



ROBERTA SOUZA E SILVA

**AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIMICROBIANA,
ANTIOXIDANTE E ANTI-INFLAMATÓRIA DOS FRUTOS DE
ESPINHEIRA SANTA (*Maytenus ilicifolia*)**

**INCONFIDENTES - MG
2016**

ROBERTA SOUZA E SILVA

**AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIMICROBIANA,
ANTIOXIDANTE E ANTI-INFLAMATÓRIA DOS FRUTOS DE
ESPINHEIRA SANTA (*Maytenus ilicifolia*)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como pré-requisito para conclusão do curso de Graduação em Licenciatura em Ciências Biológicas do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais - Campus Inconfidentes, para obtenção do título de Licenciada em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Wallace Ribeiro Corrêa

**INCONFIDENTES - MG
2016**

ROBERTA SOUZA E SILVA

**AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIMICROBIANA,
ANTIOXIDANTE E ANTI-INFLAMATÓRIA DOS FRUTOS DE
ESPINHEIRA SANTA (*Maytenus ilicifolia*)**

Data de aprovação: 18 de Outubro de 2016

**Prof. Dr. Wallace Ribeiro Corrêa
(IFSULDEMINAS - Campus Inconfidentes)
Professor Orientador**

**Prof^ª. Dra. Sindynara Ferreira
(IFSULDEMINAS - Campus Inconfidentes)
Membro 1**

**Prof. Dr. Rodrigo Palomo de Oliveira
(IFSULDEMINAS - Campus Inconfidentes)
Membro 2**

DEDICO

À Deus,
pelas bênçãos que tens me proporcionado.
À minha mãe,
Maria das Dores (*in memoriam*).
Aos meus pais,
Benedito Roberto e Maria Margarete.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela presença constante em minha vida e pelas oportunidades. À Ele toda honra e glória.

À minha família principalmente os meus queridos Benedito Roberto e minha segunda mãe Maria Margarete, pelo incentivo constante, pelo amor incondicional, dedicação e sabedoria. Obrigado, eu amo vocês.

Ao meu avô Sebastião de Souza pelos ensinamentos, amor e carinho.

Ao meu namorado Ruben Campos, pelo incentivo, paciência, amor, apoio e carinho. Obrigada por tornar tudo mais leve.

Ao professor orientador Dr. Wallace Ribeiro Corrêa, pela oportunidade concedida, pela confiança, atenção e sabedoria que me proporcionaram crescimento pessoal e profissional. Minha admiração e meu sincero agradecimento.

A coorientadora professora Dra. Sindynara Ferreira, pela orientação, conhecimentos compartilhados, contribuições efetivas e disponibilidade.

Ao professor Dr. Rodrigo Palomo pela disponibilidade e por ter aceito o convite de participação da banca.

Ao professor Laércio Loures pelos ensinamentos, apoio e contribuição com o desenvolver da pesquisa.

Aos amigos de sala, sem vocês o curso não seria o mesmo, sucesso a todos, meu sincero agradecimento!

As meninas companheiras do laboratório de Biociências que me auxiliaram na pesquisa Tassiana, Suelen, Jennifer, Heloína e Tamiris. Obrigada pelo companheirismo e apoio.

À todos os Professores do IFSULDEMINAS – *Campus* Inconfidentes que contribuíram para a minha formação profissional e pessoal. Meu sincero agradecimento.

Ao Instituto Federal de Educação Ciências e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – *Campus* Inconfidentes pela formação acadêmica.

À Universidade Estadual de Campinas que contribuiu para realização deste trabalho.

À todos amigos e conhecidos que participaram desta trajetória.

“Não te mandei eu? Esforça-te, e tem bom ânimo. Não temas, nem te espantes,
porque o SENHOR, teu Deus, é contigo por onde quer que andares.”
- Josué 1:9

RESUMO

A espinheira-santa, *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek (Celastraceae) é uma espécie vegetal nativa do sul do Brasil conhecida amplamente por muitas propriedades farmacológicas, destacando-se a atividade antiulcerogênica. Muitos estudos designam as atividades às folhas da espécie. Trata-se de uma fonte importante de produtos naturais biologicamente ativos, suas ações terapêuticas podem ser justificadas devido à presença de metabólitos fenólicos, destacando-se os triterpenos, os flavonoides e os taninos. Assim, o presente estudo teve por objetivo realizar a avaliação *in vitro* da atividade antimicrobiana, frente a bactérias e leveduras; atividade antioxidante utilizando os ensaios indiretos, tais como redução do radical DPPH, Folin-Ciocalteu (FCR) e o ensaio direto ORAC_{FL} e atividade anti-inflamatória, pelo ensaio da desnaturação da albumina bovina (BSA) do extrato bruto etanólico dos frutos de *M. ilicifolia*. Observou-se que o extrato da espécie apresentou atividade antimicrobiana, em destaque frente às leveduras, apresentando maior ação inibitória; atividade antioxidante com valores entre (IC₅₀ = 11,29 µg/mL no DPPH e capacidade antioxidante de 1338 µmol TE/g, no ORAC_{FL}), correlacionando ao nível de compostos fenólicos totais (3,91 mg GAE/g), e considerável atividade anti-inflamatória inibindo 47,10 % da desnaturação na concentração de 400 µg/mL. Desta forma, pode-se concluir que o extrato bruto etanólico dos frutos da espécie *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek apresentou propriedades bioativas, devido a presença de substâncias naturais possivelmente responsável pelas atividades antimicrobiana, antioxidante e anti-inflamatória. Esses resultados corroboram a importância da triagem da bioatividade das plantas, especialmente essa espécie, possibilitando assim futuros estudos.

Palavras-chave: *Maytenus ilicifolia*, Propriedades medicinais, atividade antimicrobiana, atividade antioxidante, atividade anti-inflamatória.

ABSTRACT

Espinheira-santa, *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek (Celastraceae) is a native plant species in southern Brazil known widely by many pharmacological properties, highlighting the anti-ulcer activity. Many studies describe the activities to the leaves of the species. It is an important source biologically active natural products, their therapeutic actions can be justified due the presence of phenolic metabolites highlighting triterpenes, flavonoids and tannins. Thus, the present study aimed to carry out the evaluation *in vitro* the microbial activity against bacteria and yeast; antioxidant using indirect tests, such as reduction of radical DPPH, Folin-Ciocalteu (FCR) and the direct test ORAC_{FL} and anti-inflammatory by the test of denaturation of bovine serum albumina (BSA) of the gross ethanolic extract of the fruits of the species *M. ilicifolia*. It was observed that the species presented microbial activity in highlight, fighting the yeast showing a greater inhibitory action; antioxidant activity values between (IC₅₀ = 11.29 µg/mL in DPPH and antioxidant capacity of 1338 µmol TE/g in ORAC_{FL}) corroborating the level of total phenolics (3.91 mg GAE/g), and considerable anti-inflammatory activity inhibiting denaturation of 47.10 % at the concentration of 400 µg/mL. Thus it can be concluded that the gross ethanolic extract of the fruits of *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek (Celastraceae) has bioactive properties due to the presence of natural substances possibly responsible for the antimicrobial, antioxidant and anti-inflammatory. These results corroborate the importance of the screening of the bioactivity of the plants, specially this species, hence enabling future studies.

Key words: *Maytenus ilicifolia*, medicinal properties, antimicrobial activity, antioxidant activity and anti-inflammatory activity.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. METODOLOGIA.....	15
2.1 COLETA DO MATERIAL VEGETAL	15
2.2 OBTENÇÃO DO EXTRATO BRUTO ETANÓLICO	15
2.3 ENSAIO PARA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.....	16
2.3.1 Frente a bactérias e fungos	16
2.4 ENSAIO PARA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE <i>IN VITRO</i>	17
2.4.1 Ensaio com reagente Folin-Ciocalteu (FCR).....	17
2.4.2 Ensaio para a avaliação da redução do radical DPPH.....	17
2.4.3 Ensaio ORAC _{FL}	18
2.5 ENSAIO PARA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA <i>IN VITRO</i> ENSAIO BSA.....	18
2.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	19
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
3.1 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA	20
3.1.1 Avaliação do efeito frente a bacterias e fungos.....	20
3.2 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	24
3.3 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA	27
4. CONCLUSÃO.....	30
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Foto de *Maytenus ilicifolia* aspectos macroscópicos dos frutos e folhas. IFSULDEMINAS – Campus Inconfidentes. Inconfidentes/MG, 2016..... 13
- Figura 2** - Porcentagem de inibição do radical DPPH do extrato bruto etanólico de *Maytenus ilicifolia*. IFSULDEMINAS – Campus Inconfidentes. Inconfidentes/MG 2016 25
- Figura 3** - Atividade anti-inflamatória *in vitro* pelo ensaio BSA do extrato etanólico dos frutos de *Maytenus ilicifolia*. IFSULDEMINAS – Campus Inconfidentes. Inconfidentes/MG, 2016. 28

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Atividade antibacteriana do extrato bruto etanólico dos frutos de *Maytenus ilicifolia*, expressa em termos de concentração biocida mínima, CBM (mg/mL), determinada pela técnica de microdiluição. IFSULDEMINAS – Campus Inconfidentes. Inconfidentes/MG, 2016..... 21
- Tabela 2** - Atividade antifúngica do extrato bruto etanólico do frutos de *M. ilicifolia*, expressa em termos de concentração biocida mínima, CBM (mg/mL) determinada pela técnica de microdiluição. IFSULDEMINAS – Campus Inconfidentes. Inconfidentes/MG, 2016..... 21
- Tabela 3** - Conteúdo de fenólicos totais solúveis e capacidade antioxidante pelos ensaios DPPH e ORAC_{FL} do extrato bruto etanólico de *Maytenus ilicifolia*. IFSULDEMINAS – Campus Inconfidentes. Inconfidentes/MG, 2016. 25

1. INTRODUÇÃO

Desde os primórdios, a humanidade utiliza, em suas referências, espécies vegetais para fins alimentícios e medicinais, tratamento, cura, prevenção de enfermidades, entre outros (VEIGA Jr. & PINTO, 2005). Com o decorrer do tempo, o conhecimento empírico dos povos revelou as propriedades úteis ou prejudiciais oriundas dos vegetais. A comprovação popular dos efeitos da ingestão de qualquer vegetal no organismo animal teve papel fundamental, resultando no aumento das pesquisas do ramo (TOMAZZONI *et al.*, 2006). Nos últimos anos, as pesquisas têm comprovado os efeitos benéficos que as plantas medicinais proporcionam para os cuidados com a saúde (PESSINI *et al.*, 2003), associadas a uma menor incidência de doenças crônicas e degenerativas. Estudos epidemiológicos demonstram esse efeito protetor, atribuindo-se à presença de compostos que conferem as propriedades à planta (OLIVEIRA *et al.*, 2009).

