

Avaliação de atividades biológicas dos extratos de *Commiphora leptophloeos* (Imburana) (Mart.) J. B. Gillet

Evaluación de la actividad biológica de los extractos de *Commiphora leptophloeos* (Mart.) J. B. Gillet

Evaluation of the biological activity of extracts from *Commiphora leptophloeos* (Mart.) J. B. Gillet

Elaine Laíse Cavalcanti Clementino,^I Jocimar Silva Santos,^I Delcio de Castro Felismino,^I Ana Cláudia Dantas de Medeiros,^I Humberto Silva,^I Thiago Pereira Chaves^{II}

^IUniversidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, PB, Brasil.

^{II}Universidade Federal do Piauí, Bom Jesus, PI, Brasil.

RESUMO

Introdução: *Commiphora leptophloeos* (Mart.) J. B. Gillet (Burseraceae) é uma espécie vegetal utilizada na medicina tradicional da região semiárida brasileira contra diversas enfermidades, dentre as quais, destacam-se as infecciosas.

Objetivo: Avaliar atividades biológicas de extratos de *C. leptophloeos* obtidos por diversas técnicas de extração.

Métodos: Os extratos foram obtidos a partir das cascas por maceração, percolação, ultrassom e turbólise e submetidos a testes fitoquímicos, testes de suscetibilidade microbiana por microdiluição e de toxicidade aguda sobre náuplios de *Artemia salina*.

Resultados: As maiores concentrações de polifenóis e flavonoides foram encontradas nos extratos obtidos por turbólise. Os extratos de *C. leptophloeos* foram eficazes contra *S. aureus*. Os extratos apresentaram toxicidade moderada.

Conclusões: A planta estudada apresenta metabólitos secundários possuidores de importantes atividades farmacológicas e exibiram potencial antimicrobiano sobre *S. aureus*, sendo necessários novos estudos para avaliar a viabilidade desta planta para o desenvolvimento de novos medicamentos.

Palavras chave: *Commiphora leptophloeos*; plantas medicinais; etnofarmacologia; atividade antimicrobiana; toxicidade.

RESUMEN

Introducción: *Commiphora leptophloeos* (Mart.) J. B. Gillet (*Burseraceae*) es una especie usada en la medicina tradicional de la región semiárida de Brasil contra diversas enfermedades, con énfasis en las enfermedades infecciosas.

Objetivo: evaluar las actividades biológicas de los extractos de *C. leptophloeos* obtenidos por diferentes técnicas de extracción.

Métodos: los extractos de la corteza se obtuvieron por maceración, percolación, ultrasonido y turbólise. Fueron sometidos a ensayos fitoquímicos, pruebas de sensibilidad microbiana por microdilución y toxicidad aguda sobre *Artemia salina*.

Resultados: las concentraciones más altas de polifenoles y flavonoides fueron encontrados en los extractos por turbólise. Los extractos de *C. leptophloeos* fueron eficaces contra *S. aureus* y mostraron toxicidad moderada.

Conclusiones: la planta posee metabolitos secundarios con actividades farmacológicas importantes y actividad antimicrobiana frente *S. aureus*, otros estudios son necesarios para evaluar la viabilidad de esta planta para el desarrollo de nuevos fármacos.

Palabras clave: *Commiphora leptophloeos*; plantas medicinales; Etnofarmacología; actividad antimicrobiana; toxicidad.

ABSTRACT

Introduction: *Commiphora leptophloeos* (Mart.) J. B. Gillet (*Burseraceae*) is a species used in traditional medicine in the semiarid region of Brazil to treat a variety of conditions, particularly infectious diseases.

Objective: Evaluate the biological activities of *C. leptophloeos* extracts obtained by various extraction techniques.

Methods: The stem extracts were obtained by maceration, percolation, ultrasound and turbolise, and subjected to phytochemical analysis, microbial sensitivity testing by microdilution and acute toxicity testing against *Artemia salina*.

Results: The highest polyphenol and flavonoid concentrations were found in the extracts obtained by turbolise. *C. leptophloeos* extracts were effective against *S. aureus* and showed moderate toxicity.

