

# Identificação do caráter medicinal da espécie *Curatella americana* por meio das folhas

Shayanne Vanessa Correia Henriques<sup>1</sup> e Sheylla Susan Moreira da Silva de Almeida<sup>2</sup>

1 Acadêmica do Curso de Farmácia. Departamento de Ciências da Saúde. Laboratório de Farmacognosia e Fitoquímica da Universidade Federal do Amapá, Brasil. E-mail: shayanne\_henriques@hotmail.com

2 Doutora em Química de Produtos Naturais. Professora de Farmacognosia. Departamento de Ciências da Saúde. Laboratório de Farmacognosia e Fitoquímica da Universidade Federal do Amapá, Brasil. E-mail: sheyllasusan@yahoo.com.br

**RESUMO:** O uso de plantas medicinais foi durante muito tempo o único recurso disponível para o cuidado da saúde das pessoas. Estes conhecimentos foram transmitidos através das gerações familiares. No entanto, com o avanço tecnológico e científico, os medicamentos industrializados se tornaram o modelo majoritário de tratamento allopático utilizado pela população, deslocando o tratamento por plantas medicinais restritos a determinados grupos populares que detêm este conhecimento. *Curatella americana* é utilizada para tratamento de inflamação e dor, sendo a sua constituição fitoquímica responsável por esses benefícios ainda pouco estudada. Objetivou-se através desta pesquisa realizar o estudo fitoquímico do extrato bruto das folhas de *Curatella americana* para a identificação dos metabólitos secundários. A metodologia de extração foi por maceração utilizando etanol como líquido extrator, e a concentração e secagem foi por rotaevaporação onde observou-se um rendimento de, aproximadamente, 37%. Em seguida, foi realizada uma análise fitoquímica do extrato bruto, obtendo-se resultado positivo para fenóis, taninos, açúcares redutores, saponinas, depsídeos e depsídonas, esteroides, triterpenoides e alcaloides, onde apresentam amplas atividades biológicas, dentre elas inflamação no caso dos taninos. A ação comprovada na literatura dos metabólitos encontrados nas folhas de *Curatella americana* justifica, em parte, a utilização popular desta planta medicinal.

**Palavras-chave:** metabólitos secundários, plantas medicinais.

## Identification of character medicinal of kind *Curatella americana* through leaves

**ABSTRACT:** The use of medicinal plants has long been the only resource available for the care of people's health. This knowledge was transmitted through family generations. However, with the technological and scientific advances, the manufactured drugs have become the major model of allopathic treatment used by the population, moving the treatment medicinal herbs restricted to certain popular

groups that hold this knowledge. *Curatella americana* is used to treat inflammation and pain, and its constitution phytochemical responsible for these benefits still little studied. The objective of this research hold the phytochemical study of the crude extract leaves of the *Curatella americana* for the identification of secondary metabolites. The method used was by maceration using ethanol as liquid extractor, and drying and concentration by using a rotary evaporator where it was observed a yield of approximately 37%. Then, a phytochemical analysis of the crude extract was performed, obtaining positive for phenols, tannins, reducing sugars, saponins, depsides and depsidonas, steroids, triterpenoids and alkaloids, which have large biological activities, they tooth inflammation in the case of tannins. Action proven in the literature of the metabolites found in *Curatella americana* leaves justified, in part, the popular use of this medicinal plant.

**Keywords:** secondary metabolites, medicinal plants.

## 1 Introdução

O modelo de saúde predominante na sociedade ocidental contemporânea está focado no cuidado da doença e no tratamento alopático (a base de medicamentos industrializados). Porém, este modelo deixa marginalizado o conhecimento popular, repassado entre gerações familiares, com particularidades que ficam restritas a determinados grupos, que diferem entre si através de suas culturas. Neste contexto, as plantas medicinais são utilizadas com a finalidade de prevenir e tratar doenças ou de aliviar os sintomas das mesmas (CEOLIN, 2011).

Durante muito tempo, o uso de plantas medicinais foi o principal recurso terapêutico para cuidar da saúde das pessoas e suas famílias. No entanto, com o avanço científico e tecnológico, os medicamentos industrializados foram gradativamente introduzidos no cotidiano das pessoas modernas (BADKE, 2011).