Nativa do sul do Brasil, a espécie medicinal *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek pertencente à família Celastraceae, é propensa a clima subtropical, predisposta a solos argilosos bem drenados. Botanicamente, possui porte arbustivo de até 5 metros de altura, sobretudo seus frutos, materiais do referente estudo, do ponto de vista morfológico possuem formato capsular bivalvar, deiciente; quando maduros, apresentam coloração avermelhada, podendo medir até 1,1 cm de comprimento (Figura 1). Popularmente conhecida como espinheira-santa, espinheira divina, erva santa, dentre outros, a espécie assim é denominada devido à presença de protuberâncias pontiagudas em sua margem foliar e por promover ações medicinais. Ante estes aspectos, o chá de suas folhas é tradicionalmente utilizado na medicina popular para tratamento de úlceras gástricas, duodenais e outros problemas gástricos (FARMACOPÉIA BRASILEIRA,

2010; PESSUTO *et al.*, 2009; MAGALHÃES, 2002; CARVALHO-OKANO, 1992; CARLINI, 1988). Após estudos comprobatórios sobre o efeito da acidez e ulcerações estomacais, muitas indústrias farmacêuticas passaram a produzir e comercializar fitofármacos a partir das folhas da espécie, para tratamento de úlceras e gastrites, em diversas formas, desde extrato, cápsulas, tinturas, até a planta *in natura* para uso na forma de infusão (SOARES *et al.*, 2004; CIRIO *et al.*, 2003).



Figura 1 - Foto de *Maytenus ilicifolia* aspectos macroscópicos dos frutos e folhas. Fonte: Pessuto (2006). IFSULDEMINAS – Campus Inconfidentes. Inconfidentes/MG, 2016

Nesta perspectiva, a espécie *M. ilicifolia* ainda apresenta propriedades farmacológicas proveniente de suas folhas, tais como ação antioxidante (TEIXEIRA, 2013; MAGALHÃES *et al.*, 2011; PESSUTO *et al.*, 2009; NEGRI *et al.*, 2009), anti-inflamatória, antinociceptiva, antiulcerosa (LIMA *et al.*, 2011; CIPRIANI *et al.*, 2009; BAGGIO *et al.*, 2007; JORGE *et al.*, 2004; QUEIROGA *et al.*, 2000, SOUZA-FORMIGONI *et al.*, 1991; CARLINI, 1988), antifúngica (CUNICO *et al.*, 2002), entre outras. As ações terapêuticas provenientes da espécie podem ser justificadas devido à presença de metabólitos secundários, tais como a presença dos fenóis triterpenos, flavonoides e taninos condensados, de acordo com as literaturas (PESSUTO *et al.*, 2009; OHSAKIO *et al.*, 2004; XAVIER & D'ANGELO, 1996).

Com a problematização do uso excessivo de antibiótico, os quais promovem a resistência microbiana de patógenos, disseminando grande número de doenças infecciosas que ameaçam a saúde humana, o conhecimento sobre as espécies vegetais com propriedades antimicrobianas tem sido ampliado (COWAN, 1999), buscando-se tal em referido estudo. Sabe-

se que as patologias de mutações capazes de desenvolver oncogêneses, doenças neurodegenerativas, entre outras, estão correlacionadas ao estresse oxidativo, desencadeado por radicais livres, que, quando em excesso no organismo, promove reações aptas a danificar biomoléculas, ocasionando processos inflamatórios que afetam a saúde humana (MORAIS *et al.*, 2009; BARREIROS *et al.*, 2006). Os antioxidantes, por sua vez, retardam ou inibem o processo oxidativo, desencadeiam uma inter-relação, entre os efeitos benéficos do mesmo frente a processos inflamatórios (SOUSA *et al.*, 2007).

Deste modo, surgiu a motivação do presente estudo, com o objetivo de avaliar as atividades antimicrobiana, antioxidante e anti-inflamatória do extrato bruto etanólico em frutos da espécie *Maytenus ilicifolia*, já que, até o momento e pelo que se conhece acerca, não foram encontrados relatos de pesquisas como o proposto.

2. METODOLOGIA

2.1 COLETA DO MATERIAL VEGETAL

Ramos com os frutos de *M. ilicifolia* foram coletados em seu habitat natural, zona rural de Santa Rita de Caldas/MG no período de frutificação da espécie, de fevereiro a março de 2015, pelo Prof. Laércio Loures Instituto Federal de Educação, Ciências e Tecnologia do Sul de Minas Gerais (IFSULDEMINAS) - *Campus* Inconfidentes, o mesmo realizou a identificação botânica da espécie. O município está situado a 1.096 m de altitude, a 22°01'43" S e 46°20'12" W. Todo material coletado foi acondicionado em recipiente térmico e encaminhado ao Laboratório de Biociências (IFSULDEMINAS) - *Campus* Inconfidentes. Os frutos foram separados dos respectivos galhos de forma manual; após, encaminhados para os procedimentos.

2.2 OBTENÇÃO DO EXTRATO BRUTO ETANÓLICO

Após o processo de estabilização e secagem em estufa de ar circulante à temperatura de 40°C, os frutos de *M. ilicifolia* foram pulverizados em moinho de faca (MERSE – A11 basic). O pó obtido foi pesado (80,04 g), acondicionado em *Erlenmeyer* e submetido ao processo de maceração com solvente orgânico, etanol, na proporção massa de pó/solvente 1:20 (massa/volume). O solvente foi removido em evaporador rotatório, sob pressão reduzida, em banho-maria a 60 °C, obtendo-se assim o extrato bruto etanólico (12,08 g) de *M. ilicifolia*. O extrato foi armazenado em frasco âmbar lacrado e acondicionado em refrigerador.

2.3 ENSAIO PARA A AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

2.3.1 Frente a bactérias e fungos

No laboratório de Biociências do IFSULDEMINAS – *Campus* Inconfidentes, foram feitos os ensaios para a ação antibacteriana; os ensaios antifúngicos foram realizados no Laboratório de Biociências e Tecnologia de Produtos Bioativos do IB-Unicamp. As análises foram determinadas *in vitro* pelo método de concentração biocida mínima (CBM), realizadas empregando-se o método de microdiluição em placa de 96 poços, seguindo a adequação de metodologia descrita por Salvador (2005).

Para a execução dos ensaios, foram operadas bactérias e leveduras, cepas padrão da *American Type Culture Collection* (ATCC) e de campo, sendo elas bactérias gram-negativas: *Salmonella typhimurium* (St) – cepa de campo, e gram-positivas: *Staphylococcus aureus* (ATCC 14458), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Staphylococcus aureus* 8 -, *Staphylococcus aureus* + 7, *Bacillus subtilis* (Bs) – cepa de campo, *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228) e *Kocuria rhizophila* (ATCC 9341), cultivadas por 24 horas a 37°C em ágar Müller Hinton (MH) em placas de 20 x 150. As leveduras *Candida glabrata* (Ct) – cepa de campo, *Candida dubliniensis* (ATCC 778157), *Candida albicans* (ATCC 10231), *Candida tropicalis* (Ct) – cepa de campo, foram cultivadas por 48 horas a 30°C em ágar Sabouraud dextrose em placas de 20 x 150.

No método de microdiluição, foram utilizadas em cada poço 50 microlitros (µL) de meio TSB (*Tryptone Soya Broth*); nas amostras-teste, foram utilizados 50 µL, soluções estas preparadas em propilenoglicol (1:19, v/v) nas concentrações de 0,5 e 1,0 miligramas por mililitros (mg/mL) para bactérias, e nas concentrações de 0,125; 0,250; 0,5; 1,0 mg/mL para os fungos. Mais 10 µL de inóculo (suspensão de micro-organismos em solução fisiologia a 0,9% esterilizada, numa concentração de $5 \cdot 10^6$ UFC/mL) nos poços continham as amostras-testes e controle positivo e negativo (os mesmos da etapa de triagem). Como controle positivo, utilizou-se a bacitracina 2,0 mg/mL para as bactérias e cetoconazol 2,0 mg/mL para os fungos, e como controle negativo, propilenoglicol/TSB (1:19) segundo Salvador *et al.* (2004).

As placas-teste foram mantidas à temperatura ambiente por cerca de 2 horas e, depois, incubadas a 37° C por cerca de 24 horas para as bactérias. Decorrido o período de incubação, cada poço recebeu um inóculo de 20 µL de tetrazólio. Após um novo período de incubação a

37° C por cerca de 24 horas, a leitura foi realizada visualmente, comparando as amostras com os controles. As placas contendo as amostras-teste para leveduras foram incubadas a 30 °C por cerca de 48 horas. Decorrido o período de incubação, as zonas de inibição do desenvolvimento microbiano foram mensuradas, em milímetros na triagem inicial e CIM e CBM em µg/mL. Os experimentos foram realizados em duplicata, para cada cepa indicadora utilizada.

