

Bioprospecção de atividade antioxidante e antimicrobiana da casca de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Leguminosae-Mimosoidae)

Souza, T.M.^{1*}; Severi, J.A.²; Silva, V.Y.A.¹; Santos, E.¹; Pietro, R.C.L.R.¹

¹Departamento de Fármacos e Medicamentos, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, UNESP, Araraquara, SP, Brasil.

²Departamento de Química Orgânica, Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, UNESP, Araraquara, SP, Brasil.

Recebido 07/08/07 / Aceito 13/12/07

RESUMO

O presente estudo teve por objetivo avaliar a classe de metabólitos secundários responsável pela atividade antioxidante e antimicrobiana de extratos da casca de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Leguminosae-Mimosoidae), planta amplamente utilizada medicinalmente pela população. Foram obtidos extratos da casca utilizando etanol 50%, etanol 70%, acetona:água (7:3, v/v) e clorofórmio. A bioprospecção da atividade antioxidante foi realizada por meio de cromatografia em camada delgada revelada com 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH) e a capacidade de seqüestro de radicais livres utilizando DPPH foi quantificada por espectrofotometria. A bioprospecção da atividade antibacteriana foi realizada por meio de difusão em ágar e bioautografia. A cromatografia revelada com DPPH revelou atividade antioxidante na região onde foram identificadas as manchas referentes aos derivados de taninos e o extrato clorofórmico foi o que apresentou menor capacidade de seqüestro de radicais livres. A atividade antimicrobiana foi comprovada para os extratos polares pela formação de halos de inibição de crescimento bacteriano e a bioautografia revelou atividade na região onde foram identificadas as manchas de derivados tânicos. Assim, foi determinado que extratos da casca de *S. adstringens* apresentaram atividades antioxidante e antimicrobiana devido aos metabólitos secundários derivados da classe de taninos, que são os principais constituintes desta droga vegetal, de acordo com a literatura.

Palavras-chave: *Stryphnodendron adstringens*; atividade antioxidante; atividade antimicrobiana; taninos.

INTRODUÇÃO

Muitos processos bioquímicos geram substâncias que são denominadas radicais livres como superóxidos (O₂⁻) e hidroxilas (HO·) e outras substâncias com oxigênio como

H₂O₂ e O₂ (Yildirim et al., 2000; Gulcin et al., 2002). Tais substâncias podem induzir danos oxidativos a biomoléculas, entre elas, proteínas e DNA (Lai & Piette, 1977; Wiseman & Halliwell, 1996), o que acelera o envelhecimento, favorece o aparecimento de câncer, doenças cardiovasculares e neurodegenerativas (Sun, 1990; Stadtman, 1992; Banerjee et al., 2005). Flavonóides, taninos e outras substâncias fenólicas são constituintes de plantas com potencial atividade antioxidante, principalmente, por atuarem como seqüestradores de radicais de oxigênio (Quettier-Deleu et al., 2000).

Pesquisas com plantas também demonstraram sua importância como fonte de novos agentes antimicrobianos (Amani et al., 1998; Salvat et al., 2001; Arias et al., 2004; Zampini et al., 2005). A atividade antimicrobiana apresentada por drogas vegetais pode ser em função da presença de flavonóides, taninos, alcalóides, saponinas e terpenos (Scalbert, 1991; Harborne & Williams, 2000; Bylka et al., 2004; Veluri et al., 2004; Kuete et al., 2006).

