

Avaliação do teor de Cumarina e atividade antifúngica de frações de Óleo de Cumaru

Os cumaruzeiros são árvores neotropicais originárias de países da América Central e América do Sul. Os frutos destacam-se quanto às potencialidades comerciais e fitoterápicas, e suas sementes, há mais de um século, são comercializadas por extrativistas da Amazônia. Este estudo teve por objetivo analisar o teor de cumarina (1,2-benzopirona) e a atividade antifúngica de frações de óleo obtidas de sementes de cumaru produzidas no município de Alenquer, Pará, Brasil. As frações foram obtidas por extrações sucessivas à frio, tendo como solventes Hexano P.A., Diclorometano P.A., e Álcool Etilíco P.A. a 96%. O teor da 1,2-benzopirona nas frações foi analisado quimicamente por Cromatografia em Camada Delgada (CCD) e por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa (CG-EM). No ensaio antifúngico, as frações foram diluídas em meio de cultura batata-dextrose-água (BDA) para obtenção das concentrações de 10%, 20%, 30%, 40% e 50% e vertidas em placas de Petri, para deposição do fitopatógeno após solidificação. O controle consistiu do semeio do fungo apenas em meio BDA. Utilizou-se como desafiante o fitopatógeno *Colletotrichum musae* isolado da banana. O maior rendimento foi obtido na fração hexânica (14,4%), e a cumarina isolada dessa fração correspondeu a 3,4% desse rendimento. A fração diclorometânica foi a mais efetiva na redução do crescimento micelial do fitopatógeno, em todas as concentrações testadas.

Palavras-chave: Ação fungitóxica; Controle alternativo; *Dipteryx* sp.; Óleos fixos.

Evaluation of coumarin content and antifungal activity of Cumaru oil fractions

Cumaruzeros are neotropical trees originating from Central and South American countries. The fruits stand out for their commercial and phytotherapeutic potentialities, and their seeds, for over a century, have been marketed by Amazonian extractivists. This study aimed to analyze the coumarin content (1,2-benzopyrone) and the antifungal activity of oil fractions obtained from cumaru seeds produced in the municipality of Alenquer, Pará, Brazil. The fractions were obtained by successive cold extractions using Hexane P.A., Dichloromethane P.A., and 96% Ethyl Alcohol P.A. The 1,2-benzopyran content in the fractions was chemically analyzed by Thin Layer Chromatography (CCD) and Mass Spectrometry Coupled Gas Chromatography (GC-MS). In the antifungal assay, fractions were diluted in potato-dextrose-agar (BDA) culture medium to obtain concentrations of 10%, 20%, 30%, 40% and 50% and poured into Petri dishes for phytopathogen deposition. after solidification. Control consisted of fungus sowing only in BDA medium. The phytopathogen *Colletotrichum musae* isolated from banana was used as a challenge. The highest yield was obtained in hexane fraction (14.4%), and coumarin isolated from this fraction corresponded to 3.4% of this yield. The dichloromethane fraction was the most effective in reducing the phytopathogen mycelial growth at all concentrations tested.

Keywords: Fungitoxic action; Alternative control; *Dipteryx* sp.; Fixed oils.

Topic: **Microbiologia Agrícola e Ambiental**

Received: **06/08/2018**

Approved: **16/08/2018**

Reviewed anonymously in the process of blind peer.

Bruna Cristine Martins de Sousa
Universidade Federal do Oeste do Pará, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/2995856324286537>
bruna0909martins@hotmail.com

Lauro Euclides Soares Barata
Universidade Federal do Oeste do Pará, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/1609747051706094>
<http://orcid.org/0000-0003-0909-769X>
lauroesbarata@gmail.com

Caroline Gomes Macêdo
Universidade Federal do Pará, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/1637502954956396>
<http://orcid.org/0000-0003-3715-1307>
carolgomesmacedo@hotmail.com

Sidney Santos Fraga
Universidade Federal do Oeste do Pará, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/928251400226634>
<http://orcid.org/0000-0002-3831-6639>
sidneyssf643@gmail.com

Aline Aparecida München Kasper
Universidade Federal do Oeste do Pará, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/6191998314534966>
<http://orcid.org/0000-0003-2613-5125>
aliny_msn.com

Katiane Araújo Lourido
Universidade Federal do Oeste do Pará, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/7656086988352166>
<http://orcid.org/0000-0002-3923-1899>
katialourido@gmail.com

