a forma de mistura complexa como chás, garrafadas, tinturas, pós, ou ainda como substância pura isolada, e sendo transformadas em substâncias semi-sólidas (pomadas), sólidas (comprimidos e cápsulas) e líquidas (xaropes), têm a propriedade de provocar reações benéficas no organismo, resultando na recuperação da saúde. Este “algo” atuante é o que se chama de princípio ativo, o qual é aquele que possui ação terapêutica, seja ele constituído de uma única ou um conjunto de substâncias que atuam sinergicamente, chamado de complexo fitoterápico (TOMAZZONI; NEGRELLE; CENTA, 2006; LORENZI; MATOS, 2008).

A intensa pesquisa da atividade de metabólitos

secundários de plantas medicinais tem se tornado uma alternativa no controle de patógenos com potencial ecológico para substituir o emprego de produtos sintéticos, por meio da utilização do extrato bruto e óleo essencial, uma vez que apresentam, em sua composição, substâncias com propriedades farmacológicas (GOBBO-NETO; LOPES, 2007; VENTUROSO et al., 2011). Esses compostos possuem como vantagens: de causarem menos efeitos adversos, de menores custos, de fácil acesso para a população, e dependendo de uma patologia suas ações podem ser superiores ao produto sintético (VENTUROSO et al., 2011).

A família Annonaceae apresenta de 2.300 a 2.500 espécies (SILVA, et al., 2009; FORMAGIO, et al., 2010) de distribuição quase inteiramente tropical sendo os gêneros em regiões da América, África e Ásia (ROCHA; LUZ; RODRIGUES, 1981). As espécies decorrentes dessa família são utilizadas como frutíferas, na cosmetologia, perfumaria e construções em geral (TRIGO, 2007).

A *Pseudoxandra cuspidata* (Maas), conhecida como Lamuci é pertencente à família Annonaceae Juss. O Lamuci é frequentemente encontrado no Estado do Amapá (TRIGO, 2007), onde a população utiliza para o tratamento de micoses superficiais (ALMEIDA, 2009), vulgarmente conhecidas como “impinges” e como antimalárico pelas comunidades da Guiana Francesa (ROUMY, 2006).

A espécie *P. cuspidata* apresenta poucos relatos na literatura a cerca de estudo sobre a sua constituição química e atividade biológica. Uma dessas atividades biológicas de interesse

é a atuação como antimalárica, onde a mesma é comprovada pelo estudo de Roumy et al. (2006), onde essa atividade foi devida a presença de alcaloides de *P.cuspidata*, evidenciando dessa forma ainda que a referida espécie possui uma atividade moderada frente ao *Plasmodium falciparum* em testes *in vitro* (BERTANI et al. 2005). Sendo assim, com o interesse em se confirmar ou não o conhecimento da medicina popular, as plantas medicinais têm tido seu valor terapêutico pesquisado mais intensamente pela ciência. Além disso, o Lamuci tem estudos escassos, necessitando assim de mais pesquisas acerca de seu potencial biológico. Sendo assim, a pesquisa objetivou o estudo fitoquímico, atividade citotóxica frente à *Artemia salina* e atividade microbiológica frente às cepas de *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli* de *P. cuspidata*.

## 2. Material e Métodos

### Material Vegetal

As cascas do caule de *P. cuspidata* (Lamuci) Mass, foram coletadas no município de Pedra Branca do Amapari – AP. A identificação botânica foi realizada pela Dra. Wegliane Campelo da Silva Aparício, no Herbário da Universidade Federal do Amapá (HUFAP) e depositada com a numeração 458.

### Preparo, secagem do material vegetal e obtenção do extrato bruto etanólico

O material vegetal foi seco em estufa com desumidificador à, aproximadamente, 45 °C por três dias e moído em moinho de facas. Após o processo de secagem e moagem foi obtido o pó das cascas do caule de *P. cuspidata*. Parte do pó (121,72 g) foi submetida à extração a quente sob refluxo com 750 mL de etanol, sendo este procedimento de extração repetido por mais duas vezes com o mesmo material vegetal para chegar ao esgotamento, seguido de filtração e concentração em evaporador rotativo, para obtenção do extrato bruto etanólico.