Stryphnodendron adstringens (Leguminosae-Mimosoidae), conhecido popularmente como "barbatimão", é uma árvore que se destaca pelo elevado teor de taninos de sua casca (Lorenzi, 2000; Santos et al., 2002; Stasi et al., 2002). Foram isoladas e elucidadas as estruturas do tanino hidrolisável ácido gálico e dos taninos condensados galocatequina, epigalocatequina, 4'-*O*-metil-galocatequina, epigalocatequina-3-*O*-galato, epigalocatequina-3-*O*-(3",5"-dimetil)-galato, epigalocatequina-3-*O*-(3"-metoxi)-4"-hidroxibenzoato, 4'-*O*-metil-galocatequina-(4 α →8)-4'-*O*-metil-galocatequina, 4'-*O*-metil-robinetinidol-(4 α →8)-4'-*O*-metil-galocatequina e 4'-*O*-metil-robinetinidol-(4 α →8)-4'-*O*-metil-epigalocatequina (Mello et al., 1996a; Mello et al., 1996b; Mello et al., 1999; Toledo, 2000). É uma planta nativa dos cerrados do Sudeste e Centro-Oeste do Brasil, tendo sua casca amplamente empregada na medicina caseira para tratar diferentes males, como leucorréia, hemorragias e limpeza de ferimentos devido ao seu alto teor tanino (Panizza, 1997; Lorenzi, 2000; Lorenzi & Matos, 2002).

O objetivo deste estudo foi avaliar a atividade antimicrobiana e determinar a capacidade antioxidante de

*Autor correspondente: Tatiana Maria de Souza - Departamento de Fármacos e Medicamentos - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade Estadual Paulista, UNESP - Rodovia Araraquara-Jaú, km 1 - CEP: 14801-902 - Araraquara - SP, Brasil. Telefone: (16)3301-6965 - Fax: (16)3301-6960 - e-mail: souzاتم@fcar.unesp.br

extratos da casca de *S. adstringens* baseando-se na composição fenólica da casca e pelos usos populares variados que apresenta.

MATERIAL E MÉTODOS

Material Vegetal

A casca seca e pulverizada de *S. adstringens* foi adquirida comercialmente da empresa Sítio da Mata, Cássia dos Coqueiros - SP, no primeiro semestre de 2005 (lote da droga 01SM). Os extratos foram obtidos por percolação utilizando etanol 50% (EtOH 50), etanol 70% (EtOH 70), acetona:água (7:3; v/v) (Ac:H₂O) e clorofórmio (CHCl₃), sendo, posteriormente, concentrados sob pressão reduzida em evaporador rotatório e o excesso de água retirado por liofilização.

Padronização dos Extratos

A presença de taninos nos extratos foi verificada por cromatografia em camada delgada comparativa (CCDC) desenvolvida em placas de sílica gel 60 F₂₅₄ utilizando clorofórmio:metanol:n-propanol:água (5:6:1:4; v/v) como fase móvel e revelando com solução de cloreto férrico 1% em metanol (Wagner et al., 1984). A substância tânica ácido gálico (Vetec) foi utilizada como padrão. Os extratos foram padronizados de acordo com o teor de fenóis totais. O teor de fenóis totais foi determinado segundo metodologia do AOAC (1984) adaptada para extratos vegetais por Teixeira et al. (1990). A 7,00 mL de água foram adicionados 0,50 mL do reagente de Folin-Denis e 0,50 mL de solução 0,1 µg/mL de cada extrato, adicionando 1,00 mL de solução de Na₂CO₃ a 35% após 3 minutos, e completando o volume para 10,00 mL. A leitura de absorvância foi realizada após 30 min, a 760 nm, em espectrofotômetro. A porcentagem de fenóis totais nos extratos foi calculada com base na curva padrão da solução de ácido tânico preparada segundo a metodologia acima nas concentrações de 2,0 a 8,0 µg/mL.

Avaliação da Capacidade Antioxidante

A capacidade antioxidante dos extratos foi determinada por cromatografia em camada delgada (CCD) e a capacidade de seqüestro de radicais livres foi quantificada por espectrofotometria. Na avaliação cromatográfica, foram aplicadas uma alíquota do padrão rutina (Vetec) e do ácido gálico (Vetec) e uma alíquota dos extratos em placa de sílica gel 60 F₂₅₄, utilizando como fase móvel clorofórmio:metanol:n-propanol:água (5:6:1:4; v/v) e, como revelador, solução de 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH) a 0,2% em metanol (Sanches, 2004). A quantificação da capacidade de seqüestro de radicais livres foi realizada espectrofotometricamente utilizando os padrões ácido gálico e rutina, além de vitamina C, na concentração de 250 µg/mL em metanol. Os extratos foram testados na concentração de 250 µg/mL em metanol. A 1,00 mL destas soluções de amostras foram adicionados 2,50 mL da solução de DPPH 0,004% em metanol. As soluções foram agitadas e mantidas no escuro por 30 minutos a