Apesar do uso de plantas medicinais para tratamento, cura e prevenção de determinadas doenças ser uma das práticas medicinais mais antigas e estar apoiada em um conhecimento consolidado por séculos de observação, planta medicinal não é sinônimo de inocuidade. Ao contrário do senso comum de que o medicamento natural não faz mal, a planta medicinal é um xenobiótico, ou seja, um produto estranho ao organismo com finalidades terapêuticas, que ao ser introduzido no organismo humano sofre biotransformação e pode vir a gerar produtos tóxicos (OLIVEIRA, 2014).

No Brasil, mesmo com o incentivo da indústria farmacêutica para a utilização de medicamentos industrializados, grande parte da população ainda se utiliza de recursos naturais no cuidado humano (BADKE, 2011). Em 2006, foi criada no Brasil uma Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde (SUS), sendo instituída pelo Mi-

nistério da Saúde por meio da portaria nº971, de 03 de maio de 2006, que tem como objetivo ampliar as opções terapêuticas aos usuários do SUS a plantas medicinais (BRASIL, 2006).

Somando-se a isso, o Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, instituído em 2007, visa “garantir à população brasileira o acesso seguro e o uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos, promovendo o uso sustentável da biodiversidade, o desenvolvimento da cadeia produtiva e da indústria nacional”. Com vistas a atingir o objetivo desse programa, dentre as proposições, destaca-se a de “Promover e reconhecer as práticas populares e tradicionais de uso de plantas medicinais, fitoterápicos e remédios caseiros” (BRASIL, 2007).

No estado do Amapá a planta *Curatella americana*, conhecida popularmente como “lixreira” ou “caimbé”, é uma planta nativa, porém não endêmica, pois é distribuída desde o México Central até o Brasil. Possui uma ampla dispersão tropical e ocorrem frequentemente em savanas, florestas secas e cerrados (HIRUMA-LIMA, 2009). No Brasil, sua distribuição é ampla, sendo encontrada na Amazônia, na Caatinga, no Cerrado, na Mata Atlântica e no Pantanal (FRAGA, 2013).

Esta espécie é amplamente utilizada na medicina popular em toda a sua variedade. Sobretudo, como analgésico e antiinflamatório, sendo suas porções mais utilizadas: a casca, entrecasca e folhas sob a forma de chás e infusões (HIRUMA-LIMA, 2009; TOLEDO, 2011). A infusão de suas folhas e talos é usada

contra artrite, diabetes e pressão arterial elevada, enquanto que sua casca é utilizada para lavar cortes (HIRUMA-LIMA, 2009). é utilizada em medicina popular para tratamento de úlceras e inflamações.

Em estudos realizados por Vilar et al. (2009) o extrato etanólico das cascas de *C. americana* não apresentou atividade citotóxica, mas foi observada ação genotóxica direta.

A *Drosophila melanogaster* foi usada como organismo teste para avaliação dos efeitos genotóxicos do extrato aquoso da casca de *Curatella americana* por meio do teste SMART/asa, onde permitiu verificar que o extrato não exerceu mutação nas células somáticas das asas de *D. melanogaster* (OLIVEIRA, et al. 2011).

Objetivou-se com esta pesquisa determinar a presença das principais classes de metabólitos secundários nas folhas de *Curatella americana* em busca de correlacionar as atividades encontrados na literatura destas substâncias, com as atividades alegadas pela população.

## 2 Material e métodos

### 2.1 Coleta e classificação do material vegetal

As folhas (cerca de 400g) da planta *C. americana* foram coletadas em área particular na cidade de Macapá onde havia abundância da espécie para que, se necessário, realizar novas coletas na mesma espécie vegetal, diminuindo as variáveis edáficas. Sua identificação foi

realizada por comparação com amostras autênticas.

O material vegetal foi acondicionado em saco de papel e transportado ao laboratório de farmacognosia e Fitoquímica, onde foram realizados os experimentos.