### Análise Fitoquímica Preliminar

Essas análises visaram o conhecimento de possíveis metabólitos secundários presentes no extrato bruto etanólico. Na prospecção fitoquímica pesquisou-se a presença de metabólitos secundários de acordo com metodologia descrita na literatura (MATOS, 1977). Para a pesquisa de ácidos orgânicos, utilizou-se os reagentes Pascova A e Pascova B, já para a análise de compostos orgânicos utilizou-se o cloreto férrico como reagente.

### Ensaio Antimicrobiano

#### Microrganismos

Foram utilizados três microrganismos incluindo cepas de Gram – positiva: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e Gram – negativas: *Klebsiella pneumoniae* (ATCC13883) e *Escherichia coli* (ATCC 25922). Os microrganismos testados foram obtidos no Laboratório Central do Amapá (LACEN).

#### Teste de resistência das linhagens microbianas aos extratos

Para avaliar a sensibilidade e resistência dos microrganismos ao extrato de *P. cuspidata* foi utilizado o método de Kirby-Bauer modificado, feita por difusão em discos de papel (CHARLES, 2009). O extrato foi impregnado

em discos de papel filtro estéreis que foram diluídos em metanol nas concentrações de 25, 50 e 100 mg/mL, com consequente evaporação do solvente em 8h. Como controles foram utilizados os antibióticos padrões, como controle positivo. Os discos de antibióticos comerciais, usados como controles de qualidade frente aos microrganismos, foram selecionados por terem importante indicação clínica, além de seguir as recomendações do Clinical and Laboratory Standards Institute, pois possuem limites aceitáveis para estas cepas controle e têm a finalidade de monitorar a acurácia do teste de difusão do disco (CARELLI, 2011).

Após estes procedimentos, os discos de papel filtro foram colocados nas placas. As placas foram mantidas em estufa bacteriológica a 37 °C, por 24 horas, sendo que a possível atividade antimicrobiana foi determinada com a medida do halo de inibição do crescimento.

### Toxicidade em *Artemia salina* Leach

Foi realizado um ensaio em triplicata afim de verificar a relação dose-resposta. Utilizou-se como grupo controle uma água artificial do mar e o grupo teste continha um número de dez larvas de *Artemia salina* Leach, sendo que as mesmas foram transferidas para tubos de ensaios contendo água artificial do mar e o extrato bruto etanólico, em seis diferentes concentrações (50, 100, 250, 500, 750 e 1000 µg/mL), sendo que o volume final de 1 mL foi completado com água artificial do mar e em seguida prosseguiu-se com a incubação. A contagem dos animais mortos e vivos foi realizada após 24 h, sendo determinada ainda a CL<sub>50</sub>, que avalia a concentração que é capaz de matar 50% dos animais expostos. Para isso, utilizou-se o software BioEstat® 5.0 como análise para obtenção das CL<sub>50</sub> e respectivos intervalos de confiança (AYRES 2003; SILVA FILHO, 2009).

## 3. Resultados e Discussão

No presente trabalho, a abordagem fitoquímica do extrato bruto etanólico obtido das cascas do caule de *P. cuspidata* revelou a presença de ácidos orgânicos, alcaloides e compostos fenólicos (Tabela 1). O extrato apresentou média toxicidade para *Artemia salina* L. CL<sub>50</sub> = 605,92 g/mL (Tabela 2) e para a atividade antibacteriana as cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC13883) e *Escherichia coli* (ATCC 25922) não se observou halo inibição em nenhuma das concentrações utilizadas, que foram de 25, 50 e 100 mg/mL de extrato bruto (Tabela 3).