temperatura ambiente. A leitura foi feita a 517 nm, em espectrofotômetro. As soluções utilizadas como branco consistiram em 1,00 mL da solução metanólica de extratos e 2,50 mL de metanol. Como controle negativo foi utilizada solução de 1,00 mL de metanol e 2,50 mL de solução de DPPH. A atividade anti-radicalar foi calculada como a porcentagem de descoloração do radical DPPH, segundo a equação: $\% = \frac{Ad - Aa}{Ad} \cdot 100$, onde: Aa = absorvância da amostra; Ad = absorvância da solução de DPPH (controle negativo) (Falcão et al., 2006). O teste foi realizado em triplicata.

Avaliação da Atividade Antimicrobiana

A avaliação da atividade antimicrobiana foi realizada pelo método de difusão em ágar. O método de bioautografia foi utilizado como bioprospecção, de forma a indicar o grupo de substâncias com atividade antimicrobiana presentes nos extratos da casca de *S. adstringens*. Os microrganismos testados foram *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228) e *Escherichia coli* (ATCC 10536). O teste de difusão em ágar foi baseado na Norma M2-A8 do NCCLS (2003). Uma suspensão bacteriana preparada de acordo com a turvação da escala 0,5 de McFarland (1,5.10⁸ células/mL) foi diluída 1:100 em meio ágar Müeller-Hinton em placas de Petri. Foram feitos orifícios de 6,0 mm de diâmetro no meio sólido e, separadamente em cada um, foram adicionados 50 µL de solução de extrato a 50 mg/mL em DMSO:salina (1:1; v/v), 50 µL de DMSO:salina (1:1; v/v) e 50 µL de solução de ampicilina a 50 µg/mL. Após duas horas a 4 °C, as placas foram incubadas por 24 h a 37 °C. A atividade foi avaliada pela zona de inibição de crescimento bacteriano ao redor dos orifícios. Para a bioautografia foram aplicados, separadamente, 5 µL de solução dos extratos na concentração de 50 mg/mL em placas de sílica gel 60 F₂₅₄, as quais foram eluídas com clorofórmio:metanol:n-propanol:água (5:6:1:4; v/v), sendo feitas uma placa para cada bactéria a ser testada e outra para ser revelada com solução de cloreto férrico 1% em metanol. As suspensões bacterianas ajustadas na escala 0,5 de McFarland foram diluídas 1:100 em meio ágar Müeller-Hinton adicionado de solução aquosa de cloreto de 2,3,5-trifenil tetrazólio (TTC) 1%, sendo o meio vertido, em placa de Petri, sobre os cromatogramas eluídos. Após 2 h a 4 °C, as placas foram incubadas por 24 h a 37 °C. A formação de halos incolores ao redor da mancha das substâncias indica inibição do crescimento bacteriano e, portanto, atividade antimicrobiana da(s) substância(s) presente(s) em determinado fator de retenção (Rf) que foram observados no cromatograma revelado com solução de cloreto férrico 1% em metanol (Sartoratto et al., 2004; Moulari et al., 2006).

RESULTADOS

A CCDC dos extratos EtOH 50, EtOH 70, Ac:H₂O e CHCl₃ da casca de *S. adstringens*, revelada com cloreto férrico 1% em metanol confirmou a presença de substâncias

fenólicas derivadas da classe dos taninos pela apresentação de coloração azul escura tal qual a substância utilizada como padrão de taninos, ácido gálico (Wagner et al., 1984; Toledo, 2000). O ácido gálico apresentou uma mancha com Rf=0,42 e os extratos apresentaram uma mancha no ponto de aplicação e apenas os extratos polares apresentaram outra com Rf=0,39. Por meio de determinação do teor de fenóis totais foi obtido elevado teor destas substâncias nos extratos polares e baixo teor no extrato apolar (Tabela 1).