Geomarcos da Silva Paulino
Universidade Federal do Oeste do Pará, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/4416864995277473>
<http://orcid.org/0000-0001-8255-0134>
geomarcospaulino19@gmail.com

Everton Cristo de Almeida
Universidade Federal do Oeste do Pará, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/1713587609774692>
<http://orcid.org/0000-0002-3039-5440>
evertonselva30@gmail.com

Adilson Sartoratto
Universidade Estadual de Campinas, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/2938768700584296>
<http://orcid.org/0000-0002-1763-3715>
adilson@cpqba.unicamp.br

Denise Castro Lustosa
Universidade Federal do Oeste do Pará, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/8533910667262644>
<http://orcid.org/0000-0001-7448-9564>
denise.lustosa@ufopa.edu.br



DOI: 10.6008/CBPC2179-6858.2018.006.0008

Referencing this:

SOUSA, B. C. M.; BARATA, L. E. S.; MACÊDO, C. G.; FRAGA, S. S.; KASPER, A. A. M.; LOURIDO, K. A.; PAULINO, G. S.; ALMEIDA, E. C.; SARTORATTO, A.; LUSTOSA, D. C.. Avaliação do teor de Cumarina e atividade antifúngica de frações de Óleo de Cumaru. *Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais*, v.9, n.6, p.63-69, 2018. DOI: <http://doi.org/10.6008/CBPC2179-6858.2018.006.0008>

INTRODUÇÃO

Os frutos do cumaruzeiro (*Dipteryx odorata*) destacam-se quanto às potencialidades comerciais e fitoterápicas; suas favas, como são chamadas as sementes, possuem um perfume peculiar que lembra o da baunilha e o *foin coupé* e, historicamente, foram bastante procuradas para a extração de cumarina (principal composto ativo) para flavorizar tabacos na indústria de fumo e nas fábricas de perfumes (PESCE, 2009; ZOGHBI et al., 2000).

Na medicina popular, o extrato aquoso da casca do fruto de cumaru é utilizado como antiespasmódico e geralmente tônico no combate a tosse, gripes e problemas pulmonares (CARVALHO, 2009; PESCE, 2009; RIOS et al., 2011). A partir do cozimento dos frutos e das sementes, obtém-se um tipo de fortificante que age como um eficiente moderador dos batimentos cardíacos e respiratórios (CARVALHO, 2009; COINTE, 1947; LOUREIRO et al., 1979), além de atuar sobre o sistema nervoso cérebro-espinhal em razão do seu efeito anestésico e, apresentar propriedades diaforéticas e emenagogas (CARVALHO, 2009; PASTORE et al., 1998; PRANCE et al., 1975).

Esses produtos naturais por serem biodegradáveis, renováveis e conterem substâncias farmacológicas em potencial, também despertam interesse na descoberta de suas atividades microbiológicas (FERNANDES et al., 2011), destacando-se no que se refere ao controle alternativo de doenças que atacam uma grande variedade de culturas (CUNICO et al., 2006), como por exemplo, a antracnose, doença em pós-colheita de maior ocorrência nas regiões tropicais e subtropicais, atingindo frutas como o mamão (*Carica papaya*), a manga (*Mangifera indica*) e a banana (*Musa* sp.), sendo causada por fungos do gênero *Colletotrichum* (LIMA FILHO et al., 2003).

A cultura da bananeira, cujos frutos são consumidos quase sempre *in natura*, sofre vários problemas fitossanitários (OLIVEIRA et al., 2016). Economicamente, *Colletotrichum musae*, causa prejuízos no campo e em pós-colheita, pois infecta os frutos imaturos por penetração direta da cutícula até os frutos maduros (COUTO et al., 2004). A planta com antracnose sofre intensa desfolha e seca de ramos, e os frutos formam lesões escuras e deprimidas. Com o progresso da doença, estas lesões aumentam de tamanho, tornando os frutos inviáveis para a exportação (TAVARES et al., 2005).

O método de controle mais utilizado para a antracnose é o químico. No entanto, estudos realizados com produtos naturais têm se mostrado eficazes no controle dessa doença em frutíferas, devido à ação fungitóxica, sendo úteis para as indústrias no desenvolvimento de futuros produtos biocompatíveis, seja como produto/componente *in natura*, ou como modelo para síntese ou semissíntese química de produtos com características tóxicas necessárias (MORAIS, 2009).