**Tabela 1.** Análises Fitoquímicas Preliminares. / **Table 1.** Preliminary phytochemical analysis.

Classes de Metabólitos	Ocorrência
Alcaloides	+
Ácúcares Redutores	-
Polissacarídeos	-
Fenóis e Taninos	+
Taninos	-
Saponinas Espumílicas	-
Antraquinonas	-
Flavonóides	-
Ácidos Orgânicos	+
Depsídeos e Depsidonas	-
Esteróides e Triterpenóides	-
Resinas	-

Parâmetros: Presente (+); Ausente (-)

**Tabela 2.** Atividade tóxica de *Artemia salina* L. do extrato bruto etanólico de *P. cuspidata*. / **Table 2.** *Artemia salina* L. toxic activity of the crude extract ethanol *P. cuspidata*.

Concentração µg/mL	% de vivos	CL <sub>50</sub>	µg/MI
50	93		
100	83		
250	77	605, 92	
500	60		
750	43		
1000	16		

**Tabela 3.** Resultados da Atividade Antibacteriana. / **Table 3.** Results of Antibacterial Activity.

Microorganismo	25	50	100 (mg/mL)
<i>S. aureus</i>	R	R	R
<i>K. pneumoniae</i>	R	R	R
<i>E. coli</i>	R	R	R

Legenda: Resistente (R)

Na abordagem fitoquímica, apresentaram resultados positivos na identificação de alcaloides totais das cascas do caule de *P. cuspidata*, não sendo realizado teste para as classes específicas deste metabólito. Esse metabólito secundário tem diversas propriedades biológicas, entre elas estão antibacteriana, antifúngica, antiplasmódica (SILVA et al., 2007; HENRIQUE; NUNOMURA; POHLIT, 2010), antitumoral (FIGUEIREDO, et al. 2010), a presença desta classe de composto justifica, em parte, o uso pela medicina tradicional do Amapá e Guiana Francesa.

Ainda sobre atividades dos alcaloides, um dos mecanismos de ação desta classe de compostos pode estar correlacionada com a capacidade dos alcaloides de desestabilizar as membranas biológicas justificando sua atividade fúngica (SIMÕES, 2010). Alcaloides que apresentam atividade antitumoral inibem a síntese de DNA e RNA e proteínas, provavelmente, por intercalação na dupla hélice do DNA e por ligação com ácidos nucleicos. Os alcaloides diméricos de *Catharanthus* (vincristina e vinblastina) são usados na terapia de várias doenças neoplásicas, causando parada da divisão celular durante a metáfase devido a sua ligação específica com a tubulina, inibindo a polimerização (SIMÕES, 2010). Investigações mais apuradas para se verificar a classe específica dos alcaloides presente na espécie vegetal e a busca do isolamento do princípio ativo se faz necessário para se comprovar seu mecanismo de ação.

Através da reação de Pascova A e Pascova B houve descoloração do reativo o que indicou a presença de ácidos orgânicos, sendo que o mesmo apresenta atividades antissépticas e antifúngicas (BROOKS et al., 2012). Os ácidos orgânicos são largamente utilizados indústria alimentícia como aditivos, agentes de processamento, sendo esse último, os mesmos são adicionados para controlar a alcalinidade de produtos podendo agir como substância tampão ou ainda como agente neutralizante. Outra característica dessas substâncias é a sua ação como conservantes, podendo atuar desde agentes antimicrobiais até antioxidantes (FIORUCCI, 2002), onde algumas dessas atividades são relatadas pela população que utiliza esta espécie vegetal.

Através da adição de cloreto férrico houve coloração preta, indicando a presença de compostos fenólicos, onde estes contribuem para o sabor, odor e coloração de diversos vegetais, sendo muitos desses economicamente importantes pela utilização como flavorizantes e corantes de bebidas e alimentos (MANFREDINI, 2004). A maioria dos compostos fenólicos não é

encontrada no estado livre na natureza, mas sob a forma de ésteres ou de heterosídeos sendo, portanto, solúveis em água e solventes orgânicos polares (COUTINHO, 2013).