Quando reveladas com DPPH, as amostras dos extratos revelaram manchas amarelas, sobre um fundo violeta, da mesma forma que os padrões rutina e ácido gálico apresentaram. Todos os extratos apresentaram uma mancha amarela no ponto de aplicação e os extratos polares apresentaram outra mancha no Rf 0,39, referente à mancha de derivados de taninos revelada anteriormente com cloreto férrico 1% em metanol. A determinação da capacidade de seqüestro de radicais

livres indicou que os extratos polares têm potencial maior do que o extrato obtido com clorofórmio (Figura 1).

Pelo método de difusão em ágar, foi observado que os extratos obtidos com EtOH 50, EtOH 70 e Ac:H₂O apresentaram atividade antibacteriana e o extrato obtido com CHCl₃ não apresentou atividade (Tabela 1). Pela bioautografia, não houve inibição de crescimento bacteriano na região de aplicação do extrato clorofórmico. Entretanto, foi observado que os halos de inibição de crescimento de *S. aureus* e *S. epidermidis* desenvolveram-se sobre o cromatograma dos extratos polares na região do ponto de aplicação, região em que na CCDC tinha sido evidenciada a presença de compostos fenólicos da classe dos taninos. Embora tenha sido demonstrada atividade antimicrobiana contra *E. coli* pelo método de difusão em ágar, não foram observados halos de inibição na bioautografia realizada com os extratos contra esta bactéria.

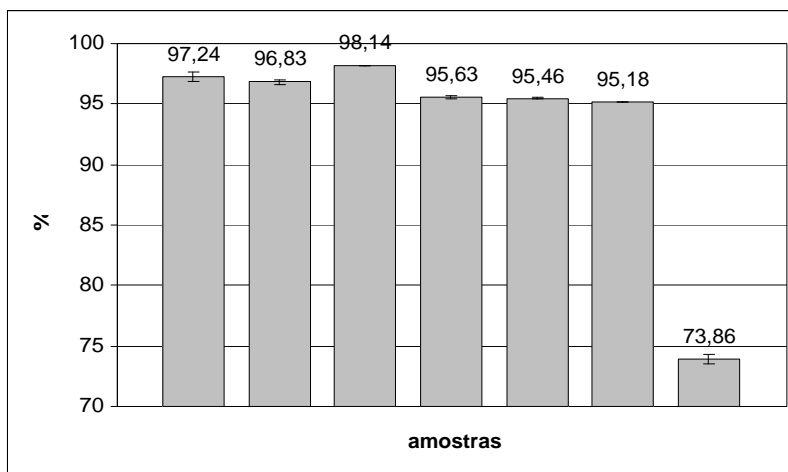


Figura 1. Atividade antioxidante: % de capacidade de seqüestro de radicais livres e desvio-padrão. 1) ácido gálico; 2) rutina; 3) vitamina C; 4) extrato EtOH 50; 5) extrato EtOH 70; 6) extrato Ac:H₂O; 7) extrato CHCl₃.

Tabela 1 - Teor de fenóis totais e halo de inibição de crescimento bacteriano dos extratos da casca de *S. adstringens*.

amostras	Teor de fenóis totais ^a	Halo de inibição ^a (mm)		
	(%)	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>E. coli</i>
EtOH 50	75,09±3,50	13,5±1,5	14,5±0,7	13,5±0,7
EtOH 70	68,96±3,70	12,5±0,6	13,7±1,5	14,3±0,6
Ac:H ₂ O	72,89±1,00	13,7±1,5	12,0±1,0	14,0±1,0
CHCl ₃	1,82±0,50	0	0	0
ampicilina	NR	15,0±0,8	14,7±0,6	15,0±0,6

a) média±desvio-padrão.

NR: não realizado.