Conclusions: The plant contains secondary metabolites with important pharmacological activities and antimicrobial activity against *S. aureus*. Further studies are required to evaluate the viability of this plant for the development of new drugs.

Keywords: *Commiphora leptophloeos*; medicinal plants; ethnopharmacology; antimicrobial activity; toxicity.

INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de drogas antimicrobianas foi uma das intervenções médicas mais importantes em relação à redução da morbidade e mortalidade humana, porém o uso indiscriminado dessas drogas tem provocado um aumento na frequência de patógenos resistentes. Este problema, tem levado pesquisadores de todo o mundo a buscar novas fontes de substâncias com tal atividade farmacológica, verificando-se em espécies vegetais um grande potencial para das referidas substâncias.

O Brasil apresenta um dos mais elevados índices mundiais de biodiversidade, assim como uma complexa heterogeneidade cultural, onde a população local ainda utiliza um vasto repertório de plantas com potencial terapêutico.¹ A Caatinga, no Nordeste brasileiro, é um bioma dono de uma grande diversidade de plantas com alto potencial antimicrobiano. Encontra-se nessa região um grande valor para a indústria farmacêutica. Isso faz com que o interesse por essas plantas seja aumentado, sendo necessário estudo de prospecção dessas plantas, para uma possível utilização em fitoterápicos.²

Dentre essas plantas pode-se destacar *Commiphora leptophloeos* (Mart.) J. B. Gillett, conhecida popularmente como Imburana, Imburana de cambão, imburana de espinho, pertencentes à família Burseraceae. É uma planta arbórea, facilmente encontrada na Caatinga, bioma exclusivo do Brasil. Apresenta tronco tortuoso, atingindo altura de 12 m, com casca de até 0,63 cm de espessura; as folhas são alternas, compostas, imparipinadas, com três a nove folíolos ovais, medindo de 1,5 cm a 3,5 cm de comprimento; as flores são pequenas, medindo de 3 a 4 mm de comprimento, de coloração verde bem clara, isoladas ou reunidas em pequenos grupos.³

Estudos relacionados à etnobotânica médica dessa espécie relatam o uso dessa espécie como cicatrizante e para o tratamento de tosse, bronquite, diarreia, além de diversas inflamações e infecções.⁴⁻⁹

Extratos vegetais são conhecidos por apresentarem propriedades antimicrobianas, e por serem uma complexa mistura de metabólitos secundários, muitas destas substâncias podem agir de maneira sinérgica para produzir tal efeito farmacológico.⁹ Por suas propriedades farmacológicas, diversos estudos realizados em diferentes países tem sido realizados para demonstrar esta eficácia desses extratos.^{11,12}

Um dos primeiros passos e que detém um papel crucial em qualquer pesquisa com plantas medicinais é a obtenção de extratos. Estes podem ser obtidos através de diversas técnicas que podem influenciar diretamente nas substâncias extraídas e em suas quantidades, e, conseqüentemente, em sua atividade farmacológica. Portanto, o objetivo deste trabalho foi realizar estudos fitoquímicos e avaliação das atividades biológicas de extratos de *C. leptophloeos* obtidos através de diferentes técnicas de extração.

MÉTODOS

Coleta do material vegetal e obtenção dos extratos

As amostras das cascas de *C. leptophloeos* foram coletadas na Fazenda Farinha, localizada na zona rural do município de Pocinhos-PB, nas coordenadas: 7°07'54.53" S e 36°07'14.51" O. Após a coleta, o material vegetal foi identificado

e depositado no Herbário Arruda Câmara/Universidade Estadual da Paraíba, sob o nº ACAM0834. Para a obtenção dos extratos, as cascas foram dessecadas em estufa de circulação de ar (Fanem 330) a 40°C, até a estabilização da umidade. Posteriormente foram pulverizados em moinho de facas e peneirados em malha de 10 mesh.