Os compostos fenólicos podem formar pontes de hidrogênio, e essas podem ser tanto intramoleculares como intermoleculares, propriedade muito importante na ligação com proteínas (SIMÕES, 2010), tem sido relatada a atividade antioxidante de alguns derivados de ácidos fenólicos, essa evidência tem sugerido que doenças causadas pelas reações oxidativas em sistemas biológicos podem ser retardadas pela ingestão de antioxidantes naturais encontrados na dieta, principalmente de compostos fenólicos (RODRIGUES, 2012).

Para os compostos fenólicos, tem sido apontada a atividade antimicrobiana e antiviral de ésteres do ácido cafeico. Alguns glicosídeos do ácido cafeico apresentam seletiva inibição da 5-lipoxigenase, que está relacionada com a biogênese dos leucotrienos e estes, por sua vez, estão envolvidos na imunoregulação (SIMÕES, 2010).

Em relação à atividade antibacteriana de *P. cuspidata*, não houve halo de inibição nas concentrações testadas (25, 50 e 100 mg/mL). Esse resultado não condiz com o que foi encontrado na abordagem fitoquímica, onde se tem a presença de compostos fenólicos e alcaloides, sendo que estes têm atividade antibacteriana. Mas o que se sugere é que os compostos presentes no extrato bruto etanólico não se encontram em concentração adequada para proporcionar a resposta biológica esperada no teste, visto que se trata de extrato bruto, e que a atividade antibacteriana pode ter efeito somente em altas concentrações ou substâncias purificadas. Sendo assim, pretende-se o fracionamento e a purificação de seus constituintes químicos em estudos posteriores e desse modo, realizar novos testes antibacterianos afim de avaliar melhor a ação antibacteriana de *P. cuspidata*.

O teste de toxicidade sobre a *Artemia salina* L. é um ensaio biológico amplamente utilizado devido ser rápido, confiável e de baixo custo. A relação entre o grau de toxicidade e a concentração letal média (CL<sub>50</sub>) apresentada por extratos de plantas sobre larvas de *Artemia salina* L., tanto extratos orgânicos, quanto extratos aquosos com valores de CL<sub>50</sub> acima 1000 µg/mL, estes, são considerados atóxicos, baixa toxicidade quando a CL<sub>50</sub> for superior a 500µg/mL; moderada para CL<sub>50</sub> entre 100 a 500µg/mL e muito tóxico quando a CL<sub>50</sub> foi inferior 100 µg/mL (AMARANTE, 2011).

O extrato de *P. cuspidata* apresentou baixa toxicidade para *Artemia salina* L. com CL<sub>50</sub> de 605,92 µg/mL, sendo que, esse nível de toxicidade do extrato é devido, possivelmente, à presença de alcaloides e/ou compostos fenólicos, mas não em concentração suficiente para causar um número maior de mortalidade.

#### 4. Conclusão

Nos estudos fitoquímicos realizados a presença de ácidos orgânicos e alcaloides justificam parcialmente o uso dessa planta pela população local e da Guiana Francesa respectivamente, haja visto, que esses metabólitos secundários possuem substâncias específicas contra as patologias em que são utilizadas. No modelo de toxicidade de *Artemia salina* utilizado para o extrato, a média toxicidade sugere que tenha sido em decorrência a presença de alcaloides, pois esta classe de metabólitos secundários é conhecida pela sua elevada toxicidade. Por não ter apresentado nenhuma inibição frente às bactérias testadas propõem-se que concentrações mais altas e o uso de substâncias isoladas do extrato sejam testadas e realizados os cálculos de Concentração Inibitória Mínima.