DISCUSSÃO

O potencial de atividade antioxidante do extrato foi determinado com base na atividade sobre o radical DPPH em solução, para revelação de cromatograma e avaliação da capacidade seqüestrante de radical livre dos extratos de *S. adstringens* (Machado, 2005; Falcão et al., 2006). O DPPH é um radical livre estável, para o qual as substâncias antioxidantes transferem elétrons ou átomos de hidrogênio, neutralizando seu caráter radicalar (Naik et al., 2003). Esta reação proporciona mudança de cor de violeta para amarelo e a absorbância da solução onde houve a reação, a 517 nm, diminui (Banerjee et al., 2005). Pela CCDC, foi possível verificar que as substâncias presentes nos extratos apresentaram atividade antioxidante, já que uma mancha amarela, indicativa de inibição de oxidação, formou-se na região do cromatograma onde se encontra(m) a(s) substância(s) responsável(is) pela mesma, enquanto que no cromatograma, onde não existiam substâncias antioxidantes, a coloração permaneceu violeta. Nos resultados, foi observada coloração amarela para todos os extratos, semelhante aos padrões rutina e ácido gálico, nas regiões de manchas correspondentes a substâncias tânicas no cromatograma revelado com cloreto férrico 1% em metanol na CCDC. Desta forma, ao avaliar-se a capacidade seqüestrante de radical livre dos extratos de *S. adstringens*, observou-se que o extrato clorofórmico, que mostrou ter o menor teor de fenóis totais, apresentou menor capacidade seqüestrante, mas que os extratos polares, que mostraram ter elevado teor de fenóis totais, apresentaram também elevada capacidade antioxidante (Tadhani et al., 2007).

Foi demonstrado, pelo método de difusão em ágar, que os extratos polares apresentaram atividade contra as bactérias testadas. A bioautografia consiste em avaliar quais substâncias ou classe de substâncias são ativas sobre determinado microrganismo por meio de uma separação cromatográfica realizada anteriormente à incubação da placa com o meio de cultura inoculado (Hamburger & Cordell, 1987; Sartoratto et al., 2004). Pela bioautografia, foi possível verificar quais as substâncias presentes nos extratos polares apresentaram atividade antimicrobiana.

Alguns estudos (Einbond et al., 2004; Banerjee et al., 2005; Choi et al., 2006) relatam que muitas atividades biológicas, assim como a antioxidante e antimicrobiana, são devidas ao teor de fenóis totais, como taninos e flavonóides.

As atividades antioxidante e antimicrobiana apresentadas pelos extratos polares no presente estudo parecem ser devidas à constituição e teor de compostos fenólicos da classe dos taninos presentes na casca de *S. adstringens*. A identificação dos mesmos poderia ser orientada a partir de resultados prospectivos de atividades biológicas e permitiria o estudo de substâncias com atividades terapêuticas ou mesmo tóxicas previamente determinadas.

AGRADECIMENTOS

Ao auxílio técnico de Luís Eduardo dos Santos. Ao suporte financeiro CAPES e PADC - UNESP.

ABSTRACT

Bioprospection of antioxidant and antimicrobial activities in the bark of Stryphnodendron adstringens (Mart.) Coville (Leguminosae-Mimosoidae)

The aim of this work was to evaluate the class of secondary metabolites responsible for the antioxidant and antimicrobial activities of bark extracts of *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Leguminosae-Mimosoidae), a plant widely used in folk medicine in Brazil. Extracts of the bark were prepared with 50% ethanol, 70% ethanol, acetone:water (7:3, v/v) and chloroform. Antioxidant activity was prospected by spraying thin-layer chromatographs of the extracts with 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH) and measuring the DPPH radical scavenging capacity by spectrophotometry. Antibacterial activity was revealed by the agar diffusion method and bioautography. TLC spots assigned to tannins in the polar extracts showed antioxidant activity by DPPH radical scavenging and the chloroform extract showed the least scavenging activity. Antimicrobial activity was indicated by the bacterial growth inhibition haloes around polar extracts and bioautography showed activity in the TLC spots assigned to tannins. It was concluded that polar extracts of the bark of *S. adstringens* possessed antioxidant and antimicrobial activities which were due to secondary metabolite derived from the tannin class, which are the main constituent of these bark extracts, according to the literature.