2.4 ENSAIOS PARA A AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE *IN VITRO*

2.4.1 Ensaio com reagente de Folin-Ciocalteu (FCR)

O extrato bruto etanólico foi analisado, quanto ao seu conteúdo de fenólicos totais solúveis, utilizando o método colorimétrico Folin-Ciocalteu (PICCINELLI *et al.*, 2004; WU *et al.*, 2004). Para tanto, os extratos foram solubilizados em etanol, sendo preparadas diluições com concentrações entre 6,25 e 200 ppm. Para a substância de referência (ácido gálico), elaborou-se a curva analítica na concentração de 6,25; 12,5; 25; 50; 100 e 200 ppm. A absorvância das 6 amostras e amostra-padrão foram medidas em espectrofotômetro ($\lambda = 730$ nm) e os resultados foram expressos como mg de equivalentes de ácido gálico (GAE) por grama de extrato (mg de GAE/g de extrato). Como controle positivo utilizou-se o flavonoide quercetina (40 ppm), e como controle negativo, o diluente. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

2.4.2 Ensaio para a avaliação da redução do radical DPPH

O radical DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) é estável, de coloração púrpura e, quando reduzido, passa a ter coloração amarela. O ensaio busca avaliar a capacidade das amostras-testes e amostras padrão de reduzir o radical DPPD. Para tanto, 2,6 µg do extrato vegetal foram dissolvidos em etanol (500 µL), obtendo-se uma solução estoque. Várias diluições foram preparadas, de 6,25 a 200 partes por milhão (ppm) em etanol. A técnica foi empregada em microplaca de 96 poços, e para a amostra-teste (10 µL) adicionou-se 50 µL de solução de DPPH (10 mg/ml). Decorridos 30 minutos, a absorvância foi medida em espectrofotômetro por comprimento de onda (λ) igual a 517 nm (nanômetro), e a percentagem de atividade antiradical calculada (HUANG; OU; PRIOR, 2005; CUENDET *et al.*, 1997). Como controles positivos

foram utilizadas amostras-padrão do flavonóide quercetina (40 ppm), e como controle negativo, o diluente. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

2.4.3 Ensaio ORAC_{FL}

A capacidade antioxidante do extrato vegetal foi mensurada utilizando-se o ensaio ORAC_{FL} com fluoresceína como sonda fluorescente e AAPH (2,2'-Azobis (2-amidipropane) dihydrochloride) como fonte de radical livre, realizada no Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas, em Campinas/SP. Os experimentos foram realizados em placas de microtitulação de 96 poços, de acordo com metodologia descrita por Prior *et al.* (2003) e Ou *et al.* (2001), com modificações Salvador *et al.* (2006). Para isso, foram preparadas soluções estoques do extrato (50 mg/mL) e fases de partição (5 mg/mL) em tampão fosfato/DMSO (99:1, v/v) e diluídas 100, 500, 1000, 5000 e 10000 vezes com tampão fosfato. A leitura foi realizada utilizando-se filtro fluorescente (excitação $\lambda = 485\text{nm}$ e emissão $\lambda = 528\text{nm}$) em leitor de microplaca, monitorando a cinética de reação a cada 2 min por um período de 70 min (temperatura = 37°C). Os resultados foram expressos como μmol de Trolox equivalente (TE) por grama de extrato ou fração em base seca (μM de TE/g). Como controle positivo, foram utilizados quercetina e ácido cafeíco, e como controle negativo, a solução diluente. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

2.5 ENSAIO PARA A AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA *IN VITRO* – ENSAIO BSA

No laboratório de Biociências do IFSULDEMINAS - *Campus* Inconfidentes, a atividade anti-inflamatória *in vitro* do extrato bruto etanólico de *M. ilicifolia* foi realizada utilizando a técnica de desnaturação da albumina BSA (Albumina do Soro Bovino), de acordo com Mizushima & Kobayashi (1968) com modificação. Para tanto, 1,0 mg dos extratos foi dissolvido em 20 μL de DMSO e 980 μL de tampão fosfato (pH 7,0), obtendo-se uma solução a 1 mg/mL. A solução estoque de BSA foi obtida adicionando 20 μg de BSA em 20 mL de tampão fosfato (pH 7,0). Os experimentos foram realizados em placas de microtitulação de 96 poços, e as amostras-teste foram analisadas nas concentrações finais de 400, 200, 100 e 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$. O controle negativo foi obtido utilizando-se 40 μL de água destilada adicionada a 160 μL de solução BSA (Difco Bovine Albumin). O controle positivo foi obtido utilizando-se 2 mg

de diclofenaco dissolvido em 1000 µL de tampão fosfato (pH 7,0) e fracionado em várias concentrações. Todas as amostras foram analisadas em triplicata. Após a montagem, a placa contendo as amostras-teste foi incubada a 37 °C por 15 minutos em uma estufa incubadora; depois a desnaturação do BSA foi obtida, mantendo a placa de microtitulação a 60 °C em banho-maria durante 5 minutos. Após um tempo de cinco minutos de resfriamento, procedeu-se à leitura em leitor de placas de 96 poços (absorbância no comprimento de onda de 650 nm). A percentagem de inibição da desnaturação proteica foi calculada utilizando-se a fórmula:

$$\% \text{ de inibição de desnaturação} = \frac{[(\text{Média de absorção do composto teste}) - 1]}{\text{Média de absorção do controle}} \times 100$$

Média de absorção do controle

2.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados apresentados neste estudo correspondem à média das repetições, desvio-padrão da média e coeficiente de variação. Os dados obtidos foram analisados por meio do software Origin® 6.0 Professional (MICROCAL SOFTWARE, 1999) e Microsoft® Office Excel (MICROSOFT CORPORATION, 2010).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

3.1.1 Avaliação do efeito frente a bactérias e fungos

A atividade antimicrobiana *in vitro* do extrato bruto etanólico (EBE) dos frutos da espécie *Maytenus ilicifolia* foi efetuada frente a bactérias (Gram-positivas e Gram-negativas) e leveduras, utilizadas como indicadoras de atividade. Para as amostras bioativas, foi determinada a concentração biocida mínima (CBM), empregando a técnica de microdiluição em placa de 96 poços.

Verificou-se (Tabela 1) que o extrato possui atividade antibacteriana frente às bactérias testadas, com exceção a *S. epidermidis* (ATCC 12228)^a, que não apresentou sensibilidade. Para as cepas *S. typhimurium* (Ct)^b (Gram-negativa) e *B. subtilis* (Ct)^b, a CBM foi de 0,5 mg/mL, o que significa que é necessária uma dose de 0,5 mg/mL do extrato para inibir o crescimento das bactérias, apresentando melhor atividade antibacteriana. As demais bactérias, *S. aureus* (ATCC 14458)^a, *S. aureus* (ATCC 6538)^a, *S. aureus* 8 -, *S. aureus penicillinase* + 7 e *K. rhizophila* (ATCC 9341)^a também apresentaram atividade, porém, em concentração maior, com CBM de 1,0 mg/mL.

Tabela 1. Atividade antibacteriana do extrato bruto etanólico (EBE) dos frutos de *Maytenus ilicifolia*, expressa em termos de concentração biocida mínima, (CBM mg/mL), determinada pela técnica de microdiluição. IFSULDEMINAS – Campus Inconfidentes. Inconfidentes/MG, 2016.

Micro-organismos	EBE dos frutos de <i>M. ilicifolia</i>	
	CBM (mg/mL)	
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 14458) ^a	1,0	
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6538) ^a	1,0	
<i>Staphylococcus aureus</i> 8 -	1,0	
<i>Staphylococcus aureus penicillinase</i> + 7	1,0	
<i>Salmonella typhimurium</i> (Ct) ^b	0,5	
<i>Bacillus subtilis</i> (Ct) ^b	0,5	
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (ATCC 12228) ^a	-	
<i>Kocuria rhizophila</i> (ATCC 9341) ^a	1,0	

^a: cepa padrão *American Type Culture Collection* (ATCC); ^b: cepa de campo; -: ausência de inibição; CBM: Concentração Biocida Mínima (mg/mL) = concentração que inibe em 100% o desenvolvimento microbiano. Dados expressos como média de análise em duplicata. EBE: extrato bruto etanólico.

O extrato da espécie estudada também apresentou atividade antifúngica, exceto a levedura *C. dubliniensis* (ATCC 778157) ^a, que não exibiu sensibilidade até a maior concentração estudada. As leveduras *C. glabrata* (Ct) ^b e *C. tropicalis* (Ct) ^b foram as que apresentaram melhor atividade, pois obteve a CBM de 0,125 mg/mL, assim como o *C. albicans* (ATCC 10231) ^a, que também apresentou boa atividade, mas com valor de concentração mais elevado, com CBM de 1,0 mg/mL (Tabela 2).

Tabela 2. Atividade antifúngica do extrato bruto etanólico (EBE) dos frutos de *M. ilicifolia*, expressa em termos de concentração biocida mínima, (CBM mg/mL) determinada pela técnica de microdiluição. IFSULDEMINAS – Campus Inconfidentes. Inconfidentes/MG, 2016.

Micro-organismos	EBE dos frutos de <i>M. ilicifolia</i>	
	CBM (mg/mL)	
<i>Candida glabrata</i> (Ct) ^b	0,125	
<i>Candida dubliniensis</i> (ATCC 778157) ^a	-	
<i>Candida albicans</i> (ATCC 10231) ^a	1,0	
<i>Candida tropicalis</i> (Ct) ^b	0,125	

^a: cepa padrão *American Type Culture Collection* (ATCC); ^b: cepa de campo; CBM: Concentração Biocida Mínima (mg/mL) = concentração que inibe em 100% o desenvolvimento microbiano. Dados expressos como média de análise em duplicata. EBE: extrato bruto etanólico.

O uso excessivo de antimicrobianos fez com que a resistência microbiana aos antibióticos atuais tornasse-se um risco à saúde humana, aumentando o índice de procura por novas substâncias antimicrobianas de origem vegetal, uma vez que os produtos naturais possuem uma gama de compostos bioativos (MAHADY, 2005; NOVAIS *et al.*, 2003).