## 5. Referências Bibliográficas

- ALMEIDA, L. M. M.; BIANCHIN, D. B.; SOUZA, E. A. F.; SVIDZINSKI, T. I. E. Resposta *in vitro* de fungos agentes de micoses cutâneas frente aos antifúngicos sistêmicos mais utilizados na dermatologia. **Anais Brasileiro de Dermatologia**, v. 84, n. 3, p. 249-55, 2009.
- AMARANTE, C. B. MÜLLER, A.H.; PÓVOA, M. M.; DOLABELA, M. F. Estudo fitoquímico biomonitorado pelos ensaios de toxicidade frente à *Artemia salina* e de atividade antiplasmódica do caule de aninga (*Montrichardia linifera*). **Acta Amazônica**, v. 41, n. 3, p. 431-434, 2011.
- AYRES, M.; M. AYRES JR.; D.L. AYRES; A.S. SANTOS. **BioEstat 3.0: Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas**. Belém, Sociedade Civil Mamirauá, 290p., 2003.
- BERTANI, S.; BOURDY, G.; LANDAU, I.; ROBINSON, J.C.; ESTERRE, PH.; DEHARO, E. Evaluation of French Guiana traditional antimalarial remedies. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 98, p. 45-54, 2005.
- BROOKS, G. F.; GEO, F.; BUTEL, J. S.; MORSE, S. A. **Microbiologia Médica**. Fundamentos da Microbiologia - Crescimento, sobrevivência e morte dos micro-organismos. Editora: AMGH Editora Ltda. cap. 4, p. 53-63, 2012.
- CARELLI, G.; MACEDO, S. M. D.; VALDUGA, A. T.; CORAZZA, M. L.; OLIVEIRA, J. V.; FRANCESCHI, E.; VIDAL, R.; JASKULSKI, M.R. Avaliação preliminar da atividade antimicrobiana do extrato de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St. - Hil.) obtido por extração com CO<sub>2</sub> supercrítico. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, n. 1, p. 110-115, 2011.
- CHIESA, F. A. F. MOYNA, P. Alcaloides esteroidales. In: SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6ª Edição, Editora: da UFRGS, 2010.
- COUTINHO, A. **Extração de tanino em folhas, sementes e frutos verdes de cinamomo (*Melia azedarach* L.) com diferentes tipos de solventes**. 2013. Trabalho de Conclusão de Curso (Monografia). Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Paraná, 2013.
- ESTEVAM, C.S.; CAVALCANTI, A.M.; CAMBUI, E.V.F.; NETO, V.A.; LEOPOLDO, P.T.G.; FERNANDES, R.P.M.; ARAUJO, B.S.; PORFIRIO, Z. SANT'ANA, A.E.G. Perfil fitoquímico e ensaio microbiológico dos extratos da entrecasca de *Maytenus rigida* Mart. (Celastraceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 1B, p. 299-303, 2009.
- FIGUEIREDO, E. R.; VIEIRA, I.J.C.; SOUZA, J.J.; BRAZ-FILHO, R.; MATHIAS, L.; KANASHIRO, M.M.; CÔRTEZ, F.H. Isolamento, identificação e avaliação da atividade antileucêmica de alcaloides indólicos monoterpênicos de *Tabernaemontana salzmannii* (A. DC.), Apocynaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n.5, p. 675-681, 2010.
- FIORUCCI, A. R.; SOARES, M.; H. F. B.; CAVALHEIRO, E. T. G. Ácidos Orgânicos: dos Primórdios da Química Experimental à sua Presença em Nosso Cotidiano. **Química Nova na Escola**, n. 15, p. 6-10, 2002.
- FORMAGIO, A.S.N.; MASETTO, T.E.; BALDIVIA, D.S.; VIEIRA, M.C. ZÁRATE, N.A.H.; PEREIRA, Z.V.; Potencial alelopático de cinco espécies da família Annonaceae. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 8, n. 4, p. 349-354, 2010.
- GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.