## 2.2 Preparação do extrato bruto de *C. americana*

O material coletado foi submetido à secagem em estufa de ar circulante por 48h para impedir proliferação de microrganismos e degradação por ação enzimática. O material foi triturado em moinho até a obtenção de 70g um pó fino. Deste total, 35 g das folhas, secas e trituradas, foram submetidas à extração por maceração com 1,5 L de etanol. O extrato obtido foi concentrado por evaporação do solvente em um rotaevaporador para a obtenção de 12,90g de extrato bruto das folhas que foram armazenados em geladeira a  $18 \pm 1^\circ \text{C}$ .

## 2.3 Análises fitoquímicas

As análises fitoquímicas foram realizadas seguindo a metodologia de Barbosa (2004) com algumas modificações.

### Ácidos orgânicos

Dissolveu-se cerca de 3 mg de extrato bruto etanólico em 5 mL de água destilada. Filtrou-se e transferiu-se para um tubo de ensaio e adicionou-se 9 gotas do Reativo de Pascová A e 1 gota de Reativo de Pascová B. A reação é

considerada positiva se houver descoloração do reativo.

### Fenóis e Taninos

Dissolveu-se 3 mg de extrato bruto etanólico em 5 mL de água destilada. Filtrou-se e transferiu-se para um tubo de ensaio e adicionado 1 a 2 gotas de  $\text{FeCl}_3$  1%. Qualquer mudança na coloração ou formação de precipitado é indicativo de reação positiva.

### Polissacarídeos

Dissolveu-se cerca de 3 mg de extrato bruto etanólico em 5 mL de água destilada. Filtrou-se e transferiu-se para um tubo de ensaio e adicionado 2 gotas de lugol. O aparecimento de coloração azul indica resultado positivo.

### Açúcares redutores

Dissolveu-se 3 mg do extrato bruto etanólico em 5mL de água destilada. Filtrou-se e transferiu-se para um tubo de ensaio e adicionar 2 mL do Reativo de Fehling A e 2 mL do Reativo de Fehling B. Aquecendo em banho-maria até ebulição durante 5 min. O aparecimento de um precipitado vermelho tijolo indica presença de açúcares redutores.

### Saponinas

Dissolveu-se 3 mg do extrato seco em 5 mL de água destilada. Em seguida, diluiu-se para 15 mL e agitou-se vigorosamente durante 2 minutos em tubo fechado. Quando a camada de espuma permaneceu estável por mais de meia hora, o resultado foi considerado positivo para saponina espumídica.

### Índice de espuma

Pesaram-se 2 g de pó vegetal e transferiu-se para um erlenmeyer contendo 50 mL de água fervente. Manteve-se sob fervura moderada por 30 min. Em seguida filtrou-se para um erlenmeyer de 100 mL e repetiu-se a extração do mesmo material utilizando-se porções sucessivas de 10 mL de água fervente até completar o volume de 100 mL. Distribuiu-se o extrato em 10 tubos de ensaio com tampa em uma série sucessiva de 1 mL até 10 mL, ajustando o volume de cada tubo com água destilada até completar 10 mL (Tabela 1).

**Tabela 1** - Esquema de diluição para o cálculo de índice de espuma.

Extrato (mL)	Água destilada (mL)
1	9
2	8
3	7
4	6
5	5
6	4
7	3
8	2
9	1
10	—

Os tubos foram então tampados e agitados com movimentos verticais com duas agitações por segundo durante 2 minutos. Deixou-se em repouso por 15 minutos e mediu-se a altura da espuma, sendo classificada da seguinte maneira:

- < 100: Se a altura de todos os tubos for inferior a 1 cm.
- Se a altura da espuma medida for 1 cm em qualquer um dos tubos o

índice será a diluição do material nesse tubo.

- > 1000: Se a altura da espuma for maior do que 1 cm em todos os tubos.

### Flavonoides

Dissolveu-se 3 mg do extrato bruto etanólico, em 5 mL de metanol. Filtrado e transferido para um tubo de ensaio e adicionou-se 8 gotas de HCl concentrado e raspas de magnésio. O surgimento de uma coloração rósea na solução indica reação positiva.

### Esteroides e Triterpenoides

Dissolveu-se 3 mg do extrato bruto etanólico em 5 mL de Clorofórmio. Filtrou-se e transferiu-se o filtrado para um tubo de ensaio completamente seco. Adicionado 0,5 mL de anidrido acético ao filtrado e agitado suavemente, em seguida, adicionou-se, cuidadosamente, 2 gotas de ácido sulfúrico concentrado. Agitou-se suavemente. A mudança de coloração que vai do azul evanescente ao verde persistente indica resultado positivo.

