

**Ação protetora de *Duguetia furfuracea* (A. St.-Hil.) Saff. contra a toxicidade do cloreto de mercúrio em *Escherichia coli***

**Protective action of *Duguetia furfuracea* (A. St.-Hil.) Saff. against toxicity due to mercury chloride in *Escherichia coli***

**Acción protectora de *Duguetia furfuracea* (A. St.-Hil.) Saff. contra la toxicidad por cloruro de mercurio en *Escherichia coli***

MSc. Cicera Norma Fernandes Lima, BSc. Tânia Francelino Valero, MSc. Nadghia Figueiredo Leite, BSc. Liscássia Beatriz Batista Alencar, PhD. Edinaldo Fagner Ferreira Matias, PhD. Marta Regina Kerntopf, PhD. Henrique Douglas Melo Coutinho

Laboratório de Farmacologia e Química Molecular, Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular, Universidade Regional do Cariri. Crato-CE, Brasil.

---

**RESUMO**

**Introdução:** o mercúrio constitui um dos metais mais tóxicos e sua contaminação tem sido alvo de muitos estudos que buscam desvendar os mecanismos envolvidos em sua toxicidade e seus efeitos deletérios para os seres vivos. A espécie *Duguetia furfuracea* (A. St.-Hil.) Saff., conhecida popularmente como araticum-bravo, ata-brava e ata de lobo, tem sido utilizada na medicina popular como anti-reumáticas, para o tratamento de disfunções renais, dores na coluna e no estômago, e contra pediculose.

**Objetivo:** avaliar o efeito citoprotetor do extrato etanólico e frações de *D. furfuracea* frente ao metal pesado cloreto de mercúrio (HgCl<sub>2</sub>).

**Métodos:** a caracterização dos metabólitos secundários foi realizada através de prospecção fitoquímica, na qual se observam a alteração de cor ou formação de precipitados após adição de reagentes específicos. A Concentração Inibitória Mínima

(CIM) foi determinada pelo método de microdiluição em caldo e a Concentração Bactericida Mínima (CBM) verificada utilizando placas de petri com HIA (*Heart Infusion Agar*) para transferência das soluções incubadas em placas de microdiluição.

**Resultados:** a prospecção fitoquímica revelou a presença de taninos, flavonoides e alcaloides. Todas as amostras apresentaram um CIM  $\geq 1024 \mu\text{g/mL}$ . De acordo com os resultados obtidos na CBM, o extrato etanólico e as frações de *D. furfuracea*, exceto a fração hexânica, apresentaram atividade citoprotetora à bactéria *E. coli* frente ao metal pesado cloreto de mercúrio, sendo essa ação atribuída às propriedades quelantes dos flavonoides.

**Conclusões:** os dados obtidos indicam a espécie *D. furfuracea* como uma fonte promissora no combate a metais pesados, apresentando-se como protetora de seres procariontes. Este é o primeiro relato do uso de plantas medicinais como agente citoprotetor em modelo bacteriano.

**Palavras-chave:** *Duguetia furfuracea* (A. St.-Hil.) Saff., cloreto de mercúrio, flavonoides, quelação.

---

## ABSTRACT

**Introduction:** mercury is one of the most toxic metals. Contamination by mercury has been the object of many studies aimed at unraveling the mechanisms involved in its toxicity and its harmful effects on living beings. The species *Duguetia furfuracea* (A. St.-Hil.) Saff., popularly known as 'asa-brava', 'ata-brava' and 'ata de lobo', has been used in folk medicine as antirheumatic and for the treatment of renal dysfunction, spinal pain, stomach ache and pediculosis.

**Objective:** evaluate the cytoprotective effect of the ethanolic extract and fractions of *D. furfuracea* against the heavy metal mercury chloride ( $\text{HgCl}_2$ ).

**Methods:** characterization of secondary metabolites was performed by phytochemical screening, in which color change and precipitate formation are examined after the addition of specific reagents. Minimum inhibitory concentration (MIC) was determined by broth microdilution, and minimum bactericidal concentration (MBC) was verified using petri plates with HIA (heart infusion agar) to transfer the solutions incubated on microdilution plates.