Negreiros et al. (2013), ao avaliar óleos essenciais no controle da antracnose da banana 'prata' e compará-los com o efeito do fungicida preconizado (tiabendazol), obteve a não depreciação dos frutos e redução da doença; Venturoso et al. (2010) destacou a ação do óleo de eucalipto (*Eucalyptus citriodora*) sobre *Colletotrichum gloeosporioides* em mamão; e Carnellosi et al. (2009) indicou atividade antifúngica para os óleos de capim-limão (*Cymbopogon citratus*) e menta (*Mentha piperita*). Nesse contexto, objetivou-se

avaliar o teor de cumarina (1,2-benzopirona) das frações obtidas das sementes de cumaru e suas atividades antifúngicas sobre *Colletotrichum musae*, agente causal da doença antracnose em banana.

METODOLOGIA

Para obtenção das frações, as sementes produzidas no município de Alenquer (PA) foram pesadas (50g), trituradas e realizadas extrações sucessivas à frio segundo metodologia adaptada de Taube Junior et al. (2014). Os procedimentos ocorreram em triplicata, tendo como solventes hexano P.A., diclorometano P.A. e álcool etílico P.A. a 96%, e duração de 48 horas para cada extração. Após evaporação do solvente, as frações foram armazenadas em frascos âmbar esterilizados. Os rendimentos foram calculados pela fórmula: [Massa do extrato (g)/Massa do material seco (g)] x 100.

A 1,2-benzopirona (cumarina) foi isolada a partir da extração hexânica à frio, em triplicata. O óleo obtido foi submetido ao processo de cristalização pela adição de hexano, aquecimento dessa solução a 60°C e volatilização do solvente a temperatura ambiente, segundo metodologia adaptada de Taube Junior et al. (2014). Em seguida, as impurezas foram removidas por lavagem com hexano e filtração a vácuo em Funil de Büchner, e obtidos os cristais de cumarina. Verificou-se a pureza da substância isolada através do Ponto de Fusão, Cromatografia em Camada Delgada (CCD) e Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa (CG-EM).

Para realização da análise por CCD foram utilizadas placas de alumínio (10 x 10cm) e sílica-gel 60 com indicador fluorescente e espessura da camada de 0,20mm. Cada amostra hexânica de óleo que foi pesada (20mg), foi adicionado 1mL de álcool etílico, homogeneizado, e aplicadas alíquotas de 10µL de seus volumes sobre a placa cromatográfica, à distâncias de 1,5cm cada. O padrão da 1,2-benzopirona e a cumarina isolada nas repetições foram pesadas à 10mg, adicionados 1mL de álcool metílico e aplicadas alíquotas de 10µL de seus volumes sobre as placas cromatográficas como descrito em Wagner et al. (2001).

O sistema consistiu de placas eluídas utilizando uma mistura contendo hexano: acetato de etila (80:20). Posteriormente, essas placas foram secas e reveladas com *p*-anisaldeído. Foram calculados os Fatores de Retenção (Rf) pela fórmula: $Rf = h/H$, onde: *h* = Altura da amostra a partir do ponto de aplicação. *H* = Altura máxima da fase móvel (TAUBE JUNIOR et al., 2014).

Para CG-EM, utilizou-se cromatógrafo HP-6890, coluna capilar de HP-5MS (30m x 0,25mm x 0,25µm) e detector operando a 70eV, varredura linear no intervalo de 30 a 500u.m.a. às condições cromatográficas temperatura do injetor 250°C e do detector 300°C, hélio como gás de arraste (1,0mL.min⁻¹) programação de temperatura 80°C a 280°C a uma taxa de 5°C.min⁻¹ e injeção de 1µL das frações e cumarina. Os compostos foram identificados por comparação com a biblioteca NIST05. Os ensaios antifúngicos foram realizados utilizando o fungo *Colletotrichum musae* isolado de frutos de banana, do qual foram obtidas colônias axênicas para utilização nos experimentos.

Preparou-se soluções contendo as frações e água destilada esterilizada, na proporção de 1:1, sendo adicionados Polivinilpirrolidona (PVP), na concentração 1:4 (extrato: PVP). Após as diluições, essas soluções foram filtradas em Millipore de porosidade 0,22µm, e colocadas em meio Batata-Dextrose-Ágar (BDA),

fundente (aproximadamente 45°C), para obtenção das concentrações de 10%; 20%; 30%; 40% e 50% (p:v). Após a adição das frações, os meios foram homogeneizados e vertidos em placas de Petri, onde depositou-se, centralmente, discos de 0,4cm contendo micélios do fungo (PINTO et al., 2003).