Em face dessas eventualidades autores estabelecem o mecanismo de ação em algumas classes de flavonoides, confirmando a atividade antimicrobiana dos mesmos (CUSHNIE & LAMB, 2011; CUSHNIE & LAMB, 2005; COWAN, 1999). Lima *et al.* (1971) apontaram que o triterpenoide maitenina apresentou ação antibacteriana *in vitro* frente a cepas Gram-positiva *S. aureus* e *S. sp.* Os estudos de Singh & Dubey (2001) concluíram que os triterpenoides friedelan-3 β -ol e friedelina, quando isolados, apresentaram atividade antimicrobiana *in vitro* frente a cepas bacterianas *S. aureus* (ATCC 25923) e *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 10031) e também contra o fungo *Aspergillus flavus*.

Mabe *et al.* (1999) relataram que os taninos derivados da catequina, destacando o composto epigalocatequina-3-galato, apresentaram atividade inibitória frente à bactéria *Helicobacter pylori*, estabelecendo relação com os tratamentos de infecções estomacais. Estes são alguns constituintes presentes nas folhas da espécie *M. ilicifolia*, descritas na literatura (MOSSI *et al.*, 2010; PESSUTO *et al.*, 2009; SOUZA *et al.*, 2008; ALONSO & DESMARCHELIER, 2007; QUEIROGA *et al.*, 2000; XAVIER & D'ANGELO, 1996). Cabe salientar que ambos os estudos apresentam atividades exercidas por compostos isolados. Esta abordagem é relevante para conhecer as substâncias bioativas presentes na espécie; portanto, a presença desses compostos no extrato dos frutos da planta poderia justificar a ação antimicrobiana exercida pela mesma.

Até o presente momento, não foram constatados estudos relacionados à atividade antimicrobiana do extrato da espécie *Maytenus ilicifolia* diante dos micro-organismos testados no presente estudo.

Estudos com espécies do gênero *Maytenus* apresentam atividades antimicrobianas. Santos *et al.* (2011), utilizando o método de difusão em ágar, comprovou atividade antimicrobiana *in vitro* dos extratos etanólico e fase acetato de etila da entrecasca do caule de *Maytenus rigida* Mart., com concentração mínima inibitória (MIC) de 400 mg/mL⁻¹ frente a cepas *S. aureus* (ATCC 25923), 3 amostras de *S. aureus* (multirresistentes isoladas de pacientes com infecções nosocomiais). Porém, diante das *E. coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) e *Salmonella* sp. (228-R-Tet, 118-R-Sut e 01-S), bactérias Gram-

negativas, não houve sensibilidade aos extratos da espécie. A não inibição para as bactérias Gram-negativas pode ser baseada no fato de estas apresentarem uma membrana mais externa, em torno da parede celular, sendo que o espaço periplasmático contém enzimas capazes de quebrar moléculas invasoras, o que dificulta a difusão de moléculas (DUFFY & POWER, 2001).

Os resultados alcançados no estudo de Santos *et al.* (2011) diante das bactérias Gram-positivas corroboram ao presente estudo, importante constatação, uma vez que cepas do gênero *Staphylococcus* são as mais comuns em infecções piogênicas no mundo (SANTOS *et al.*, 2007), sendo a espécie *S. aureus* reconhecida como a mais importante causadora de infecções nasocomiais (NOSTRO *et al.*, 2004). Frente à cepa Gram-negativa *Salmonella typhimurium* (Ct), a ação do EBE dos frutos de *M. ilicifolia* inibiu o crescimento da bactéria com CBM de 0,5 mg/mL a menor concentração testada no experimento, diferindo-se do obtido na literatura. Este resultado mostra-se promissor, já que a espécie demonstra poucos relatos de atividade antibacteriana frente a cepas Gram-negativas. Esta bactéria é comumente encontrada em alimentos, sendo considerada uma das mais importantes causas de doenças de origem alimentícia; suas ações no organismo podem ocasionar infecções e problemas enterais graves (EKPERIGIN & NAGARAJA, 1998).

Kloucek *et al.* (2007) avaliaram a atividade antimicrobiana da espécie *Maytenus macrocarpa*, através da técnica de microdiluição em caldo, certificou-se que o extrato etanólico da casca da raiz inibiu todas as cepas testadas frente a bactérias Gram-positivas *B. subtilis* (ATCC 6633) com concentração mínima inibitória (MIC) de 0,125 mg/mL, *E. faecalis* (ATCC 29212) MIC de 0,25 mg/mL, *S. aureus* (ATCC 25923) MIC de 0,25 mg/mL, *S. epidermidis* (ATCC 12228) MIC de 0,125 mg/mL e Gram-negativas *B. fragilis* (ATCC 25285) MIC de 0,25 mg/mL, *P. aeruginosa* (ATCC 27853) MIC de 0,25 mg/mL e a levedura *C. albicans* (ATCC 10231) com MIC de 0,25 mg/mL, concentrações comparadas com os controles positivos. Comparando tais resultados com os apresentados neste trabalho, pode-se verificar que apenas a cepa *S. epidermidis* não apresentou sensibilidade frente à ação do EBE dos frutos da espécie. A não sensibilidade da linhagem bacteriana ao extrato pode estar relacionada com a diferença de compostos ativos dentre as duas espécies, demonstrando a espécie *Maytenus macrocarpa* melhores resultados. De acordo com Vuong & Otto (2003), a existência de cepas resistentes às bactérias *S. aureus* e *S. epidermidis* conduz a um tratamento complicado.

Para a atividade antifúngica, a espécie *M. ilicifolia* mostrou-se ativa em concentração biocida mínima de 1,0 mg/mL para inibir a levedura *Candida albicans*, concentração pouco

superior quando comparada ao obtido na espécie *M. macrocarpa*. As demais cepas *C. glabrata* e *C. tropicalis* demonstraram melhores valores nos testes realizados, exibindo CBM de 0,125. Este resultado pode contribuir para futuras prospecções biológicas do vegetal.

As leveduras do gênero *Candida* fazem parte da microbiota normal da pele, cavidade oral e trato gastrointestinal. A maioria das infecções em seres humanos origina-se das mesmas que, em determinadas condições, podem adquirir a forma patogênica e causar lesões em crianças e imunodeprimidos. A espécie *Candida albicans* possui maior patogenicidade quando comparada às demais leveduras (MENEZES *et al.*, 2005). As espécies *Candida glabrata* e *Candida tropicalis*, antes não consideradas patogênicas dos tecidos humanos, atualmente apresenta resistência a antifúngicos azólicos, pois têm causado infecções principalmente em indivíduos com alteração na função leucocitária e infectados com o vírus HIV (KOTHAVADE *et al.*, 2010; FIDEL *et al.*, 1999).

Segundo relata a literatura, o extrato etanólico das folhas de *M. ilicifolia* apresenta atividade antifúngica frente ao fungo fitopatogênico *Fusarium oxysporum*. Utilizando a metodologia de crescimento micelial em Batata dextrose Agar (BDA), constatou-se a inibição do mesmo na concentração de 0,6 mg/mL do extrato; e para o fungo *Cylindrocladium spathulatum*, foi utilizada a metodologia de bioensaio por cromatografia em camada delgada (CDD) com alíquotas de 1,6 mg/mL do extrato, observando-se algumas frações de inibição (CUNICO *et al.*, 2002). O estudo sugere uma potencialidade no controle de pragas e doenças que acometem cultura de plantas, empregando o uso do extrato da espécie. Em termos de concentração, esse estudo apresentou menor concentração biocida mínima do que o apresentado por Cunico *et al.* (2002), todavia, este foi realizado frente a leveduras patogênicas em animais, diferentemente do trabalho citado, que demonstrou atividade antifúngica em espécie fitopatogênicas. Tal constatação leva a pressupor que futuros trabalhos também possam avaliar o extrato dos frutos de *M. ilicifolia* frente a patógenos de plantas.

3.2 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A capacidade antioxidante do extrato bruto etanólico (EBE) dos frutos da espécie *M. ilicifolia* foi avaliada empregando o ensaio indireto, mediado pela transferência de elétrons, tais como a redução do radical DPPH e FCR (Folin-Ciocalteu), e ensaio direto, baseado em mecanismos de transferência de hidrogênio como o ORAC_{FL}.

As porcentagens de inibição do radical DPPH do extrato bruto etanólico de *M. ilicifolia* analisados estão apresentadas na Figura 2.

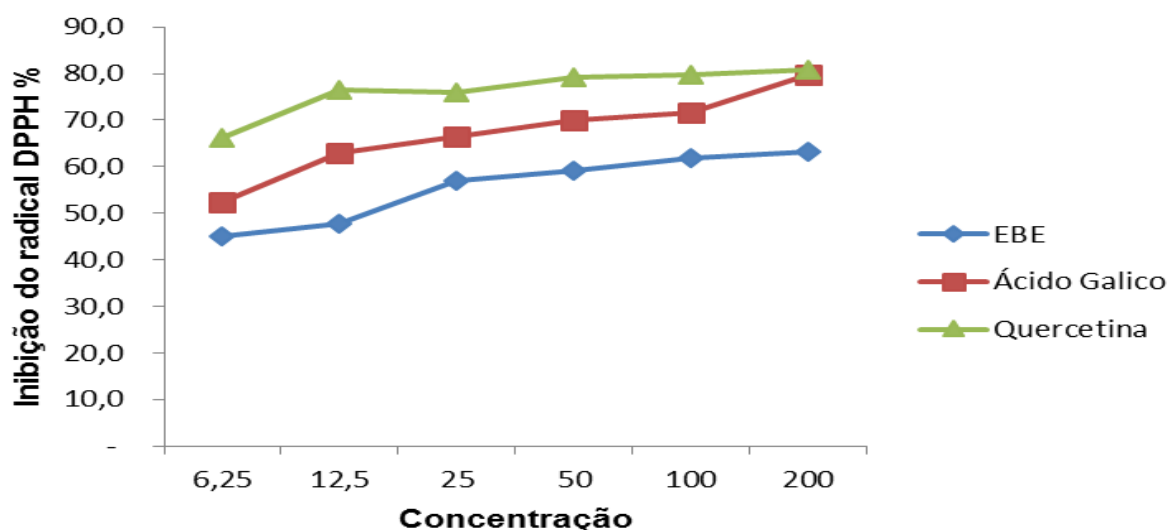


Figura 2. Porcentagem de inibição do radical DPPH do extrato bruto etanólico de *Maytenus ilicifolia*. IFSULDEMINAS – Campus Inconfidentes. Inconfidentes/MG 2016.