- HENRIQUE, M. C.; NUNOMURA, S. M.; POHLIT, A. M. Alcaloides indólicos de cascas de *Aspidosperma vargasii* e *A. desmanthum*. **Química Nova**, v. 33, n. 2, p. 284-287, 2010.
- LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas Mediciniais no Brasil: Nativas e Exóticas**. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum. 2008.
- LÚCIO, A. S. S. C.; ALMEIDA, J.R.G.S.; FILHO, J.M.B.; PITA, J.C.L.R.; BRANCO, M.V.S.C.; DINIZ, M.F.F.M.; AGRA, M.F.; CUNHA, M.V.L.; SILVA, M.S.; TAVARES, J.F. Azaphenanthrene alkaloids with antitumoral activity from *Anaxagorea dolichocarpa* Sprague & Sandwith (Annonaceae). **Molecules**, v. 16, p. 7125-7131, 2011.
- MANFREDINI, V.; MARTINS, V. D.; BENFATO, M. S. Chá verde: benefícios para a saúde humana. **Infarma Ciências Farmacêuticas**, v. 16, n. 9/10, 2004.
- MATOS, F. J. A.; **Introdução à Fitoquímica Experimental**; Ed. da UFC, Fortaleza, Ceará 1977.
- ROCHA, A. I.; LUZ, A. I. R.; RODRIGUES, W. A. A presença de alcalóides em espécies botânicas da Amazônia-Annonaceae. **Acta Amazônica**, v. 11, n. 3, p. 537-546, 1981.
- RODRIGUES, J. S. Q. **Infusões à base de folhas de passifloras do cerrado: compostos fenólicos, atividade antioxidante in vitro e perfil sensorial**. 2012. Dissertação (Mestrado) Universidade de Brasília/UnB, Brasília, 2012.
- ROUMY, V.; FABRE, N.; SOUARD F.; MASSOU, S.; MAUREL, S.; VALENTIN, A.; MOULIS, C. Isolation and antimalarial activity of alkaloids from *Pseudoxandra cuspidata*. **Planta Medica**, v. 72, n. 10, p. 894-898, 2006.
- SANTOS, V. L. SOUZA, M.F.V.; BATISTA, L.M.; SILVA, B.A.; LIMA, M.S.; SOUZA, A.M.F.; BARBOSA, F.C.; CATÃO, R.M.R. Avaliação da atividade antimicrobiana de *Maytenus rigida* Mart. (Celastraceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.13, n.1, p.68-72, 2011.
- SILVA FILHO, C. R. M.; SOUZA, A.G.; CONCEIÇÃO, M.M.; SILVA, T.G.; SILVA, T.M.S.; RIBEIRO, A.P.L.; Avaliação da bioatividade dos extratos de cúrcuma (*Curcuma longa* L., Zingiberaceae) em *Artemia salina* e *Biomphalaria glabrata*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 4, p. 919-923, 2009.
- SILVA, D. B. MATOS, M.F.C.; NAKASHITA, S.T.; MISU, C.K.; YOSHIDA, N.C.; CAROLLO, C.A.; FABRI, J.R.; MIGLIO, H.S.; SIQUEIRA, J.M.; Isolamento e avaliação da atividade citotóxica de alguns alcalóides oxaporfínicos obtidos de annonaceae. **Química Nova**, v. 30, n. 8, p. 1809-1812, 2007.
- SILVA, M. S.; TAVARES, J.F.; QUEIROGA, K.F.; AGRA, M.F.; FILHO, J.M.B. Alcaloides e outros constituintes de *Xylopia langsdorffiana* (Annonaceae). **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1566-1570, 2009.
- TOMAZZONI, M. I.; NEGRELLE, R. R. B.; CENTA, M. L. Fitoterapia popular: a busca instrumental enquanto prática terapêutica. **Texto Contexto Enfermagem**, v. 15, n. 1, p. 115-121, 2006.
- TRIGO, J. R. OLIVEIRA, J.; ANDRADE, E.H.A.; ZOGHBI, M.G.B. Óleos essenciais de espécies de Annonaceae que ocorrem no Pará: *Guatteria schomburgkiana* Mart. e *Pseudoxandra cuspidata* Maas. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 9, n. 3, p. 113-116, 2007.
- VENTUROSO, L. R. BACCHI, L.M.A.; GAVASSONI, W.L.; CONUS, L.A.; PONTIN, B.C.A.; Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o desenvolvimento de fitopatógenos. **Summa Phytopathologica**, v. 37, n. 1, p. 18-23, 2011.