A extração foi realizada por quatro métodos: maceração, ultrassom, percolação e turbólise à temperatura ambiente (25 ± 2 °C) utilizando 1L de etanol a 96 %/100 g da planta. No primeiro método, realizou-se a mistura solvente e planta sendo armazenada em recipiente de vidro ao abrigo da luz por 72 h, com agitação manual tres vezes ao dia. No método de percolação, a planta e o solvente foram colocados em percolador de aço por cinco dias. Na extração por turbólise foi utilizado um aparelho ultraturax (Ika T-25), durante 15 min a 15.000 rpm. Por ultrassom, foi utilizado um banho de ultrassom (Unique) pelo período de 60 min.

Após as extrações, o solvente foi removido em evaporador rotativo a 40 °C (Quimis). Os extratos foram armazenados em um refrigerador a 4 °C até o uso para os experimentos propostos. Para a realização dos ensaios as amostras foram previamente diluídas em dimetilsulfóxido (DMSO) a 10 %.

Screening fitoquímico qualitativo

A triagem fitoquímica foi realizada empregando procedimentos padrão, como os descritos por Morita; Assumpção¹³ e Matos¹⁴ para revelar a presença de constituintes fitoquímicos.

Screening fitoquímico quantitativo

O conteúdo de polifenóis e flavonoides totais mensurado por meio de espectroscopia na região do visível de acordo com a metodologia descrita por Chaves *et al.*,¹⁵ Para a determinação de polifenóis utilizou-se o reagente de Folin-Ciocalteu, solução de Na₂CO₃ a 20 % (p/v), amostras diluídas em água destilada e leitura em espectrofotômetro no comprimento de onda de 750 nm. A curva de calibração foi construída utilizando o ácido gálico como referência. Por sua vez, o conteúdo de flavonoides foi determinado com a utilização da solução de AlCl₃ a 2 % em metanol (p/v) adicionado à amostra diluída. Tal mistura foi submetida leitura da absorbância no comprimento de onda de 415 nm, sendo que amostra do "branco" foi utilizado metanol. O total de flavonoides foi determinado utilizando quercetina na curva de calibração.

Atividade antimicrobiana

Cepas microbianas

Foram utilizadas cepas padrão American Type Culture Collection (ATCC) dos micro-organismos patogênicos *Staphylococcus aureus* (25923), *Escherichia coli* (25922), *Pseudomonas aeruginosa* (27853), *Klebsiella pneumoniae* (4352), *Streptococcus mutans* (25175), *S. oralis* (10557), *S. salivarius* (7073), *Candida albicans* (10231), *C. guilliermondii* (6260) e *C. krusei* (34135) disponibilizadas pela Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ - RJ). As bactérias do gênero *Streptococcus* foram cultivadas em ágar Mueller Hinton com o acréscimo de 5% de sangue de carneiro desfibrinado, em condições anaeróbicas a 37 °C/24 h, as demais bactérias foram cultivadas em ágar Mueller Hinton a 37 °C/24 h e os fungos em ágar Sabouraud a 25 °C/24 h.

Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A CIM foi determinada pelo método de microdiluição em placas de 96 cavidades de acordo com *Clinical and Laboratory Standards Institute*^{16,17} com adaptações. Utilizou-se caldo Mueller-Hinton (Himedia) para todas as bactérias com exceção das do gênero *Streptococcus*, para o qual utilizou-se caldo BHI. Caldo Saboraud foi utilizado para as cepas fúngicas. Os micro-organismos foram suspensos em solução salina a 0,9 % estéril e tais suspensões ajustadas espectrofotometricamente a 625 nm para bactérias (10^6 UFC.mL⁻¹) e 530 para fungos (5×10^4 UFC.mL⁻¹). Foram realizadas diluições seriadas do extrato em um intervalo de concentrações entre 1000 e 3,9 µg.mL⁻¹. DMSO a 10 % foi incluído como controle negativo. As placas foram incubadas a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ e $25 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 24 h para bactérias e fungos respectivamente. O crescimento microbiano foi indicado pela adição de 20 µL de solução aquosa de resazurina (Sigma- Aldrich) a 0,01 %, com nova incubação a $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ durante 2 h. A CIM foi definida como a concentração mais baixa onde não houve crescimento microbiano visível. Os ensaios foram realizados em triplicata.