Pode-se observar que o EBE da amostra na concentração de 200 µg/mL apresentou-se ativo, atingindo pouco mais de 63% de redução do radical DPPH, porém, quando comparados aos controles positivos, apresentou uma porcentagem de redução inferior.

O resultado expresso em IC₅₀, apresentado na Tabela 3, confirma a capacidade antioxidante do extrato analisado, pois, com 11,29 µg/mL, é capaz de reduzir em 50% o radical DPPH. De acordo com FDA (2012), o valor de IC₅₀ foi calculado com base no gráfico concentração e % inibição do DPPH (Figura 2), considerando 50% da inibição máxima (100%).

Tabela 3: Conteúdo de fenólicos totais solúveis e capacidade antioxidante pelos ensaios DPPH e ORAC_{FL} do extrato bruto etanólico de *Maytenus ilicifolia*. IFSULDEMINAS – Campus Inconfidentes. Inconfidentes/MG 2016.

Amostras	Conteúdo fenólico ^a (mg de GAE/g) ^b	Ensaio DPPH, IC ₅₀ ^a , (µg/mL) ^c	Ensaio ORAC ^a (µmol de TE/g) ^d
Extrato EtOH	3.91 (0.1)	11.29 (1.3)	1338 (6.51)
Quercetina*	-	8.30 (2.10)	5.62 (0.89) ^e
Ácido cafeico*	-	11.20 (2.40)	2.86 (2.02) ^e

^a Média (RSD%, desvio padrão relativo) de ensaios triplicata. ^b Conteúdo de fenólicos solúveis totais expresso em miligramas de ácido gálico equivalentes por grama de extrato (mg de GAE/g). ^c Dados do ensaio DPPH expresso como IC₅₀ (concentração que inibe 50% do radical DPPH) em microgramas por mililitros (µg/mL). ^d Dados ORAC expresso como micromol de Trolox equivalentes por grama de extrato (µmol de TE/g). ^e Dados ORAC_{FL} expressas em equivalente de Trolox relativa, média (% RSD, desvio padrão relativo) de ensaios triplicata.

Por meio do método colorimétrico Folin-Ciocalteu, procedeu-se à análise do teor de substâncias fenólicas do extrato da espécie, a fim de estabelecer uma relação entre o conteúdo de fenóis totais e a capacidade antioxidante da amostra. O resultado foi apresentado em termos de miligramas de ácido gálico equivalente por gramas da amostra. Observa-se (Tabela 3) que o EBE da amostra apresentou alto teor de conteúdo fenólicos totais, visto que seu valor de ácido gálico (GAE) foi de 3.91 mg de GAE/g.

Empregando o ensaio direto $ORAC_{FL}$, foi avaliada a capacidade da amostra em sequestrar radicais peroxil gerados por uma fonte radicalar AAPH, utilizando-se a Fluoresceína (FL) como fonte fluorescente para monitorar a reação. Quando a fonte fluorescente é protegida da oxidação, conseqüentemente evita-se a perda da fluorescência. Essa capacidade deve-se à presença de um antioxidante que inibe a capacidade oxidante do radical (HUANG *et al.*, 2002). Na Tabela 3 é expresso o resultado do ensaio $ORAC_{FL}$, o qual se apresentou ativo com valor de 1338 μmol de TE/g, os dados são expressos em micromol de Trolox equivalente por gramas da amostra. Segundo Costa *et al.* (2012), o valor do ensaio $ORAC_{FL}$ é considerado ativo quando maior ou igual a 1000 μmol de Trolox por equivalentes-grama, confirmando a presença de atividade antioxidante exercida pela amostra.

Estudos evidenciam que o processo oxidativo está relacionado aos diversos agravos causados a saúde (MORAIS *et al.*, 2009). Os problemas aparecem quando há desequilíbrios entre o balanço pró-oxidante e antioxidante, promovendo um dano em favor da situação pró-oxidante, que acarreta danos a biomoléculas. Essa ação é denominada de estresse oxidativo (BARREIROS *et al.*, 2006; MENDE & YAUDIM, 2004). Desta forma, antioxidantes de origem exógena podem contribuir para a neutralização dos processos oxidativos danosos à saúde (HAVSTEEN, 2002), capacidade que, perante a análise, a amostra da espécie demonstrou apresentar.

Os resultados obtidos, de acordo com a Tabela 3, confirmam que a atividade antioxidante do extrato de *M. ilicifolia*, frente aos métodos DPPH e $ORAC_{FL}$, foi proporcional aos conteúdos fenólicos totais solúveis, determinados pelo ensaio colorimétrico Folin-Ciocalteu, uma correlação direta com a capacidade antioxidante da amostra.

Negri e colaboradores (2009) estudaram a atividade antioxidante das folhas de *M. ilicifolia* em diferentes temperaturas, no método DPPH. O melhor resultado foi obtido à 40 °C, com IC_{50} variado de 4,02 a 7,07 $\mu\text{g/mL}$, assim como no estudo de Pessuto e colaboradores (2009), que avaliaram a atividade antioxidante de extratos e taninos condensados das folhas da planta, alcançando a capacidade antioxidante com valores de IC_{50} entre 25 a 40 $\mu\text{g/mL}$. Da

mesma forma, Teixeira (2013), estudando o extrato das folhas da espécie, comprovou melhores resultados no ensaio DPPH com IC₅₀ de 7,98 µg/mL e no teste ORAC_{FL}, constatando elevada atividade antioxidante, com valores variando de 5828 a 15249 µmol TE/g de extrato, correspondente ao conteúdo fenólico obtido de 3,53 mg de GAE/g. Estes estudos retratam boa capacidade antioxidante nos testes DPPH e ORAC_{FL}, semelhantes aos alcançados no presente trabalho, no entanto, Teixeira (2013) encontrou valores superiores no ensaio ORAC_{FL}.

Os compostos fenólicos atuam como sequestradores de radicais livres e na quelatação de metais de transição; na estrutura química, contém parâmetros que qualificam sua atuação como agentes redutores (SANTOS *et al.*, 2015; SOUSA *et al.*, 2007). A atividade de sequestro de radicais livres pode ser observada no extrato de *M. ilicifolia* exibido na Tabela 3.

3.3 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA *IN VITRO*

A avaliação da atividade anti-inflamatória *in vitro* do extrato da espécie *M. ilicifolia* foi realizada empregando-se a técnica de ensaio da desnaturação da albumina do soro bovino (BSA), de acordo com Mizushima e Kobayashi (1968), com modificação. Os agentes anti-inflamatórios são conhecidos pela capacidade de inibir a desnaturação de proteínas, portanto, atuam na proteção contra a desnaturação proteica, uma vez que a resposta inflamatória pode estar ligada a este mecanismo (CHOPADE; SOMADE; SAYYAD, 2012; BHASKAR e MOHITE, 2010). A amostra avaliada foi comparada com o anti-inflamatório diclofenaco de potássio (Figura 3).

Verificou-se atividade inibitória de desnaturação proteica dependente da concentração no intervalo de 25 a 400 µg/mL. Apresentando considerável atividade inibitória da desnaturação proteica na concentração de 400 µg/mL, inibindo 47,10% da desnaturação, não ultrapassando a taxa de 50% de inibição para ser considerada com satisfatória conforme Corrêa (2014) (Figura 3).

Abrangendo a determinação do IC₅₀, o qual estima a concentração que reduz em 50 % a desnaturação proteica para a amostra-teste, pode-se obter uma atividade inibitória com IC₅₀ acima de 400 µg/mL ± 3,3 µg/mL.

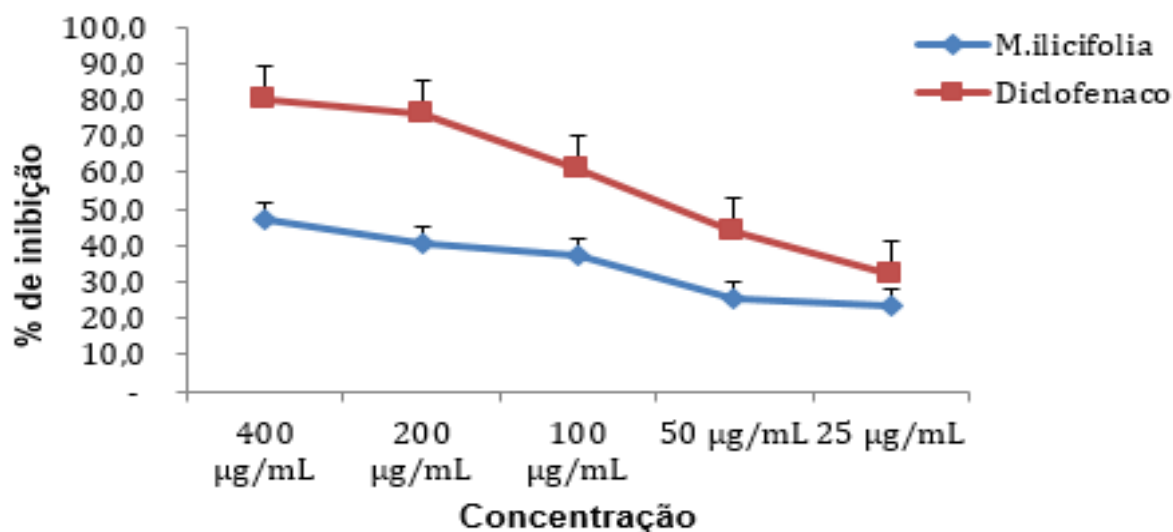


Figura 3 - Atividade anti-inflamatória *in vitro* pelo ensaio BSA do extrato etanólico dos frutos de *Maytenus ilicifolia*. IFSULDEMINAS – Campus Inconfidentes. Inconfidentes/MG 2016.