### Antraquinonas

Dissolve-se 3 mg do extrato bruto etanólico em 5 mL de Tolueno. Filtrou-se e transferiu-se 2 mL de solução de hidróxio de amônio a 10%, agitou-se suavemente. O aparecimento de coloração rósea, vermelha ou violeta na fase aquosa, indica reação positiva.

### Cumarinas

Dissolveu-se 3 mg do extrato bruto etanólico em 5 mL de éter etílico. Concentrou-se em banho-maria até 0,5 mL.

Em papel filtro, aplicou-se gotas da solução etérea, de modo a formar duas manchas de, aproximadamente, 1 cm de diâmetro cada. A uma destas, aplicou-se 1 gota de solução de hidróxido de sódio a 1N. Cobriu-se a metade da mancha com papel escuro, e a outra metade foi exposta à luz ultravioleta. Descobriu-se e comparou-se. A fluorescência azul na parte exposta da mancha indica reação positiva.

### Depsídeos e Depsidonas

Dissolveu-se 3 mg do extrato seco em 5 mL de éter etílico. Filtrou-se e evaporou-se todo o éter em banho-maria, juntou-se ao resíduo 3 mL de metanol. Agitou-se e adicionou-se 3 gotas de solução de cloreto férrico a 1%. O aparecimento de coloração verde, azul ou cinza, indica reação positiva.

### Alcaloides

Dissolveu-se 3 mg do extrato bruto etanólico em 5 mL de solução de ácido clorídrico a 5%, filtrou-se e separou-se três porções de 1 mL em tubos de ensaio. Adicionou-se, então, cerca de 3 gotas dos reativos abaixo:

- Reativo de Bouchardat, RESULTADO: precipitado laranja avermelhado
- Reativo de Dragendorff, RESULTADO: precipitado vermelho tijolo
- Reativo de Mayer, RESULTADO: precipitado branco

### Purinas

Numa cápsula de porcelana, juntou-se 3 mg do extrato bruto etanólico, 3 gotas de solução de ácido clorídrico 6N e duas gotas de peróxido de hidrogê-

nio concentrado (30%). Evaporou-se a solução em banho-maria. Havendo formação de um resíduo corado de vermelho, juntou-se 3 gotas de solução de hidróxido de amônio 6N. O surgimento de coloração violeta indica reação positiva.

### Proteínas e Aminoácidos

Dissolveu-se 3 mg do extrato bruto etanólico em 3 mL de água destilada e filtrou-se. Adicionou-se 0,5 mL de solução aquosa de ninidrina a 1%, aquecendo-se até a ebulição. O aparecimento de coloração violeta persistente indica reação positiva.

## 3 Resultados e discussão

Os testes fitoquímicos foram realizados com o extrato bruto de *Curatella americana* e as classes de metabólitos encontradas no extrato bruto etanólico de folhas foram: fenóis e taninos, açúcares redutores, saponinas, esteroides e triterpenoides, depsídeos e depsidonas e alcaloides (Tabela 2).

**Tabela 2** - Análise fitoquímica no extrato bruto etanólico das folhas de *C. americana*.

Classe de Metabólitos	Resultados
Ácidos orgânicos	-
Fenóis e Taninos	+
Polissacarídeos	-
Açúcares redutores	+
Saponinas	+
Flavonoides	-
Esteroides e Triterpenoides	+
Antraquinonas	-
Cumarinas	-
Depsídeos e Depsidonas	+

Alcaloides	+
Purinas	-
Proteínas e Aminoácidos	-

(-) Ausência; (+) Presença

A presença de terpenos, fenóis, saponinas e esteróides é comumente constatada em plantas da família Dilleniaceae, como a *C. americana* (EL-AZIZI, 1980; RODRIGUES, 2013)

Os fenóis possuem como propriedades biológicas a participação na defesa das plantas, inibição de germinação de sementes e do crescimento de fungos. Como interesse farmacêutico sua capacidade antioxidante, antibacteriana, antiviral e analgésica (CARVALHO, 2010).