Os desafios foram incubados a 25°C, sob fotoperíodo de 12h. O controle consistiu do semeio do fungo em meio BDA sem adição das frações. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial, com quatro repetições. As avaliações foram realizadas medindo-se o diâmetro médio das colônias, diariamente, durante cinco dias. Foi considerada alta atividade antifúngica quando os extratos proporcionaram inibição igual ou superior a 50% (VENTUROSOSO et al., 2011). Os dados foram analisados pelo software estatístico SisVar 5.6 e as médias comparadas pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

DISCUSSÃO TEÓRICA

O maior rendimento das frações das sementes de cumaru foi obtido na fração hexânica. A cumarina isolada da fração hexânica representou 3,4% do seu rendimento (tabela 1). Para a 1,2-benzopirona cristalizada, constatou-se o ponto de fusão entre 68-70°C, e pelo método de CCD, confirmou-se o isolamento dessa substância nas aplicações 2, 4 e 6, conforme se pode ver na figura 1A, devido à intensidade, coloração e igual fator de retenção (0,52), quando comparadas com a 1,2-benzopirona sintética. Nas aplicações 3, 5 e 7 referentes aos óleos (figura 1A), além da cumarina simples, a placa revelada expôs manchas de coloração azulada (figura 1B, aplicações 3, 5 e 7), sugerindo a presença de ácidos graxos. Essa revelação também demonstrou que os isolados de 1,2-benzopirona não se encontram contaminados por ácidos graxos (Figura 1B, aplicações 2, 4 e 6).

Tabela 1: Rendimento médio das frações de óleo obtidas das sementes de cumaru por extrações sucessivas à frio.

	Frações de óleo		
	Hexânica	Diclorometânica	Etanólica
Massa	7,2 g	1,5 g	3,6 g
Rendimento	14,4%	3%	7,2%
Cumarina cristalizada	1,7 g	-	-
Rendimento da cumarina	3,4%	-	-

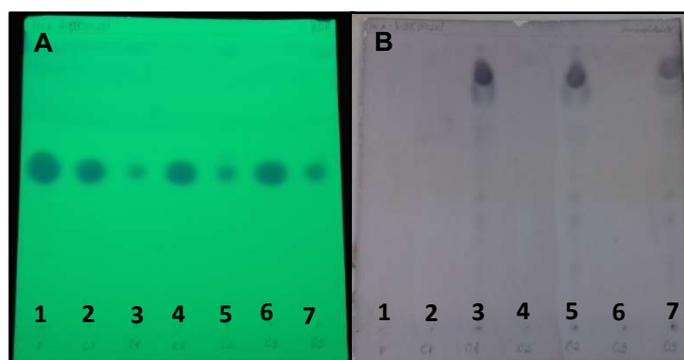


FIGURA 1: Placa de CCD eluída em mistura de hexano: acetato de etila (80:20): **A:** Cumaru (*Dipteryx* sp.) visualizada no comprimento de onda de 254nm; **B:** Cumaru (*Dipteryx* sp.) revelada com *p*-anisaldeído. 1 = Padrão (1,2-benzopirona sintética); 2 = Cumarina isolada, Repetição 1; 3 = Óleo, Repetição 1; 4 = Cumarina isolada, Repetição 2; 5 = Óleo, Repetição 2; 6 = Cumarina isolada, Repetição 3; 7 = Óleo, Repetição 3.

A análise por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa indicou com porcentagem relativa de 100% e tempo de retenção de 13,9 minutos, o isolamento da 1,2-benzopirona das sementes. A

mesma porcentagem dessa substância foi encontrada quando realizada análise da fração hexânica íntegra. As frações diclorometânica e etanólica apresentaram dois constituintes que diferiram apenas nas porcentagens relativas, a 1,2-benzopirona, com 83,8% na fração etanólica e a 3,4-dihidroocumarina, com 20,2% na fração diclorometânica, que pode ser visualizada na tabela 2.

Tabela 2: Análise química das frações de óleo obtidas das sementes de cumaru por extrações sucessivas à frio.