O organismo, diante de riscos e lesões, desencadeia a inflamação como resposta, a qual atua estabelecendo comunicação e processos de mecanismos que detecta e controla ameaças, danos e curas. Estes aspectos são criteriosos para a manutenção da plenitude de um organismo (VODOVOTZ *et al.*, 2009).

Sabe-se também que o estresse oxidativo desencadeado pelos radicais livres está diretamente relacionado aos processos inflamatórios, uma vez que o sistema imunológico produz muitas substâncias químicas potentes, dentre elas os radicais livres. Portanto, para sua neutralização, agem os antioxidantes reduzindo a inflamação (FRUM & VILJOEN, 2006; GERONIKAKI & GAVALAS, 2006; DELAPORTE *et al.*, 2002).

Neste contexto, estudos envolvendo as atividades biológicas da espécie *M. ilicifolia* comprovam a presença de metabólitos fenólicos extraídos a partir das folhas, tais como flavonoides e triterpenoides (TIBERTI *et al.*, 2007; OHSAKIO *et al.*, 2004; MOSSI *et al.*, 2004; LEITE, *et al.*, 2001; QUEIROGA *et al.*, 2000; CORDEIRO *et al.*, 1999; VILEGAS *et al.*, 1998; XAVIER & D'ANGELO, 1996; PEREIRA *et al.*, 1993). Segundo Nikiema *et al.*, (2001) e Costa *et al.* (2003), os triterpenoides promovem efeito anti-inflamatório, propriedade comum desses compostos. Do mesmo modo, os flavonoides demonstram potencial anti-inflamatório (RASO *et al.*, 2001; PELZER *et al.*, 1998). Assim, este ensaio procurou avaliar a capacidade da amostra em atuar na estabilização proteica.

Jorge e colaboradores (2004), aplicando o método *in vivo* de edema de pata induzido por carreenina em roedores, verificaram o potencial anti-inflamatório dos extratos hexânicos

e acetato de etíla, obtido das folhas da espécie *M. ilicifolia*. Observou-se a dosagem de 320 mg/kg de ambos os extratos, apresentando significativa ação anti-inflamatória, reduzindo o edema induzido. Tal estudo confirma os resultados obtidos na presente avaliação, indicando que a espécie possui significativa capacidade anti-inflamatória. Verifica-se na Figura 3 uma atividade inibitória com IC₅₀ acima de 400 µg/mL concentração superior para obter 47,10% de inibição da desnaturação.

Mariot & Barbieri (2007) destacam a identificação de muitos compostos com ação farmacológica para o gênero *Maytenus*, rico em espécies com propriedades medicinais. O estudo de Santos *et al.* (2007) mostrou que o extrato etanólico da casca de *M. rigida* apresentou significativo efeito inibitório no edema de pata induzido por carragenina em dose de 250 a 750 mg/kg. Sosa *et al.* (2007) por meio do método de inibição de edema do ouvido induzido pelo óleo de cróton em roedores, em análises com os extratos de clorofórmio das raízes de *M. senegalensis*, constataram atividade anti-inflamatória tópica, semelhante à droga, em referência à indometacina exibindo ID₅₀ de 84 e 93 µg/cm². Outros estudos demonstraram potencial atividade anti-inflamatória das seguintes espécies: *M. obscura* (ALAJIMI & ALAM, 2014) e *M. aquifolium* (KIMURA *et. al.*, 2000). Logo, os compostos obtidos a partir dos extratos de espécies vegetais se mostram promissores para o progresso de novas drogas anti-inflamatórias, em busca da qualidade de vida do ser humano (POTTERAT & HAMBURGER, 2008).

Cabe ressaltar que tais atividades analisadas estão diretamente relacionadas a diversos fatores como clima, altitude, disposição de nutrientes do solo, entre outros, os quais podem influenciar na composição dos extratos e conseqüentemente nas suas atividades biológicas (MOSSI *et. al.*, 2010).

4. CONCLUSÃO

Os estudos do fruto de *M. ilicifolia* permitiram concluir que:

- O extrato bruto etanólico dos frutos de *M. ilicifolia* apresentou-se ativo, com capacidade antimicrobiana frente à maioria das linhagens de bactérias e leveduras, ressaltando que exibiu maior inibição diante das leveduras (atividade anti-*Candida*).
- O extrato bruto etanólico dos frutos de *M. ilicifolia* apresentou-se ativo com capacidade antioxidante *in vitro* nos ensaios DPPH e ORAC_{FL} correlacionando ao conteúdo de fenólicos totais.
- O extrato bruto etanólico dos frutos de *M. ilicifolia* apresentou considerável atividade anti-inflamatória *in vitro* pelo método da desnaturação da proteína (BSA).
- Os resultados indicam que o extrato bruto etanólico dos frutos de *M. ilicifolia* é fonte de propriedades bioativas fomentando futuras prospecções biológicas, podendo contribuir para síntese de novos fitoterápicos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALAJIMI, M. F.& ALAM, P. Anti-inflammatory activity and qualitative analysis of diferente extracts of *Maytenus obscura* (A. Rich) Cuf. By high performance thin layer chromatography method. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v.02, n.02, p.152-157, 2014.

ALONSO, J.& DESMARCHELIER, C. *Maytenus ilicifolia* Martius (Congrosa). **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromática**, v.06, n.01, p.11-22, 2007.

BAGGIO, C. H.; FREITAS, C. S.; OTOFUJI, G. M.; CIPRIANI, T. R.; SOUZA, L. M.; SASSAKI, G. L.; IACOMINI, M.; MARQUES, M. C. A.; MESIA-VELA, S. Flavonoid-rich fraction of *Maytenus ilicifolia* Mart. ex. Reiss protects the gastric mucosa of rodents through inhibition of both H⁺,K⁺-ATPase activity and formation of nitric oxide. **J. Ethnopharmacol**, v.113, p.433 – 440, 2007.

BHASKAR, V. H. & MOHITE, P. B. Design, synthesis, characterization and biological evaluation of some novel 1, 5 disubstituted tetrazole as potential anti-inflammatory agents. **J Opt Adv M**, v.02, p.231-237, 2010.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Quim. Nova**, v.29; p.113-123, 2006.

CARLINI, E. A. - **Estudo da ação antiúlcera gástrica de plantas brasileiras: *Maytenus ilicifolia* (Espinheira-santa) e outras**. Brasília. CEME/AFIP, 1988, p.87.

CARVALHO-OKANO, R. M.; **Estudos taxonômicos do gênero *Maytenus* Mol. emend. Mol. (Celastraceae) do Brasil extra-amazônico**. 1992. 253p. Tese (Doutorado em Ciências - Biologia vegetal), Universidade Estadual de Campinas, Brasil.

CHOPADE, A. R.; SOMADE, P. M.; SAYYAD, F. J. Membrane Stabilizing Activity and Protein Denaturation: A Possible Mechanism of Action for the Anti-Inflammatory Activity of *Phyllanthus amarus*. **J Karad Inst Med Sci Univ**, v.01, n.01, p.67-72, 2012.

CIPRIANI, T. R.; MELLINGER, C. G.; SOUZA, L. M.; BAGGIO, C. H.; FREITAS, C. S.; MARQUES, M. C. A.; GORIN, P. A. J.; SASSAKI, G. L.; IACOMINI, M. Polygalacturonic acid: Another anti-ulcer polysaccharide from the medicinal plant *Maytenus ilicifolia*, **Carbohydrate Polymers**, v.78, p.361-363, 2009

CIRIO, G. M.; DONI FILHO, L.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G.; ZANIN, S. M. W. Inter-relação de parâmetros agrônômicos e físicos de controle de qualidade de *Maytenus ilicifolia*, Mart. Ex. Reiss (espinheira-santa) como insumo para a indústria farmacêutica. **Visão Acadêmica**, v. 04, n. 02, p.67-76, 2003.

CORDEIRO, P. J. M.; VILEGAS, J. H. Y.; LANÇAS, F. M. HRGC-MS Analysis of terpenoids from *Maytenus ilicifolia* and *Maytenus aquifolium* ("Espinheira Santa"). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.10, n.06, p.523-526, 1999.

CORRÊA, W. R. **Prospecção de substâncias bioativas em *Pfaffia townsendii* e *Pfaffia tuberosa* (Gomphreneae Amaranthaceae)**. 2014. Tese (Doutorado em Ciências – Área fármacos e Medicamentos) Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. Campinas.

COSTA, E. V.; DA CRUZ, P. E. O.; LOURENÇO, C. C.; MORAES, V. R. S.; NOGUEIRA, P. C. L.; SALVADOR, M. J. 2012b. Antioxidant and antimicrobial activities of aporphinoids and other alkaloids from the bark of *Annona salzmannii* A. DC. (Annonaceae). **Natural Product Research**, v. 27, n.11, 2012.

COSTA, V. B.; COUBE, C. S.; MARINHO, B. G.; MATHEUS, M. E.; LEITÃO, S. G.; FERNANDES, P. D. Antiinflammatory and analgesic activity of *Bouchea fluminensis*. **Fitoterapia**, v.74, p.364–371, 2003.

COWAN, M.M. Plant products as antimicrobial agents. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 12, n. 4, p. 564–582, 1999.

CUENDET, M.; HOSTETTMANN, K.; POTTERAT, O.; DYATMIKO, W. Iridoid glucosides with free radical scavenging properties from *Fagraea blumei*, **Helvetica Chimica Acta**, v.80, p.1144-1152, 1997.