Plantas ricas em taninos são utilizadas no tratamento de diarreias, hemorragias, cicatrização de feridas e processos inflamatórios em geral. A maior parte destas ações é devido a capacidade dos taninos de se complexar com íons metálicos e outras macromoléculas como proteínas e polissacarídeos (GOMES, 2009; COSTA, 2010).

A detecção destes metabólitos consolida uma base para a utilização popular da *C. americana* como analgésico e antiinflamatório e para lavagem de cortes e tratamento para úlceras.

Os açúcares redutores são caracterizados por possuírem um grupo carbonílico e cetônico livres que são capazes de se oxidar na presença de agentes oxidantes (TAVARES, 2010). Portanto, podem agir como agente antioxidante protegendo, por exemplo, da ação da radiação ultravioleta nas células vegetais e animais. No entanto, sua utiliza-

ção farmacêutica não foi muito demonstrada na literatura.

As saponinas constituem uma importante classe de metabólitos que ocorrem em plantas superiores e alguns organismos marinhos. É uma substância anfifílica e caracteriza-se pela formação de espuma quando em contato com a água, devido à diminuição da tensão superficial da água. Possuem inúmeras atividades biológicas e é um dos metabólitos responsáveis pela atividade antiinflamatória, analgésica, antimicrobiana e antioxidante da *C. americana* (DOS SANTOS, 2011).

Os esteroides e triterpenoides são caracterizados por apresentar diversas ações farmacológicas, sendo as principais a anti-inflamatória, analgésica e inseticida (SILVA, 2005). A detecção destes metabólitos no extrato de folhas de *C. americana*, quando em associação com outros metabólitos encontrados, confirma sua utilização popular como antiinflamatório e analgésico.

Estes metabólitos têm sido reconhecidos por apresentarem propriedades antioxidantes, antivirais, antitumorais, analgésicas e antipiréticas (MACEDO, 2007).

Alcaloides são compostos nitrogenados, farmacologicamente ativos, encontrados predominantemente nas angiospermas. Nos vegetais possuem a função de promover defesa contra herbívoros e microrganismos e estão relacionados a uma ampla gama de atividades biológicas, como antitumorais, anti-hipertensivos, diuréticos, antitussígenos, entre outros (HENRIQUES, 2010).

Os métodos de detecção dos alcalóides consistem em reações de precipitação utilizando-se os reagentes gerais de detecção de alcalóides. Nos experimentos realizados com o extrato de *C. americana* observou-se a precipitação na utilização de três reagentes diferentes, o que indica a provável presença de alcalóides nas folhas desta planta medicinal.

Portanto, o estudo fitoquímico é essencial para o conhecimento dos metabólitos responsáveis pelas ações observadas pelo conhecimento popular. A detecção dos metabólitos no extrato de *Curatella americana* confirmam, em parte, o seu uso popular, pois suas ações foram confirmadas na literatura.