	Frações de óleo		
	Hexânica	Diclorometânica	Etanólica
1,2-benzopirona (Cumarina)	100%	79,8%	83,8%
3,4-dihidroocumarina	-	20,2%	16,2%

Em relação à atividade antifúngica, houve diferença significativa para os fatores isoladamente (frações e concentrações), bem como para a interação entre eles ($p \leq 0,05$). Considerando os fatores isoladamente, a fração diclorometânica e a concentração de 40% proporcionaram os menores diâmetros médios das colônias de *C. musae*.

Analisando a interação entre os fatores (frações x concentrações), a fração hexânica proporcionou as maiores reduções no diâmetro de *C. musae* nas concentrações de 30, 40 e 50%, que não diferiram estatisticamente entre si. Todas as concentrações da fração diclorometânica reduziram o crescimento do fitopatógeno avaliado, enquanto que, apenas a concentração de 10% da fração etanólica ocasionou redução no diâmetro médio da colônia do fitopatógeno em relação ao tratamento controle (tabela 3). As médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas nas colunas e pelas mesmas letras maiúsculas nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,01$).

Tabela 3: Diâmetro médio das colônias de *Colletotrichum musae* submetidas às diferentes concentrações das frações de óleo obtidas de sementes de cumaru produzidas em Alenquer (PA).

Frações	Diâmetro médio das colônias (cm)						
	Concentrações (%)						
	Controle	PVP	10	20	30	40	50
Hexânica	4,0 aA	4,1 aA	4,0 aA	3,9 aA	3,8 bB	3,8 bB	3,8 bB
Diclorometânica	4,0 aA	4,1 aA	3,7 bB	3,8 bB	3,7 bBC	3,5 cC	3,7 bBC
Etanólica	4,0 aAB	4,1 aA	3,7 bC	3,9 abB	3,9 aB	3,9 aAB	3,9 aAB
CV (%)							2,2

Legenda: PVP: Polivinilpirrolidona.

As cumarinas têm na natureza como representante mais simples a 1,2-benzopirona que foi isolada pela primeira vez de frutos de *Dipteryx odorata*, por Vogel, em 1820 (CORRÊA, 2014; SULLIVAN, 1982). São sintetizadas, principalmente, nas folhas, mas ocorrem em níveis mais altos nos frutos, seguido pelas raízes e caules. No entanto, mudanças sazonais e condições ambientais podem afetar a ocorrência das mesmas em várias partes da planta (OJALA, 2001).

Quanto ao maior rendimento de óleo e cumarina na fração hexânica, Baggio (2014) relatou em seu estudo que o n-hexano foi o solvente que conseguiu extrair maior quantidade de cumarinas, provavelmente, devido ao fato destes compostos serem lipofílicos, ocorrendo assim maior afinidade química com solvente apolar.

Corroborando com os dados obtidos no isolamento da cumarina simples em relação ao ponto de fusão e análises cromatográficas, Egan et al. (1990) inferiu que a 1,2-benzopirona possui massa molecular de 146,15μ, ponto de fusão entre 68-70°C, ponto de ebulição de 303°C e densidade de 0,94g.cm⁻³. Bentes et al. (1981) indica que a composição de ácidos graxos no óleo de cumaru é bastante expressiva, sendo 6,6% de ácido palmítico, 4,5% de ácido esteárico, 47,3% de ácido oleico, 21,6% de ácido linoleico, 5,5% de ácido linolênico, 6,2% de ácido araquídico, 4,3% de ácido beênico e 3,9% de ácido lignocérico.

Em relação à presença do composto 3,4-dihidrocumarina nas frações diclorometânica e etanólica encontradas nesse trabalho, podemos destacar que, segundo Pesce (2009), as favas de cumaru do Pará são preparadas com menor cuidado e misturadas, o que podem influenciar diretamente na composição química e atividade biológica, em função da variedade de espécies inseridas no ambiente de coleta deste material.

A variação encontrada para a atividade antifúngica em relação às frações e concentrações avaliadas pode ser explicada por Souza (2005), onde relata que, a capacidade de diferentes produtos de origem vegetal em promover a redução ou o crescimento de fungos depende da sua composição química, que é diferente entre as espécies de plantas e influenciada pelas condições culturais, fatores climáticos e estágio de desenvolvimento da planta. Celoto et al. (2008), avaliaram 20 espécies de plantas e somente os extratos provenientes de espiroideira, eucalipto e melão de são caetano obtiveram porcentagem de inibição superior a 50% no controle de *Colletotrichum gloeosporioides*.