Ensaio toxicológico frente à *Artemia salina*

Foi utilizado o bioensaio com náuplios de *Artemia salina* Leach. baseado na técnica descrita por Meyer *et al.*,¹⁸ com adaptações. Os náuplios eclodiram em tanque com água do mar sintética (pH = 8), temperatura ambiente e iluminação artificial. Posteriormente foram separados em grupos de 10 indivíduos, onde, exceto o grupo controle, cada um recebeu as soluções das amostras testadas em diferentes concentrações (2000, 1500, 1000, 500, e 250 µg.mL⁻¹). Os grupos foram submetidos à iluminação artificial e as larvas vivas foram contabilizadas após 24 horas. O experimento foi realizado em triplicata, e com os valores obtidos, estimou-se a DL₅₀ % através do método de Análise de Probit, com 95 % de intervalo de confiança, utilizando-se o programa EPA Probit Analysis Program, versão 1.5.

RESULTADOS

O *screening* fitoquímico qualitativo revelou a presença de compostos fenólicos, taninos, antocianina, flavonoides, saponinas, alcaloides e albuminas no extrato de *C. leptophloeos* (tabela 1), não sendo observadas variação entre os extratos testados.

Observam-se na tabela 2 as concentrações de polifenóis e flavonoides obtidas por diferentes técnicas, onde constata-se que nos extratos testados, as concentrações dessas substâncias foram superiores nos extratos obtidos por percolação e turbólise.

Quanto a análise da atividade antimicrobiana dos extratos, pode-se analisar a tabela 3 que os extratos de *C. leptophloeos*, *S. aureus* foi a única cepa sensível. Ao observar a melhor técnica, constatou-se que os extratos obtidos por turbólise e percolação foram os mais eficazes (125 µg.mL⁻¹).

Para o bioensaio com *A. salina*, selecionou-se o extrato *C. leptophloeos* obtido por turbólise, com base no teor de polifenóis e flavonoides (Tabela 2). Os resultados obtidos mostraram que os extratos apresentaram DL₅₀= 885,74 µg.mL⁻¹.

Tabela 1. Análise fitoquímica dos extratos etanólicos das cascas do caule de *C. leptophloeos*

Extrato/ /Método	Constituinte fitoquímico																
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Maceração	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
Ultrassom	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
Percolação	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
Turbólise	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+

1: Fenóis; 2: Taninos Hidrolizáveis; 3: Taninos Condensados; 4: Antocianinas;
 5: Antocianidinas; 6: Flavonoides; 7: Xantonas; 8: Chalconas; 9: Auronas;
 10: Leucoantocianidinas; 11: Catequinas; 12: Flavanonas; 13: Cumarinas;
 14: Esteróides Livres; 15: Triterpenóides pentacíclicos; 16: Alcalóide; 17: Saponinas.

Tabela 2. Concentração de polifenóis e flavonóides dos extratos de *C. leptophloeos*

Planta/Método	Concentração (%)	
	Polifenóis	Flavonóides
Maceração	31,40 ± 0,53	0,1554 ± 0,02
Ultrassom	29,44 ± 1,03	0,1221 ± 0,05
Percolação	37,17 ± 0,32	0,2209 ± 0,10
Turbólise	38,05 ± 0,25	0,2530 ± 0,02

DISCUSSÃO

Os resultados do *Screening* fitoquímico qualitativo revelaram a presença de diversos constituintes fitoquímicos, cuja ocorrência foi detectada previamente em estudo realizado por Dantas *et al.*⁹ e Trentin *et al.*²⁰

Alguns métodos extrativos consagrados estão listados em farmacopéias²¹ como maceração e percolação ainda são os mais utilizados em pesquisas. Entretanto, tem-se buscado adicionar processos tecnológicos na obtenção de extratos, com isso, métodos como a extração assistida por ultrassom e a turbólise vem ganhando espaço no meio científico. Porém, a percolação e turbólise são citados na literatura²²⁻²⁴ como que extraem grandes quantidades de metabólitos secundários, apresentando rendimentos superiores a outras técnicas. De acordo com Marques; Vigo,²⁵ a percolação busca o esgotamento dos compostos ativos presentes no material vegetal, enquanto a turbólise apresenta altos rendimentos devido à trituração da droga vegetal aliados à homogeneização contínua do solvente e da droga vegetal.