**Results:** phytochemical screening revealed the presence of tannins, flavonoids and alkaloids. All samples exhibited a MIC  $\geq 1024 \mu\text{g/mL}$ . MBC results showed that the ethanolic extract and all fractions of *D. furfuracea* except for the hexane fraction have cytoprotective activity by the bacterium *E. coli* against mercury chloride, an action attributed to the chelating properties of flavonoids.

**Conclusions:** data point to the promising value of the species *D. furfuracea* against heavy metals, presenting as protectors of prokaryote beings. This is the first report on the use of medicinal plants as cytoprotective agents on the bacterial model.

**Key words:** *Duguetia furfuracea* (A. St.-Hil.) Saff., mercury chloride, flavonoids, chelation.

---

## RESUMEN

**Introducción:** el mercurio es uno de los metales más tóxicos y su contaminación ha sido objeto de muchos estudios que tratan de desentrañar los mecanismos implicados en su toxicidad y sus efectos nocivos en los seres vivos. La especie

---

*Duguetia furfuracea* (A. St.-Hil.) Saff., popularmente conocido como 'araticum-bravo', 'ata-brava' y 'ata de lobo', se ha utilizado en la medicina popular como un anti-reumático para el tratamiento de la disfunción renal, dolor vertebral y de estómago, y contra la pediculosis.

**Objetivo:** evaluar el efecto citoprotector del extracto de etanol y fracciones de *D. furfuracea* al metal pesado cloruro de mercurio (HgCl<sub>2</sub>).

**Métodos:** la caracterización de metabolitos secundarios se realizó mediante la prospección fitoquímica, en la que se observa el cambio de color o la formación de precipitados después de la adición de los reactivos específicos. La Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) se determinó mediante microdilución en caldo y la Concentración Bactericida Mínima (CBM) verificada usando placas de petri con HIA (*Heart Infusion Agar*) para transferencia de las soluciones incubadas en placas de microdilución.

**Resultados:** la prospección fitoquímica reveló la presencia de taninos, flavonoides y alcaloides. Todas las muestras presentaron una CIM  $\geq 1024 \mu\text{g/mL}$ . De acuerdo con los resultados obtenidos en la CBM, el extracto de etanol y fracciones de *D. furfuracea*, excepto la fracción de hexano, mostraron actividad citoprotectora de la bacteria *E. coli* delante del cloruro de mercurio, siendo esa acción atribuida a las propiedades quelantes de los flavonoides.

**Conclusiones:** los datos obtenidos indican que la especie *D. furfuracea* como una fuente prometedora para combatir los metales pesados, que se presentan como protectores de seres procariontes. Este es el primer informe del uso de plantas medicinales como agente citoprotector en el modelo bacteriano.

**Palabras clave:** *Duguetia furfuracea* (A. St.-Hil.) Saff., cloruro de mercurio, los flavonoides, la quelación.

---

## INTRODUÇÃO

Há milhares de anos, metais pesados têm sido utilizados por seres humanos e, apesar de sua toxicidade ter sido bem relatada, a exposição a estes elementos tem aumentado principalmente em países menos desenvolvidos.<sup>1,2</sup> A contaminação por metais pesados tem sido alvo de muitos estudos com a finalidade de desvendar os mecanismos envolvidos em sua toxicidade e seus efeitos deletérios para os seres vivos.<sup>3</sup>

O mercúrio, um dos sérios poluentes ambientais, constitui um dos metais mais tóxicos, não tendo função biológica conhecida.<sup>4,5</sup> As fontes potenciais de mercúrio são resultantes da mineração do ouro, atividades industriais, queima de lixo, fundições e garimpo,<sup>6,7</sup> exploração mineral e refino do metal, fábricas de cloro-álcali, indústrias de polpa e papel, indústrias de plástico e eletrônica, práticas agrícolas, hospitais e indústrias de medicamentos de mercúrio.<sup>8</sup>

Verificou-se que anualmente toneladas de cloreto de mercúrio (HgCl<sub>2</sub>) estão sendo liberados na atmosfera principalmente por processos industriais e de resíduos urbanos.<sup>9</sup> Segundo Aguiar e colaboradores,<sup>10</sup> poluição é qualquer alteração física, química ou biológica, que de alguma forma produza alterações no ciclo biológico normal, interferindo na composição da fauna e ou da flora do meio ambiente.