CUNICO, M. M.; CIRIO, G. M.; MIGUEL O. G.; MIGUEL M. D.; MONTRUCCHIO, D. P.; AUER, C. G.; GRIGOLETTI JÚNIOR, A. Contribuição ao estudo da atividade antifúngica de *Maytenus ilicifolia* Mart. Es. Reiss., Celastraceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.12, n.02, p.69-73, 2002.

CUSHNIE, T. P. T. & LAMB, A. J. Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. **International journal of Antimicrobial Agents**, v.38, n.02, p.99-107, 2011.

CUSHNIE, T. P. T. & LAMB, A. J. Antimicrobial activity of flavonoids. **International journal of Antimicrobial Agents**, v.26, n.05, p.343-356, 2005.

DELAPORTE, R. H.; SANCHEZ, G. M.; CUELLAR, A. C.; GIULIANI, A.; PALAZZO, M. J.C. Anti-inflammatory activity and lipid peroxidation inhibition of iridoid lamiide isolated

from *Bouchea fluminensis* (Vell.) Mold. (Verbenaceae). **J. Ethnopharmacol**, v.82, p.127-130, 2002.

DUFFY, C. F.& POWER, R. F. Antioxidant and antimicrobial properties of some Chinese plants extracts. **Int. J. of Antimicro. Agents**, v.17, p.527-529, 2001.

EKPERIGIN, H. E.& NAGARAJA, K. V. Salmonella. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.14, n.01, p. 17-29, 1998.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 5ªed. Brasília. **ANVISA**, 2010 v.02, p. 922-927.

FDA, 2012, U.S. Department of Health and Human Services. Acesso em 20 set .2016, Online. Disponível em: <http://www.fda.gov/ohrms/dockets/ac/00/slides/3621s1d/sld036.htm>.

FIDEL JR., P. L.; VAZQUEZ, J. A.; SOBEL, J. D. Candida glabrata: Reviw of Epidemiology, Pathogenesis, and Clinical Disease with Comparision to C. albicans. **Clinical Microbiology Reviews**, v.12, n.01, p.80-96, 1999.

FRUM, Y.& VILJOEN, A. M. *In vitro* 5-lipoxygenase and anti-oxidant activities of South African medicinal plants commonly used topically for skin diseases. **Skin Pharmacol Physiol**, v.19, p.329-335, 2006.

GERONIKAKI, A. A. & GAVALAS, A. M. Antioxidants and anti-inflammatory diseases: Synthetic and natural antioxidants with anti-inflammatory activity. **Comb. Chem. High Throughput Screening**, v.09, p.425–442, 2006.

HAVSTEEN, B.H. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. **Pharm. Ther**, v.96, p.67-202, 2002.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R.L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **J. Agric. Food Chem**, v.53, p.1841-1856, 2005.

HUANG, D.; OU, B.; HAMPSCH-WOODILL, M.; FLANAGAN, J. A.; PRIOR, R. L. High-Throughput Assay of Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) Using a Multichannel Liquid Handling System Coupled with a Microplate Fluorescence Reader in 96-Well Format. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 16, p. 4437-4444, 2002.

JORGE, R.M.; LEITE, J.P.V.; OLIVEIRA, A.B.; TAGLIATI, C.A. Evaluation of antinociceptive, anti-inflammatory and antiulcerogenic activities of *Maytenus ilicifolia*. **J. Ethnopharmacol**, v.94, p.93-100, 2004.

KIMURA, E.; ALBIERO, A. L. M.; CUMAN, R. K. N.; CAPARROZ-ASSEF, S. M.; OGA, S.; BERSANI-AMADO, C. A. Effect of *Maytenus aquifolium* extract on the pharmacokinetic and antiinflammatory effectiveness of piroxicam in rats. **Phytomedicine**, v. 07, n.02, p.117-121, 2000.

KLOUCEK, P.; SVOBODOVA, B.; POLESNY, Z.; LANGROVA, I.; SMRCEK, S.; KOKOSKA, L. Antimicrobial activity of some medicinal barks used in Peruvian Amazon. **Journal of Ethnopharmacology**, v.111, p.427-429, 2007.

- KOTHAVADE, R. J.; KURA, M. M.; VALAND, A. V.; PANTHAKI, M. H. *Candida tropicalis*: its prevalence, pathogenicity and increasing resistance to fluconazole. **Journal of Medical Microbiology**, v.59, p.873-880, 2010.
- LEITE, J. P. V.; RASTRELLI, L.; ROMUSSI, G. OLIVEIRA, A. B.; VILEGAS, J. H. Y.; VILEGAS, W. PIZZA, C. Isolation and HPLC Quantitative analysis of flavonoid glycosides from Brazilian beverages (*Maytenus ilicifolia* and *M. aquafolium*). **J. Agric. Food Chem.**, v.49, p.3796-3801, 2001.
- LIMA, G. R. de M.; MONTENEGRO, C. de A.; DE ALMEIDA, C. L.F.; DE ATHAYDE-FILHO, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M.; BATISTA, L. M. Database survey of anti-inflammatory plants in South America: a review. **Int. J. Mol. Sci**, v.12 p.2692-2749, 2011.
- LIMA, O. G.; COELHO, J. S. B.; WEIGERT, E.; D'ALBUQUERQUE, I. L.; LIMA, A. D.; SOUZA, M. A. M. Substancias antimicrobianas de plantas superiores. Comunicação XXXVI. Sobre a presença de maitenina e pristimerina na parte cortical das raízes de *Maytenus ilicifolia*, procedente do Brasil Meridional. **Rev. Inst. Antibiot.**, v.11, p.35–38, 1971.
- MABE, K.; YAMADA, M.; OGUNI, I. *In vitro* and *in vivo* activities of tea catechins against *Helicobacter pylori*. **Antimicrob. Agents Chemother**, v.43, p.1788-1791, 1999.
- MAGALHÃES, C.G.; FERRARI, F.C.; GUIMARÃES, D.A.S.; SILVA, G.D.F.; DUARTE, L.P.; FIGUEIREDO, R.C.; FILHO, S.A.V. *Maytenus salicifolia*: triterpenes isolated from stems and antioxidant property of extracts from aerial parts. **Rev. Bras. Farmacognosia**, v.21, p.415-419, 2011.
- MAGALHÃES, P.M. **Agrotecnologia para o cultivo da espinheira santa**, Campinas-SP, CPQBA-UNICAMP, 18 jan. 2002. Acesso em 17 set. 2016. Online. Disponível em < <http://www.cpqba.unicamp.br/plmed/artigos/agroespsant.htm> >.
- MAHADY, G. B. Medicinal plants for the prevention and treatment of bacterial infections. **Current Pharmaceutical Desing**, v.11, n.19, p.2405-2427, 2005.
- MARIOT, M.P.& BARBIERI, R.L. Metabólitos secundários e propriedades medicinais da espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss. e *M. aquifolium* Mart.), **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.09, n.03, p.89-99, 2007.
- MENEZES, E.A.; CAVALCANTE, S. M.; FARIAS, B. R.; TEIXEIRA, B. A.; PINHEIRO, G. F.; BEZERRA, P. B.; TORRES, N. C. J.; CUNHA, A. F. Frequência e atividade enzimática de *Candida albicans* isoladas da mucosa bucal de crianças de uma creche da prefeitura de Fortaleza. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v.41, p.9-13, 2005.
- MENDE, S. & YODIM, M.B. Catechin polyphenols: neurodegeneration and neuroprotection in neurodegenerative diseases. **FreeRadic Biol Med.**, v.37, p.304-317, 2004.
- MICROCAL SOFTWARE ORIGIN® 6.0 PROFESSIONAL. Origin data analysis and technical graphics. USA: Microcal Software Inc., 1999.
- MICROSOFT CORPORATION. Microsoft Office Excel, 2010, Windows 8. CD-ROM.

MIZUSHIMA, Y. & KOBAYASHI, M. Interaction of anti-inflammatory drugs with serum proteins, especially with some biologically active proteins. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v.20, n.03, p.169-173, 1968.

MORAIS, S.M.; CAVALCANTI, E.S.B.; COSTA, S.M.O.; AGUIAR, L.A. Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. **Rev Bras Farmacogn**, v.19, p.315-320, 2009.

MOSSI, A. J.; MAZUTTI, M. A.; CANSIAN, R. L.; OLIVEIRA, D.; OLIVEIRA, J. V.; DALLAGO, R.; LEONTIEV-ORLOV, O.; TREICHEL, H.; ECHEVERRIGARAY, S.; FILHO, N. I. Variabilidade química de compostos orgânicos voláteis e semivoláteis de populações nativas de *Maytenus ilicifolia*. **Quim. Nova**, v.33, n.05, p.1067-1070, 2010.

MOSSI, A. J.; ROGÉRIO, L.; CANSIAN, R. L.; CARVALHO, A. Z.; DARIVA, C.; OLIVEIRA, V. J.; MAZUTTI, M.; FILHO, I. N.; ECHEVERRIGARAY, S.; Extraction and characterization of volatile compounds in *Maytenus ilicifolia*, using high-pressure CO₂. **Fitoterapia**, v.75, p.168-178, 2004.

NEGRI, M. L. S.; POSSAMAI, J. C.; NAKASHIMA, T. Atividade antioxidante das folhas de espinheira-santa *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss., secas em diferentes temperaturas. **Rev. Bras. Farmacognosia**, v.19, p.553-556, 2009.

NIKIEMA, J. B.; VANHAELEN-FASTRE, R.; VANHAELEN, M.; FONTAINE, J.; DE GRAEF, C.; HEENEN, M. Effects of antiinflammatory triterpenes isolated from *Leptadenia hastata* latex on keratinocyte proliferation. **Phytoterapy Research**, v.15, p.131-134, 2001.

NOSTRO, A.; BLANCO, A. R.; CANNATELLI, M. A.; ENEA, V.; FLAMINI, G.; MORELLI, I.; ROCCARO, A. S.; ALONZO, V. Susceptibility of methicillin-resistant *staphylococci* to oregano essential oil, carvacrol and thymol. **FEMS Microbiology Letters**, v.230, p.191-195, 2004.