A interpretação dos resultados dos ensaios microbiológicos foi realizada de acordo com Ríos; Recio,²⁶ que consideram um extrato como possuidor de atividade antimicrobiana significativa quando apresenta CIM menor que 1000 µg.mL⁻¹. Dessa forma, os extratos apresentaram eficácia sobre *S. aureus*.

Após levantamento bibliográfico, constatou-se não haver estudos que mencionassem as propriedades antimicrobianas de *C. leptophloeos* contra as cepas utilizadas neste estudo. Por outro lado, o extrato da casca desta planta apresentou atividade bactericida contra *Staphylococcus epidermidis* na concentração de $1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$, além de inibir a formação de biofilme pelo mesmo micro-organismo (redução de 67,3 % na concentração de $4000 \mu\text{g.mL}^{-1}$).²⁰ A inibição da formação de biofilmes por *P. aeruginosa*, também foi documentada, chegando, a inibição, a 75 %.²⁷

A atividade exibida pelos extratos testados provavelmente está relacionada com a presença de compostos fenólicos como taninos e flavonoides, além de alcaloides, tidos como possuidores de tal atividade.²⁸⁻³¹

De acordo com Cowan²⁹ e Scalbert³² os taninos podem atuar sobre o metabolismo nos micro-organismos através da inibição de enzimas, da fosforilação oxidativa e do sistema de transporte de elétrons e inativação de adesinas microbianas e proteínas do envelope celular. Os flavonoides podem atuar na inibição de síntese de ácidos nucléicos impedindo a formação de pontes de hidrogênio entre bases nitrogenadas³³ e, podem perturbar as bicamadas lipídicas penetrando diretamente e interrompendo a função de barreira, como também podem provocar a fusão da membrana, resultando em vazamento de materiais intramembranosos.^{34,36} Por sua vez, os alcaloides podem atuar causando falhas na síntese de DNA,³¹ enquanto as saponinas podem interagir com o componente lipídico formando poros em membranas.^{36,37}

O teste de toxicidade aguda com *A. salina*, além de ser rápido, simples, reprodutível e econômico, é considerada uma ferramenta útil para a avaliação preliminar de toxicidade. Uma grande variedade de compostos químicos biologicamente ativos, em particular agentes citotóxicos, são tóxicos a *A. salina*, sendo, a morte deste organismo quando exposto a várias concentrações destes compostos é a base de um teste de toxicidade.^{38,39} Meyer *et al.*,¹⁸ descreveu a concentração letal baseada na toxicidade de substâncias sobre larvas do referido crustáceo. De acordo com a escala, a $DL_{50} < 500 \mu\text{g.mL}^{-1}$, indica toxicidade alta, DL_{50} entre 500 e $1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$, moderada e $DL_{50} > 1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ausência de toxicidade. Dessa forma, o extrato testado se mostrou moderadamente tóxico.

Os resultados obtidos nesta pesquisa demonstraram o extratos da casca de *C. leptophloeos* inibiram o crescimento de *S. aureus*, podendo, tal planta, ser fonte de moléculas bioativas para o tratamento de infecções provocadas por tal micro-organismo. Observou-se ainda a toxicidade moderada da planta sobre *A. salina*. Entretanto, estudos complementares são necessários para verificação da viabilidade terapêutica destes produtos naturais.

CONFLITOS DE INTERESSES

Os autores declaram que não há conflitos de interesse.

REFERÊNCIAS

1. Albuquerque UP, Medeiros PM, Almeida ALS, Monteiro JM, Lins Neto EMF, Melo JG, *et al.* Medicinal plants of the caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil: A quantitative approach. J Ethnopharmacol. 2007;114(3):325-54.