Keywords: *Stryphnodendron adstringens*; antioxidant activity; antimicrobial activity; tannins.

REFERÊNCIAS

- Amani S, Isla MI, Vattuone M, Poch M, Cudmani N, Sampietro A. Antimicrobial activities in some argentine medicinal plants. *Acta Horti* 1998;501:115-22.
- AOAC. Association of Official Analytical Chemists. *Official methods of analysis of the association of chemists*. 13.ed. Washington (DC): Association of Official Analytical Chemists; 1984.
- Arias ME, Gómez JD, Cudmani N, Vattuone MA, Isla MI. Antibacterial activity of ethanolic and aqueous extract of *Acacia aroma* Gill ex Hook et. *Life Sci* 2004;75:191-202.

- Banerjee A, Dasgupta N, De B. In vitro study of antioxidant activity of *Syzygium cumini* fruit. *Food Chem* 2005;90:727-33.
- Bylka W, Matlawska I, Pilewski NA. Natural flavonoids as antimicrobial agents. *JANA* 2004;7:24-31.
- Choi YM, Noh DO, Cho SY, Suh HJ, Kim KM, Kim JM. Antioxidant and antimicrobial activities of propolis from several regions of Korea. *LWT* 2006;39:756-61.
- Einbond LS, Reynertson KA, Luo XD, Basile MJ, Kennelly EJ. Anthocyanin antioxidants from edible fruits. *Food Chem* 2004;84:23-8.
- Falcão DQ, Costa ER, Alviano DS, Alviano CS, Kuster RM, Menezes FS. Atividade antioxidante e antimicrobiana de *Calceolaria chelidonioides* Humb. Bonpl. & Kunth. *Rev Bras Farmacogn* 2006;16:73-6.
- Gulcin I, Oktay M, Kufrayvioglu OI, Aslan A. Determination of antioxidant activity of Lichen *Cetraria islandica* (L.). Acetylcholine *J Ethnopharmacol* 2002;79:325-9.
- Hamburger MO, Cordell GA. A direct bioautographic tlc assay for compounds possessing antibacterial activity. *J Nat Prod* 1987;50:19-22.
- Harborne JB, Williams CA. Advances in flavonoids research since 1992. *Phytochemistry* 2000;55:481-504.
- Kuete V, Tangmouo JG, Beng VP, Ngounou FN, Lontsi D. Antimicrobial activity of the methanolic extract from the stem bark of *Tridesmostemon omphalocarpoides* (Sapotaceae). *J Ethnopharmacol* 2006;104:5-11.
- Lai CS, Piette LH. Hydroxyl radical production involved in lipid peroxidation of rat liver microsomes. *Biochem Biophys Res Commun* 1977;78:51-9.
- Lorenzi H. *Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil*. 3.ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum; 2000.
- Lorenzi H, Matos FJA. *Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas*. Nova Odessa: Instituto Plantarum; 2002.
- Machado FAV. *Estudo fitoquímico e avaliação da capacidade antioxidante de extratos das cascas de Stryphnodendron polyphyllum* Mart., Leguminosae, barbatimão [Dissertação] Araraquara: Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP; 2005.
- Mello JCP, Petereit F, Nahrstedt A. Flavan-3-ols and Prodelphinidins from *Stryphnodendron adstringens*. *Phytochemistry* 1996a;42:807-13.
- Mello JCP, Petereit F, Nahrstedt A. Prorobinetinidins from *Stryphnodendron adstringens*. *Phytochemistry* 1996b;42:857-62.
- Mello JCP, Petereit F, Nahrstedt A. A dimeric prodelphinidin from *Stryphnodendron adstringens*. *Phytochemistry* 1999;51:1105-7.
- Moulari B, Pellequer Y, Lboutounne H, Girard C, Chaumont JP, Millet J, Muiyard F. Isolation and in vitro antibacterial activity of astilbin, the bioactive flavanone from the leaves of *Harungana madagascariensis* Lam. Ex Poir. (Hypericaceae). *J Ethnopharmacol* 2006;106:272-8.
- Naik GH, Priyadarsini KI, Satav JG, Banavalikar MM, Sohoni PP, Biyani MK, Mohan H. Comparative antioxidant activity of individual herbal components used in Ayurvedic medicine. *Phytochemistry* 2003;63:97-104.
- NCCLS. National Committee For Clinical Laboratory Standards. *Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests: approved standard*. 8th.ed. NCCLS document M2-A8. Wayne, Pa. 2003.
- Panizza S. *Plantas que curam: cheiro de mato*. São Paulo: IBRASA; 1997.
- Quettier-Deleu C, Gressier B, Vasseur J, Dine T, Brunet C, Luyckx M, Cazin M, Cazin JC, Bailleul F, Trotin F. Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls and flour. *J Ethnopharmacol* 2000;72:35-42.
- Salvat A, Antonnacci L, Fortunato RH, Suarez EY, Godoy HM. Screening of some plants from Northern Argentina for their antimicrobial activity. *Lett Appl Microbiol* 2001;32:293-7.
- Sanches ACC. *Estudo farmacognóstico das cascas de Stryphnodendron obovatum* Benth., atividade antioxidante, antimicrobiana e da ação cicatrizante dos seus extratos [Dissertação] Araraquara: Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP; 2004.
- Santos SC, Costa WF, Ribeiro JP, Guimarães DO, Ferri PH, Ferreira HD, Seraphin JC. Tannin composition of barbatimão species. *Fitoterapia* 2002;73:292-9.
- Sartoratto A, Machado ALM, Delarmelina C, Figueira GM, Duarte MCT, Rehder VLG. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. *Braz J Microbiol* 2004;35:275-80.
- Scalbert A. Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry* 1991;30:3875-83.
- Stadtman ER. Protein oxidation and aging. *Science* 1992;257:1220-4.
- Stasi LC, Guimarães EM, Santos CM, Hiruma-Lima CA, Souza-Brito ARM. Fabales medicinais. In: Stasi LC, Hiruma-Lima CA. *Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica*. 2. ed. São Paulo: Editora UNESP; 2002. p.276-320.
- Sun Y. Free radicals, antioxidant enzymes and carcinogenesis. *Free Radic Biol Med* 1990;8:583-99.
- Tadhani MB, Patel VH, Subhash R. In vitro antioxidant activities of *Stevia rebaudiana* leaves and callus. *J Food Compost Anal* 2007; 20:323-9.
- Teixeira ML, Soares AR, Scolforo JRS. Variação do teor de tanino da casca de barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville) em 10 locais de Minas Gerais. *Ciência e Prática* 1990;14:229-32.