Oliveira et al. (2016) avaliando o efeito de óleos e extratos de alecrim pimenta, cravo-da-índia e eucalipto no crescimento micelial de *C. musae*, verificaram que os óleos de alecrim pimenta e cravo-da-índia inibiram em 100% o crescimento do fungo nas concentrações de 50μL e 100μL, porém, o óleo de eucalipto não apresentou efeitos favoráveis, não havendo diferença estatística das concentrações com a testemunha.

CONCLUSÕES

O maior rendimento foi obtido na fração hexânica. A 1,2-benzopirona foi isolada das sementes de cumaru e identificada em todas as frações de óleo. Foram identificados por CG-EM os compostos 3,4-dihidrocumarina nas frações diclorometânica e etanólica, além da cumarina simples. A fração obtida por extração diclorometânica foi a mais eficiente na redução do crescimento micelial de *Colletotrichum musae*.

REFERÊNCIAS

BAGGIO, S. O.. **Extração de cumarinas de *Pterocaulon balansae* (Asteraceae)**. Monografia (Graduação em Farmácia) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.

BENTES, M. H. S.; SERRUYA, H.; ROCHA FILHO, G. N.. Análise dos óleos das amêndoas de duas leguminosas: Cumaru (*Coumarouna odorata* Aubl.) e olho de boi (*Mucuna altissima*). In: ENCONTRO DE PROFISSIONAIS DE QUÍMICA DA AMAZÔNIA, 2. **Anais**. São Luís, 1981.

CARNELOSSI, P. R.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S.; ITAKO, A. T.; MESQUINI, R. M.. Óleos essenciais no controle pós-colheita de *Colletotrichum gloeosporioides* em

mamão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.11, n.4, p.399-406, 2009. DOI: <http://doi.org/10.1590/S1516-05722009000400007>

CARVALHO, P. E. R.. **Cumaru-ferro *Dipteryx odorata***. Brasília: Embrapa, 2009.

CELOTO, M. I. B.; PAPA, M. F. S.; SACRAMENTO, L. V. S.; CELOTO, F. J.. Atividade antifúngica de extratos de plantas a *Colletotrichum gloeosporioides*. **Acta Scientiarum**, v.30, n.1, p.1-5, 2008.

COINTE, P.. **Amazônia Brasileira III: Árvores e Plantas Úteis** (indígenas e aclimatadas). 2 ed. Rio de Janeiro: Brasiliana, 1947.

CORRÊA, A. J. C.. **Análise comparativa de atividades antimicrobiana e citotóxica de extratos brutos e frações do rizoma de *Alpinia zerumbet* (PERS.) B.L. BURTT. & R.M. SM. com três cumarinas sintéticas.** Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2014.

COUTO, E. F. E.; MENEZES, M.. Caracterização fisiomorfológica de isolados de *Colletotrichum musae*. **Fitopatologia Brasileira**, v.29, n.4, p.406-412, 2004. DOI: <http://doi.org/10.1590/S0100-41582004000400008>

CUNICO, M. M.; CARVALHO, J. L. S.; ANDRADE, C. A.; MIGUEL, O. G.; MIGUEL, M. D.; AUER, C. G.; GRIGOLETTI JÚNIOR, A.; CÔCCO, L. C.; YAMAMOTO, C. I.. Atividade antifúngica de extratos brutos de *Ottonia martiana* Miq., Piperaceae. **Visão Acadêmica**, v.7, p.15-24, 2006. DOI: <http://doi.org/10.5380/acd.v7i2.9024>

EGAN, D.; O'KENNEDY, R.; MORAN, E.; COX, D.; PROSSER, E.; THORNES, R. D.. The Pharmacology, Metabolism, Analysis, and Applications of coumarin and coumarin-related compounds. **Drug Metabolism Review**, v.22, n.5, p.503-529, 1990. DOI: <http://doi.org/10.3109/03602539008991449>

FERNANDES, O. C. C.; CARNEIRO, A. L. B.; SILVA, A. B.; FEITOSA, K. B.; LEMOS, R. A.; FILHO, R. F. C.; SILVA, J. C.. Compostos Naturais e Atividade Antimicrobiana. In: TEIXEIRA, M. F. S.; SILVA, T. A.; PALHETA, R. A.; CARNEIRO, A. L. B.; ATAYDE, H. M.. **Fungos da Amazônia: uma riqueza inexplorada** (Aplicações Biotecnológicas). Manaus: EDUFAM, 2011. p.82-103.