O mercúrio está presente no ambiente em diversas formas químicas, tais como, mercúrio metálico ( $\text{Hg}^0$ ) ou nas formas oxidadas, como o íon mercuroso ( $\text{Hg}_2^{2+}$ ) e o íon mercúrico ( $\text{Hg}^{2+}$ ) ou no estado elementar.<sup>8</sup> No estado elementar, esse metal, surge da degradação da crosta terrestre a partir de vulcões, porém as formas artificiais de mercúrio são mais diversificadas do que as consideradas naturais. O mercúrio é o único metal que em temperatura ambiente e em condições normais de pressão pode ser encontrado no estado líquido, formando vapores incolores e inodoros. Pode estar associado a outros elementos químicos formando compostos orgânicos (metilmercúrio), sendo também encontrado na forma de compostos inorgânicos ou sais.<sup>11</sup> Dentre estas formas, as mais comumente encontradas no ambiente são o mercúrio metálico, sulfeto de mercúrio, cloreto de mercúrio e o metilmercúrio.<sup>8</sup>

Microrganismos desenvolveram diversos mecanismos de resistência em resposta aos metais tóxicos.<sup>12</sup> Esses mecanismos podem ser codificados por genes cromossomais, todavia é mais frequente que estejam localizados em elementos genéticos móveis como plasmídeos e transposons.<sup>13,14</sup>

A resistência bacteriana ao mercúrio é um dos mecanismos de resistência a metais tóxicos mais estudados. Em bactérias Gram-negativas, em especial as pertencentes à espécie *Escherichia coli*, a presença de determinantes genéticos de resistência ao mercúrio vem sendo descritos, o que a torna uma alternativa promissora para processos de biorremediação. Entretanto em *E. coli* esta abordagem ainda é muito recente.<sup>15,16</sup>

Há evidências de que todas as plantas contêm naturalmente quantidades traços de mercúrio, mesmo porque o mesmo ocorre naturalmente nos solos. Entretanto, essa quantidade de mercúrio encontrada nos tecidos das plantas pode sofrer modificações por conta de ação antropogênica.<sup>17,5</sup>

As plantas medicinais desempenham um importante papel para medicina moderna, uma vez que através destas, pode-se fornecer fármacos extremamente úteis, os quais dificilmente seriam obtidos via síntese química. Os estudos com plantas medicinais têm sido responsáveis por inúmeras e importantes descobertas. Estas plantas não devem ser consideradas apenas como matéria-prima, mas também como um ponto de partida para a descoberta de novas moléculas, como um recurso natural potencialmente ativo.<sup>18</sup>

A espécie *Duguetia furfuracea* (A. St.-Hil.) pertence a família Annonaceae e é popularmente conhecida como araticum-do-campo, araticum-do-cerrado, araticum-bravo, ata-brava e ata de lobo.<sup>19</sup> Na medicina popular, várias partes da planta são utilizadas como anti-reumática, calmante, cicatrizante de feridas, no tratamento de dores nos rins e coluna,<sup>20</sup> contra pediculose,<sup>21</sup> problemas menstruais e distúrbios gastrointestinais como diarreia e dores no estômago.<sup>22,23</sup>

Este trabalho teve como objetivo avaliar o potencial citoprotetor do extrato etanólico e frações de *D. furfuracea* frente ao cloreto de mercúrio ( $\text{HgCl}_2$ ).

## MÉTODOS

### Material bacteriano

As cepas bacterianas utilizadas foram linhagem padrão espécie *Escherichia coli* ATCC11105. As cepas foram mantidas em *slants* com *Heart Infusion Agar* (HIA, Difco laboratorises Ltda.). Antes do ensaio, as células foram cultivadas por 24 h em Infusão Cérebro Coração (BHI, Difco Laboratories Ltda.).

## Material vegetal

As folhas de *D. furfuracea* foram coletadas no mês de Junho de 2010, no Sítio Barreiro Grande localizado no município de Crato-CE, em área de Cerrado da Chapada do Araripe. O material vegetal foi identificado pela Profa. Dra. Maria Arlene Pessoa da Silva e uma exsicata depositada no Herbário Caririense Dárdano de Andrade-Lima (HCDAL) do Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Regional do Cariri (URCA), sob registro nº 5508.