2. Gomes VTL, Chaves TP, Alencar LCB, Dantas IC, Medeiros ACD, Felismino DC. Antimicrobial activity of natural products from *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Aroeira-do-sertão). *Rev Cubana Plantas Med.* 2013;18(4):1-4.
3. CARVALHO, P. E. R. Imburana-de-Espinho-*Commiphora leptophloeos*. Embrapa Florestas. Comunicado técnico; 2009.
4. Agra MF, Baracho GS, Nurit K, Basílio IJLD, Coelho VPM. Medicinal and poisonous diversity of the flora of "Cariri Paraibano", Brazil. *J Ethnopharmacol.* 2007;111(2):383-95.
5. Agra MF, Freitas PF, Barbosa-Filho JM. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. *Braz J Pharmacogn.* 2007;17(1):114-40.
6. Albuquerque UP, Monteiro JM, Ramos MA, Amorim ELC. Medicinal and magic plants from a public market in northeastern Brazil. *J Ethnopharmacol.* 2007;110(1):76-91.
7. Albuquerque UP, Oliveira RF. Is the use-impact on native caatinga species in Brazil reduced by the high species richness of medicinal plants? *J Ethnopharmacol.* 2007;113(1):156-70.
8. Cartaxo SL, Souza MMA, Albuquerque UP. Medicinal plants with bioprospecting potential used in semi-arid northeastern Brazil. *J Ethnopharmacol.* 2010;131(2):326-42.
9. Lucena RFP, Albuquerque UP, Monteiro JM, Almeida CFCBR, Florentino ATN, Ferraz JSF. Useful Plants of the Semi-Arid Northeastern Region of Brazil - A Look at their Conservation and Sustainable Use. *Environ Monit Assess.* 2007;125(1-3):281-90.
10. Newall CA, Anderson LA, Phillipson JD. *Herbal Medicines: A Guide for Health-Care Professionals*, first ed. The Pharmaceutical Press, London; 1996.
11. Mabona U, Viljoen A, Shikanga E, Marston A, Van Vuuren S. Antimicrobial activity of southern African medicinal plants with dermatological relevance: From an ethnopharmacological screening approach, to combination studies and the isolation of a bioactive compound. *J Ethnopharmacol.* 2013;148(1):45-55.
12. Vieira DRP, Amaral FMM, Maciel MCG, Nascimento FRF, Libério SA, Rodrigues VP. Plant species used in dental diseases: Ethnopharmacology aspects and antimicrobial activity evaluation. *J Ethnopharmacol.* 2014;155(3):1441-9.
13. Morita T, Assumpção RMV. *Manual de soluções, reagentes e solventes: padronização, preparo, purificação.* São Paulo: Edgard Blücher. 1972:627.
14. Matos FJA, *Introdução à fitoquímica experimental.* UFC Edições. 1988:44-46.
15. Chaves TP, Santana CP, Vêras G, Brandão DO, Felismino DC, Medeiros ACD, *et al.* Seasonal variation in the production of secondary metabolites and antimicrobial activity of two plant species used in Brazilian traditional medicine. *Afr J Biotechnol.* 2013;12(8):847-53.
16. CLSI, Clinical and Laboratory Standards Institute. *Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Guideline*, second ed. CLSI Document M44-A2. Wayne, PA. 2009.