## Referências

- BADKE, M. R.; et al. Plantas Medicinais: O saber sustentado na prática do cotidiano popular. **Esc. Anna Nery**. v. 15, n. 1, p. 132-139, 2011.
- BARBOSA, W. L. C.; et al. Manual para análise fitoquímica e cromatográfica de extratos vegetais. **Revista Científica da UFPA**. Disponível em: [http://www2.ufpa.br/rcientifica/didaticos\\_cientificos/pdf\\_textos/abord\\_fitoquimica.pdf](http://www2.ufpa.br/rcientifica/didaticos_cientificos/pdf_textos/abord_fitoquimica.pdf). v. 4, 2004.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS**. Brasília, 2006.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fito-terápicos**. Brasília, 2007.
- CARVALHO, J. C. T.; GOSMANN, G.; SCHENKEL, E. P. **Compostos fenólicos simples e heterosídicos**. In: SIMÕES, C. M. O. **Farmacognosia: Da Planta ao Medicamento**. p. 229-246, 6ª Ed., Ed. UFSC, Porto Alegre, 2010.
- CEOLIN, T.; et al. Plantas medicinais: transmissão do conhecimento nas famílias de agricultores de base ecológica no sul do RS. **Rev. Esc. Enferm. USP**. v. 45, n. 1, p. 47-54, 2011.
- COSTA, D. A.; et al. Constituintes químicos, fenóis totais e atividade antioxidante de *Sterculia striata* St. Hil. et Naudin. **Acta Amazônica**. v. 40, n. 1, p. 207-212, 2010.
- FALKENBERG, M. B.; DOS SANTOS, R. I.; SIMÕES, C. M. O. Introdução à Análise Fitoquímica. In: SIMÕES, C. M. O. **Farmacognosia: Da Planta ao Medicamento**. p. 229-246, 6ª Ed., Ed. UFSC, Porto Alegre, 2010.
- FRAGA, C. N. *Dilleniaceae* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2013. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB103>. Acessado em: 04/06/2014
- GOMES, L. G.; et al. Herbivoria em folhas de *curatella americana* L. (Dilleniaceae) em dois diferentes estágios de desenvolvimento. Análise sob enfoque histoquímico foliar. In: **Congresso de Ecologia do Brasil, IX**, 13 a 17 de Setembro de 2009, São Lourenço – MG.
- HENRIQUES, A. T.; et al. Alcalóides: Generalidades e aspectos básicos. In: SIMÕES, C. M. O. **Farmacognosia: Da Planta ao Medicamento**. p. 229-246, 6ª Ed., Ed. UFSC, Porto Alegre, 2010.
- HIRUMA-LIMA, C. A.; et al. The anti-ulcerogenic effects of *Curatella ameri-*

- cana L. **Journal of Ethnopharmacology**.v.121, p.425-432, 2009.
- MACEDO, F. M.; et al. Triagem fitoquímica do barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (Mart) Coville]. **Revista Brasileira de Biociências**. v. 5, supl. 2, p. 1166-1168, 2007.
- OLIVEIRA, J. M.; et al. Avaliação do efeito genotóxico do extrato aquoso de *Curatella americana* pelo teste SMART/ASA em *Drosophila melanogaster*. **Anais** ..... IX Seminário de Iniciação Científica, VI Jornada de Pesquisa e Pós-Graduação e Semana Nacional de Ciência e Tecnologia. UNIVERSIDADE ESTADUAL DE GOIÁS. 2011.
- OLIVEIRA, L. A. R.; MACHADO, R. D.; RODRIGUES, A. J. L. Levantamento sobre o uso de plantas medicinais com a terapêutica anticâncer por pacientes da Unidade Oncológica de Anápolis. **Ver. Bras. Pl. Med.** v. 16, n. 1, p. 32-40, 2014.
- RODRIGUES, Clenilson Martins. **Caracterização quali e quantitativa de metabólitos secundários em extratos vegetais**. 2013.197f. Tese (Doutorado em Química orgânica) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química, 2013.
- SANTOS, F. M.; SIMÕES, J. C.; SILVA, J. R. A. Otimização das condições de extração de saponinas em *Ampelozizyphus amazonicus* usando planejamento experimental e metodologia de superfície de resposta. **Química Nova**. v. 34, n. 9, p. 1629-1633, 2011.
- SILVA, M. M. C. **Transformações químio-enzimáticas em esteróides**. 2005. 228f. Dissertação (Mestrado em Farmácia) – Faculdade de Farmácia, Universidade de Coimbra, Lisboa, 2005.
- TAVARE, J. T. Q.; et al. Interferência do ácido ascórbico na determinação de açúcares redutores pelo método de lane e eynon. **Química Nova**. v. 33, n. 4, p. 805-809, 2010.
- TOLEDO, C. F. M.; et al. Antimicrobial and cytotoxic activities of medicinal plants of the Brazilian cerrado, using Brazilian cachac, a as extractor liquid. **Journal of Ethnopharmacology**, v.133, p. 420–425, 2011.
- VILAR, J. B.; ANDRADE, L. S.; LEITE, K. R.; FERREIRA, H. D.; CHEN, L. C. Assessment of genotoxicity and cytotoxicity of “lixreira” (*Curatella americana* L.) using the prophage  $\lambda$  induction test (SOS inductest), **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 45, n. 3, p. 491-496, 2009.

License information: This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Artigo recebido em 10 de setembro de 2014.  
Aceito em 12 de março de 2015.