## Preparação do extrato bruto e frações

O extrato etanólico foi preparado a partir das folhas frescas de *D. furfuracea* (EEDF) (637 g) que permaneceram submersas em etanol por 72 horas, sendo após esse período filtrado e concentrado em aparelho evaporador rotatório a 80 °C sob pressão reduzida, obtendo-se rendimento de 5,2 % de extrato bruto. Realizou-se o fracionamento do extrato etanólico (10 g) sob filtração a vácuo, utilizando três solventes (de acordo com escala de polaridade): hexano (HFEEDF), acetato de etila (AEEEDF) e metanol (MEEEDF), obtendo-se respectivamente os seguintes rendimentos: 0,2 %, 0,5 % e 1,2 %. As soluções utilizadas nos testes foram preparadas sob uma concentração de 10 mg/mL, dissolvidas em DMSO e em seguida diluída com água destilada para uma concentração de 1,024 µg/mL.

## Prospecção fitoquímica

A prospecção fitoquímica do extrato etanólico das folhas de *D. furfuracea* foi realizada seguindo a metodologia de Matos,<sup>24</sup> onde para se identificar as classes de metabólitos secundários observamos a alteração de cor ou formação de precipitados após adição de reagentes específicos.

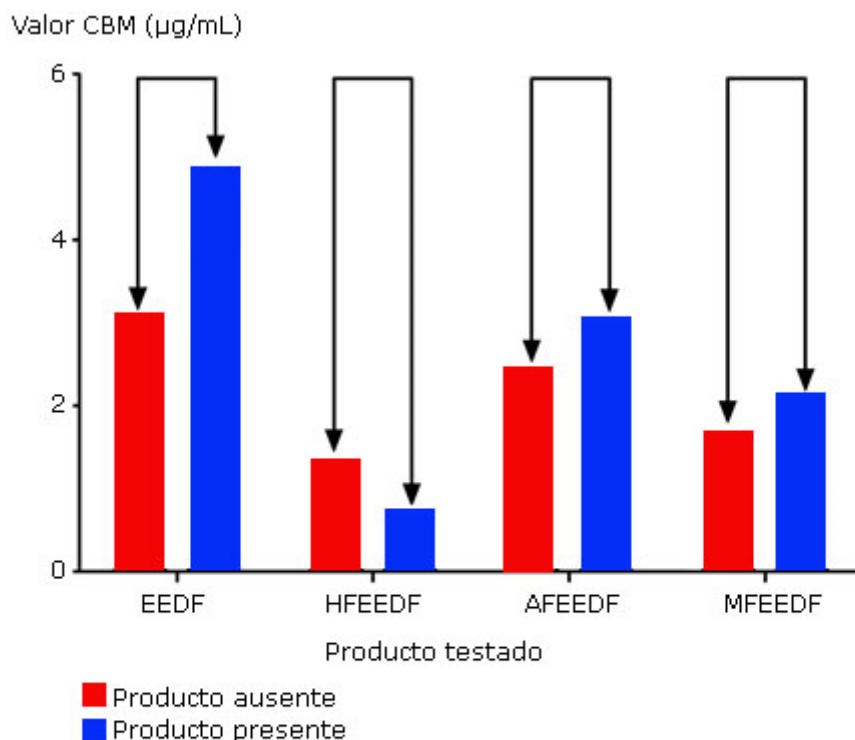
## Teste de atividade antibacteriana e modulação dos metais

De acordo com Coutinho e colaboradores,<sup>25</sup> modificado, as concentrações inibitórias mínimas (CIM) do Extrato Etanólico das folhas de *D. furfuracea* (EEDF) e frações, foram determinados pelo ensaio de microdiluição usando suspensões de  $10^5$  UFC/mL em solução salina e produtos na concentração inicial de 1.024µg/mL. A CIM foi definida como a concentração mais baixa à qual não foi observado crescimento. Para a avaliação do efeito protetor EEDF e das frações ao metal pesado, foi realizada uma modulação utilizando concentrações sub-inibitórias dos produtos, suspensões de  $10^5$  UFC/mL de *E. coli* ATCC 11105 em meio M9 Tris com 2 % de glicose e uma de concentração do Cloreto de Mercúrio variando de 10 mM a 0,0048 mM. As placas de microdiluição foram incubadas por 48 h a 37 °C. A concentração bactericida mínima (CBM) foi determinada como a menor concentração capaz de inibir o crescimento dos microrganismos, utilizando placas de Petri com HIA para transferência das soluções incubadas em placas de microdiluição. Cada produto natural foi avaliado em relação ao experimento controle com apenas o metal pesado. As placas foram incubadas numa estufa a aproximadamente 37 °C e a leitura realizada após 24 horas da incubação.