17. CLSI, Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Twenty-Second Informational Supplement, ninth ed. Document M100-S22. Pensilvânia, USA; 2012.
18. Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam JE. Brine shrimp: a convenient general Bioassay for active plant constituents. *Planta Med.* 1982;45(5):31-4.
19. Dantas IC. O Raizeiro. Campina Grande: EDUEPB; 2007.
20. Trentin DDS, Giordani RB, Zimmer KR, Silva AG, Silva MV, Correia MTS, *et al.* Potential of medicinal plants from the Brazilian semi-arid region (Caatinga) against *Staphylococcus epidermidis* planktonic and biofilm lifestyles," *J Ethnopharmacol.* 2011;137(1):327-35.
21. Farmacopeia Brasileira. 5 ed. Brasília: Anvisa; 2010.
22. Migliato KF, Corrêa MA, Salgado HRN. Planejamento experimental na otimização da extração dos frutos de *Syzygium cumini* (L.) Skeels. *Quím Nova.* 2011;34(4):695-9.
23. Politi FA, de Mello JC, Migliato KF, Nepomuceno AL, Moreira RR, Pietro RC. Antimicrobial, Cytotoxic and Antioxidant Activities and Determination of the Total Tannin Content of Bark Extracts *Endopleura uchi*. *Int J Mol Sci.* 2011;12(4):2757-68.
24. Souza APTB, Barni ST, Ferreira RA, Couto AG. Desenvolvimento Tecnológico de Soluções Extrativas Hidroetanólicas das Flores de *Calendula officinalis* L. Empregando Planejamento Fatorial. *Lat. Am. J. Pharm.* 2010;29(1):13-21.
25. Marques LC, Vigo CLS. Preparação e Padronização de Extratos Vegetais. In: Leite, J. P. V. *Fitoterapia: Bases Científicas e Tecnológicas.* São Paulo: Atheneu. 2009.
26. Ríos JL, Recio MC. Medicinal plants and antimicrobial activity. *J Ethnopharmacol.* 2005;100(1-2):80-4.
27. Trentin DS, Zimmer KR, Silva MV, Giordani RB, Macedo AJ. Medicinal Plants from Brazilian Caatinga: Antibiofilm and Antibacterial Activities against *Pseudomonas aeruginosa*. *Rev Caatinga.* 2014;27(3):264-71.
28. Chung K, Wei C, Johnson MG. Are tannins a double-edged sword in biology and health. *Trends Food Sci Technol.* 1998;9(4):168-75.
29. Cowan MM. Plant products as antimicrobial agents. *Clin Microbiol Rev.* 1999;12(4):564-82.
30. Monteiro JM, Lins Neto EMF, Amorim ELC, Strattmann RR, Araújo EL, Albuquerque UP. Teor de taninos em três espécies medicinais arbóreas simpátricas da Caatinga. *R. Árvore.* 2005;29(6):999-1005.
31. Erdemoglu N, Sozkanm S, Tosum F. Alkaloid profile and antimicrobial activity of *Lupinus angustifolius* L. alkaloid extract. *Phytochem Rev.* 2007;6(1):197-201.
32. Scalbert A. Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry.* 1991;30(12):3875-83.

33. Mori A, Nishino C, Enoki N, Tawata S. Antibacterial activity and mode of action of plant flavonoids against *Proteus vulgaris* and *Staphylococcus aureus*. *Phytochemistry*. 1987;26(8):2231-4.
34. Ikigai H, Nakae T, Hara Y, Shimamura T. Bactericidal catechins damage the lipid bilayer. *Biochim Biophys Acta*. 1993;1147(1):132-6.
35. Cushnie TPT, Lamb AJ. Antimicrobial activity of flavonoids. *Int J Antimicrob Agents*. 2005;26(5):343-56.
36. Francis G, Kerema Z, Makkara HPS, Beckera K. The biological action of saponins in animal systems: a review. *Br J Nutr*. 2002;88(6): 587-05.
37. Sung WS, Lee DG. The Combination Effect of Korean Red Ginseng Saponins with Kanamycin and Cefotaxime against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Biol Pharm Bull*. 2008;31(8):1614-7.
38. Deciga-Campos M, Rivero-Cruz I, Arriaga-Alba M, Castaneda-Corral G, Angeles-Lopez GE, Navarrete A, *et al*. Acute toxicity and mutagenic activity of Mexican plants used in traditional medicine. *J Ethnopharmacol*. 2007;110(2):334-42.
39. Nguta JM, Mbaria JM. Brine shrimp toxicity and antimalarial activity of some plants traditionally used in treatment of malaria in Msambweni district of Kenya. *J Ethnopharmacol*. 2013;148(3):988-92.

Recibido: 20 de agosto de 2015.

Aprobado: 24 de octubre de 2016.

Thiago Pereira Chaves. Universidade Federal do Piauí, Campus Universitário
Professora Cinobelina Elvas, Brasil. Correo eletrônico: thiago_pereira@ufpi.edu.br