NOVAIS, T.S.; COSTA, J. F. O.; DAVID, J. P. L.; DAVID, J. M.; QUEIROZ, L. P.; FRANÇA, F.; GIULIETTI, A. M.; SOARES, M. B. P.; SANTOS, R. R. Atividade antibacteriana em alguns extratos de vegetais do semi-árido brasileiro. **Rev Bras Farmacogn**, v.13, supl.02, p.5-8, 2003.

OHSAKIO, A.; IMAI, Y.; NARUSE, M.; AYABE, S.I.; KOMIYAMA, K.; TAKASHIMA, J. Four new triterpenoids from *Maytenus ilicifolia*. **J Nat Prod**, v.06, p.469-471, 2004.

OLIVEIRA, A. C.; VALENTIM, I. B.; GOULART, M. O. F.; SILVA, C.A.; BECHARA, E. J. H.; TREVISAN, M. T. S. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Quim. Nova**, v.32, n.03, p.689-702, 2009.

OU, B.; HAMPSCH-WOODILL, M.; PRIOR, R. L. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49, n.10, p.4619-4626, 2001.

PELZER, L. E., GUARDIA, T.; JUAREZ, A. O.; GUERREIRO, E. Acute and chronic antiinflammatory effects of plant flavonoids. **Il Farmaco**. v. 53, p. 421-424, 1998.

PEREIRA, A. M. S.; PEREIRA, P. S.; CERDEIRA, R. M. M.; FRANÇA, S. C.; MOARES, F. R.; MORAES, J. R. E.; RODRIGUES, D. C. Pharmacologically active compounds in plant tissue culture of *Maytenus ilicifolia* (Celastraceae). **Acta Horticulturae**, v.333, p.205- 210, 1993.

PESSINI, G. L.; HOLETZ, F. B.; SANCHES, N. R.; CORTEZ, D. A. G.; DIAS, F. B. P.; NAKAMURA, C. V. Avaliação da atividade antibacteriana e antifúngica de extratos de plantas utilizados na medicina popular. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.13, p.21-24, 2003.

PESSUTO, M B.; COSTA, I. C.; SOUZA, A. B.; NICOLI, F. M.; JOÃO C. P. M. Atividade Antioxidante de extratos e taninos condensados das folhas de *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss. **Quim. Nova**, v.32, n.02, p.412-416, 2009.

PESSUTO, M. B. **Análise fitoquímica de extratos de folhas de *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss. e avaliação do potencial antioxidante.** 2006. 104p. Tese (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual de Maringá.

PICCINELLI, A.L.; DE SIMONE, F.; PASSI, S.; RASTRELLI, L. Phenolic constituents and antioxidant activity of *Wendita calysina* leaves (burrito), a folk Paraguayan tea. **J. Agric. Food Chem**, v.52, p.5863-5868, 2004.

POTTERAT, O. & HAMBURGER, M. Drug discovery and development with plant derived compounds. **Prog. Drug Res**, v.65, p.47–118, 2008.

PRIOR, R. L.; HOANG, H.; GU, L.; WU, X.; BACCHIOCCA, M.; HOWARD, L.; HAMPSCH-WOODILL, M.; HUANG, D.; OU, B.; JACOB, R. Assays for hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORACFL)) of plasma and other biological and food samples. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.51, n.11, p.3273-3279, 2003

QUEIROGA, C. L.; SILVA, G. F.; DIAS, P. C.; POSSENTI, A.; DE CARVALHO, J. E. Evaluation of the anti-ulcerogenic activity of friedelan-3-beta-ol and friedelin isolated from *Maytenus ilicifolia* (Celastraceae). **J. Ethnopharmacol**, v.72, p.465-468, 2000.

RASO, G. M.; MELI, R.; CARLO, G. D.; PACILLIO, M.; CARLO, R. D. Inhibition of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 expression by flavonoids in macrophage J774A.1. **Life Sci**. v. 68, p. 921–31, 2001.

SALVADOR, M. J.; FERREIRA, E. O.; MERTENS-TALCOTT, S. U.; CASTRO, W. V.; BUTTERWECK, V.; DERENDORF, H.; DIAS, D. A. Isolation and HPLC quantitative analysis of antioxidant flavonoids from *Alternanthera tenella* Colla. **Zeitschrift fur Naturforschung C-Journal of Biosciences**, v. 61, n. 1-2, p. 19-25, 2006.

SALVADOR, M.J. **Estudo químico, biológico e biotecnológico de *Alternanthera maritima* e *Alternanthera tenella* (Gomphreneae, Amaranthaceae).** 2005. 410p. Tese (Doutorado em Ciências - Área Química), Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

SALVADOR, M.J.; ZUCCHI, O. L. D.; CANDIDO, R. C.; ITO, I. Y.; DIAS, D. A. *In vitro* antimicrobial activity of crude extracts and isolated constituents of *Alternanthera maritima*. **Pharmaceutical Biology**, v.42, n.02, p.138-148, 2004.

SANTOS, L. O.; REIS, M. R.; OGAVA, L. E.; LEÃO, K. V.; MACHADO, L. L.; LIRA, S. P. Avaliação da Atividade Antioxidante dos Compostos Fenólicos Presentes na *Amburana cearensis*. **Orbital: The Electronic Journal of Chemistry**, v.08, n.01, p.44-49, 2015.

SANTOS, V. L.; COSTA, V. B. M.; AGRA, M. F.; SILVA, A.; BATISTA, L. M. Pharmacological studies of ethanolic extracts of *Maytenus rígida* Mart (Celastraceae) in animal models. **Rev. Bras. Farmacog**, v.17, n.03, p. 336-342, 2007.

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 rígida* Mart. (Celastraceae). **Rev. Bras. Pl. Med.**, v.13, n.01, p.68-72, 2011.

SINGH, B. & DUBEY, M. M. Estimation of triterpenoids from *Heliotropium maifolium* Kohen ex Retz *in vivo* and *in vitro*: antimicrobial screening. **Phytother Res.**, v.15, p.231-234, 2001.

SOARES, L. A. L.; OLIVEIRA, A. L.; ORTEGA, G. G.; PETROVICK, P. R. Development and validation of a LC-method for determination of catechin and epicatechin in aqueous extractives from leaves of *Maytenus ilicifolia*. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.36, p.787-790, 2004.

SOSA, S.; MORELLI, C. F.; TUBARO, A.; CAIROLI, P.; SPERANZA, G.; MANITTO, P. Anti-inflammatory activity of *Maytenus senegalensis* root extracts and of maytenoic acid. **Phytomedicine**, v.14, p.109-114, 2007.

SOUSA, C. M. M.; SILVA, H. R.; VIEIRA-JR, G. M.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. L. S.; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAÚJO, P. B. M.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Quim. Nova**, v.30, n.02, p.351-355, 2007.

SOUZA-FORMIGONI, M. A. O.; OLIVEIRA, M. G. M.; MONTEIRO, M. G.; SILVEIRA-FILHO, N. G.; BRAZ, S.; CARLINI, E. A. Antiulcerogenic effects of two *Maytenus* species in laboratory animals. **Journal of Ethnopharmacology**, v.34, n.01, p.21-27, 1991.

SOUZA, M. L.; CIPRIANI, R. T.; LACOMINI, M.; GORIN, A. J. P.; SASSAKI, L. G. HPLC/ESI-MS and NMR analysis of flavonoids and tannins in bioactive extract from leaves of *Maytenus ilicifolia*. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.47, p.59-67, 2008.

TEIXEIRA, A. G. **Extratos secos em leite de jorro das folhas de *Maytenus ilicifolia*: Elaboração de formulações tópicas, caracterização química e avaliação da atividade antioxidante**. 2013. 88p. Tese (Mestre em Biociências e Tecnologia de Produtos Bioativos na área de Fármacos, Medicamentos e Insumos para a Saúde) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia.

TIBERTI, L.A.; YARIWAKE J. H.; NDJOKO, K.; HOSTETTMANN, K. Identification of flavonols in leaves of *Maytenus ilicifolia* and *M. aquifolium* (Celastraceae) by LC/UV/MS analysis. **Journal of Chromatography B.**, v.846, p.378-384, 2007.

TOMAZZONI, M. I.; NEGRELLE, R. R. B.; CENTA, M. L. Fitoterapia popular: A busca instrumental enquanto prática terapêutica. **Texto Contexto Enferm.**, v.15, n.01, p.115-21, 2006.

VEIGA JR, V.F. & PINTO, A. C. Plantas medicinais: Cura segura?. **Quim. Nova**, v.28, n.03, p.519-528, 2005.

VILEGAS Jr., H. Y.; LANÇAS, F. M.; WAUTERS, J. N.; ANGENOT, L. Characterization of adulteration of “Espinheira Santa” (*Maytenus ilicifolia* and *Maytenus aquifolium*, Celastraceae) hydroalcoholic extracts with *Sorocea bomplandii* (Moraceae) by high-performance thin layer chromatography. **Phytochemical Analysis**, v.09, p.263-266, 1998.

VODOVOTZ, Y.; CONSTANTINE, G.; RUBIN, J.; CSETE, M.; VOIT, E. O.; AN, G. Mechanistic simulations of inflammation: Current state and future prospects. **Mathematical Biosciences**, v.217, n.01, p.1-10, 2009.

VUONG, C. & OTTO, M. Staphylococcus epidermidis infections. **Microbes and Infection**, v. 4, n. 4, p. 481-489, 2003.

WU, X.; BEECHER, G.R; HOLDEN, J.M.; HAYTOWITZ, D.B.; GEBHARDT, S.E.; PRIOR, R.L. Lipophilic and hydrophilic capacities of common foods in the United States. **J. Agric. Food Chem**, v.52, p.4026-4037, 2004.

XAVIER, H.S. & D'ANGELO, L. C. A. Perfil cromatográfico dos componentes polifenólicos de *Maytenus ilicifolia* Mart. (celastraceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 01, Janeiro/Junho, p.20-28, 1996.