## RESULTADOS

A análise fitoquímica das folhas de *D. furfuracea*, permitiu identificar a presença de taninos condensados, chalconas, auronas, catequinas, flavononas e alcaloides (tabela).

Os resultados apresentados da CIM para todas as amostras foram  $\geq 1,024 \mu\text{g/mL}$ , valor este que não demonstra relevância clínica. Entretanto, na CBM os resultados demonstram que tanto o extrato etanólico quanto as frações acetato de etila e metanólica apresentaram uma atividade citoprotetora nas concentrações analisadas, visto que a bactéria na presença dos produtos precisaria de uma concentração mais elevada do cloreto de mercúrio para que ocorresse a morte dos mesmos. Já a fração hexânica não apresentou tal efeito, pois na presença do produto natural seu CBM foi reduzido (figura).



EEDF – Extrato Etanólico de *Duguetia furfuraceae*; HFEEDF – Fração Hexânica do Extrato Etanólico de *Duguetia furfuraceae*; AFEEDF – Fração Acetato de Etila do Extrato Etanólico de *Duguetia furfuraceae*; MFEEDF – Fração Metanólica do Extrato Etanólico de *Duguetia furfuraceae*.

**Fig.** Efeito protetor do extrato etanólico e frações de *D. furfuracea* contra metal pesado cloreto de mercúrio.

## DISCUSSÃO

Para sobreviverem em ambientes contaminados com metais, as plantas são capazes de desenvolver mecanismos de regulação, de acordo com sua capacidade de tolerância.<sup>26</sup> Estas diferem na sua habilidade em retirar, acumular e tolerar metais pesados, podendo ocorrer diferenças relevantes entre as espécies, entre variedades de uma mesma espécie e também entre tecidos da mesma planta.<sup>26,27</sup>

A tolerância intracelular é um dos mecanismos utilizados pelas plantas quando estas querem induzir compostos quelantes no metal. Os metais podem ser acumulados tanto na parede, como no citoplasma ou em vacúolos das células.<sup>28</sup> Vários estudos relatam que a quelação intracelular é potencialmente um mecanismo de detoxicação e tolerância, ao excesso de metais, utilizado pelas plantas em resposta ao estresse nutricional.<sup>29</sup>

A diversidade de plantas medicinais utilizadas no Brasil como uma forma de alternativa no tratamento de doenças tem estimulado o estudo para isolamento de seus princípios ativos. Várias plantas possuem atividade antibacteriana e antifúngica comprovadas, resultado de compostos de metabolismo secundário (terpenóides) e compostos fenólicos.<sup>30,31</sup> Compostos fitoquímicos que apresentam em sua estrutura um anel aromático com uma ou mais hidroxilas são denominados de compostos fenólicos e, geralmente apresentam propriedade antioxidante.<sup>32</sup>

Os flavonoides atuam como antioxidantes primários reagindo com os radicais livres, e também como quelantes de metais. Flavonas e flavonóis são as duas principais classes de flavonoides encontradas universalmente na natureza.<sup>33</sup> Pelos resultados encontrados no estudo, as classes de substâncias revelaram que taninos, flavonoides e alcaloides estão presentes nas folhas de *D. furfuracea*.

Estudos realizados por Behling e colaboradores<sup>34</sup> demonstraram que a atividade antioxidante de flavonoides, é devido às propriedades quelantes dos mesmos. Os compostos fenólicos podem ser largamente complexados aos metais.<sup>35</sup> A quelação poderá manter o metal em solução, favorecer o transporte ou torná-lo indisponível pela precipitação e envelhecimento do complexo formado.<sup>36</sup> Este efeito possivelmente explica a ação citoprotetora do extrato e frações de *D. furfuracea* frente ao cloreto de mercúrio, já que a prospecção fitoquímica demonstrou a presença de flavonoides.