LIMA FILHO, R. M.; OLIVEIRA, S. M. A.; MENEZES, M.. Caracterização enzimática e patogenicidade cruzada de *Colletotrichum* spp. associados a doenças de pós-colheita. **Fitopatologia Brasileira**, v.28, p.620-625, 2003. DOI: <http://doi.org/10.1590/S0100-41582003000600007>

LOUREIRO, A. A.; SILVA, M. F.; ALENCAR, J. C.. **Essências madeireiras da Amazônia**. 2 ed. Manaus: INPA, 1979. MORAIS, L. A. S.. Óleos essenciais no controle fitossanitário. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B.. **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa, 2009. p.137-150.

NEGREIROS, R. J. Z.; SALOMÃO, L. C. C.; PEREIRA, O. L.; CECON, P. R.; SIQUEIRA, L. D.. Controle da antracnose na pós-colheita de bananas-prata com produtos alternativos aos agrotóxicos convencionais. **Revista Brasileira Fruticultura**, v.35, n.1, p.51-58, 2013.

OJALA, T.. **Biological Screening of Plant Coumarins**. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) - Universidade do Helsinki, Finlândia, 2001.

OLIVEIRA, E. S.; VIANA, F. M. P.; MARTINS, M. V. V.. Alternatives to fungicides in the control of banana anthracnose. **Summa Phytopathologica**, v.42, n.4, p.340-350, 2016. DOI: <http://doi.org/10.1590/0100-5405/2000>

PASTORE, J. F.; BORGES, V. L.. **Produtos Florestais Não-Madeireiros: Processamento, coleta e comercialização**. Brasília: UnB, 1998.

PESCE, C.. **Oleaginosas da Amazônia**. 2 ed. Belém: MPEG, 2009.

PINTO, T. J. A.; KANEKO, T. M.; OHARA, M. T. **Controle biológico de qualidade de produtos farmacêuticos, correlatos e cosméticos**. 2 ed. São Paulo: Atheneu, 2003.

PRANCE, G. T.; SILVA, M. F.. **Árvores de Manaus**. Manaus: INPA, 1975.

RIOS, M. N. S.; PASTORE JUNIOR, F.. **Plantas da Amazônia: 450 espécies de uso geral**. Brasília: UnB, 2011.

SOUZA, S. M.. **Atividade antibacteriana de cumarinas naturais e derivados**. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

SULLIVAN, G.. Occurrence of umbelliferone in the seeds of *Dipteryx odorata* (Aubl.) Willd. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.30, n.3, p.609-610, 1982. DOI: <http://doi.org/10.1021/jf00111a051>

TAUBE JUNIOR., P. S.; CASTRO, K. C. F.; BARATA, L. E. S.. **Experimentos de Química**. Santarém: UFOPA, 2014.

TAVARES, G. M.; SOUZA, P. E.. Efeito de fungicidas no controle in vitro de *Colletotrichum gloeosporioides*, agente etiológico da Antracnose do Mamoeiro (*Carica papaya* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, v.29, n.1, p.52-59, 2005. DOI: <http://doi.org/10.1590/S1413-70542005000100006>

VENTUROSO, L. R.; BACCHI, L. M. A.; GAVASSONI, W. L.; CONUS, L. A.; PONTIM, B. C. A.; BERGAMIN, A. C.. Influência de diferentes metodologias de esterilização sobre a atividade antifúngica de extratos aquosos de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.12, n.4, p. 499-505, 2010. DOI: <http://doi.org/10.1590/S1516-05722010000400014>

VENTUROSO, L. R.; BACCHI, L. M. A.; GAVASSONI, W. L.; CONUS, L. A.; PONTIM, B. C. A.; BERGAMIN, A. C.. Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o desenvolvimento de fitopatógenos. **Summa Phytopathologica**, v.37, n.1, p.18-23, 2011. DOI: <http://doi.org/10.1590/S0100-54052011000100003>

WAGNER, H.; BLADT, S.. **Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas**. 2 ed. Berlin: Springer, 2001. ZOGHBI, M. G. B.; ANDRADE, E. H.; MAIA, J. G. S.. **Aroma de flores da Amazônia**. Belém: MPEG, 2000.