Bioprospecção antioxidante e antimicrobiana

Toledo CEM. *Estudos anatômico, químico e biológico de cascas e extratos obtidos de barbatimão (Stryphnodendron adstringens (Mart.) Coville, Leguminosae)* [Dissertação] Araraquara: Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP; 2000.

Veluri R, Weir TL, Bais HP, Stermitz FR, Vivanco JM. Phytotoxic and antimicrobial activities of catechin derivatives. *J Agric Food Chem* 2004;52:1077-82.

Wagner H, Bladt S, Zgainski EM. *Plant drug analysis*. Berlin: Springer-Verlag; 1984.

Wiseman H, Halliwell B. Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species: Role of inflammatory disease and progression to cancer. *Biochem J* 1996;313:17-29.

Yildirim A, Mavi A, Oktay M, Kara AA, Algur OF, Bilaloglu V. Comparison of antioxidant and antimicrobial activities of tilia (*Tilia argenta* Desf Ex DC), sage (*Salvia triloba* L.) and black tea (*Camellia sinensis*) extracts. *J Agric Food Chem* 2000;48:5030-4.

Zampini IC, Vattuone MA, Isla MI. Antibacterial activity of *Zuccagnia punctata* Cav. Ethanolic extracts. *J Ethnopharmacol* 2005;102:450-6.