De acordo com os resultados obtidos, o extrato etanólico e as frações de *D. furfuracea*, exceto a fração hexânica, apresentaram atividade citoprotetora à bactéria *E. coli* frente ao metal pesado cloreto de mercúrio. Os dados obtidos indicam a espécie *D. furfuracea* como uma fonte promissora no combate a metais pesados, apresentando-se como protetora de seres procariontes. Este é o primeiro relato do uso de plantas medicinais como agente citoprotetor em modelo bacteriano.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a CAPES, CNPq e FUNCAP, pelo suporte financeiro.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Jarup L. Hazards of heavy metal contamination. British Medical Bulletins. 2003;68(1):167-182.
2. Paula MT. Estudo das alterações comportamentais e bioquímicas induzidas pela exposição ao Hg (II) sobre o sistema antioxidante e vias de sinalização celular em *Drosophila melanogaster*. 2012. 94f. [Dissertação Mestrado]. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria: Centro de Ciências Naturais e Exatas; 2012.
3. Cogo AJD, Siqueira AF, Ramos AC, Cruz ZMA, Silva AG. Using oxidative stress enzymes as biomarkers in environmental impacts. Natureza online. 2009;7(1):37-42.
4. Cursino L, Mattos SVM, Silva NO, Chartone-Souza E, Nascimento AMA. Measurement of volatilized mercury by a mini-system: a simple, reliable and reproducible technique. Brazilian Archives of Biology and Technology. 2003;46(4):731-734.



5. Mendes PLA, Meyer ST, Noronha IAS, Gomes SMA, Santos MH. Alterações morfológicas em *Eichhornia crassipes* (Aguapè) (Mart.) Solms-Laubach (Pontederiaceae), exposta a elevadas concentrações de mercúrio. Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente. 2009;19(0):30-36.
6. Lemos RMA, Pinto FN, Guimarães JRD, Bianchini Jr. L, Fostier AH, Forti MC, et al. Macrófitas aquáticas e sedimentos como indicadores de Hg a jusante do garimpo do Tartarugalzinho, AP, Brasil. [CDROM]. In: IV Simpósio de Ecossistemas Brasileiros, 1998, Águas de Lindóia. Anais. São Paulo: Academia de Ciências do Estado de São Paulo, 02 a 07 de abril; 1998.
7. Esteves FA. Fundamentos de limnologia. 2. ed. Rio de Janeiro: Interciência, 1998. p. 602.
8. Azevedo FA. Toxicologia do mercúrio. São Carlos/SP: Editora Ri Ma, 3002. p. 272.
9. Boujbiha MA, Hamden K, Guerhazi F, Bouslma A, Omezzine A, Kammoun A, et al. Testicular toxicity in mercuric chloride treated rats: association with oxidative stress. Reproductive Toxicology. 2009;28(1):81-89.
10. Aguiar MRMP, Novaes AC, Guarino AWS. Remoção de metais pesados de efluentes industriais por aluminos silicatos. Química Nova. 2002;25(6):1145-1154.
11. Cardoso PCS, Lima PDL, Bahia MO, Amorim MIM, Burbano RR, Farias RAF. Efeitos Biológicos do Mercúrio e seus Derivados em Seres Humanos - uma revisão bibliográfica. Revista Paraense de Medicina. 2001;15(4):51-58.
12. Olaniran AO, Naicker K, Pillay B. Antibiotic resistance profiles of *Escherichia coli* isolates from river sources in Durban, South Africa. World Journal of Microbiology & Biotechnology. 2009;25(10):1743-1749.
13. Cervantes C, Gutierrez-Corona F. Copper resistance mechanisms in bacteria and fungi. FEMS Microbiology Reviews. 1994;14(2):121-138.
14. Wuertz S, Mergeay M. The impact of heavy metals on soil microbial communities and their activities. In: Van Elsas JD, Wellington EMH, Trevors JT, editores. Modern Soil Microbiology. Nova Iorque: Marcel Dekker; 1997. p. 1-20.
15. Vetriani C, Chew YS, Miller SM, Yagi J, Coombs J, Lutz RA, et al. Mercury adaptation among bacteria from a deep-sea hydrothermal vent. Applied and Environmental Microbiology. 2005;71(1):220-226.
16. Zeyaulah M, Nabi G, Malla R, Ali A. Molecular studies of *E. coli* mercuric reductase gene (*merA*) and its impact on human health. Nepal Medical College Journal. 2007;9(3):182-185.
17. Brito IC. A importância dos bioindicadores vegetais no ambiente aéreo, aquático e terrestre – plantas indicadoras do mercúrio. [CDROM]. In: XXXIV Congresso Nacional de Botânica, 1983, Porto Alegre. Anais. Porto Alegre: Sociedade Botânica do Brasil/Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 23 a 29 de janeiro; 1983.
18. Floriani SC. Atividade antimicrobiana do extrato hexânico de *Drimys angustifolia*. 2010. 33f. [Monografia]. Universidade Regional de Blumenau, Blumenau: Centro de ciências da Saúde; 2010.



19. Agra MF, França PF, Barbosa-Filho JM. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2007;17(1):114-140.
20. Pott A, Pott VJ. *Plantas do pantanal*. Brasília, DF: EMBRAPA-SPI; 1994. p. 320.
21. Gavilanes ML, Brandão M. Plantas consideradas medicinais ocorrentes na Reserva Biológica Municipal do Poço Bonito, Município de Lavras, Minas Gerais. *Daphne* 1998;8(2):57-68.
22. Gottsberge IS. O cerrado como potencial de plantas medicinais e tóxicas. In: *Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil*. Oréades. 1982;8(14-15):15-30.
23. Lorenzi H, Matos FJA. *Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas*. Nova Odessa: Instituto Plantarum; 2002. p. 512.
24. Matos FJA. *Introdução à fitoquímica experimental*. 2. ed. Fortaleza: Editora UFC; 1997. 148 p.
25. Coutinho HDM, Costa JGM, Lima EO, Falcão-Silva VS, Siqueira-Júnior JP. Enhancement of the Antibiotic Activity against a Multiresistant *Escherichia coli* by *Mentha arvensis* L. and Chlorpromazine. *Chemotherapy*. 2008;54(4):328-330.
26. Válega M, Lillebo AI, Pereira ME, Caçador I, Duarte AC. Mercury in salt marshes ecosystems: *Halimione portulacoides* as biomonitor. *Chemosphere*. 2008;73(8):1224-1229.
27. Santos FS, Sobrinho NMBA, Mazur N, Garbisu C, Barrutia O, Becerril JM. Resposta antioxidante, formação de fitoquelatinas e composição de pigmentos fotoprotetores em *Brachiaria decumbens* Stapf submetida à contaminação com Cd e Zn. *Química Nova*. 2011;34(1):16-20.
28. Sousa A, Caçador I, Lillebo A, Pardal M. Heavy metal accumulation in *Halimione portulacoides*: Intra- and extra-cellular metal binding sites. *Chemosphere*. 2008;70(5):850-857.
29. Hall JL. Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *Journal of Experimental Botany*, Oxford. 2002;56(366):1-11.
30. Hulin V, Mathot AG, Mafart P, Dufosse L. Les propriétés anti-microbiennes des huiles essentielles et composés d'arômes. *Sciences des Aliments*. 1998;18(6):563-582.
31. Alves E. Atividade antioxidante de extratos de própolis comercializados em Santa Maria – RS e aplicação em linguça toscana refrigerada. 2009. 68f. [Dissertação Mestrado]. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria: Centro de Ciências Rurais; 2009.
32. Melo AE, Guerra NB. Ação antioxidante de compostos fenólicos naturalmente presentes em alimentos. *Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 2002;36(1):1-11.
33. Harborne JB, Williams CA. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*. 2000;55(6):481-504.

34. Behling EB, Sendão MC, Francescato HDC, Antunes LMG, Bianchi MLP. Flavonoid quercetin: general aspects and biological actions. *Alimentary Nutrition*. 2004;15(3):285-292.
35. Smith DS, Bell RA, Kramer JR. Metal speciation in natural waters with emphasis on reduced sulfur groups as strong metal binding sites. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 2002;133(1-2):65-74.
36. Stevenson FJ. *Humus Chemistry: genesis, composition, reactions*. 2. ed. New York: John Wiley; 1994. p. 496.

Recibido: 28 de junio de 2013.

Aprobado: 5 de abril de 2014.

*Dr. Henrique Douglas Melo Coutinho*. Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular, Departamento de Química Biológica, Universidade Regional do Cariri – URCA, Crato-CE, Brasil. Rua Cel. Antonio Luis 1161, Pimenta, 63105-000. Fone: +55(88)31021212; Fax +55(88) 31021291. Correo electrónico: hdmcoutinho@gmail.com